บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การทดลองที่ 1 : ผลของยูเรียละลายช้าที่ได้จากกรรมวิธีการผลิตแบบต่างๆ ต่อประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของยูเรียในสูตรอาหาร ด้วยวิธี *in vitro* digestion (Effect of slow release urea from different processing techniques to enhance feed utilization by *in vitro* digestion.)

3.1.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

โคนมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน จำนวน 1 ตัว ที่ทำการเลี้ยงด้วยฟางข้าวเต็มที่ และเสริมอาหารข้นวันละ 4 กิโลกรัม โดยแบ่งให้ในช่วงเช้า 2 กิโลกรัม และช่วงเย็น 2 กิโลกรัม จัดน้ำดื่มสะอาดให้ตลอดเวลา เพื่อใช้เป็นแหล่งเก็บของเหลวในกระเพาะหมัก (rumen fluid) ทำการเก็บของเหลวในกระเพาะหมักโดยใช้ท่อดูดของเหลวสอดผ่านทางปากไปยังกระเพาะหมัก โดยในการดูดครั้งแรกจะไม่นำไปใช้เพราะมีส่วนของน้ำลายเจือปนอยู่จนไม่มีน้ำลายปะปนอยู่ในน้ำในกระเพาะหมัก นำมากรองด้วยผ้าข้าวบางสองชั้นเพื่อกรองอาหารออก เพื่อใช้ในการเตรียมสารละลายจากกระเพาะหมัก

3.1.2 แผนการทดลองและปัจจัยการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomizied Design, CRD) โดยมีสูตรอาหารทดลองทั้งหมด 8 สูตรๆ ละ 5 ซ้ำ โดยมีแบบหุ่น (model) ทางสถิติสำหรับวิเคราะห์แผนการทดลอง ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ Y_{ij} = ค่าสังเกตจากรูปแบบการเคลือบยูเรียที่ i, ซ้ำที่ j เมื่อ $j = 1, \ldots, 5$

μ = ค่าเฉลี่ยรวมของค่าสังเกต

τ_i = อิทธิพลเนื่องจากรูปแบบการเคลือบยูเรียที่ i เมื่อ $i = 1, \ldots, 8$

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของงานทดลอง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

3.1.3 อาหารทดลอง

ในการทดลองใช้ยูเรียละลายช้าในอาหารสูตรรวม (TMR) (ตารางที่ 3 - 1) โดยอาหารทุกสูตร จะมีการคำนวณให้มีระดับ TDN เท่ากับ 68 เปอร์เซ็นต์ และ CP เท่ากับ 13.5 เปอร์เซ็นต์ เท่ากันทุกสูตร คำนวณสูตรอาหารด้วยโปรแกรม KCF 2006 (วิโรจน์และมนต์ชัย, 2549) (ตารางที่ 3 - 2) สูตรอาหารมีการใช้ยูเรียละลายช้า 8 สูตร (วิธีการทำแสดงในภาคผนวก ก) ดังนี้

สูตรที่ 1 ใช้ยูเรียธรรมดา (T urea)

สูตรที่ 2 ใช้แคลเซี่ยมคลอไรด์เคลือบยูเรีย 20 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T cal20)

สูตรที่ 3 ใช้แคลเซี่ยมคลอไรด์เคลือบยูเรีย 30 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T cal30)

สูตรที่ 4 ใช้ฟอร์มัลดีไฮด์เคลือบด้วยยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T for5)

สูตรที่ 5 ใช้ฟอร์มัลดีไฮด์เคลือบด้วยยูเรีย 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T for10)

สูตรที่ 6 ใช้กรดแทนนิคเคลือบยูเรีย 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T tan1)

สูตรที่ 7 ใช้กรดแทนนิคเคลือบยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T tan5)

สูตรที่ 8 ใช้เมล็ดข้าวฟ่างหมักยูเรีย (T sor)

ตารางที่ 3-1 สูตรอาหาร TMR งานทดลองที่ 1 (%DM)

