



บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 สัตว์ทดลอง

ใช้โคพื้นเมืองไทยสายภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สายอีสาน) เพศผู้จำนวน 15 ตัว น้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ย 224.60 ± 16.98 กิโลกรัม อายุเฉลี่ยประมาณ 24 เดือน โคทุกตัวมีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์ (ลักษณะทั่วไปของโคแสดงในภาพที่ 3.1) ก่อนเข้างานทดลองโคทุกตัวจะได้รับการปรับสัตว์นาน 14 วัน โดยการเลี้ยงในคอกขังเดี่ยวขนาด $1.5 \times 5 \times 1.2$ เมตร เพื่อให้เกิดความเคยชินกับคอก คนเลี้ยงและอาหารทดลอง และทำการฉีดยาถ่ายพยาธิ (IVOMECE-F; Ivermectin 1.5 % w/v, Closulon 15 % w/v) เข้าใต้ผิวหนัง 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักสัตว์ 50 กิโลกรัม และฉีดวิตามิน เอ ดี อี (AD₃E) เข้ากล้ามเนื้อ 4 มิลลิลิตรต่อตัว ก่อนเข้างานทดลอง

3.2 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) สัตว์ทดลองใช้โคพื้นเมืองไทยเพศผู้จำนวน 15 ตัว ใช้ระดับพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy) ที่ให้โคกินเป็นทริทเมนต์ (treatment) จำนวน 3 ทริทเมนต์ แล้วทำการสุ่มทริทเมนต์ให้กับโคแต่ละตัวอย่างอิสระ (random sampling) ดังนั้นแต่ละทริทเมนต์มี 5 ซ้ำ (replication) ซึ่งโคแต่ละตัวคือ 1 หน่วยทดลอง (experimental unit) เท่ากับ 15 หน่วยทดลอง โดยมีแผนผังการทดลอง (layout) ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงแผนผังการทดลอง^{1/}

Layout				
A1T2	A4T1	A7T3	A10T1	A13T2
A2T2	A5T3	A8T3	A11T2	A14T1
A3T3	A6T1	A9T2	A12T3	A15T1

^{1/}A, animal; T, treatment

ตารางที่ 3.2 สูตรอาหารทดลองและส่วนประกอบทางโภชนะ

Ingredients	Formulations (kgDM)
Purple guinea grass hay	32.00
Cassava chip	31.77
Rice bran	17.87
Coconut meal	3.97
Soybean meal	6.95
Palm meal	5.96
Urea	0.50
Mixes mineral ^{1/}	0.50
Premix (vitamins) ^{2/}	0.50
Total	100
Chemical composition ^{3/} (by calculated)	
DM, %	91.72
	% of DM
CP	11.25
NDF	40.92
ADF	25.11
EE	4.98
ME	10.54

^{1/}Chemical composition were calcium = 164.00 g, cobalt = 0.04 g, copper = 1.00 g, iodine = 0.04 g, iron = 2.00 g, magnesium = 2.89 g, manganese = 11.00 g, phosphorus = 80.00 g, selenium = 0.03 g, sodium = 136.60 g, sulfur = 19.20 g, zinc = 3.58 g and carrier = 1,000.00 g

^{2/}Chemical composition were vitamins (A = 2×10^6 I.U., D₃ = 4×10^6 I.U. and E = 3×10^3 I.U.), minerals (cobalt = 0.02 g, copper = 1.60, iodine = 0.10, iron = 10.00 g, magnesium = 10.00 g, manganese = 8.00 g, selenium = 0.06 g and zinc = 6.00 g), anti-rancidity = 2.50 g and carrier = 1,000.00 g

^{3/}DM = dry matter, CP = crude protein, NDF = neutral detergent fiber, ADF = acids detergent fiber, EE = ether extract, ME = metabolizable energy.

