

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

กากสับป่นที่นำมาศึกษาได้จากขบวนการผลิตไบโอดีเซลจากเครื่องผลิตขนาดเล็ก ซึ่งทำการสกัดน้ำมันออกโดยการบีบอัดแบบเชิงกล การทดลองประกอบด้วย ๒ ส่วน โดยส่วนแรกจะดำเนินการในห้องปฏิบัติการ ส่วนหลังจะดำเนินการนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ทดลอง ซึ่งได้แก่ สัตว์ปีกและสุกร ทั้งนี้การศึกษาในส่วนแรกจะประกอบด้วย การหาวิธีการลดสารพิษ การหาองค์ประกอบทางเคมี การหาปริมาณสารสารยับยั้งทริปซิน สารซาโปนิน สารฟอรับอลเอสเทอร์ การหาค่าการย่อยได้ และค่าพลังงานใช้ประโยชน์ โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ส่วนห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย

๑) การหาวิธีการลดสารพิษ และหาองค์ประกอบทางเคมี

- เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดไฟฟ้า มี ๒ ขนาด คือ
 - ขนาดชั่งได้สูงสุด ๑๒,๐๐๐ ก. มีความละเอียดอ่านได้ ๐.๑ ก. สำหรับชั่งมวลสดในการหาค่า ME และการย่อยได้
 - ขนาดชั่งได้สูงสุด ๒๒๐ ก. มีความละเอียดอ่านได้ ๐.๐๐๐๑ ก. สำหรับชั่งตัวอย่าง (อาหารและมูล) ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis)
- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บมูลไก่ โดยนำมูลไก่ใส่ถุงพลาสติกแช่แข็งเพื่อรอการอบแห้ง
- ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)
- โถอบแห้ง (desiccator) ที่บรรจุซิลิกาเจล (silica gel)
- เตาเผา (muffle furnace)
- ช้อนตักสาร (spatula)
- แท่งแก้ว (glass rod)
- ปิเปตอัตโนมัติ (autopipette)
- เครื่องบดตัวอย่างอาหารและมูลไก่ ขนาดบดละเอียด ๑ มม.
- เครื่องย่อย (digestion apparatus) และเครื่องกลั่น (distillation apparatus)
- เครื่องสกัดไขมัน (soxhlet apparatus)
- เครื่องหาเยื่อใย (crude fiber apparatus) และปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump)

- เครื่องวิเคราะห์หาค่าพลังงานรวม (Ballistic bomb calorimeter)

๒) การหาค่า ME และการย่อยได้

๒.๑) สัตว์ปีก

- กรงขังเดี่ยว (metabolic cage) สำหรับการศึกษาค่า ME และการย่อยได้ กรงมีขนาด ๔๓×๓๖×๕๑ ซม. ใต้กรงมีถาดรองรับมูลซึ่งเป็นถาดอะลูมิเนียมรองด้วยพลาสติกใส
- ไก่พันธุ์ไข่เพศผู้โตเต็มที่ อายุประมาณ ๖ เดือน จำนวน ๑๖ ตัว
- กระจกฉีดยา (syringe) และสายยาง เพื่อสอดไปที่กระเพาะพัก (crop) ของไก่ทดลอง
- เครื่องชั่งชนิดไฟฟ้า ขนาดชั่งได้สูงสุด ๓,๑๑๐ ก. มีความละเอียดอ่านได้ ๐.๐๑ ก. สำหรับชั่งตัวอย่างอาหารที่ใช้กรอกปากไก่

๒.๒) สุกร

- กรงขังเดี่ยว (metabolic cage) สำหรับการศึกษาค่าการย่อยได้
- สุกรลูกผสม Duroc × Large white – Landrace เพศผู้ตอน น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย ๗๐ กก. จำนวน ๕ ตัว
- Ferric oxide (Fe_2O_3) ใช้เป็นสารบ่งชี้ในอาหาร
- เครื่อง Electrometric titration ใช้วัด pH ในปัสสาวะสุกร
- ใช้เครื่องชั่ง ๒ ชนิด คือ
 - เครื่องชั่งแบบสปริง ขนาดชั่งได้สูงสุด ๕๐๐ กก. มีความละเอียดอ่านได้ ๐.๑ ก. สำหรับชั่งน้ำหนักมูลสุกร
 - เครื่องชั่งแบบไฟฟ้า ขนาดชั่งได้สูงสุด ๓,๑๑๐ ก. มีความละเอียดอ่านได้ ๐.๐๑ ก. สำหรับชั่งตัวอย่างอาหาร

๓) การหาปริมาณสารพิษ (สารฟอรับอลเอสเทอร์ และสารยับยั้งทริปซิน)

- เครื่องทำตัวอย่างให้แห้งอุณหภูมิต่ำควบคุมแรงดัน (freeze dryer)
- เครื่องระเหยสารควบคุมแรงดัน (rotary evaporation)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตะกอน (centrifuge)
- เครื่องเขย่าสารความถี่สูง (sonicate)
- เครื่องนึ่งความดัน (autoclave)
- เครื่องผสมสาร (vortex mixer)

- เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography; HPLC)
- คอลัมน์ชนิด reversed phase column; Ultra C₁₈ ขนาด ๒๕๐×๔.๖ มม. (LiChrospher ๑๐๐, end-capped ๕ ไมครอน.) ยี่ห้อ Restek
- Water bath (temperature ๓๗ ± ๐.๕ °C)
- Test tubes
- Vortex, stirrer
- Magnetic stirrer
- pH meter
- เครื่อง Spectrophometer
- Flask ขนาด ๑๐๐ และ ๒๕๐ ml.
- Magnetic stirrer
- Nitrogen flushing
- Finely ground

ส่วนฟาร์มทดลอง ประกอบด้วย

๑) การศึกษาในสัตว์ปีก แบ่งเป็น

ไก่เนื้อ

- ไก่เนื้อสายพันธุ์อาร์เบอร์เอเคอร์ (Arbor acre) เพศผู้ อายุ ๑ สัปดาห์ จำนวน ๑,๔๐๐ ตัว
- คอกทดลองแบบปล่อยพื้น ขนาดคอกละ ๑.๕×๔.๐ ตร.ม. จุไก่เนื้อคอกละ ๗๐ ตัว มีจำนวน ๒๐ คอก อยู่ภายในโรงเรือนเดียวกัน ซึ่งเป็นโรงเรือนปิด ใช้ระบบการระเหยน้ำ (Evaporative cooling system)
- เครื่องชั่งน้ำหนักมี ๓ ชนิด คือ
 - แบบไฮดรอลิก ขนาดชั่งได้สูงสุด ๑๕๐ กก. ความละเอียดอ่านได้ ๕๐ ก. สำหรับชั่งน้ำหนักอาหาร และน้ำหนักไก่
 - แบบสปริง ใช้ชั่งไก่ โดยดัดแปลงตรงจากรองให้เป็นกรวยสำหรับใส่ไก่ แต่ละตัว ขนาดชั่งได้สูงสุด ๓.๐ กก. ความละเอียดอ่านได้ ๑๐ ก.

- แบบไฟฟ้า ขนาดซังได้สูงสุด ๓,๑๑๐ ก. ความละเอียดที่อ่านได้ ๐.๐๑ ก. สำหรับซังสารผสมล่วงหน้า ซึ่งได้แก่ วิตามิน แร่ธาตุ เกลือ ไค แคลเซียมฟอสเฟต กรดอะมิโน (ดีแอล-เมทไธโอนีน และแอล-ไลซีน)
- เครื่องผสมอาหารสัตว์ แบบนอน (horizontal mixer) ขนาดผสมได้สูงสุดครั้งละ ๑๐๐ กก.
- ถังใส่อาหารพร้อมฝาปิด ขนาดบรรจุอาหารได้ถึงละ ๑๐ กก.
- ภาชนะใส่น้ำขนาด ๒ ลิตร ใช้ในช่วงอายุ ๑-๒ สัปดาห์ หลังจากนั้นใช้รางน้ำอัตโนมัติแบบหยด และภาชนะใส่อาหารแบบแขวน จำนวนคอกละ ๓ ใบ
- เครื่องกกลูกไก่ (hired hand heater) สำหรับให้ความอบอุ่นแก่ลูกไก่ในระยะกก ซึ่งจะเลิกใช้เมื่อไก่เนื้อมีอายุครบ ๔ สัปดาห์

ไก่ไข่

- ไก่ไข่ลูกผสมพันธุ์ช่าบราวน์ (Isa Brown) อายุ ๒๔ สัปดาห์ จำนวน ๒๔๐ ตัว
- กรงตับ แบบขังเดี่ยวชั้นเดียว ขนาดช่องละ ๒๔x๔๐x๓๖ ซม. จำนวน ๒๔๐ ช่องสำหรับใส่ไก่ไข่ ตั้งแต่เริ่มจนถึงเสร็จสิ้นการทดลอง
- รางน้ำและรางอาหาร ลักษณะเป็นรางยาวตลอดแถว ซึ่งแต่ละแถวมีกรงไก่อยู่จำนวน ๑๐๔ ช่อง ส่วนของรางอาหารจะทำแผ่นไม้กั้นแยกออกจากกันในแต่ละซ้า เพื่อกันไม่ให้ไก่ข้ามไปกินอาหารของกลุ่มอื่น ส่วนรางน้ำอยู่ตรงกลางด้านบนของ ๒ แถวที่หันหลังชนกัน เพื่อใช้ร่วมกันยาวตลอดทั้งแถว
- เครื่องชั่งน้ำหนักมี ๒ ชนิด คือ
 - แบบสปริง ใช้ชั่งไก่โดยตัดแปลงตรงจากรองให้เป็นกรวยสำหรับใส่ไก่เพื่อชั่งเป็นรายตัว ขนาดซังได้สูงสุด ๓ กก. ความละเอียดอ่านได้ ๑๐ ก. และเครื่องชั่งชนิดซังได้สูงสุด ๖๐ กก. สำหรับชั่งอาหาร ซึ่งชั่งเป็นรายซ้า
 - แบบใช้ไฟฟ้า ขนาดซังได้สูงสุด ๓,๑๑๐ ก. ความละเอียดที่อ่านได้ ๐.๐๑ ก. สำหรับซังสารผสมล่วงหน้า และชั่งน้ำหนักไข่ไก่
- เครื่องผสมอาหารแบบนอน ขนาดผสมได้สูงสุดครั้งละ ๑๐๐ กก.
- เครื่องวัดความหนาเปลือกไข่แบบ TelCock มีความละเอียดอ่านได้ ๐.๐๐๑ มม. วัดความหนาเปลือกไข่ ๓ ตำแหน่ง (ด้านบน กลาง และด้านแหลม) ของฟองไข่ โดยลอกเยื่อหุ้มเปลือกไข่ออกก่อนวัด จากนั้นนำไปหาค่าเฉลี่ยความหนาของเปลือกไข่จากทั้ง ๓ ตำแหน่งดังกล่าว