วัตถุดิบ[1]	T urea	T cal20	T cal30	T for5	T for10	T tan1	T tan5	T sor
ฟางข้าว	27.0	26.0	26.0	25.8	26.0	26.0	26.0	26.0
มันสำปะหลัง	43.4	48.5	48.3	48.9	48.8	49.0	48.8	32.0
ผงน้ำตาล	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
กากถั่วเหลือง	8.0	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	12.0
กากปาล์ม	10.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	3.0
เมล็ดข้าวโพด	1.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	11.0
เกลือ	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
แร่ธาตุ	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
กำมะถัน	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
T urea	2.6	-	-	-	-	-	-	-
T cal20	-	4.0	-	-	-	-	-	-
T cal30	-	-	4.2	-	-	-	-	-
T for5	-	-	-	3.6	-	-	-	-
T for10	-	-	-	-	3.7	-	-	-
T tan1	-	-	-	-	-	3.5	-	-
T tan5	-	-	-	-	-	-	3.7	-
T sor	-	-	-	-	-	-	-	8.0
รวม	100	100	100	100	100	100	100	100
ราคา (บาท/กก.)	4.58	4.50	4.50	4.49	4.67	5.34	9.16	5.98

[1]ราคาวัตถุดิบน้ำหนักสด, บาท/ กก.; ฟางข้าว = 2.0, มันสำปะหลัง = 3.6, ผงน้ำตาล = 0.5, กากถั่วเหลือง = 15.3, กากปาล์ม = 5.0, ข้าวโพด = 8.0, เกลือ = 2.0, แร่ธาตุ = 35.0, กำมะถัน = 52.0

ตารางที่ 3-2 องค์ประกอบทางเคมีจากการคำนวณของอาหาร TMR งานทดลองที่ 1 (%DM)

องค์ประกอบทางเคมี	T urea	T cal20	T cal30	T for5	T for10	T tan1	T tan5	T sor
DM	90.1	89.3	89.2	88.0	89.0	88.8	88.2	88.2
CP	13.5	13.4	13.5	14.1	13.8	13.5	13.5	13.5
TDN	68.0	68.0	67.8	68.3	68.2	68.4	68.3	67.3
EE	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	1.2
NDF	29.9	26.1	26.1	26.1	26.1	26.1	26.1	26.1
ADF	18.1	15.4	15.4	15.5	15.5	15.5	15.5	14.9
NFC[1]	47.0	51.5	51.4	50.8	51.1	51.4	51.4	51.1
ash	8.6	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1

[1]NFC= 100- (%CP + %NDF + %EE + %ash) (NRC, 2001)

3.1.4 การศึกษาการย่อยได้ (*in vitro* digestibility)

การทดลองการย่อยได้ทำการทดลองโดยวิธี *in vitro* ทำการทดลองโดยการใช้เครื่อง Daisy II incubator (Ankom Technology Crop., Fairport, NY)

3.1.4.1 การเตรียมตัวอย่างอาหาร

เตรียมถุงไนลอนเบอร์ 57 โดยการนำมาล้างด้วย acetone 2-3 นาที เพื่อชะล้างสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ที่มีผลยับยั้งการย่อยอาหารโดยจุลินทรีย์ จากนั้นนำมาผึ่งให้แห้งสนิทที่อุณหภูมิห้องจนแห้งสนิท แล้วนำมาชั่งและบันทึกน้ำหนักถุงไนลอน (W_1) นำอาหารทดลองอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1 มิลลิเมตร โดยสุ่มตัวอย่างชั่งประมาณเพื่อศึกษาการย่อยได้ของอาหารในรูปวัตถุแห้งจากนั้นชั่งตัวอย่างอาหาร 0.25 กรัม ลงในถุงไนลอนที่ชั่งและบันทึกน้ำหนักไว้ (W_2) ปิดผนึกด้วยความร้อนต่ำลงมาจากด้านบนของถุงไม่เกิน 1 เซ็นติเมตร และเตรียมถุงเปล่าที่ไม่มีอาหารปิดผนึกด้วยความร้อนต่ำลงมาจากด้านบนของถุงไม่เกิน 1 เซ็นติเมตร นำไปชั่งน้ำหนักและบันทึกเพื่อใช้เป็น correction factor (C_1) และมีการสุ่มตัวอย่างอาหารเพื่อนำไปวิเคราะห์หา DM, CP และ EE (AOAC, 1985) เยื่อใยNDF และ เยื่อใย ADF (Van Soest et al., 1991)

3.1.4.2 การบ่มตัวอย่างอาหาร

ทำการเตรียมสาระลายบัฟเฟอร์ (buffer solution) โดยแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ สารละลาย A และสารละลาย B โดยสารละลาย A เตรียมได้โดยชั่ง KH_2PO_2 10 กรัม, $MgSO_4.7H_2O$