3.3 ทริทเมนต์การทดลอง

ใช้ระดับอาหารพลังงานที่ให้โคกินเป็นทริทเมนต์ในการทดลองจำนวน 3 ทริทเมนต์ ดังนี้

T1 คือ การให้อาหารในระดับ 1.1 เท่าของความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการดำรงชีพ

T2 คือ การให้อาหารในระดับ 1.5 เท่าของความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการดำรงชีพ

T3 คือ การให้อาหารในระดับ 1.9 เท่าของความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการดำรงชีพ

โดยที่ ค่าความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการดำรงชีพ (metabolizable energy for maintenance, ME_m) ของโคพื้นเมืองไทยมีค่าเท่ากับ 484 kJ/kgBW^{0.75}/d (WTSR, 2008)

3.4 อาหารและการให้อาหารทดลอง

3.4.1 อาหารหยาบ

ใช้หญ้ากินนีสีม่วงแห้ง (purple guinea, *Panicum maximum* TD 58) ที่อายุตัดมากกว่า 90 วัน มีโปรตีนหยาบเท่ากับ 4.42 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งของอาหารหยาบในสูตรอาหารหญ้าที่ใช้มีลักษณะเป็นฟอนมีน้ำหนักเฉลี่ยฟอนละประมาณ 22.8 กิโลกรัม เตรียมโดยการสับด้วยเครื่องตัดหยาบให้มีความยาวประมาณ 3-5 เซนติเมตร หญ้าที่ใช้เป็นหญ้าชุดเดียวกันตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดงานทดลอง โดยได้รับความอนุเคราะห์จากสถานีพัฒนาอาหารสัตว์ จังหวัดมหาสารคาม (ภาพที่ 3.2)

3.4.2 อาหารข้น

ทำการจัดเตรียมวัตถุดิบอาหารสัตว์ (feedstuffs) เพื่อประกอบสูตรอาหารทดลอง โดยเทียบตามความต้องการโภชนะของโคตาม WTSR (2008) ซึ่งมีส่วนประกอบที่เป็นวัตถุดิบและส่วนประกอบทางโภชนะโดยการคำนวณ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 การเตรียมอาหารข้นโดยการชั่งวัตถุดิบอาหารและผสมเข้าด้วยกันโดยใช้เครื่องผสมอาหารขนาดใหญ่ ทำการผสมครั้งละ 400 กิโลกรัม โดยอาหารข้นที่ผสมเสร็จแล้วทำการบรรจุลงในกระสอบ กระสอบละประมาณ 30 กิโลกรัม และทำการเก็บกระสอบอาหารข้นไว้ในที่เก็บอาหารที่สามารถป้องกันแสงแดด ฝน รวมถึงสัตว์และแมลง อาหารข้นที่ผสมแต่ละครั้งจะใช้หมดภายในเวลาประมาณ 7 วัน

3.4.3 วิธีการให้อาหารและการเก็บอาหารเหลือ

ทำการแยกชั่งอาหารข้นและอาหารหยาบในอัตราส่วน โดยน้ำหนักแห้งคืออาหารข้น 68 ส่วน ต่อ อาหารหยาบ 32 ส่วน แยกบรรจุลงในถุงพลาสติกก่อนนำไปให้โคกิน

การให้อาหารมีวิธีปฏิบัติคือ เทอาหารขึ้นและอาหารหยাবลงในถาดอาหารแล้วใช้มือผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันดีก่อนที่โคจะเข้ามากินอาหารในถาดอาหาร ทั้งนี้เพื่อลดพฤติกรรมการเลือกกินของโคทดลอง อาหารที่โคได้รับจะมีการแบ่งให้ครั้งละเท่า ๆ กันวันละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้าเวลา 9.30 นาฬิกา และช่วงเย็นเวลา 17.30 นาฬิกา ปริมาณอาหารที่ให้มีการปรับทุก ๆ 14 วัน ตามน้ำหนักตัวของโค สำหรับการเก็บอาหารเหลือจะทำการเก็บอาหารทั้งหมดที่โคไม่กินที่เหลืออยู่ในถาดให้อาหารก่อนให้อาหารมื้อเช้าของวันถัดไป ณ เวลา 9.00 นาฬิกา โดยเก็บอาหารเหลือแยกเป็นรายตัว

3.5 วิธีการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ระยะ ดังนี้

1. ระยะปรับสัตว์ก่อนเข้างานทดลอง (preliminary period) นำโคเข้าคอกขังเดี่ยวเพื่อปรับสภาพให้คุ้นเคยกับคอก อาหารและคนเลี้ยงเป็นระยะเวลา 14 วัน ในช่วงนี้ทำการถ่ายพยาธิและฉีดวิตามิน (AD₃E) มีน้ำสะอาดให้กินตลอด และได้รับอาหารผสม (mixed rations) สูตรเดียวกับระยะทดลอง ระหว่างวันที่ 16 กันยายน ถึงวันที่ 29 กันยายน พ.ศ. 2551