- เครื่องวัดความสูงไข่ขาว ยี่ห้อ TTS ใช้วัดความสูงไข่ขาวบริเวณกึ่งกลางระหว่าง
ขั้วไข่ขาวชั้นทั้งสองขั้ว โดยให้ห่างจากไข่แดงประมาณ ๑ ซม. แล้วนำค่าที่ได้มา
คำนวณค่า Haugh Unit
- พัดเทียบสีไข่แดง ใช้ของบริษัทโรช (Roche yolk color fan) มีค่าความเข้มของสี
จากน้อยถึงมากตั้งแต่เบอร์ ๑ ถึง ๑๕

๒) การศึกษาในสุกร

- a. สุกรขุนสามสายเลือด (Duroc x Large white – Landrace) น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย
๒๐ กก. จำนวน ๔๐ ตัว เป็นเพศผู้จำนวน ๒๐ ตัว เพศเมีย ๒๐ ตัว
- b. ดอกพืชนุ่นขนาด ๑.๕ x ๒ ตารางเมตร จุสุกรคอกละ ๑ ตัว มีจำนวน ๔๐
คอก อยู่ในโรงเรือนเดียวกัน
- c. เครื่องชั่งขนาด ๖๐ และ ๒๐๐ กก. สำหรับชั่งอาหาร และน้ำหนักสุกร
- d. เครื่องผสมอาหารแบบนอน ขนาดผสมได้สูงสุดครั้งละ ๑๐๐ กก.
- e. ภาชนะใส่อาหารพร้อมฝาปิด ขนาดบรรจุอาหารได้ถึงละ ๕๐ กก.
- f. อุปกรณ์ให้น้ำแบบอัตโนมัติแบบหัวนิบเปิด จำนวน ๑ หัวอยู่ที่ท้ายคอก
- g. อุปกรณ์ให้อาหารแบบรางปูนซีเมนต์ยาว ๐.๕ ม. จำนวน ๑ รางอยู่หน้าคอก



วิธีการทดลอง

- การศึกษาในห้องปฏิบัติการ มี ๓ การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ ๑ : การลดสารพิษและการหาองค์ประกอบทางเคมีของกากสบูดำ

การลดสารพิษ

■ กากสบูดำจากหน่วยวิจัยสบูดำฯ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำกากสบูดำที่ได้จากการสกัดน้ำมันออกโดยกระบวนการบีบอัดแบบเชิงกล (mechanical pressing) เพื่อนำไปทำไบโอดีเซล ของภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไปลดสารพิษด้วยวิธีการ ดังนี้

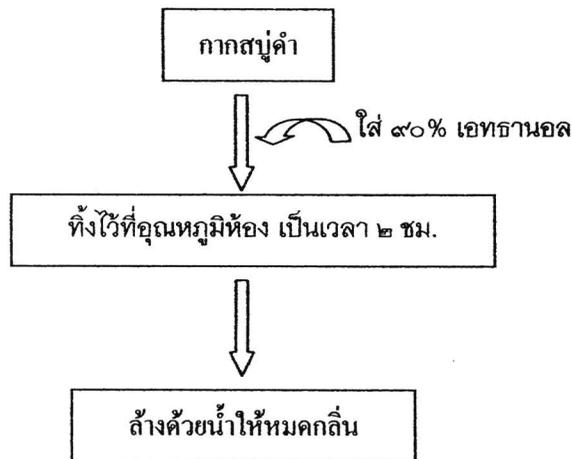
๑) แบบไม่ผ่านความร้อน ทำโดยใส่ ๙๐% เมทธานอล ลงไปในกากสบูดำใน อัตราส่วน ๑๐:๑ (v/w) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา ๒ ชม. ล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๙)

๒) แบบผ่านความร้อน จำแนกเป็น

๒.๑ ใช้ autoclave ที่อุณหภูมิ ๑๒๑ °ซ ภายใต้ความดัน ๑๕ psi เป็นเวลา ๒๐ นาที มี ๗ วิธี (ภาพ ๑๐) ดังนี้

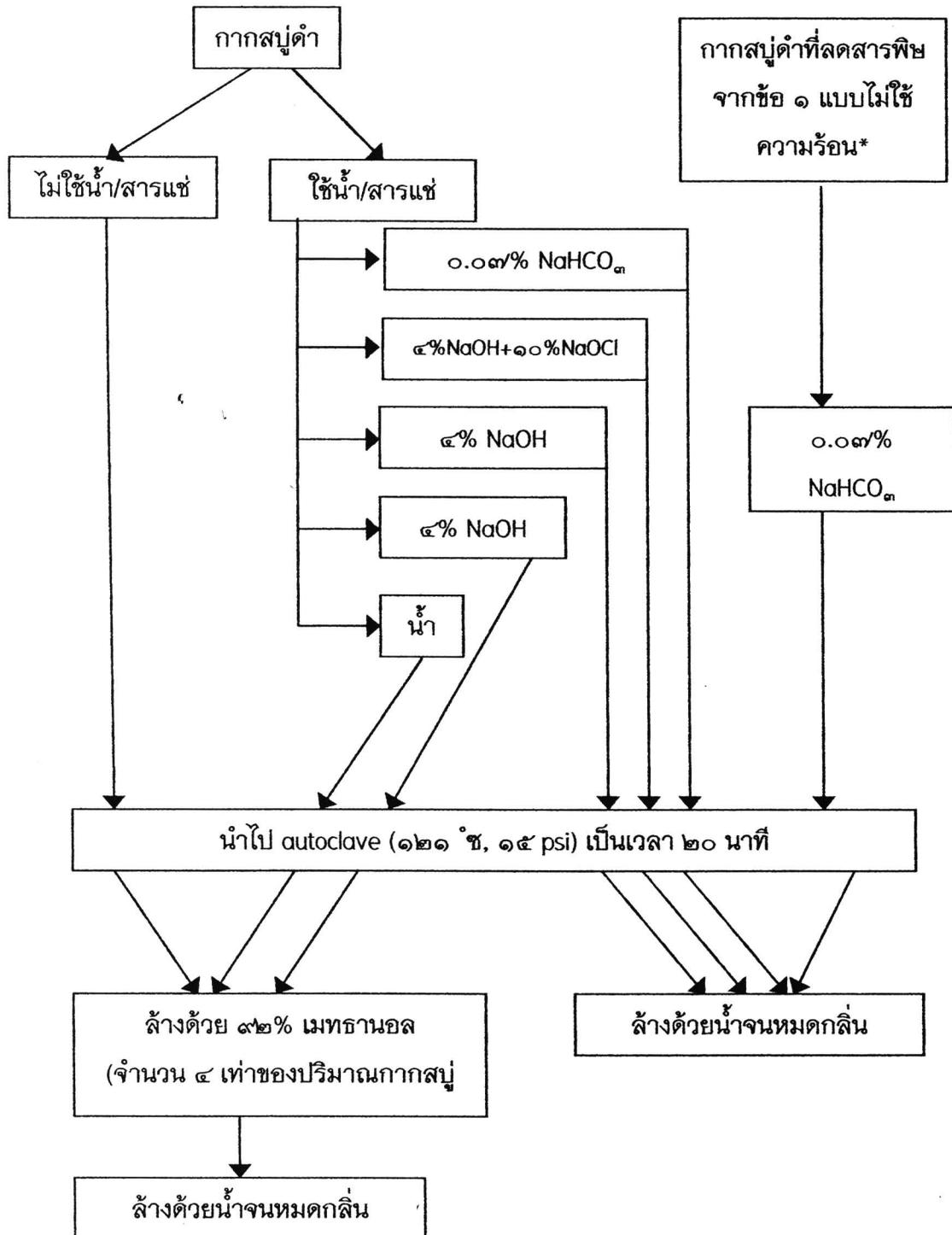
๒.๑.๑ นำกากสบูดำไปใส่ใน autoclave จากนั้นชะล้างด้วย ๙๒% เมทธานอล จำนวน ๔ เท่าของปริมาณกากสบูดำ และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น

๒.๑.๒ ใส่น้ำลงไปในกากสบูดำ ในอัตราส่วน ๒:๑ (v/w) จากนั้นนำไป autoclave เมื่อครบกำหนดแล้วชะล้างด้วย ๙๒% เมทธานอล จำนวน ๔ เท่าของปริมาณกากสบูดำ และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น



ภาพ ๙ ขั้นตอนการลดสารพิษโดยไม่ใช้ความร้อน

- ๒.๑.๓ ใส่ ๔% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ลงไปในกากสบู่ดำ ในอัตราส่วน ๒:๑ (v/w) นำไป autoclave เมื่อครบกำหนดแล้วชะล้างด้วย ๙๒% เมทานอล จำนวน ๔ เท่าของปริมาณกากสบู่ดำ และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น
- ๒.๑.๔ ทำเช่นเดียวกับข้อ ๒.๑.๓ แต่ไม่ต้องล้างด้วยเมทานอล
- ๒.๑.๕ ใส่ ๐.๐๗% โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_๓) ลงไปในกากสบู่ดำ ในอัตราส่วน ๕:๑ (v/w) นำไป autoclave เมื่อครบกำหนดแล้วล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น
- ๒.๑.๖ ใส่ ๔% โซเดียมไฮดรอกไซด์ และ ๑๐% โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) ลงไปในกากสบู่ดำ ในอัตราส่วน ๒:๑ และ ๐.๑:๑ (v/w) นำไป autoclave เมื่อครบกำหนดแล้วล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น
- ๒.๑.๗ ใส่ ๙๐% เอทานอล ลงไปในกากสบู่ดำในอัตราส่วน ๑๐:๑ (v/w) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา ๒ ชม. เมื่อครบกำหนดแล้วล้างด้วยน้ำ หลังจากนั้นใส่ ๐.๐๗% โซเดียมไบคาร์บอเนต ในอัตราส่วน ๕:๑ (v/w) นำไป autoclave เมื่อครบเวลากำหนดแล้วล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น



ภาพ ๑๐ ขั้นตอนการลดสารพิษโดยผ่าน autoclave เป็นเวลา ๒๐ นาที ทั้งแบบใช้ แลไม่ใช้ น้ำ หรือสารแช่ชนิดต่างๆ