0.5 กรัม, NaCl 0.5 กรัม, $CaCl_2.H_2O$ 0.1 กรัม, และยูเรีย 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ส่วนสารละลาย B เตรียมได้โดยชั่ง Na_2CO_3 15 กรัม และ $Na_2S.9H_2O$ 1 กรัม นำไปละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เมื่อเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์แล้ว ตวงสารละลาย A ปริมาณ 1330 มิลลิลิตร และสารละลาย B ปริมาณ 266 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในโถบ่มจากนั้นนำไปปรับอุณหภูมิในเครื่อง Daisy II incubator ประมาณ 30 นาที เพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายให้มีระดับใกล้เคียงกับกระเพาะหมักโคคือ 39 องศาเซลเซียส

ทำการเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักในช่วงเช้าก่อนให้อาหารโดยการใช้ท่อดูดของเหลวสอดผ่านทางปากไปที่กระเพาะหมักด้วยใช้ปั๊มสุญญากาศดูดของเหลวจากกระเพาะหมักใส่ในภาชนะที่มีผาปิดสนิทที่มีการไล่ออกซิเจนออกด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นนำของเหลวจากกระเพาะหมักไปกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น จากนั้นตวงของเหลวในกระเพาะหมักที่กรองแล้วปริมาณ 400 มิลลิลิตร ลงในโถบ่มที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ที่ปรับอุณหภูมิแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นใส่ถุงไนลอนที่มีอาหารบรรจุอยู่โดยใส่ 1 สูตรอาหารต่อ 1 โถบ่ม จากนั้นนำไปไล่ก๊าซออกซิเจนด้วยการใช้ท่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศบริเวณโถบ่มส่วนบน ประมาณ 30 วินาที ปิดฝาให้แน่น นำเข้าเครื่อง Daisy II incubator ทำการบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากการบ่มครบ 48 ชั่วโมง นำถุงไนลอนที่ผ่านการบ่มมาล้างผ่านน้ำเย็นจนสะอาดแล้วนำไปผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และบันทึกน้ำหนักหลังอบ (W_3) และนำไปวิเคราะห์หาเยื่อใย NDF และเยื่อใย ADF ต่อไป (Ankom Technology Crop., Fairport, NY)

3.1.5 การคำนวณการย่อยได้ของวัตถุแห้ง, เยื่อใย NDF และ เยื่อใย ADF

การย่อยได้ของวัตถุดิบ (*in vitro* dry matter digestibility, IVAFD) คำนวณจาก

$$IVDMD\ (\%) = 100 - \frac{(W_3 - (W_1 \times C_1)) \times 100}{W_2}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักถุงเปล่า

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างอาหารสุทธิ (น้ำหนักสด)

W_3 = น้ำหนักถุงสุดท้ายหลังจากการบ่ม 48 ชั่วโมงและอบแห้ง

C_1 = น้ำหนักถุงเปล่าหลังจากการบ่ม 48 ชั่วโมงและอบแห้งหารน้ำหนักถุงเปล่าเริ่มต้น (black bag correction)

การย่อยได้ของ NDF (*in vitro* NDF digestibility, IVNDFD) คำนวณจากสมการ

$$IVNDFD\ (\%) = 100 - \frac{(\text{NDF ที่เหลือหลังจากการบ่ม 48 ชั่วโมง}) \times 100}{\text{NDF ก่อนการบ่ม}}$$

การย่อยได้ของ ADF (*in vitro* ADF digestibility, IVADFD) คำนวณจากสมการ

$$IVADFD\ (\%) = 100 - \frac{(\text{ADF ที่เหลือหลังจากการบ่ม 48 ชั่วโมง}) \times 100}{\text{ADF ก่อนการบ่ม}}$$