2. ระยะทดลอง (experimental period) ทำการเลี้ยงสัตว์เป็นระยะเวลา 69 วัน ซึ่งโคแต่ละตัวจะได้รับอาหารผสมตามทริทเมนต์ที่มีการสุ่มไว้แล้วก่อนเข้าสู่ระยะทดลอง คือ 1.1, 1.5 และ 1.9 เท่าของความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการดำรงชีพ ระหว่างวันที่ 30 กันยายน ถึงวันที่ 7 ธันวาคม พ.ศ. 2551 โดยข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ระหว่างที่ทำการเลี้ยงโคทดลองแสดงในภาคผนวกที่ 2

3.6 การเก็บข้อมูลและตัวอย่าง

3.6.1 ปริมาณการกินได้

ทำการชั่งและบันทึกน้ำหนักอาหารก่อนให้โคกินทั้งมือเช้าและเย็น และทำการชั่งน้ำหนักเพื่อบันทึกปริมาณอาหารเหลือในช่วงเช้าเวลา 09.00 นาฬิกา ก่อนการให้อาหารในวันถัดไป ซึ่งปริมาณการกินได้ของอาหารในแต่ละวัน และปริมาณการกินได้ของอาหารเฉลี่ยต่อวันสามารถประเมินได้จาก (ปริมาณอาหารให้และอาหารเหลือคำนวณเป็นวัตถุแห้งทั้งหมด)

ปริมาณการกินได้ของอาหารในแต่ละวัน = (ปริมาณอาหารมือเช้า + เย็น) - อาหารเหลือ

ปริมาณการกินได้ของอาหารเฉลี่ยต่อวัน =
$$\frac{\text{ปริมาณอาหารที่ให้กินตลอดงานทดลอง}}{\text{จำนวนวันทดลอง (69 วัน)}}$$

3.6.2 น้ำหนักตัว (body weight) และความยาวรอบอก (heart girt)

ทำการบันทึกข้อมูลทุก ๆ 14 วัน รวม 5 ครั้ง (ภาพที่ 3.3) โดยน้ำหนักที่ชั่งได้นำไปคำนวณอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG) เป็นรายตัว และนำไปปรับปริมาณอาหารให้กับโคทุก ๆ 14 วัน โดยอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน หาได้จากความสัมพันธ์เชิงเส้น (regression) ระหว่างน้ำหนักตัวกับจำนวนวันของการทดลอง และได้ความชัน (slope) เป็นค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน จากความสัมพันธ์นี้ความชันที่ได้หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวโคตามเวลาที่เปลี่ยนไป 1 วัน โดยการใช้ Proc REG ของโปรแกรม SAS 6.12 (1996) โดยมีโมเดลของการวิเคราะห์ดังนี้

$$Y = a + bX$$

- เมื่อ Y คือ น้ำหนักตัวของโค (กิโลกรัม)
 X คือ วันของการทดลอง (วัน)
 a คือ จุดตัดแกน Y (intercept)
 b คือ ค่าความชัน (slope) (กิโลกรัม/วัน)

ส่วนความยาวรอบอกที่วัดได้ใช้เป็นตัวแปรอิสระ (independent) เพื่อสร้างสมการทำนายน้ำหนักตัวของโค โดยนำทั้งสองค่ามาสร้างความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยการใช้ Proc REG ของโปรแกรม SAS 6.12 (1996) มีโมเดลของการวิเคราะห์ดังนี้

$$Y = a + bX$$

- เมื่อ Y คือ น้ำหนักตัวของโค (กิโลกรัม)
 X คือ ความยาวรอบอก (เซนติเมตร)
 a คือ จุดตัดแกน Y (intercept)
 b คือ ค่าความชัน (slope)

3.6.3 การสูมเก็บตัวอย่างอาหาร

ในการทดลองครั้งนี้ได้จัดให้โคกินอาหารแบบอาหารผสม (mixed rations) โดยให้หญ้ากินนิสีม่วงแห้งเป็นแหล่งอาหารหยาบ ดังนั้นจึงทำการสูมแยกอาหารที่ให้โคกินเป็น 2 ประเภท