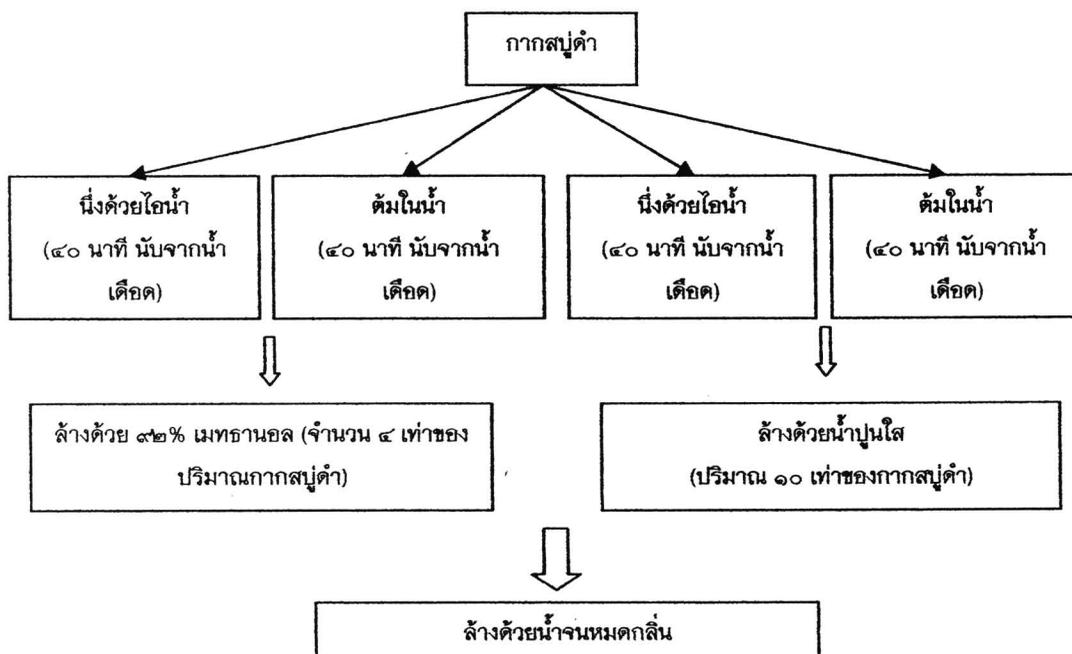
(* ใส่ ๔% เอทานอลลงในกากสบูดำ ในอัตราส่วน ๑๐:๑ (v/w) ทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา ๒ ชม. เมื่อครบกำหนดแล้วล้างด้วยน้ำ)

- ๒.๒ ใช้แบบต้ม โดยนำกากสบู่อัดไปต้มในน้ำเดือด อุณหภูมิ ๑๐๐ °ซ เป็นเวลา ๔๐ นาที (นับจากน้ำเดือด) จากนั้นชะล้างด้วย ๙๒% เมทธานอลปริมาณ ๔ เท่าของกากสบู่อัด และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๑๑)
- ๒.๓ ใช้แบบนึ่ง โดยนำกากสบู่อัดไปใส่ในหม้อนึ่ง (ซึ่ง) มีฝาปิดสนิท มีน้ำอยู่ชั้นล่างสุดของหม้อนึ่ง ทำการนึ่งเป็นเวลา ๔๐ นาที (นับจากน้ำเดือด) จากนั้นชะล้างด้วย ๙๒% เมทธานอล จำนวน ๔ เท่าของปริมาณกากสบู่อัด และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๑๑)

■ กากสบู่อัดจากบริษัทที่ผลิตไบโอดีเซล จังหวัดชลบุรี

กากสบู่อัดจาก จ.ชลบุรี ซึ่งเป็นกากที่ผ่านการสกัดน้ำมันโดยขบวนการบีบอัดแบบเชิงกล โดยนำมาใช้ในปี ๒๕๕๔ นำมาลดสารพิษดังนี้

- ๑) ใช้แบบต้ม โดยนำกากสบู่อัดไปต้มในน้ำเดือด อุณหภูมิ ๑๐๐ °ซ เป็นเวลา ๔๐ นาที (นับจากน้ำเดือด) จากนั้นชะล้างด้วยน้ำปูนใสที่ความเข้มข้น ๔๐ ก.ของCa(OH)₂/กก. ปริมาณ ๑๐ เท่าของกากสบู่อัด และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๑๑)
- ๒) ใช้แบบนึ่ง โดยนำกากสบู่อัดไปใส่ในหม้อนึ่ง (ซึ่ง) มีฝาปิดสนิท มีน้ำอยู่ชั้นล่างสุดของหม้อนึ่ง ทำการนึ่งเป็นเวลา ๔๐ นาที (นับจากน้ำเดือด) จากนั้นชะล้างด้วย น้ำปูนใสที่ความเข้มข้น ๔๐ ก.ของCa(OH)₂/กก. ปริมาณ ๑๐ เท่าและล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๑๑)



ภาพ ๑๑ ขั้นตอนการลดสารพิษโดยนำไปต้มและนึ่ง เป็นเวลา ๔๐ นาที

รายละเอียดการลดสารพิษแบบสรุปย่อแสดงไว้ในตารางที่ ๕

ตาราง ๕ วิธีการลดสารพิษฟอร์บอลเอสเทอร์ในกากสับุดำ และแหล่งอ้างอิง

วิธี ที่	สารที่ใช้แช่กาก สับุดำ	วิธีการให้ความร้อน	การชะล้าง	แหล่งอ้างอิง
■ กากสับุดำจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่				
๑	๙๐% เมทานอล	- ^{๑/}	น้ำ	Martinez-Herrera <i>et al.</i> (๒๐๐๖)
๒	-	autoclave ^{๒/}	๙๒% เมทานอล + น้ำ	Aregheore <i>et al.</i> (๒๐๐๓)
๓	น้ำ	autoclave ^{๒/}	๙๒% เมทานอล + น้ำ	Aregheore <i>et al.</i> (๒๐๐๓)
๔	๔% NaOH	autoclave ^{๒/}	๙๒% เมทานอล + น้ำ	Aregheore <i>et al.</i> (๒๐๐๓)
๕	๔% NaOH	autoclave ^{๒/}	น้ำ	Aregheore <i>et al.</i> (๒๐๐๓)
๖	๐.๐๓% NaHCO _๓	autoclave ^{๒/}	น้ำ	Martinez-Herrera <i>et al.</i> (๒๐๐๖)
๗	๔% NaOH + ๑๐% NaOCl	autoclave ^{๒/}	น้ำ	Aregheore <i>et al.</i> (๒๐๐๓)
๘	๙๐% เมทานอล ๐.๐๓% NaHCO _๓	- ^{๑/} autoclave ^{๒/}	น้ำ	Martinez-Herrera <i>et al.</i> (๒๐๐๖)
๙	-	ต้ม ^{๓/}	๙๒% เมทานอล + น้ำ	-
๑๐	-	นึ่ง ^{๓/}	๙๒% เมทานอล + น้ำ	-
■ กากสับุดำจาก จังหวัดชลบุรี				
	-	ต้ม ^{๓/}	น้ำปูนใส ^{๔/} + น้ำ	-
	-	นึ่ง ^{๓/}	น้ำปูนใส ^{๔/} + น้ำ	-

^{๑/} ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา ๒ ชั่วโมง

^{๒/} อุณหภูมิ ๑๒๑ °ซ; แรงดัน ๑๕ psi. เป็นเวลา ๒๐ นาที

^{๓/} อุณหภูมิ ๑๐๐ °ซ เป็นเวลา ๔๐ นาที นับจากน้ำเดือด

^{๔/} น้ำปูนใสที่ความเข้มข้น ๔๐ ก.ของ Ca(OH)_๒/กก. (Anandan *et al.*, ๒๐๐๕)



การหาองค์ประกอบทางเคมี

นำกากสับุดำที่ได้จากขบวนการผลิตไบโอดีเซล ๒ แหล่ง คือ

- ๑) จากเครื่องผลิตขนาดเล็กของภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ (หน่วยวิจัยสับุดำ) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ๒) จากบริษัทผลิตไบโอดีเซลในจังหวัดชลบุรี

ซึ่งเป็นกากสับุดำที่ไม่ผ่านและผ่านการลดสารพิษแล้ว มาบดผ่านตะแกรงขนาด ๑ มม. จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบ Proximate analysis (AOAC, ๒๐๐๐) และหาค่าพลังงานรวม (Gross energy; GE) โดยใช้เครื่อง Ballistic bomb calorimeter (บุญล้อม และบุญเสริม, ๒๕๒๕)

๓) การหาค่าการย่อยได้และค่า ME

๓.๑ สัตว์ปีก : แบ่งการศึกษาออกเป็น ๒ การทดลอง ดังนี้

ก) วิธีการกกากสับุดำทางปาก (force feeding)

ใช้ไก่ไข่เพศผู้โตเต็มที่อายุประมาณ ๔ เดือน จำนวน ๒๔ ตัว นำมาเลี้ยงในกรง metabolic cage แบบขังเดี่ยวที่มีถาดรองรับมูลใต้กรง ภาชนะใส่อาหารและน้ำให้แยกกันเป็นรายตัว กรกกากสับุดำเข้าทางปากไก่ ตามวิธีดัดแปลงจาก Sibbald (๑๙๗๗/a;b) การทดลองใช้เวลา ๙ วัน ในช่วง ๗ วันแรกไก่ทดลองทุกตัวได้รับอาหารที่มีโปรตีน ๑๖% (ตาราง ๖) กินแบบเต็มที่ เพื่อให้ไก่ปรับตัวคุ้นเคยกับสภาพกรงรวมทั้งให้พักฟื้นจากการขนย้าย (ระยะ preliminary period) หลังจากนั้นทำการอดอาหารไก่ทุกตัวเป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง (๑ วัน) เพื่อให้ขับถ่ายมูลเก่าออกให้หมด เมื่อครบกำหนดแบ่งไก่ออกเป็น ๔ กลุ่ม กลุ่มละ ๖ ตัว กลุ่มแรก ให้ได้รับกากสับุดำที่ไม่ผ่านการลดสารพิษปริมาณตัวละ ๓๐ กรัม กลุ่มที่ ๒ และ ๓ ให้ได้รับกากสับุดำที่ไม่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการต้มและนึ่ง ตัวละ ๓๐ กรัม (บันทึกปริมาณที่แน่นอนที่ให้ไก่แต่ละตัวกิน) ส่วนอีกกลุ่มให้อุดอาหารต่อไปอีก ๑ วัน รวมเป็น ๒ วัน ทำการเก็บและบันทึกน้ำหนักมูลจากไก่ทุกตัวหลังจากกรอกอาหารครบ ๒๔ ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีและพลังงานรวมเช่นเดียวกับวิธีที่กล่าวมาแล้ว มูลที่ถ่ายออกจากไก่กลุ่มที่อดอาหาร (กลุ่มที่ ๔) ถือว่ามาจากร่างกาย (endogenous loss) ซึ่งจะนำไปคำนวณค่า ME แท้จริง (True ME, TME) แต่ถ้าไม่นำค่า endogenous

loss ไปหักออกจากมูลไก่อของตัวที่ให้อาหาร ค่าที่คำนวณได้จะเป็นค่า ME ปรากฏ (Apparent ME, AME)

