บทที่ 3
วิธีการวิจัย

การวิจัยคุณค่าทางอาหารและการย่อยได้ของกากส่าเหล้าในอาหารโคนม มีระยะเวลา สถานที่ อุปกรณ์การดำเนินงานและวิธีการดำเนินการวิจัยดังต่อไปนี้

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เวลา เริ่มดำเนินการ เดือน กรกฎาคม 2547
เสร็จสิ้น เดือน พฤษภาคม 2548

สถานที่ทำการวิจัย

สถานที่ 1. ฟาร์มโคนม สาขาโคนม-โคเนื้อ ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรม การเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้
2. ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

อุปกรณ์การดำเนินงาน

1. โคนมเพศผู้ตอนพันธุ์ลูกผสม (โฮลสไตน์ฟรีเซียน x พื้นเมือง) ที่ผ่าตัดเจาะกระเพาะรูเมนแล้ว อายุ 4 ปี น้ำหนัก 350 $\pm$ 50 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว
2. โรงเรือนแบบผูกยืนโรงซึ่งมีบริเวณให้อาหารและน้ำแยกอิสระต่อกัน
3. เครื่องชั่งน้ำหนักขนาด 7 กิโลกรัม และ 500 กิโลกรัม
4. ถุงไนลอน ขนาด 9 x 14 เซนติเมตร มีขนาดรูถุง (pore size) 45 ไมโครเมตร
5. สายยางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ยาว 1 ฟุต จำนวน 28 เส้น
6. เชือกขนาด 2 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 1 เมตร
7. อุปกรณ์ทำความสะอาดถุงไนลอน
8. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำความสะอาดคอกโคทดลอง

9. อุปกรณ์ที่ใช้ในการให้อาหารโคทดลอง
10. อุปกรณ์และชุดวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะในห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์
11. เครื่องมือวัดค่า pH
12. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างอาหารและมูล
13. อุปกรณ์สำหรับการทดลองโดยใช้ชุดหมักเทียม (ANKOM Daisy^{II}) ตามวิธี *in vitro* true digestibility (IVTD)
14. ถุงโพลีเอสเตอร์ (filter bags) ขนาด 5 x 5.5 เซนติเมตร มีขนาดรูถุง (pore size) 25 ไมโครเมตร
15. กระบอกเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน
16. ถังก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

วิธีการดำเนินการวิจัย

การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในกากส่าเหล้า แบ่งการทดลองเป็น 3 การทดลองคือ

การทดลองที่ 1 การศึกษาการสลายตัวของอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นภายในกระเพาะรูเมนโดยวิธีใช้ถุงไนลอน (nylon bag technique)

การทดลองที่ 2 การศึกษาการสลายตัวของอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นโดยใช้ชุดกระเพาะหมักเทียม (ANKOM Daisy^{II}) ตามวิธี *in vitro* true digestibility (IVTD)

การทดลองที่ 3 การศึกษาการย่อยได้ของอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นโดยวิธีการใช้สารบ่งชี้ (indicator method) คือ เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash; AIA)

ในแต่ละการทดลองวางแผนการทดลองเป็นแบบ 4 x 4 latin square design โดยใช้อาหารทดลอง 4 สูตรดังนี้

สูตรที่ 1 กากส่าเหล้า 100 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 2 กากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ผสมรำละเอียด 50 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 3 กากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ผสมรำละเอียด 25 เปอร์เซ็นต์และรำหยาบ 25 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 4 กากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ผสมข้าวโพดบด 50 เปอร์เซ็นต์

การเตรียมอาหารทดลอง

กากส่าเหล้าที่ใช้ในการทดลองเป็นกากส่าเหล้าที่ได้จากการผลิตเหล้าพื้นเมืองจากข้าวเหนียว ที่ผลิตจากห้างหุ้นส่วนร้องขุ้มการสุราจำกัด ตำบลบ้านแม อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ลักษณะกากส่าเหล้าเป็นเศษข้าวที่เหลือจากการกลั่นเหล้า จากนั้นนำมาผึ่งให้หมาด แล้วนำไปผสมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์คือ รำละเอียด รำหยาบ และข้าวโพดบด ในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่มการทดลอง ตามสูตรอาหารทดลอง คือ

อาหารทดลองสูตรที่ 1 ใช้กากส่าเหล้า 100 เปอร์เซ็นต์หมักเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ผึ่งไว้พอหมาดจากนั้นนำไปอัดเส้นเป็นเม็ดแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

อาหารทดลองสูตรที่ 2 ใช้กากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ผสมรำละเอียด 50 เปอร์เซ็นต์ หมักไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นนำไปอัดเส้นเป็นเม็ด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