คือ อาหารหยาบและอาหารชั้น ในปริมาณชนิดละประมาณ 1 กิโลกรัมต่อครั้ง ทุก ๆ 7 วัน รวมชนิดละ 10 ครั้ง และนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นบดผ่านตระแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท เพื่อนำมาวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter, DM), โปรตีนหยาบ (crude protein, CP), ไขมัน (ether extract, EE), เถ้ารวม (total ash) และ nitrogen free extract (NFE) ตามวิธีการของ AOAC (1990) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF), เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF) และ ลิกนินที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent lignin, ADL) ตามวิธีการของ Van Soest et al. (1991) เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1997) (การวิเคราะห์แสดงรายละเอียดและวิธีการในภาคผนวกที่ 3)

3.6.4 การสุ่มเก็บตัวอย่างมูล

โดยทำการสุ่มเก็บติดต่อกันตลอด 7 วัน ในช่วงท้ายของระยะทดลอง (วันที่ 48-54 ของระยะทดลอง) โคแต่ละตัวจะถูกสุ่มเก็บมูลที่ขับถ่ายออกมาใหม่ ๆ (ภาพที่ 3.4) ในช่วงเวลา 06.00-12.00 นาฬิกา ของวันที่ทำการเก็บประมาณ 1 กิโลกรัม แล้วนำไปเก็บรักษาในตู้แช่แข็ง (-20 องศาเซลเซียส) เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำมูลของโคเป็นรายตัวที่เก็บมาละลายน้ำแข็ง (defrost) แล้วคลุกเคล้าให้เข้ากันดี แล้วทำการสุ่มเก็บอีกครั้งประมาณ 1 กิโลกรัม นำไปทำการอบร้อนแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แล้วบดผ่านตระแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร และนำไปวิเคราะห์หองค์ประกอบเคมีเช่นเดียวกับตัวอย่างอาหาร เพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ (กฤตพล, 2552) ดังสมการ

$$Y = 100 - ((100 * X * N \text{ ในมูล}) / (Z * N \text{ ในอาหาร}))$$

เมื่อ	Y =	เปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของโภชนะที่หา
	N =	เปอร์เซ็นต์ของโภชนะที่หาที่มีอยู่ในอาหารหรือมูล
	X =	เปอร์เซ็นต์ของ AIA ในอาหาร
	Z =	เปอร์เซ็นต์ของ AIA ในมูล

3.6.5 การสุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะหมัก (rumen fluid)

ใช้ท่อดูดของเหลวแบบสุญญากาศ (vacuum pump stomach tube) สอดผ่านไปยังกระเพาะหมัก ในช่วงสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 55 ของระยะทดลอง) โดยกระทำ ณ ชั่วโมงที่ 0, 3 และ 6 หลังการให้อาหารในมือเช้า (ภาพที่ 3.5) ของเหลวที่ได้ถูกทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องมืออัตโนมัติ (pH meter, INDEX ID 1000) ทันที แล้วทำการสุ่มเก็บตัวอย่างปริมาตร 60 มิลลิลิตร พร้อมทั้งทำการหยุดกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ด้วยการเติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 6 N ปริมาตร 6 มิลลิลิตร (อัตราส่วน ของเหลวจากกระเพาะหมัก 10 ส่วน ต่อ HCl 6 N 1 ส่วน) ในขวดเก็บตัวอย่างขนาดความจุ 120 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปเก็บรักษาในตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการทดลองตัวอย่างจะถูกนำมาละลายน้ำแข็งแล้วนำมาปั่นเหวี่ยงใสที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นใช้ปั่นตะกอนของเหลว ส่วน supernatant มาวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนีย (ammonia nitrogen, $\text{NH}_3\text{-N}$) โดยการกลั่น ตามวิธีการของ Bromner and Keeney (1965) (แสดงรายละเอียดและวิธีการในภาคผนวกที่ 3)