นำมูลที่เก็บได้จากไก่แต่ละตัวไปใส่ถุงพลาสติก บันทึกน้ำหนักสด แล้วนำไปแช่แข็ง เมื่อพร้อมจะทำการวิเคราะห์ นำมูลมาทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นอบในตูอบที่อุณหภูมิ ๖๐ °ซ เป็นเวลา ๒ วัน หรือจนกว่าจะแห้ง บันทึกน้ำหนักมูลก่อนและหลังอบ แล้วนำมูลมาบดผ่านตะแกรงที่มีรูขนาด ๑ มม. นำตัวอย่างอาหารและมูลไปวิเคราะห์ การคำนวณค่า AME และ TME ใช้สูตรดังนี้

$$AME \text{ (kcal/g, DM)} = \frac{(GE_i \times F_i) - (GE_f \times E_f)}{F_i}$$

$$TME \text{ (kcal/g, DM)} = \frac{(GE_i \times F_i) - [(GE_f \times E_f) - (GE_r \times E_r)]}{F_i}$$

เมื่อ GE_i = พลังงานรวมของกากสับุดำที่ให้ไก่กิน (kcal/g, DM)

GE_f = พลังงานรวมของมูลไก่อตัวที่ได้รับกากสับุดำ (kcal/g, DM)

GE_r = พลังงานรวมของมูลไก่อตัวที่อดอาหาร (kcal/g, DM)

F_i = ปริมาณกากสับุดำที่ใช้กรอกปากไก่ (g, DM)

E_f = ปริมาณมูลไก่อตัวที่ได้รับกากสับุดำ (g, DM)

E_r = ปริมาณมูลไก่อตัวที่อดอาหาร (g, DM)

นอกจากนี้ นำมูลไก่ที่อบแห้งแล้วมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบ เพื่อคำนวณหาค่าการย่อยได้ของโภชนะต่างๆ ในกากสับุดำ โดยใช้สูตร

$$\text{การย่อยได้ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณโภชนะที่กิน} - (\text{โภชนะที่ขับออกในมูล} - \text{โภชนะที่ขับออกในมูลของไก่ออดอาหาร}) \times 100}{\text{ปริมาณโภชนะที่กิน}}$$

(หมายเหตุ: การย่อยได้นี้เป็นแบบอนุโลม เพราะไม่ใช้การย่อยได้จริง เนื่องจากมิได้ทำการแยกปัสสาวะออกจากมูล)

ข) วิธีแทนที่ในอาหารฐาน (Basal diet)

ใช้ไก่ไข่เพศผู้โตเต็มที่อายุ ๖ เดือน จำนวน ๑๖ ตัว เลี้ยงในกรงขังเดี่ยว ทำการศึกษาด้วยวิธีใช้กากสับุดำแทนที่ส่วนของอาหารเปรียบเทียบ (replacement for a reference diet) หรืออาหารฐาน (basal diet) ที่ระดับต่างๆ คำนวณหาค่า ME ของกากสับุดำ โดยอาศัยสมการถดถอย (regression method) วางแผนการทดลองแบบ ๒x๔ Factorial โดยส่วนผสมของอาหารฐาน และอาหารทดลองของแต่ละสูตร (มี ๔ สูตร) แสดงไว้ในตาราง ๖ และ ๗ ตามลำดับ ทำการแบ่งไก่ทดลองออกเป็น ๒ ชุดๆ ละ ๘ ตัว ดังนี้

ชุดที่ ๑ ให้กากสับุดำที่ไม่ผ่านการลดสารพิษแทนที่อาหารฐานระดับ ๐, ๑๐, ๒๐ และ ๓๐%

ชุดที่ ๒ ให้กากสับุดำที่ผ่านการลดสารพิษแล้วด้วยวิธีการนึ่งแทนที่อาหารฐานระดับ ๐, ๑๐, ๒๐ และ ๓๐%

ตาราง ๖ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารไก่ไข่เพศผู้ที่ใช้ศึกษาหาค่า ME และค่าการย่อยได้

ชนิดวัตถุดิบ	ปริมาณ (กก.)	คุณค่าทางโภชนา (% air dry basis)
ข้าวโพด	๕๗.๕๐	โปรตีน ๑๖.๐๐
รำละเอียด	๒๒.๓๐	พลังงานใช้ประโยชน์ (kcal/g) ๓.๐๐
กากถั่วเหลือง (๔๕% CP)	๑๔.๕๕	เยื่อใย ๔.๘๕
ปลาป่น (๖๐% CP)	๓.๐๐	ไขมัน ๕.๔๘
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (๑๘% P)	๐.๓/๓	แคลเซียม ๑.๐๐
แอล-ไลซีน	๐.๐๔	ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ ๐.๓๒
ดีแอล-เมทไธโอนีน	๐.๐๕	เมทไธโอนีน ๐.๓๕
หินเกล็ด	๑.๔๓	ไลซีน ๐.๘๑
เกลือ	๐.๒๕	
พรีมิกซ์ ^{๑/}	๐.๒๕	
รวม	๑๐๐.๐๐	

^{๑/} วิตามินและแร่ธาตุมีหน่วยเป็น กก./กก. (ยกเว้นที่ระบุ) : กลุ่มวิตามิน; เอ ๑.๒ MIU; ซี ๐.๘; เค ๐.๒; บี ๐.๐๑; บี_๒ ๐.๔; บี_๖ ๐.๐๐๑; กรดแพนโทนิค ๐.๙๕; ไนอาซิน ๑.๕; กรดโฟลิก ๐.๐๕; ไบโอดีน ๐.๐๐๘; กลุ่มแร่ธาตุ; ซีลีเนียม ๐.๐๐๑; เหล็ก ๖; แมงกานีส ๖; สังกะสี ๔; ทองแดง ๐.๖; ไอโอดีน ๐.๐๓๕; สารถนอมคุณภาพ ๐.๖๒๕ และ สารปรุงแต่ง ๒.๕

ตาราง ๗ ระดับของกากสับคั่วที่ใช้ในอาหารทดลองแต่ละสูตร

	สูตรอาหารทดลอง			
	๑	๒	๓	๔
อาหารฐาน (basal diet) ^{๑/}	๑๐๐	๙๐	๘๐	๓/๐
กากสับคั่ว ^{๒/}	๐	๑๐	๒๐	๓๐
โปรตีน (% , จากการคำนวณ)	๑๖.๐๐	๑๖.๙๓	๑๗.๘๖	๑๘.๗๙

^{๑/} ส่วนประกอบของสูตรอาหาร แสดงในตาราง ๖

^{๒/} มี ๓ กลุ่ม; กลุ่มที่ ๑ กากสับคั่วชนิดไม่ลดสารพิษ กลุ่มที่ ๒ กากสับคั่วชนิดลดสารพิษด้วยวิธีต้ม กลุ่มที่ ๓ กากสับคั่วชนิดลดสารพิษด้วยวิธีนี้้ง

เลี้ยงไก่แต่ละตัวใน metabolic cage เช่นเดียวกับวิธีการรอกปาก แบ่งระยะเวลาทดลองออกเป็น ๔ ช่วง ช่วงละ ๙ วัน รวมทั้งสิ้นเป็นเวลา ๓๖ วัน โดยในแต่ละช่วงแบ่งเป็น ๒ ระยะ คือ ระยะก่อนเก็บข้อมูล (preliminary period) ใช้เวลา ๕ วัน เป็นระยะเวลาปรับตัวให้เคยชินกับอาหารทดลอง และซัปดาห์ข้อมูลของอาหารสูตรอื่นที่ได้รับจากรอบที่แล้ว ออกจากตัวไก่ให้หมดโดยสมบูรณ์ ส่วน ๔ วันหลังเป็นระยะเวลาเก็บข้อมูล (collection period) บันทึกปริมาณอาหารที่กิน และสิ่งขับถ่ายทุกวันที่เวลา ๘.๓๐ และ ๑๕.๓๐ น. มูลไก่ที่เก็บได้ในแต่ละวันนำไปใส่ในตู้แช่แข็งทันที เมื่อเก็บรวบรวมครบ ๔ วัน นำมูลออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอให้ละลาย ใช้เวลาประมาณ ๖ ชั่วโมง จากนั้นคลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำมูลทั้งหมดไปอบที่อุณหภูมิ ๖๕ °ซ จนแห้ง (ประมาณ ๗๐ ชั่วโมง) ทำการบันทึกน้ำหนักมูลก่อนอบและหลังอบ นำมูลที่ได้มาบดคลุกเคล้าให้เข้ากันอีกครั้ง เก็บไว้วิเคราะห์หาค่าพลังงานรวม และวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการอื่นๆ เพื่อนำไปคำนวณค่าการย่อยได้แบบอนุโลม และค่า AME ดังได้กล่าวมาแล้ว

หลังจากครบ ๙ วันในช่วงแรกแล้ว ให้เปลี่ยนอาหารทดลองไปให้กับไก่ทดลองตัวอื่นต่อไป โดยการสลับตัวไก่จนไก่แต่ละตัวได้รับอาหารครบทั้ง ๔ สูตร ดังแสดงไว้ในตาราง ๘

ตาราง ๘ แผนผังการสลับตัวไก่ โดยใช้กากสับุดำแทนที่สูตรอาหารฐาน ๔ ระดับ

รอบที่	กากสับุดำแทนที่สูตรอาหารฐาน (%)			
	๐	๑๐	๒๐	๓๐
๑	C๑	C๒	C๓	C๔
๒	C๒	C๓	C๔	C๑
๓	C๓	C๔	C๑	C๒
๔	C๔	C๑	C๒	C๓

C = cock No. (ไก่ตัวที่)

การหาค่าการย่อยได้อินูโลมของโกชนะในกากสับุดำ คำนวณจาก ๒ วิธี คือ

๑. Different method คำนวณค่าการย่อยได้อินูโลมของโกชนะจากการใช้กากสับุดำแทนที่สูตรอาหารฐานแต่ละระดับด้วยสมการ ดังนี้

$$\text{การย่อยได้อินูโลมของโกชนะในกากสับุดำ} = \frac{\left[\begin{array}{l} \text{ปริมาณโกชนะที่ย่อยได้ใน} \\ \text{สูตรอาหารที่ระดับทดสอบ} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{โกชนะนั้นที่ได้รับจากอาหารฐาน} \times \\ \text{\%การย่อยได้อินูโลมของโกชนะในอาหารฐาน} \end{array} \right]}{\text{ปริมาณโกชนะที่ได้รับจากกากสับุดำ}}$$

นำค่าการย่อยได้อินูโลมของโกชนะที่ได้จากการแทนที่กากสับุดำในอาหารฐานแต่ละระดับมาหาค่าเฉลี่ย ซึ่งจะเป็นค่าการย่อยได้อินูโลมของโกชนะในกากสับุดำโดยวิธี Different method