อาหารทดลองสูตรที่ 3 ใช้กากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ผสมรำละเอียด 25 เปอร์เซ็นต์และรำหยาบ 25 เปอร์เซ็นต์ หมักไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นนำไปอัดเส้นเป็นเม็ด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

อาหารทดลองสูตรที่ 4 ใช้กากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ผสมข้าวโพดบด 50 เปอร์เซ็นต์ หมักไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

การทดลองที่ 1 การศึกษาการสลายตัวของโภชนะในอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นภายในกระเพาะรูเมนโดยวิธีใช้ถุงไนลอน (nylon bag technique)

ศึกษาการสลายตัวของกากส่าเหล้าและอาหารทดลองที่ผสมกากส่าเหล้าภายในกระเพาะรูเมนโดยวิธีใช้ถุงไนลอนตามวิธีการของ Ørskov and Mc Donald (1979)

วิธีการทดลอง

ถุงไนลอนที่ใช้ทดลองมีขนาดรูถุง 45 ไมโครเมตร มีขนาดถุง 9 x 14 เซนติเมตร สุ่มตัวอย่างอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและบดผ่านตะแกรงบดขนาด 1 มิลลิเมตร นำตัวอย่างอาหารประมาณ 5 กรัม ใส่ในถุงไนลอนที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และทราบน้ำหนักถุงที่แน่นอน มัดปากถุงให้แน่น แล้วมัดถุงไนลอนติดกับสายยางแล้วนำไปร้อยใส่เชือก จากนั้นนำไปแช่บ่มในกระเพาะรูเมนตามช่วงเวลาดังนี้ 2, 4, 8, 16, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง แต่ละช่วงเวลาใช้ถุงไนลอน 3 ซ้ำต่อโคทดลอง 1 ตัว เมื่อ

ครบกำหนดเวลา นำถุงไนลอนออกจากกระเพาะรูเมน โดยนำถุงออกมาพร้อมกับตัวอย่างถุงที่เวลา 0 ชั่วโมง (ที่เวลา 0 ชั่วโมง นำตัวอย่างทดลองไปแช่ในน้ำอุ่น อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ในการล้างถุงไนลอนจะนำถุงทั้งหมดล้างในภาชนะที่มีน้ำไหลตลอดเวลา เพื่อขจัดเศษอาหารที่ติดอยู่ตามนอกถุงออกให้หมดจนกว่าน้ำจะใส จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำไปใส่โถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักที่เหลือ หลังจากนั้นนำกากอาหารไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อคำนวณค่าวัตถุแห้ง นำกากอาหารไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณอินทรียวัตถุ และนำกากอาหารที่เหลือไปวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย โปรตีน และเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (NDF) จากนั้นคำนวณหาปริมาณโภชนะที่สลายตัว (disappearance) ในกระเพาะรูเมนที่เวลาการแช่ม่ต่าง ๆ จากสมการดังต่อไปนี้

$$\% \text{ DM disappearance} = \left[\frac{(W1+W2) - W3}{W2} \right] X \ 100$$

เมื่อ W1 = น้ำหนักถุง

W2 = น้ำหนักตัวอย่าง

W3 = น้ำหนักถุง + ตัวอย่างหลังการแช่ในกระเพาะรูเมน

ค่าการสลายตัวของโภชนะที่ชั่วโมงต่าง ๆ ที่ได้นำมาคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของการสลายตัวของโภชนะ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY (Chen, 1995) โดยใช้สมการจาก Ørskov and Mcdonald (1979) ดังนี้

$$P = a + b\,(1 - e^{-ct})$$

เมื่อ P = ค่าการย่อยสลายที่ช่วงเวลาต่าง ๆ (%)

a = ส่วนที่ละลายได้ทันที (%)

b = ส่วนที่ไม่ละลายแต่สามารถเกิดขบวนการหมักได้ (%)

e = log ฐาน 10

c = อัตราการย่อยสลายของ b (h^{-1})

t = ช่วงระยะเวลาต่าง ๆ

หลังจากคำนวณค่าการสลายตัวโดยโปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY จะได้ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของการสลายตัวในกระเพาะรูเมนได้แก่ค่า a คือส่วนที่ละลายได้ทันที (immediately soluble

fraction) ค่า b คือส่วนที่ไม่ละลายแต่สามารถถูกย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ (degradability of insoluble fraction) ค่า a+b คือศักยภาพในการย่อยสลายได้ (potential degradability) ค่า c คืออัตราการย่อยสลาย (degradation rate) ค่า L คือช่วงเวลาที่เริ่มถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ (lag time) และค่า $ED_{0.02}$ $ED_{0.05}$ และ $ED_{0.08}$ คือประสิทธิภาพการย่อยสลาย (effective degradation) ที่อัตรา 0.02, 0.05 และ 0.08 ส่วนต่อชั่วโมง ตามลำดับ