3.6.7 การเก็บตัวอย่างเลือด

โดยเก็บที่หลอดเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein) ของโคแต่ละตัว (ภาพที่ 3.6) ในช่วงสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 55 ของระยะทดลอง) โดยกระทำ ณ ชั่วโมงที่ 0, 3 และ 6 หลังการให้อาหารในมือเช้า ตัวอย่างเลือดนำมาปั่นเหวี่ยงใสทันทีหลังจากเก็บที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที นำส่วนของเหลวใส (plasma) ที่อยู่ด้านบนเก็บรักษาในตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส ทันทีเพื่อรอการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในรูปของยูเรียในพลาสมา (plasma urea nitrogen, PUN) โดยใช้น้ำยาตรวจ Urea liquiUV[®] ของ Human[®] ตามวิธี GLDH method ของ Talke and Schubert (1965) และวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสในพลาสมา (plasma glucose) โดยใช้น้ำยาตรวจของ Human[®] ตามวิธี glucose oxidase method ของ Trinder (1969) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ automate beckman รุ่น CX4 ผลิตจากประเทศสหรัฐอเมริกา (USA) ทั้งสองค่าทำการวิเคราะห์โดยส่งตรวจ ณ สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.6.8 การเก็บข้อมูลค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหาร (metabolizable energy content) และการประเมินค่าความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการดำรงชีพและเจริญเติบโต (metabolizable energy requirement for maintenance and growth)

ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารสามารถวัดได้โดยการนำโคมาขึ้นกรงเมทาบอลิซึม (metabolism cage) ร่วมกับระบบ open circuit respiration with head hood ตามวิธีการของ

Suzuki et al. (2008) (ภาพที่ 3.7) เพื่อทำการวัดการย่อยได้ด้วยวิธีชั่งทั้งหมด (total collection) ร่วมกับการวัดพลังงานที่ปลดปล่อยออกมาในรูปแก๊สมีเทน (methane, CH₄) (Blaxter, 1967; Johnson et al., 2003; Ferrell and Oltjen, 2008) ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของอาหารสามารถประเมินได้ (Pond et al., 2005) ดังนี้

$$ME = GE - (FE + UE + CH_4E)$$

- เมื่อ ME = ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร (metabolizable energy of feed, MJ/kgDM)
 GE = ค่าพลังงานรวมของอาหาร (gross energy of feed, MJ/kgDM)
 FE = ค่าพลังงานที่ขับออกมาในรูปมูล (fecal energy excreted, MJ/kgDM)
 UE = ค่าพลังงานที่ขับออกมาในรูปปัสสาวะ (urine energy excreted, MJ/kgDM)
 CH₄E = ค่าพลังงานที่ขับออกมาในรูปแก๊สมีเทน (methane energy excreted, MJ/kgDM)

ค่าความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการดำรงชีพและเจริญเติบโตสามารถประเมินได้ตามวิธีของ WTSR (2008) โดยใช้ความสัมพันธ์จากสมการเส้นตรง (Proc REG ของโปรแกรม SAS 6.12 (1996)) ระหว่างค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ที่สัตว์ได้รับเฉลี่ยต่อวัน (metabolizable energy intake, MEI kJ/kgBW^{0.75}/d) เป็นแกน Y และค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG g/kgBW^{0.75}/d) เป็นแกน X โดยค่าความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการดำรงชีพ (ME_m) เท่ากับค่า MEI ณ จุดที่ ADG เท่ากับ 0 ส่วนค่าความต้องการพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพื่อการเจริญเติบโตเท่ากับค่า slope ของสมการ

3.6.8 การประเมินค่าความต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพและเจริญเติบโต (protein requirement for maintenance and growth)

ค่าความต้องการความต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพและเจริญเติบโตสามารถประเมินได้ตามวิธีของ WTSR (2008) โดยใช้ความสัมพันธ์จากสมการเส้นตรง (Proc REG ของโปรแกรม SAS 6.12 (1996)) ระหว่างค่าโปรตีนหยาบที่โคได้รับเฉลี่ยต่อวัน (crude protein intake, CPI g/kgBW^{0.75}/d) เป็นแกน Y และค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG g/kgBW^{0.75}/d) เป็นแกน X โดยค่าความต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพ (ME_m) เท่ากับค่า CPI ณ จุดที่ ADG เท่ากับ 0 ส่วนค่าความต้องการโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต (ME_g) เท่ากับค่า slope ของสมการ