๒. Regression method โดยใช้สูตร

$$Y = a + bX$$

เมื่อ Y คือ สัมประสิทธิ์การย่อยได้อินูโลมของโกชนะในกากสับุดำ (%)

X คือ ระดับของกากสับุดำ (%)

a คือ ค่าคงที่

b คือ regression coefficient

จากนั้นนำค่าการย่อยได้อินูโลมของโกชนะในกากสับุดำที่คำนวณจากวิธี Different method และ Regression method มาหาค่าเฉลี่ย

สำหรับค่า AME ของกากสับุดำเมื่อใช้แทนที่อาหารฐานแต่ละระดับ คำนวณโดยใช้สมการ ดังนี้

$$AME_{\text{กากสับุดำ}} = \frac{ME_{\text{อาหารผสมที่ระดับทดสอบ}} - (\% \text{อาหารฐานที่ระดับทดสอบ} \times ME_{\text{อาหารฐาน}})}{\% \text{กากสับุดำที่ระดับนั้นๆ}}$$

๓.๒ สุกกร

ใช้วิธีแทนที่ในอาหารฐาน (Basal diet) ระดับ ๐, ๑๐, ๒๐ และ ๓๐% ด้วยแผนการทดลองแบบ ๕x๕ Latin square โดยใช้สุกรลูกผสมระหว่าง Duroc x Large White – Landrace เพศผู้ตอน จำนวน ๕ ตัว น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น ๗๐ กิโลกรัม นำขึ้นเลี้ยงบนกรง metabolic cage สุกกร ๔ ตัวจะได้รับอาหารทดลองที่ใช้กากสับุดำ (ลดสารพิษด้วยวิธีการต้ม) แทนที่อาหารฐาน ๔ ระดับ ส่วนอีก ๑ ตัวจะอดอาหารเพื่อหาค่า endogenous loss ส่วนผสมของอาหารฐานและอาหารทดลองแสดงไว้ในตารางที่ ๙ และ ๑๐

ตารางที่ ๙ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนะของอาหารสุกรรุ่น (น้ำหนัก ๓๐ – ๖๐ กิโลกรัม) ที่ใช้ศึกษาหาค่า ME และการย่อยได้

ชนิดของวัตถุดิบ:	ปริมาณ (กก.)	คุณค่าทางโภชนะ (% air dry basis)	
ข้าวโพด	๕๖.๔	โปรตีน	๑๖
รำละเอียด	๒๓.๐	ME (kcal/g)	๓.๒
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๑๗.๐	เยื่อใย	๕.๖
ปลาป่น (๖๐% CP)	๑.๐	ไขมัน	๕.๕๔
ไดแคลเซียมฟอสเฟต (๑๔% P)	๐.๕	แคลเซียม	๐.๘๖
หินปูน	๑.๕	ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	๐.๓๙
เกลือ	๐.๓๕	ไลซีน	๑.๒๒
สารผสมลวงหน้า ^{๑/}	๐.๒๕		
รวม	๑๐๐		

^{๑/} หน่วย มก./กก. อาหาร (ยกเว้นที่ระบุ); กลุ่มวิตามิน: เย ๑.๒ MIU, ซี ๑.๒, เค_๓ ๐.๑๕, บี_๑ ๐.๑๕, บี_๒ ๐.๒, บี_๖ ๐.๐๐๑๕, โนอะซิน ๑.๕, กรดแพนโทนิค ๑.๐, กรดโฟลิก ๐.๐๕, ไบโอดีน ๐.๐๐๓, โคลีนคลอไรด์ ๑๕.๐; กลุ่มแร่ธาตุ: เหล็ก ๓.๐, ทองแดง ๐.๖, แมงกานีส ๖.๐, สังกะสี ๖.๐, โคบอลต์ ๐.๐๐๕, ไอโอดีน ๐.๐๕, ซีลีเนียม ๐.๐๐๕๕; สารแต่งกลิ่น ๒.๕ และ สารถนอมคุณภาพอาหาร ๐.๖๒๕

ตารางที่ ๑๐ ระดับของกากสบู่มากที่ใช้แทนที่ในอาหารฐานระดับต่างๆ

	สูตรอาหารทดลอง			
	๑	๒	๓	๔
อาหารฐาน (Basal diet) ^{๑/}	๑๐๐	๙๐	๘๐	๗๐
กากสบู่มากที่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการต้ม	๐	๑๐	๒๐	๓๐

^{๑/} ส่วนประกอบของสูตรอาหารแสดงในตารางที่ ๙

วิธีการทดลองแบ่งออกเป็น ๔ ช่วงๆละ ๗ วัน แต่ละช่วงมี ๒ ระยะ คือ

- ๑) ช่วงปรับตัว (preliminary period) ใช้เวลา ๔ วัน เพื่อให้สุกรปรับตัวให้เคยชินกับอาหารและสภาพแวดล้อมของการทดลอง และเพื่อให้สุกรขับถ่ายอาหารเดิมที่ได้รับจากทางเดินอาหารออกให้หมด ทำการบันทึกปริมาณอาหารที่สุกรกินในแต่ละวัน เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการให้อาหารในช่วงการเก็บข้อมูลต่อไป
- ๒) ช่วงเก็บข้อมูล (Collection period) ใช้เวลา ๓ วัน โดย ๒ วันแรก จะแยกเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะ จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะประมาณ ๑๐% ของน้ำหนักมูลและปัสสาวะที่ขับถ่ายออกมาทั้งหมด นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -๒๐ °C เพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ สำหรับการเก็บตัวอย่างปัสสาวะจะทำการเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄) ๒๕% จำนวน ๕๐ มล. ลงในขวดเก็บปัสสาวะเพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนียจากปัสสาวะ โดยรักษา pH ของปัสสาวะให้ต่ำกว่า ๒ การเก็บตัวอย่างจะทำ ๒ ครั้งก่อนให้อาหาร คือ เวลา ๕.๔๕ และ ๑๗.๔๕ น. หลังจากนั้น นำตัวอย่างมูลและปัสสาวะไปวิเคราะห์ทางเคมี บันทึกปริมาณอาหารที่กินในแต่ละช่วงเวลา และปริมาณของเสียมูลและปัสสาวะที่สุกรแต่ละตัวขับถ่ายในแต่ละวัน(ตาราง ๑๒)

ตารางที่ ๑๑ แผนผังการสลับตัวสุกร เพื่อให้ได้รับอาหารที่ใช้กากสับุดำแทนที่สูตรอาหารฐาน ๔ ระดับและเมื่อไม่ให้อาหาร (อดอาหาร) ในช่วงเก็บมูล

ช่วงที่	วันที่	อดอาหาร	กากสับุดำ(%)			
			๐	๑๐	๒๐	๓๐
๑	๑ ↓ ๓/	S๑	S๒	S๓	S๔	S๕
๒	๑ ↓ ๓/	S๒	S๓	S๔	S๕	S๑
๓	๑ ↓ ๓/	S๓	S๔	S๕	S๑	S๒
๔	๑ ↓ ๓/	S๔	S๕	S๑	S๒	S๓
๕	๑ ↓ ๓/	S๕	S๑	S๒	S๓	S๔

S = Swine No. (สุกรตัวที่)

ตารางที่ ๑๒ ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างชนิดต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลา (periods)

การทดลองวันที่	๑	๒	๓	๔	๕	๖	๓/
ระยะทดลอง	← Preliminary periods →				← Collection period →		
ปัสสาวะ					← ปัสสาวะ →		
ตัวอย่างอาหาร					← มูล →		

อาหารทดลองแต่ละสูตรจะผสมด้วย Titanium dioxide (TiO₂) ๑ กรัม /กก. ในวันสุดท้ายช่วงปรับตัว (วันที่ ๔) และวันที่เก็บตัวอย่าง (วันที่ ๕-๓) เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่าการย่อยได้ของโภชนะ ด้วยวิธีวิเคราะห์จากสารบ่งชี้ (Index method) ให้สุกรทุกตัวได้รับน้ำและอาหารเต็มที่ โดยแบ่งให้อาหาร ๒ ครั้ง คือ เวลา ๖.๐๐ และ ๑๘.๐๐ น.

การบันทึกข้อมูลจะประกอบด้วย

๑. บันทึกปริมาณอาหารที่ให้ และปริมาณอาหารที่เหลือในแต่ละช่วงเวลา จากนั้นนำไปเก็บสะสมไว้ในภาชนะเก็บตัวอย่างอาหารและเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ -20°C เพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ เมื่อครบแต่ละช่วงเวลานำอาหารดังกล่าวไปวิเคราะห์หาวัตถุแห้งก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ส่วนประกอบอื่นต่อไป
๒. บันทึกน้ำหนักมูลทันทีทุกครั้งที่มีการถ่ายมูล และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ตลอด ๒๔ ชั่วโมง ในช่วงเก็บข้อมูลวันที่ ๕-๗ ของการทดลอง
๓. บันทึกน้ำหนักปัสสาวะแต่ละวันบรรจุในขวดเก็บปัสสาวะซึ่งบรรจุสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4) ๒๕% ปริมาณ ๒๕ มล.ต่อขวด เพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนียจากปัสสาวะ และรักษา pH ของปัสสาวะให้ต่ำกว่า ๒

คำนวณหาค่าการย่อยได้ของไนโตรเจนแบบปรากฏของกากสบู่อำ จากสมการดังนี้

$$\text{การย่อยได้ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณไนโตรเจนที่กิน} - \text{ไนโตรเจนที่ขับออกในมูล} - \text{ไนโตรเจนที่ขับออกในมูลของสุกรตัวควบคุมอาหาร} \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนที่กิน}}$$

๓) การวิเคราะห์หาสารพิษ

๓.๑ การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารฟอร์บออลเอสเทอร์

● การสกัดสารฟอร์บออลเอสเทอร์

ใช้วิธีการตามที่บ่งไว้โดย Makkar *et al.* (๑๙๙๘) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

๑. ชั่งกากสบู่อำ ๒ ก. ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงพลาสติกขนาด ๕๐ มล. เติม ๑๐๐% เมทานอลเพื่อทำการสกัดจำนวน ๑๕ มล. นำไปเข้าเครื่องโซนิเคท (sonicate) ภายใต้ความเย็น ๓ นาที
๒. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ ๘,๖๐๐ rpm นาน ๘ นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25°C)
๓. ดูดเอาสารละลายส่วนใส, ใส่ในขวดก้นกลม (round bottomed flask) ขนาด ๑๕๐ มล. ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ ๑ จนถึงข้อ ๓ อีก ๒ รอบ
๔. นำสารละลายส่วนใสซึ่งมีส่วนของเมทานอลปนอยู่ในขวดก้นกลมไประเหยออกภายใต้สภาพแรงดันต่ำ อุณหภูมิต่ำกว่า 40°C