สัตว์ทดลองและการให้อาหาร

ใช้โคนมเพศผู้ตอนพันธุ์ลูกผสม (โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน x พื้นเมือง) อายุ 4 ปี จำนวน 4 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 350 ± 50 กิโลกรัม แต่ละตัวถูกเจาะกระเพาะแบบถาวร (permanent rumen fistula) โคทุกตัวอยู่ในคอกผูกยืนโรงที่มีบริเวณที่ให้อาหารและน้ำกินอย่างอิสระตลอดเวลา วางแผนการทดลองแบบ Latin Square Design กลุ่มการทดลอง 4 กลุ่มตามชนิดของอาหารข้น คือ กากส่าเหล้า 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1) กากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับรำละเอียด 50 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) กากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับรำละเอียด 25 เปอร์เซ็นต์และรำหยาบ 25 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 3) และกากส่าเหล้า 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับข้าวโพดบด 50 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 4)ให้อาหารข้นในอัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว อาหารหยาบ คือ หญ้ารูซี่สด ให้ในอัตรา 2 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ของน้ำหนักตัว หรือประมาณ 5.2 กิโลกรัมวัตถุแห้ง ต่อตัวต่อวันโดยให้อาหารวันละ 2 เวลา คือ 7.00 น. และ 18.00 น. ให้โคกินอาหารข้นก่อนให้อาหารหยาบทุกครั้ง ก่อนทำการทดลองแช่ถุงไนลอนในกระเพาะรูเมน ให้อาหารทดลองในระยะก่อนการทดลองเป็นเวลา 14 วัน เพื่อให้ตัวสัตว์ทดลองและจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนได้ปรับสภาพกับอาหารที่จะใช้ทดลอง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการสลายตัวของโภชนะในอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่น ใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Latin Square Design และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองด้วยวิธี least significant difference โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)

การทดลองที่ 2 การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นโดยใช้ชุดกระเพาะหมักเทียมตามวิธี *in vitro* true digestibility (IVTD)

ศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่น โดยวิธี *in vitro* true digestibility (IVTD) ซึ่งวิธีนี้ได้รับการปรับปรุงมาจาก 2 วิธีการของ Tilly and Terry (1963) เพื่อให้ผลการทดลองที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นและลดแรงงานในการทดลอง เนื่องจากเป็นการใช้เครื่องมือแทนสัตว์ทดลอง ผลการทดลองที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับการทดลองด้วยวิธีการอื่น ๆ ในการทดลองด้วยวิธีนี้ใช้เครื่องมือชุดกระเพาะหมักเทียม (ANKOM Daisy^{II}) (Holden, 1999)

วิธีการทดลอง

เตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง ส่วนประกอบของสารละลายดังแสดงในตาราง 13 เตรียมสารละลาย A โดยการผสมสารเคมี KH_2PO_4 จำนวน 10 กรัม สาร $MgSO_4.7H_2O$ จำนวน 0.5 กรัม สาร NaCl จำนวน 0.5 กรัม สาร $CaCl_2.2H_2O$ จำนวน 0.1 กรัม และยูเรีย จำนวน 0.5 กรัม ลงในน้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized water) จำนวน 1 ลิตร เตรียมสารละลาย B โดยการผสมสารเคมี Na_2CO_3 จำนวน 15 กรัม และสาร $Na_2S.9H_2O$ จำนวน 1.0 กรัม ลงในน้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized water) จำนวน 1 ลิตร

เตรียมตัวอย่างอาหารทดลองทั้ง 4 ชนิดใส่ในถุงที่ชั่งน้ำหนักและเขียนหมายเลขแล้ว โดยสุ่มตัวอย่างอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและบดผ่านตะแกรงบดขนาด 1 มิลลิเมตร จากนั้นชั่งตัวอย่างอาหาร 0.5 กรัมลงในถุงแล้วปิดปากถุงให้สนิทด้วยเครื่องทำความร้อน จากนั้นนำถุงที่มีอาหารทดลองใส่ลงในโถที่ใช้กับชุดการทดลองโดยใช้เครื่องมือชุดกระเพาะหมักเทียม ANKOM Daisy^{II} ในหนึ่งโถสามารถใส่ได้ 25 ถุง เติมสารละลาย A จำนวน 1,330 มิลลิลิตร และ สารละลาย B จำนวน 266 มิลลิลิตร ลงในโถ แล้วนำไปแช่บ่มที่อุณหภูมิ 39.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