3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลเข้าประมวลผลแบบการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (analysis of covariance, ANCOVA) โดยใช้น้ำหนักตัวโคเริ่มต้นเมื่อเข้างานทดลอง (initial body weight) เป็นแหล่งปัจจัยร่วม (covariate) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) และหากแหล่งปัจจัยร่วมไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ข้อมูลจะถูกนำเข้าประมวลผลแบบการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยใช้ Proc GLM (SAS 6.12, 1996) หากพบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าสังเกตของแต่ละทรีทเมนต์อย่างน้อยหนึ่งคู่ จะมีการนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างแบบ Fisher's least significant difference (LSD) และวิเคราะห์แนวโน้มแบบ orthogonal polynomial ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) มีแบบจำลองทางสถิติ ดังนี้

1. แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของแผนการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (analysis of covariance, ANCOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \tau_j + \beta(X_{ij} + \bar{X}) + \epsilon_{ij}$$

เมื่อ Y_{ij} = ค่าสังเกตจากทรีทเมนต์ที่ i , ซ้ำที่ j เมื่อ $j = 1, 2, 3, 4, 5$

X_{ij} = ค่า covariate จากทรีทเมนต์ที่ i , ซ้ำที่ j เมื่อ $j = 1, 2, 3, 4, 5$

μ = ค่าเฉลี่ยของค่าสังเกตทั้งหมด (overall mean)

\bar{X} = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของ covariate

τ_j = อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ที่ i เมื่อ $i = 1, 2, 3$

β = ค่า regression หรือ slope ที่ใช้ในการปรับอิทธิพลเนื่องจาก X ให้กับ Y

ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง (error) เมื่อ $i = 1, 2, 3$ และ $j = 1, 2, 3, 4, 5$

2. แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของแผนการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \tau_j + \epsilon_{ij}$$

เมื่อ Y_{ij} = ค่าสังเกตจากทรีทเมนต์ที่ i , ซ้ำที่ j เมื่อ $j = 1, 2, 3, 4, 5$

μ = ค่าเฉลี่ยของค่าสังเกตทั้งหมด (overall mean)

τ_j = อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ที่ i เมื่อ $i = 1, 2, 3$

ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง (error) เมื่อ $i = 1, 2, 3$ และ $j = 1, 2, 3, 4, 5$

3.8 ระยะเวลาการวิจัย

3.8.1 ทำการทดลองในสัตว์ ระหว่างวันที่ 6 กันยายน ถึงวันที่ 7 ธันวาคม 2551 รวมระยะเวลาทดลอง 83 วัน

3.8.2 ทำการวิเคราะห์ทางเคมี ระหว่างวันที่ 1 มกราคม ถึงวันที่ 15 ธันวาคม 2552

3.8.3 เขียนเล่มวิทยานิพนธ์ ระหว่างวันที่ 1 กันยายน 2552 ถึงวันที่ 20 มกราคม 2553

3.9 สถานที่ทำการวิจัย

3.9.1 สถานที่ทดลองอาหารสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ขอนแก่น โดยความร่วมมือทางวิชาการของ Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS) ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น

3.9.2 ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ขอนแก่น ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น

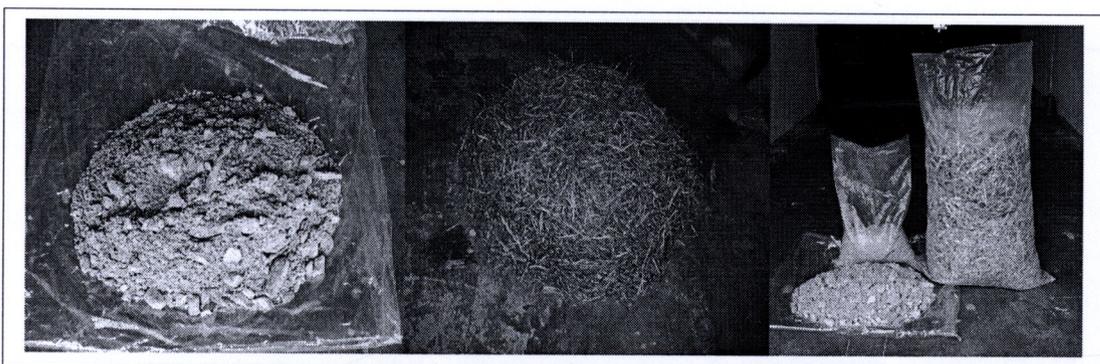
3.9.3 ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.9.4 ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