๕. เติม ๑๐๐% เมทธานอล จำนวน ๒ มล. ลงในขวดกั่นกลมแล้วนำไปโซนิเคท ๓-๔ นาที หลังจากนั้นบีเปิดเมทธานอลในขวดกั่นกลมออกใส่หลอดทดลอง ๑๐ มล. ทำซ้ำ ๒ รอบ
๖. ใช้ก๊าซไนโตรเจนระเหยเมทธานอลในหลอดทดลองให้เหลือประมาณ ๒ มล. หลังจากนั้นเขย่าตะกอนกับสารละลายให้เข้ากัน ดูดสารละลายใส่หลอดพลาสติกมีฝาปิด (vial)
๗. นำหลอดพลาสติกไปปั่นเหวี่ยงที่ ๔๘,๖๐๐ rpm นาน ๑๐ นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นดูดสารละลายส่วนใสออก ใส่หลอดพลาสติก
๘. นำสารละลายที่ได้ไปกรองด้วยตัวกรองไนลอนขนาด ๐.๔๕ มค.ม. เส้นผ่าศูนย์กลาง ๑๓ มม.
๙. ฉีดตัวอย่าง ๒๐ มค.ล. ในคอลัมน์ HPLC เพื่อหาสารฟอรับอเลสเทอร์

รายละเอียดการสกัดปริมาณสารฟอรับอเลสเทอร์ในกาบสบู่ดำแบบสรุปย่อ แสดงไว้ในภาพ ๑๒

- การวิเคราะห์ปริมาณฟอรับอเลสเทอร์

ใช้เทคนิค reverse-phase HPLC โดยใช้คอลัมน์ reversed phase ขนาด ๒๕๐×๔.๖ มม. (LiChrospher ๑๐๐, end-capped ๕ มค.ม.) อัตราการไหลผ่านคอลัมน์ ๑.๓ มล./นาที ภายใต้อุณหภูมิ ๒๕ °ซ และใช้ระบบตรวจวัด UV ที่ความยาวคลื่น ๒๘๐ nm. โดยเปรียบเทียบปริมาณกับสารมาตรฐาน (phorbol-๑๒-myristate ๑๓-acetate) มีขั้นตอนดังนี้



สารละลายที่ใช้ A: ๑.๗๕ มล. o-phosphoric acid (๘๕%) ในน้ำกลั่น ๑ ลิตร

B: acetonitrile (HPLC grade)

C: Tetrahydrofuran (HPLC grade)

๓.๒ การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณ trypsin inhibitor ในกากสบู่ดำ

การเตรียมสาร Reagents

- สารละลายสำหรับ trypsin มาตรฐาน

ละลาย Crystalline bovine trypsin ๔ mg. ใน volumetric flask ขนาด ๒๐๐ ml. เติม ๑ mM HCl ให้ครบ ๒๐๐ ml. เก็บในตู้เย็น ๔ °C ใช้ให้หมดภายใน ๒ สัปดาห์

- เตรียม Tris buffer

ละลาย Tris (hydroxyl methylamine tris-(hydroxymethyl) – aminomethane ๖.๐๕ g. และ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ๒.๙๔ g. ในน้ำ ๙๐๐ ml. ปรับ pH ให้เป็น ๘.๒ ด้วย HCl เติมน้ำให้ครบ ๑ L. แล้วตรวจสอบ pH อีกครั้งให้ได้ ๘.๒

- เตรียม BAPA substrate

ละลาย ๔๐ mg. Benzoyl-DL-arginine-p-nitroaniline HCl ใน ๑ ml. Dimethyl sulphoxide (ละลายจนหมด) แล้วเติม ๑๐๐ ml. ของ Tris buffer ที่ได้อุ่นไว้แล้วที่อุณหภูมิ ๓๗ °C รักษาอุณหภูมิของสารละลายนี้ไว้ ๓๗ °C ตลอดเวลาที่ใช้และต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (ภาพที่ ๑๓)

บดตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด ๑๐๐ mesh



ชั่งตัวอย่าง ๑ ก. ละลายใน ๑๐mM NaOH ๕๐ มล.



ปั่น หรือ เขย่า ๓๐ วินาที



ปรับ pH ด้วย ๑M HCl หรือ ๑M NaOH

(pH ๘.๕ – ๑๐.๐)



ปั่น หรือ เขย่า ๒ นาที



ปิเปต suspension ออกมา ๑ มล.

ภาพ ๑๓ ขั้นตอนการสกัดสารยับยั้งทริปซิน ตามวิธีที่อ้างโดย Kakade et al. (๑๙๙๗)

■ การวัดปริมาณ Trypsin

เตรียมสารต่อไปนี้

- หลอด a reagent blank : ๒ มม. (น้ำกลั่น)
หลอด b trypsin standard : standard ๒ มม.+ น้ำกลั่น ๒ มม.
หลอด c sample bank : เจือจางตัวอย่าง ๑ มม. + น้ำกลั่น ๑ มม.
หลอด d sample : extract ๒ มม.+น้ำกลั่น ๑ มม.+ standard ๒ มม.

ผสมสารแต่ละหลอดให้เข้ากัน ช้อนหลอดไว้ที่ ๓๗ °C เป็นเวลา ๑๐ นาที เติม ๕.๐ มล. ของสารละลาย BAPA ที่อุณหภูมิ ๓๗ °C ลงในทุกหลอด ผสมให้เข้ากันที่ ๓๗ °C อีก เมื่อครบ ๑๐ นาทีพอดี เติม ๑ มม. Acetic acid (๓๐% w/v) เพื่อหยุดปฏิกิริยา เติม standard ๒ มม.ลงในหลอด a และ c

ปรับ spectrophotometer ให้เป็น ๐ (absorbance) ด้วยน้ำกลั่น อ่านค่าแต่ละหลอด (a-d) ที่ ๔๑๐ นาโนเมตร

คำนวณหาปริมาณทริปซิน

$$\%TA = \frac{[(b-a)-(d-c)] \times ๒.๖๓๒}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times ๑๐๐$$



● ส่วนฟาร์มทดลอง แบ่งการศึกษาออกเป็น ๒ การทดลอง

การทดลองที่ ๑ : การใช้กากสับุดำที่ลดพิษแล้วในสัตว์ปีก มีรายละเอียดดังนี้

๑.๑ การใช้กากสับุดำที่ลดพิษแล้วในอาหารไก่เนื้อ

ใช้ไก่เนื้อพันธุ์บาร์เบอร์เฮเคอร์ เพศผู้ อายุ ๑ วัน จำนวน ๑,๔๒๔ ตัว ในช่วงไก่ อายุ ๑-๗ วัน นำมาเลี้ยงและกกรวมกัน ให้ได้รับอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด (๒๑% โปรตีน) ที่ผลิตจากบริษัทเหมือนกัน เมื่อไก่อายุได้ ๗ วัน ทำการสุ่มไก่ทดลองที่มีขนาดใกล้เคียงกันแยกเลี้ยงตามกลุ่มทดลอง โดยแบ่งออกเป็น ๕ กลุ่ม (treatment) กลุ่มละ ๔ ซ้ำ (๗๐ ตัว/ซ้ำ) รวมใช้ไก่ทั้งหมด ๑,๔๐๐ ตัว ไก่ในแต่ละซ้ำเลี้ยงในคอกแบบปล่อยพื้นที่ขนาด ๑๒ ตร.ม. (๓x๔ ม.) มีแกลบเป็นวัสดุรองพื้น เลี้ยงในโรงเรือนปิดที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นให้เหมาะสมกับไก่ทดลองมากที่สุด ไก่ในแต่ละกลุ่มได้รับอาหารทดลองเป็นอาหารผสมเองแบบผง มีส่วนผสมของกากสับุดำที่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการนึ่งในสูตรอาหารระดับ ๐, ๕, ๑๐, ๑๕

และ ๒๐% ในช่วงโก่อายุ ๒-๓, ๔-๕ และ ๖ สัปดาห์ กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีโปรตีน เท่ากับ ๒๑, ๑๙ และ ๑๗% ตามลำดับ ส่วนค่า ME กำหนดให้เท่ากับ ๓.๒ kcal/g. เหมือนกัน ทุกสูตรและทุกช่วงอายุ ส่วนผลสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองทั้ง ๓ ระยะ แสดงไว้ในตาราง ๑๓-๑๕

ตาราง ๑๓ ส่วนผลสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองโก่เนื้อช่วงอายุ ๘-๒๑ วัน

กากสับุดำในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอร์บออลเอสเทอร์ในอาหาร (มก./ก.)	๐	๐.๐๑๔๘	๐.๐๒๙๖	๐.๐๔๔๔	๐.๐๕๙๒
ชนิดวัตถุดิบ :					
ข้าวโพด	๕๑.๔๔	๔๘.๗/๙	๔๖.๑๓	๔๓.๔๘	๔๐.๘๒
กากสับุดำที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑)}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
น้ำมันรำ	๔.๗/๔	๕.๑๐	๕.๕๖	๕.๘๒	๖.๑๘
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๒๓.๗/๐	๒๑.๒๐	๑๘.๗/๐	๑๖.๒๐	๑๓.๗/๐
แอล-ไลซีน	๐.๐๕	๐.๐๔	๐.๐๓	๐.๐๑	-
ดีแอล-เมทไธโอนีน	๐.๑๑	๐.๐๙	๐.๐๗	๐.๐๕	๐.๐๔
โดแคลเซียมฟอสเฟต (๑๘% P)	๐.๘๒	๐.๖๒	๐.๔๓	๐.๒๓	๐.๐๔
เปลือกหอย	๐.๖๔	๐.๖๖	๐.๖๘	๐.๗/๑	๐.๗/๒
ส่วนผลสมคิง ^{๒)}	๑๘.๕๐	๑๘.๕๐	๑๘.๕๐	๑๘.๕๐	๑๘.๕๐
รวม	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐
คุณค่าทางโภชนาการโดยการคำนวณ (% สภาพใช้เลี้ยง) :					
โปรตีน	๒๑.๐๐	๒๑.๐๐	๒๑.๐๐	๒๑.๐๐	๒๑.๐๐
ME (kcal/g.)	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐
เยื่อใย	๓.๙/๙	๔.๘๒	๕.๖๕	๖.๔๘	๗.๓๒
ไขมัน	๘.๘๙	๑๐.๒๐	๑๑.๕๑	๑๒.๘๓	๑๔.๑๔
แคลเซียม	๑.๐๐	๑.๐๐	๑.๐๐	๑.๐๐	๑.๐๐
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	๐.๔๕	๐.๔๕	๐.๔๕	๐.๔๕	๐.๔๕
ไลซีน	๑.๒๓	๑.๒๓	๑.๒๓	๑.๒๓	๑.๒๓
เมทไธโอนีน	๐.๕๐	๐.๕๐	๐.๕๐	๐.๕๐	๐.๕๐
ราคาอาหาร (บาท/กก.)^{๓)}	๑๔.๕๑	๑๔.๑๕	๑๓.๗/๙	๑๓.๔๓	๑๓.๐๗