3.1.6 การศึกษาการละลายของยูเรียละลายช้า

วัดการละลายของแอมโมเนียของยูเรียรูปแบบต่างๆ โดยวัดไอออนแอมโมเนียที่สะสม โดยใช้เครื่องวัดไอออน Cornsort C933 electrochemical analyzer โดยมีการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำหมักด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที นำน้ำหมักที่ฆ่าเชื้อแล้วมาปรับ pH ด้วยกรดซัลฟิวริกให้อยู่ในระดับใกล้เคียงกับกระเพาะหมักคือ 6.5-7 จากนั้นตวงใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตรต่อการวัด 1 ครั้ง จากนั้นชั่งยูเรียรูปแบบต่างๆ 0.2 กรัมของน้ำหนักยูเรีย จากนั้นปิดด้วยฟรอยให้สนิทเพื่อเตรียมวัด ในการวัดทำการจุ่มหัววัดให้อยู่กึ่งกลางของน้ำหมัก ในขณะวัดมีการใช้แมกเนติกกวนอย่างช้าๆ เพื่อให้หัววัดสามารถจับไอออนได้ ใช้เวลาในการวัดต่อครั้ง 1 นาที จำนวน 2 ซ้ำ เริ่มวัดที่นาทีที่ 0 (ก่อนเติมยูเรียแบบต่างๆ) และ 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 และ 240 นาที หลังจากเติมยูเรียแบบต่างๆ

3.1.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการศึกษามาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้ Proc GLM และวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่าสังเกตเนื่องจากการเสริมยูเรียรูปแบบต่างๆ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS, 1989)

3.1.8 ระยะเวลาทำการทดลอง

3.1.8.1 ระยะปรับสัตว์เพื่อเตรียมการทดลอง ตั้งแต่วันที่ 1 เมษายน 2551 ถึงวันที่ 30 เมษายน 2551 รวมเป็นเวลา 30 วัน

3.1.9 สถานที่ทำการทดลอง

3.1.9.1 สถานีทดลองและฝึกอบรมเกษตรกรรม จังหวัดร้อยเอ็ด ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.1.9.2 ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.2 การทดลองที่ 2 : การศึกษาการใช้ยูเรียละลายช้าต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารและการให้ผลผลิตในโคนมรุ่นเพศเมีย (Study of using slow release urea to enhance feed efficiency and performance in dairy heifer.)

3.2.1 สัตว์ทดลอง

ใช้โคนมรุ่นลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนเพศเมีย อายุเฉลี่ย 12 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 231.9±38.3 กิโลกรัม จำนวน 20 ตัว มีการจัดบล็อคด้วยน้ำหนัก แบ่งเป็น 4 บล็อค บล็อคละ 5 ตัว ทำการสุ่มเข้าแต่ละหน่วยทดลอง ใช้ระยะเวลาในการทดลอง 59 วัน แบ่งเป็นระยะปรับสัตว์ก่อนการทดลอง 14 วัน และระยะทำการทดลอง 45 วัน ทำการเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการแบ่งเป็นคอกเดี่ยว โดยมีการฉีดยาถ่ายพยาธิและวิตามินรวมให้กับโคก่อนเข้าทดลอง

3.2.2 แผนการทดลองและปัจจัยการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบบล็อคสมบูรณ์ (Randomize Completely Block Design, RCBD) มีปัจจัยการทดลองคือ การเคลือบยูเรียในสูตรอาหาร 8 แบบในสูตรอาหาร TMR ที่มีฟางข้าวเป็นอาหารหยาบหลัก อาหารทดลองมีทั้งหมด 5 สูตร บล็อคด้วยน้ำหนักตัวของโคที่แตกต่างกัน แต่ละหน่วยทดลองมี 4 บล็อค โดยมีแบบหุ่น (model) สำหรับการวิเคราะห์แผนการทดลองดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \rho_i + \tau_j + \varepsilon_{ij}$$

เมื่อ

Y_{ij} = ค่าสังเกตจากน้ำหนักตัวที่ i , รูปแบบการเคลือบยูเรียที่ j

μ = ค่าเฉลี่ยรวมของค่าสังเกต

ρ_i = อิทธิพลเนื่องจากน้ำหนักตัว (blk) ที่ i เมื่อ i = 1,... , 4

τ_j = อิทธิพลเนื่องจากรูปแบบการเคลือบยูเรีย (trt) ที่ j เมื่อ j = 1,... , 5

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของงานทดลอง

3.2.3 อาหารทดลอง

เลือกใช้วิธีการเคลือบยูเรียที่เหมาะสมในงานทดลองที่ 1 จำนวน 4 สูตร นำมาเปรียบเทียบกับการใช้ยูเรียธรรมดาในสูตรอาหาร (ตารางที่ 3 - 3) โดยอาหารแต่สูตรมีการคำนวณให้มีระดับ TDN เท่ากับ 68 เปอร์เซ็นต์ และ CP 13.5 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน คำนวณด้วยโปรแกรม KCF 2006 (วิโรจน์และมนต์ชัย, 2549) (ตารางที่ 3 - 4) สูตรอาหารมีการใช้ยูเรียแบบต่างๆ 5 สูตร (วิธีการทำแสดงในภาคผนวก ก)