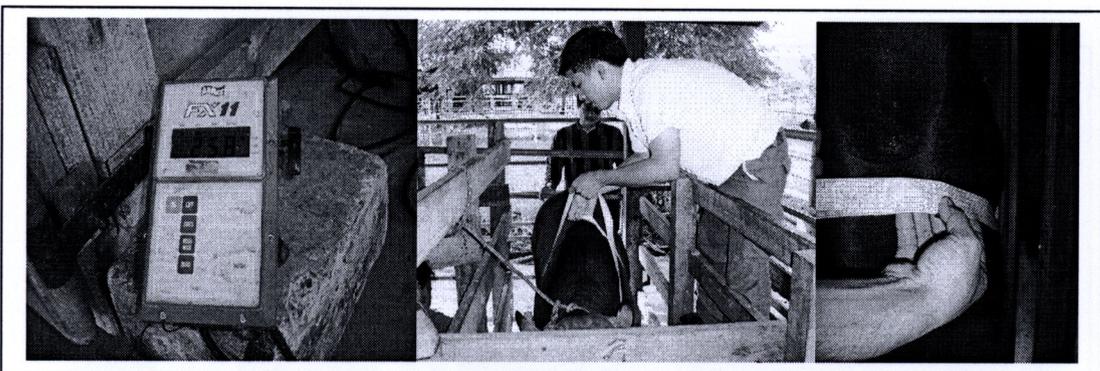
3.9.5 ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ชุดโครงการวิจัยเทคโนโลยีการเพิ่มผลผลิตโคเนื้อ โคนม โคพื้นเมืองไทยอย่างยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



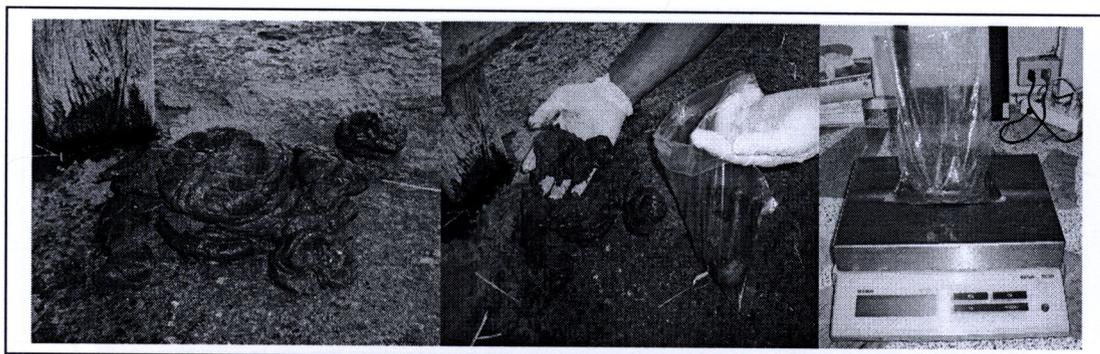
ภาพที่ 3.1 ลักษณะทั่วไปของโคพื้นเมืองไทยเพศผู้ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้



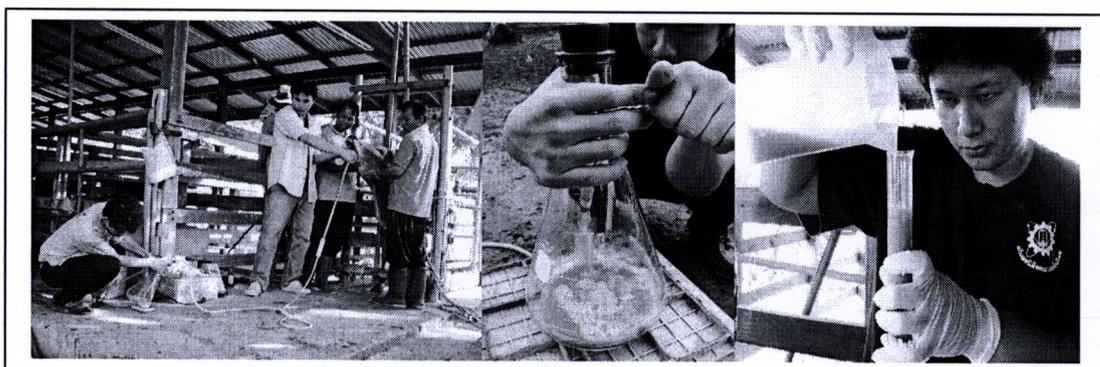
ภาพที่ 3.2 อาหารข้นและหญ้ากินนีสีม่วงแห้ง (purple guinea, *Panicum maximum* TD 58) สับ ให้มีความยาวประมาณ 3-5 เซนติเมตร