^{๑)} ใช้แบบมี โปรตีน ๒๔.๒๔% ไขมัน ๒๐.๒๒%, เยื่อใย ๒๐.๐๑% และ ME ๒.๑๔ kcal/g. (รายละเอียดดูในภาคผนวก ข. ตาราง ๑)

^{๒)} ไร่ละเย็ด ปลาปน (๖๐% CP) เกลือ และฟอสฟอรัส^{๔)} ใช้จำนวน ๑๐.๐๐, ๘.๐๐, ๐.๒๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

^{๓)} ราคาวัตถุดิบ (บาท/กก.) มีดังนี้ ข้าวโพด ๔.๘๐, กากถั่วเหลือง ๑๔.๒๐, ไร่ละเย็ด ๑๐.๐๐, ปลาปน ๓๘.๐๐, น้ำมันรำ ๓๐.๐๐, กากสับุดำลด สารพิษ ๕.๐๐, โดแคลเซียมฟอสเฟต ๙.๕๐, แอล-ไลซีน ๗๐.๐๐, ดีแอล-เมทไธโอนีน ๑๖๐.๐๐, เปลือกหอย ๑.๕๐, เกลือ ๔.๕๐ และฟอสฟอรัส ๘๖.๐๐

^{๔)} วิตามินและแร่ธาตุมีหน่วยเป็น ก./กก. (ยกเว้นที่ระบุ) : กลุ่มวิตามิน: เอ ๒.๕ MIU; บี ๐.๕; เค ๐.๒; บี ๐.๐๑; บี ๐.๙; บี ๑.๕; บี ๐.๐๐๓; กรด แพนโทนิค ๓.๑; โนอาซิน ๑.๕; กรดโฟลิก ๐.๑๗; ไบโอติน ๐.๐๐๔; กลุ่มแร่ธาตุ: ซีลีเนียม ๐.๐๐๑; เหล็ก ๒๕; แมงกานีส ๒๔.๕; สังกะสี ๑๒.๙; ทองแดง ๒.๕; ไอโอดีน ๐.๑๐๘๕; สารอนอมคุณภาพ ๐.๓๐ และสารปรุงแต่ง ๒.๕

ตาราง ๑๔ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองไก่เนื้อช่วงอายุ ๒๒-๓๕ วัน

กากสับดูค่าในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับยลเอสเทอร์ในอาหาร (%)	๐	๐.๐๑๔๘	๐.๐๒๙๖	๐.๐๔๔๔	๐.๐๕๙๒
ชนิดวัตถุดิบ :					
ข้าวโพด	๕๖.๐๒	๕๓.๓๖	๕๐.๗๑	๔๘.๐๕	๔๕.๔๐
กากสับดูค่าที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
น้ำมันรำ	๕.๓๑	๕.๖๗	๕.๐๓	๕.๓๘	๕.๗๓
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๒๒.๕๑	๑๙.๙๑	๑๗.๔๑	๑๕.๙๑	๑๒.๔๑
แอล-ไลซีน	๐.๐๕	๐.๐๔	๐.๐๒	๐.๐๑	-
ดีแอล-เมทไธโอนีน	๐.๐๗	๐.๐๖	๐.๐๔	๐.๐๒	-
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (๑๘% P)	๑.๐๕	๐.๘๖	๐.๖๖	๐.๔๗	๐.๒๗
เปลือกหอย	๐.๕๙	๐.๖๑	๐.๖๓	๐.๖๖	๐.๖๙
ส่วนผสมคงที่ ^{๒/}	๑๕.๕๐	๑๕.๕๐	๑๕.๕๐	๑๕.๕๐	๑๕.๕๐
รวม	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐
คุณค่าทางโภชนาโดยการคำนวณ (% สภาพใช้เลี้ยง) :					
โปรตีน	๑๙.๐๐	๑๙.๐๐	๑๙.๐๐	๑๙.๐๐	๑๙.๐๐
ME (kcal/g.)	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐
ไขมัน	๘.๓๔	๙.๖๕	๑๐.๙๗	๑๒.๒๘	๑๓.๕๙
เยื่อใย	๓.๙๘	๔.๘๑	๕.๖๔	๖.๔๗	๗.๓๑
แคลเซียม	๐.๙๐	๐.๙๐	๐.๙๐	๐.๙๐	๐.๙๐
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	๐.๔๐	๐.๔๐	๐.๔๐	๐.๔๐	๐.๔๐
ไลซีน	๑.๐๗	๑.๐๗	๑.๐๗	๑.๐๗	๑.๐๗
เมทไธโอนีน	๐.๔๒	๐.๔๒	๐.๔๒	๐.๔๒	๐.๔๒
ราคาอาหาร (บาท/กก.)^{๓/}	๑๓.๓๙	๑๓.๐๓	๑๒.๖๗	๑๒.๓๑	๑๑.๙๕

^{๑/ ๓/๓} เช่นเดียวกับตาราง ๑๓

^{๒/} รำละเอียด ปลาป่น (๖๐% CP) เกลีส และพรีมิกซ์^{๓/} ใช้จำนวน ๑๐.๐๐, ๕.๐๐, ๐.๒๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

ตาราง ๑๕ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองไก่เนื้อช่วงอายุ ๓๖-๔๒ วัน

กากสับุดำในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร	๐	๐.๐๑๔๘	๐.๐๒๙๖	๐.๐๔๔๔	๐.๐๕๙๒
ชนิดวัตถุดิบ :					
ข้าวโพด	๖๓.๕๕	๖๐.๘๘	๕๘.๒๓	๕๕.๕๗	๕๒.๙๒
กากสับุดำที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
น้ำมันรำ	๓.๔๔	๓.๘๐	๔.๑๖	๔.๕๒	๔.๘๘
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๑๙.๓/๑	๑๓.๒๑	๑๔.๓/๑	๑๒.๒๑	๙.๓/๑
แอล-ไลซีน ^{๒/}	๐.๐๕	๐.๐๔	๐.๐๓	๐.๐๒	๐.๐๑
ดีแอล-เมทไธโอนีน	๐.๐๗	๐.๐๖	๐.๐๔	๐.๐๒	-
ไดแคลเซียมฟอสเฟต (๑๘% P)	๑.๑๑	๐.๙๒	๐.๗๒	๐.๕๓	๐.๓๓
เปลือกหอย	๐.๕๗	๐.๕๙	๐.๖๑	๐.๖๓	๐.๖๕
ส่วนผสมคงที่ ^{๒/}	๑๑.๕๐	๑๑.๕๐	๑๑.๕๐	๑๑.๕๐	๑๑.๕๐
รวม	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐
คุณค่าทางโภชนาโดยการคำนวณ (% สภาพใช้เลี้ยง) :					
โปรตีน	๑๗.๐๐	๑๗.๐๐	๑๗.๐๐	๑๗.๐๐	๑๗.๐๐
ME (kcal/g.)	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐	๓.๒๐
ไขมัน	๓.๓๐	๘.๖๑	๙.๙๓	๑๑.๒๔	๑๒.๕๕
เยื่อใย	๓.๓/๑	๔.๕๔	๕.๓๘	๖.๒๑	๗.๐๔
แคลเซียม	๐.๘๐	๐.๘๐	๐.๘๐	๐.๘๐	๐.๘๐
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	๐.๓๕	๐.๓๕	๐.๓๕	๐.๓๕	๐.๓๕
ไลซีน	๐.๙๒	๐.๙๒	๐.๙๒	๐.๙๒	๐.๙๒
เมทไธโอนีน	๐.๓๘	๐.๓๘	๐.๓๘	๐.๓๘	๐.๓๘
ราคาอาหาร (บาท/กก.)^{๓/}	๑๒.๓๙	๑๒.๐๓	๑๑.๖๗	๑๑.๓๑	๑๐.๙๕

^{๑/ ๓/๔/} เช่นเดียวกับตาราง ๑๓

^{๒/} รำละเอียด ปลาป่น (๖๐% CP) เกล็ด และพรีมิกซ์^{๒/} ใช้จำนวน ๘.๐๐, ๓.๐๐, ๐.๒๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

๑.๒ การใช้กากสบูดำที่ลดพิษแล้วในอาหารไก่ไข่

ใช้ไก่ไข่ลูกผสมพันธุ์ชิวขาวราวน์ อายุ ๒๘ สัปดาห์ จำนวน ๒๔๐ ตัว เลี้ยงในกรงดับแบบขังเดี่ยวขนาด ๒๔×๔๐×๓๖ ซม. แบ่งออกโดยสุ่มเป็น ๕ กลุ่มๆ ละ ๔ ซ้ำ (จำนวน ๑๒ ตัว/ซ้ำ) มีรางอาหารอยู่ด้านหน้า รางน้ำอยู่ด้านบนของกรงยาวติดต่อกันตลอดทั้งแถว ไก่มีน้ำและอาหารกินตลอดเวลา และได้รับแสงสว่างวันละ ๑๖ ชั่วโมง ในแต่ละซ้ำรางอาหารถูกกั้นแยกออกจากกันด้วยแผงกั้นเพื่อป้องกันไม่ให้ไก่กลุ่มอื่นเข้ามากินอาหาร อาหารทดลองที่แม่ไก่ได้รับเป็นอาหารแบบผสมเอง ที่มีส่วนผสมของกากสบูดำที่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการหนึ่ง ในสูตรอาหารระดับ ๐, ๕, ๑๐, ๑๕ และ ๒๐% โดยมีระดับโปรตีนในอาหารเท่ากับ ๑๖% ส่วนค่า ME กำหนดให้เท่ากับ ๒.๘ kcal/g. เหมือนกันทุกสูตร ดังแสดงไว้ในตาราง ๑๖

งานทดลองการใช้กากสบูดำเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ปีก (ไก่เนื้อและไก่ไข่) นี้กระทำที่ฟาร์มสัตว์ปีก ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยการศึกษาในไก่เนื้อใช้เวลา ๖ สัปดาห์ ส่วนไก่ไข่ใช้เวลา ๓ ช่วงการทดลอง ช่วงละ ๒๘ วัน รวม ๘๔ วัน