สูตรที่ 1 การใช้ยูเรีย (T urea)

สูตรที่ 2 การใช้แคลเซี่ยมคลอไรด์เคลือบยูเรีย 20 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T cal20)

สูตรที่ 3 การใช้แคลเซี่ยมคลอไรด์เคลือบยูเรีย 30 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T cal30)

สูตรที่ 4 การใช้ฟอร์มัลดีไฮด์เคลือบด้วยยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T for5)

สูตรที่ 5 การใช้ฟอร์มัลดีไฮด์เคลือบด้วยยูเรีย 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (T for10)

3.2.4 การให้อาหารทดลอง

ให้อาหารในรูปแบบอาหาร TMR แบ่งให้โค 2 ครั้งต่อวัน โดยช่วงเช้าให้เวลา 8.00 น. และช่วงบ่ายให้เวลา 16.00 น. การให้แต่ละวันมีการปรับระดับการให้อาหารเพื่อให้มีอาหารเหลือต่อวันประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ และมีการจัดน้ำสะอาดให้กินเต็มที่

ตารางที่ 3-3 สูตรอาหาร TMR งานทดลองที่ 2 (%DM)

วัตถุดิบ[1]	T urea	T cal20	T cal30	T for5	T for10
ฟางข้าว	27.0	26.0	26.0	25.8	26.0
มันสำปะหลัง	43.4	48.5	48.3	48.9	48.8
ผงน้ำตาล	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
กากน้ำตาล	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
กากถั่วเหลือง	8.0	5.5	5.5	5.5	5.5
กากปาล์ม	10.0	4.0	4.0	4.0	4.0
เมล็ดข้าวโพด	1.0	4.0	4.0	4.0	4.0
เกลือ	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
แร่ธาตุ	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
กำมะถัน	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
T urea	2.6	-	-	-	-
T cal20	-	4.0	-	-	-
T cal30	-	-	4.2	-	-
T for5	-	-	-	3.6	-
T for10	-	-	-	-	3.7
รวม	100	100	100	100	100
ราคา (บาท/กก.)	4.58	4.50	4.50	4.49	4.67

[1]ราคาวัตถุดิบน้ำหนักสด, บาท/ กก.; ฟางข้าว = 2.0, มันสำปะหลัง = 3.6, ผงน้ำตาล = 0.5, กากถั่วเหลือง = 15.3, กากปาล์ม = 5.0, ข้าวโพด = 8.0, เกลือ = 2.0, แร่ธาตุ = 35.0, กำมะถัน = 52.0

ตารางที่ 3-4 องค์ประกอบทางเคมีจากการคำนวณของอาหาร TMR งานทดลองที่ 2 (%DM)

องค์ประกอบทางเคมี	T urea	T cal20	T cal30	T for5	T for10
DM	90.1	89.3	89.2	88.0	89.0
CP	13.5	13.4	13.5	14.1	13.8
TDN	68.0	68.0	67.8	68.3	68.2
EE	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9
NDF	29.9	26.1	26.1	26.1	26.1
ADF	18.1	15.4	15.4	15.5	15.5
NFC[1]	47.0	51.5	51.4	50.8	51.1
ash	8.6	8.1	8.1	8.1	8.1

[1]NFC= 100- (%CP + %NDF + %EE + %ash) (NRC, 2001)

3.2.5 การเก็บข้อมูลและการเก็บตัวอย่าง

3.2.5.1 เก็บบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และชั่งอาหารเหลือในแต่ละวัน เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณการกินได้ของ DMI และมีการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารเพื่อวิเคราะห์หา DM, ash, CP, EE และ GE ตามวิธีของ AOAC (1985) และวิเคราะห์หาเยื่อใย ADF, NDF ตามวิธีของ Van Soest et al. (1991)

3.2.5.2 บันทึกการชั่งน้ำหนักตัวและวัดรอบอกโคทดลองก่อนทำการทดลอง วันที่ 30 และ 60 ของการทดลอง โดยทำติดต่อกัน 2 วัน เพื่อลดความคลาดเคลื่อนในการชั่งและวัดข้อมูลที่บันทึกได้นำมาคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตของโคต่อวัน