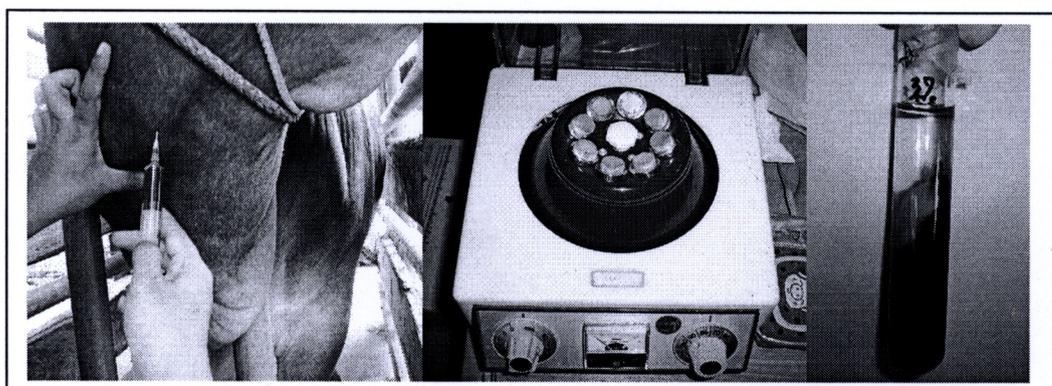
ภาพที่ 3.3 การชั่งน้ำหนักและวัดความยาวรอบอกโคพื้นเมืองไทยเพศผู้ทุก ๆ 14 วัน ตลอดการทดลอง



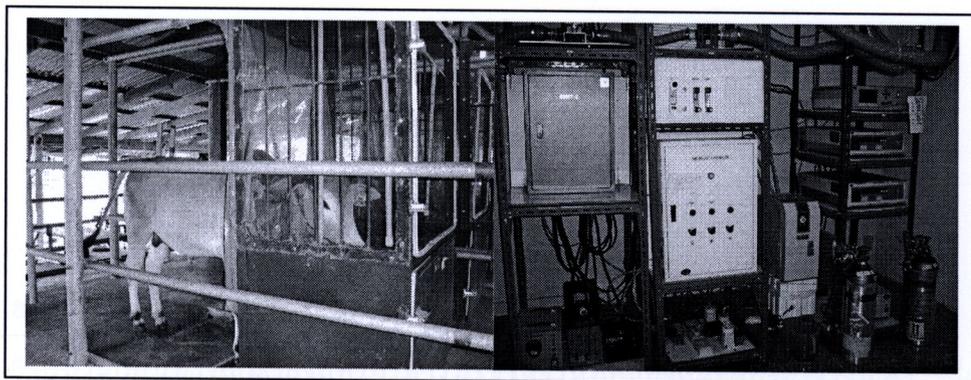
ภาพที่ 3.4 การสุ่มเก็บมูลโคพื้นเมืองไทยที่จับถ่ายออกมาใหม่ ๆ ในช่วง 06.00-12.00 น. ครั้งละประมาณ 1 กิโลกรัม ตลอด 7 วัน ของช่วงทำงานทดลอง



ภาพที่ 3.5 การดูเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะหมัก ณ ชั่วโมงที่ 0, 3 และ 6 หลังการให้อาหารในมือเช้า ในช่วงท้ายของการทดลอง



ภาพที่ 3.6 การเก็บตัวอย่างเลือดที่หลอดเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein) ณ ชั่วโมงที่ 0, 3 และ 6 หลังการให้อาหารในมือเช้า ในช่วงท้ายของการทดลอง



ภาพที่ 3.7 กรงเมทาบอลิซึม (metabolism cage) ร่วมกับระบบ open circuit respiration with head hood