ตาราง 13 ส่วนประกอบของสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี		กรัม/ลิตร
Buffer Solution A		
Potassium dihydrogen phosphate	(KH_2PO_4)	10.0
Magnesium sulfate-heptahydrate	($MgSO_4 7H_2O$)	0.5
Sodium chloride	(NaCl)	0.5
Calcium chlorid-dihydrate	($CaCl_2.2H_2O$)	0.1
Urea (reagent grade)	(NH_2)	0.5
Buffer Solution B		
Sodium Carbonate anhydrous	(Na_2CO_3)	15.0
Sodium sulphide nanohydrate	($Na_2S.9H_2O$)	1.0

ที่มา : Holden (1999)

เตรียมของเหลวจากกระเพาะรูเมน โดยเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมนพร้อมด้วยอาหารที่อยู่ในกระเพาะรูเมน ซึ่งเป็นอาหารชนิดเดียวกับอาหารที่ใช้ทดลอง ใส่ลงในกระบอกสุญญากาศจนเต็ม จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นแล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง ตวงให้ได้ปริมาตร 400 มิลลิลิตร แล้วนำลงใส่ในโถ พร้อมทั้งเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นนำโถเข้าแช่บ่มในเครื่องมือชุดกระเพาะหมักเทียม ANKOM Daisy^{II} ที่อุณหภูมิ 39.5 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนดเวลานำออกมาล้างด้วยน้ำจนสะอาด แล้วนำถุงเข้าอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักที่เหลือและสุ่มตัวอย่างอาหารเพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารคือ วัตถุแห้ง ความชื้น เถ้า โปรตีน เยื่อใย และ NDF นำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปคำนวณค่าการย่อยได้ของโภชนะจากสูตร

$$\%\ IVTD = 100 - \left[\frac{(w3 - (w1 \times w4)) \times 100}{w2} \right]$$

โดย w1 = น้ำหนักถุงเปล่า w2 = น้ำหนักอาหารทดลอง w3 = น้ำหนักถุงพร้อมอาหารทดลอง
w4 = น้ำหนัก blank (น้ำหนัก blank หลังการแช่บ่ม / น้ำหนัก blank)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการย่อยได้ของโภชนะในอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่น ใช้วิธีวิเคราะห์วาเรียนซ์ (analysis of variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Latin Square Design และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองด้วยวิธี least significant difference โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)

การทดลองที่ 3 การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารข้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นด้วยวิธีใช้สารบ่งชี้ (indicator method)

สารบ่งชี้ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash ; AIA) ซึ่งเป็นสารที่มีอยู่แล้วในอาหารทดลอง

วิธีการทดลอง

ให้โคทดลองได้รับอาหารที่ผสมกากส่าเหล้าทั้ง 4 สูตรร่วมกับอาหารหยาบคือหญ้าสด โดยให้หญ้าสดคิดเป็น 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ประมาณ 5.2 กิโลกรัมวัตถุแห้งต่อตัวต่อวัน ในแต่ละระยะของการทดลอง (period) ใช้เวลาทั้งหมด 20 วัน โดย 14 วันแรก เพื่อให้โคทดลองและจุลินทรีย์ภายในกระเพาะรูเมนได้ปรับตัวให้เข้ากับอาหารทดลองที่ได้รับ (preliminary period) และ 6 วันสุดท้ายสำหรับเก็บข้อมูล (collection period) บันทึกปริมาณอาหารที่กินทั้งอาหารข้น อาหารหยาบและมูล สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารที่สัตว์กิน (อาหารข้นและอาหารหยาบ) และ มูลในช่วง 6 วันสุดท้ายโดยสุ่มรายตัว และเก็บทุก ๆ วันติดต่อกัน สุ่มเก็บตัวอย่าง 3 ครั้งต่อวัน คือเวลา 7.00 น. 12.00 น. และ 18.00 น. ในแต่ละเวลาสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 500 กรัม นำมูลที่ได้จากตัวสัตว์ในแต่ละวันมาผสมกันแล้วสุ่มมาประมาณ 500 กรัม นำมาอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสจนแห้ง หลังจากนั้นนำมาวิเคราะห์หา AIA รวมทั้งโภชนะที่เหลืออยู่ในมูลเพื่อหาการย่อยได้ของโภชนะดังนี้

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของสิ่งแห้ง (\%)} = 100 - 100 \times \left[\frac{\%\text{AIA ในอาหาร}}{\%\text{AIA ในมูล}} \right]$$

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (\%)} = 100 - 100 \times \left[\frac{\%\text{AIA ในอาหาร} \times \%\text{ โภชนะในมูล}}{\%\text{AIA ในมูล} \times \%\text{ โภชนะในอาหาร}} \right]$$

การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการย่อยได้ของโภชนะในอาหารชั้นที่มีกากส่าเหล้าและอาหารชั้นที่มีกากส่าเหล้าร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่น ใช้วิธีวิเคราะห์วาเรียนซ์ (analysis of variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Latin Square Design และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองด้วยวิธี least significant difference โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)