3.2.5.3 หาการย่อยได้ของอาหารโดยใช้โครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) เป็นตัวชี้วัด วิเคราะห์หา Cr_2O_3 ตามวิธีของ เยาวมาลย์ (2523) โดยให้โคได้รับ Cr_2O_3 ปริมาณ 20 กรัมต่อตัวต่อวัน เป็นเวลา 7 วัน ในสัปดาห์สุดท้ายของปลายการทดลอง ซึ่ง 7 วันแรกที่โคกิน Cr_2O_3 เพื่อเป็นการปรับให้มี Cr_2O_3 ในระบบทางเดินอาหาร และเก็บตัวอย่างมูลสะสมเป็นเวลา 2 วัน โดยเก็บปริมาณ 100 กรัมต่อครั้ง ทุก 3 ชั่วโมง คือ 08.00, 11.00, 14.00, 17.00, 20.00, 23.00, 02.00 และ 05.00 น. เพื่อวิเคราะห์หาการย่อยได้โภชนะได้แก่ DM, ash, CP, fat, GE (AOAC, 1985) เยื่อใย NDF และ ADF ตามวิธีของ Van Soest et al. (1991)

3.2.5.4 เก็บตัวอย่างเลือดที่บริเวณโคนหาง ในชั่วโมงที่ 0 (ก่อนให้อาหารเช้า), 0.30, 1.00, 1.30, 2.00, 2.30 และ 3.00 ชั่วโมงหลังให้อาหารเช้า ในวันที่ 59 ของการทดลองนำตัวอย่าง

เลือดมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เก็บเฉพาะส่วน serum ใส่ micro tube และนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษารอส่งวิเคราะห์ต่อไป โดยนำไปวิเคราะห์หา BUN (Synchron LX System, 2001) และ blood glucose (Synchron LX System, 2000)

3.2.5.5 วัดอุณหภูมิทวารหนักในช่วงสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองโดยสุ่มวัด 3 ครั้ง 3 วัน ในช่วงก่อนโคได้รับอาหารในชั่วโมง (ชั่วโมงที่ 0) และเมื่อผ่านไป 1, 2 และ 3 ชั่วโมงหลังให้อาหารเช้าด้วยเทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิตอล (microlife, model: MT 1611)

3.2.5.6 บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสูงสุดและต่ำสุดภายในโรงเรือน โดยเครื่องบันทึกอัตโนมัติเพื่อหาค่าดัชนีอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ (temperature humidity index, THI) ตลอดงานทดลอง

สูตรคำนวณ

$$THI = td - (0.55 - (0.55 \times RH))(td - 58)$$

เมื่อ td = อุณหภูมิตุ้มแห้ง (dry buld temperature) มีหน่วยเป็นองศาฟาเรนไฮน์ (°F)

RH = สัมประสิทธิ์ความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity coefficient) (West, 1994 ; Kelly and Bond, 1971 อ้างโดย Pattarajinda, 2001)

3.2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลการกินได้ การเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะ ค่าเมทาบอไลท์ในเลือดในก่อนและหลังให้อาหารแต่ละสูตรอาหารและในแต่ละช่วงเวลา อุณหภูมิทวารหนักของโคก่อนและหลังให้อาหาร มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ RCBDโดยใช้ Proc GLM และวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยการตอบสนองของค่าสังเกตเนื่องจากการเสริมยูเรียรูปแบบต่างๆ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS, 1989)

3.2.7 ระยะเวลาทำการทดลอง

3.2.7.1 ระยะปรับสัตว์เพื่อเตรียมการทดลอง ตั้งแต่วันที่ 12 มิถุนายน 2551 ถึงวันที่ 25 มิถุนายน 2551 รวมเป็นเวลา 14 วัน

3.2.7.2 ระยะเวลาในการเก็บข้อมูล ตั้งแต่วันที่ 26 มิถุนายน 2551 ถึงวันที่ 9 สิงหาคม 2551 รวมเป็นเวลา 45 วัน

3.2.8 สถานที่ทำการทดลอง

3.2.8.1 สถานีทดลองและฝึกอบรมเกษตรกรรมจังหวัดร้อยเอ็ด ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.2.8.2 ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น