การบันทึกข้อมูลในส่วนของไก่เนื้อ ประกอบด้วย อัตราการเจริญเติบโตและปริมาณอาหารที่กิน ซึ่งบันทึกเมื่อมีการเปลี่ยนสูตรอาหาร (ครบสัปดาห์ที่ ๓ และ ๕) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เพื่อนำไปคำนวณอัตราแลกน้ำหนัก ส่วนอัตราการตายและอาการผิดปกติ บันทึกทุกครั้งที่เกิดขึ้น เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ไก่อายุ ๖ สัปดาห์) ทำการสุ่มไก่มากลุ่มละ ๒ ตัว/ซ้ำ เพื่อฆ่าแบบตัดเส้นเลือดดำที่คอ จากนั้นบันทึกคุณภาพซาก (เปอร์เซ็นต์ซาก อวัยวะภายใน ไขมัน ช่องท้อง สัดส่วนของเนื้ออก น่อง สะโพก และปีก) รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ตกค้างในเนื้ออก

สำหรับการศึกษาในไก่ไข่ บันทึกผลผลิตไข่ทุกวัน และปริมาณอาหารที่กิน ในวันสุดท้ายของแต่ละช่วง ส่วนคุณภาพไข่ทั้งน้ำหนักไข่และจำนวนไข่แต่ละเบอร์ (เกรด และน้ำหนัก) บันทึกจากไข่ทุกฟองใน ๓ วันสุดท้ายของแต่ละช่วง (วันที่ ๒๖, ๒๗ และ ๒๘) โดยคุณภาพไข่ด้านค่า Haugh unit ความหนาเปลือกไข่ และสีไข่แดง บันทึกจากไข่ ๒ ฟองของแต่ละซ้ำใน ๓ วันสุดท้ายของแต่ละช่วง นอกจากนี้ทำการสุ่มไข่มา ๒ ฟอง/ซ้ำ (วันที่ ๘๒, ๘๓ และ ๘๔) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสในไข่แดงและไข่ขาว ตามวิธีที่อ้างอิงโดย Makkar *et al.* (๑๙๙๘) รวมทั้งบันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของไก่ไข่ เมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองด้วย

ตาราง ๑๖ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองไก่ไข่ช่วงอายุ ๒๘-๓๙ สัปดาห์

กากสับดูดำในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร (%)	๐	๑.๔๘	๒.๙๖	๔.๔๔	๕.๙๒

ชนิดวัตถุดิบ :

ข้าวโพด	๖๒.๓๒	๖๐.๑๔	๕๗.๙๕	๕๕.๖๒	๕๒.๓๘
กากสับดูดำที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
น้ำมันรำ	-	-	-	๐.๑๓	๐.๕๐
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๑๒.๘๖	๑๐.๒๖	๗.๖๗	๕.๑๐	๒.๗๙
แอล-ไลซีน	๐.๐๕	๐.๐๔	๐.๐๓	๐.๐๒	๐.๐๑
ดีแอล-เมทไธโอนีน	๐.๐๘	๐.๐๖	๐.๐๔	๐.๐๒	-
ไดแคลเซียมฟอสเฟต (๑๒% P)	๑.๒๗	๐.๙๕	๐.๖๓	๐.๓๑	-
เปลือกหอย	๖.๙๒	๗.๐๕	๗.๑๘	๗.๓๐	๗.๔๒
ส่วนผสมคงที่ ^{๒/}	๑๖.๕๐	๑๖.๕๐	๑๖.๕๐	๑๖.๕๐	๑๖.๕๐
รวม	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐

คุณค่าทางโภชนาโดยการคำนวณ (% สภาพใช้เลี้ยง) :

โปรตีน	๑๖.๐๐	๑๖.๐๐	๑๖.๐๐	๑๖.๐๐	๑๖.๐๐
ME (kcal/g.)	๒.๘๐	๒.๘๐	๒.๘๐	๒.๘๐	๒.๘๐
ไขมัน	๔.๓๓	๕.๓๑	๖.๒๘	๗.๓๖	๘.๖๖
เยื่อใย	๓.๔๕	๔.๒๙	๕.๑๓	๕.๙๖	๖.๗๙
แคลเซียม	๓.๔๐	๓.๔๐	๓.๔๐	๓.๔๐	๓.๔๐
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	๐.๓๘	๐.๓๘	๐.๓๘	๐.๓๘	๐.๓๘
ไลซีน	๐.๘๘	๐.๘๘	๐.๘๘	๐.๘๘	๐.๘๘
เมทไธโอนีน	๐.๓๙	๐.๓๙	๐.๓๙	๐.๓๙	๐.๓๙
ราคาอาหาร (บาท/กก.) ^{๓/}	๑๑.๓๐	๑๐.๘๗	๑๐.๔๔	๑๐.๐๔	๙.๖๙

^{๑/} เช่นเดียวกับตาราง ๑๓

^{๒/} รำละเอียด ปลาป่น (๖๐% CP) เกลือ และฟอสฟอรัส^{๓/} ใช้จำนวน ๑๐.๐๐, ๖.๐๐, ๐.๒๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

^{๓/} วิตามินและแร่ธาตุมีหน่วยเป็น ก./กก. (ยกเว้นที่ระบุ) : กลุ่มวิตามิน; เอ ๑.๒ MIU; บี ๐.๘; เค ๐.๒; ซี ๐.๐๑; ดี ๐.๕; อี ๐.๓; บี_๖ ๐.๐๐๑; กรดแพนโทนิค ๐.๙๕; ไนอาซิน ๑.๕; กรดโฟลิก ๐.๐๕; ไบโอดีน ๐.๐๐๙; กลุ่มแร่ธาตุ; ซีลีเนียม ๐.๐๐๑; เหล็ก ๖; แมงกานีส ๖; สังกะสี ๔; ทองแดง ๐.๖; ไอโอดีน ๐.๐๓๕; สารถนอมคุณภาพ ๐.๖๒๕ และสารปรุงแต่ง ๒.๕

การทดลองที่ ๒ : การใช้กากสับุดำที่ลดพิษแล้วในอาหารสุกร มีรายละเอียดดังนี้

ใช้สุกรขุนสามสายเลือด (Duroc × Landrace – Large white) มีน้ำหนักตัว เริ่มต้นเฉลี่ย ๒๐ กก. จำนวน ๔๐ ตัว (เพศผู้ ๒๐ ตัว เพศเมีย ๒๐ ตัว) แบ่งออกโดยลุ่มเป็น ๕ กลุ่มๆ ละ ๘ ตัว เลี้ยงในคอกพื้นปูนขนาด ๑.๕×๒ ตารางเมตร จุคอกละ ๑ ตัว มีอุปกรณ์ให้น้ำ จำนวน ๑ ชุด อยู่ด้านท้ายของแต่ละคอก ส่วนรางอาหารเป็นแบบรางปูน มีความยาว ๐.๕ เมตร อยู่ด้านหน้าของแต่ละคอก สุกรในแต่ละกลุ่มได้รับอาหารทดลองเป็นอาหารผสมเองแบบ ผง มีส่วนผสมของกากสับุดำที่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการต้ม ซึ่งสามารถลดสารพิษฟอรั บอลเอสเทอร์ได้สูงถึง ๙๖.๖๑% ยังคงเหลือสารฟอรับอลอยู่เพียง ๐.๐๔๙ มก./ก. และสาร ยับยั้งทริปซินคงเหลือ ๗.๘๙ มก./ก. ในอาหารสุกรเล็ก (น้ำหนักตัว ๑๕-๓๐ กก.) ให้อาหารที่มี กากสับุดำเท่ากับ ๐, ๕, ๕, ๑๐ และ ๑๐% ในกลุ่ม ๑-๕ ตามลำดับ ในระยะสุกรรุ่น (น้ำหนัก สุกร ๓๐-๖๐ กก.) ให้อาหารที่มีกากสับุดำ ๐, ๕, ๑๐, ๑๐ และ ๑๕% ในกลุ่มที่ ๑-๕ ตามลำดับ และในอาหารสุกรขุน (น้ำหนัก ๖๐-๙๐ กก.) ให้อาหารที่มีกากสับุดำที่ระดับ ๐, ๕, ๑๐, ๑๕ และ ๒๐% ในกลุ่มที่ ๑-๕ ตามลำดับ โดยมีระดับโปรตีนในอาหารเท่ากับ ๑๘, ๑๖ และ ๑๔% ตามลำดับ ส่วนค่าพลังงานย่อยได้ กำหนดให้เท่ากับ ๓.๔ kcal/g เหมือนกันทุกสูตร และทุกระยะ

บันทึกข้อมูลด้านการเจริญเติบโตและปริมาณอาหารที่กินเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง ระดับโปรตีนในอาหาร โดยจะเปลี่ยนสูตรอาหารเมื่อสุกรในแต่ละซ้ามีน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่ ๓๐ และ ๖๐ กก. น้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองเฉลี่ยทั้งซ้ากำหนดไว้ที่ ๙๐ กก. ในแต่ละซ้าอาจมีช่วง การเปลี่ยนอาหารทดลอง กล่าวคือการเปลี่ยนจากอาหารสุกรเล็กไปเป็นอาหารรุ่น และจาก อาหารสุกรรุ่นไปเป็นอาหารสุกรขุน รวมทั้งการเสร็จสิ้นการทดลองจะไม่พร้อมกัน ข้อมูลน้ำหนัก ตัวเพิ่มและปริมาณอาหารที่กินของสุกรแต่ละซ้า นำมาคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยของอัตราการ เจริญเติบโตต่อวัน (average daily gain; ADG) ปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวัน (average daily feed intake; ADFI) ส่วนอัตราการตายและอาการผิดปกติของสุกรตลอดระยะเวลาการทดลอง บันทึกทุกครั้งที่มีการตายเกิดขึ้น เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษในเนื้อแดงของ สุกร โดยวัดค่า phorbol esters ด้วยวิธี HPLC

ตาราง ๑๗ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองสุกรเล็ก(น้ำหนัก ๒๐-๓๐ กก.)

กากสับุดำในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐
ฟอรับอลเซลเทอรในอาหาร (มก./ก.)	-	๐.๐๒๕	๐.๐๔๙
ชนิดวัตถุดิบ :			
กากสับุดำที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐
ข้าวโพด	๓๘.๗/๕	๓๗.๐๓	๓๖.๗
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๑๗.๙๕	๑๕.๕๖	๑๓.๐๕
รำละเอียด	๑๒.๐๐	๘.๘๐	๕.๒๕
น้ำมันรำ	๐.๕๐	๒.๗๒	๕.๘๐
ไคแคลเซียม(P ๑๔%)	๐.๗๐	๐.๘๐	๐.๘๖
หินแป้ง	๑.๐๐	๐.๙๕	๐.๙๒
แอล-ไลซีน	-	๐.๑๐	.๐๒๒
ดีแอล-เมทไธโอนีน	-	๐.๐๕	๐.๑๐
ส่วนผสมคงที่ ^{๒/}	๒๙.๑๐	๒๙.๑๐	๒๙.๑๐
รวม	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐
คุณค่าทางโภชนาโดยการคำนวณ (% สภาพใช้เลี้ยง) :			
โปรตีน	๑๘.๐๐	๑๘.๐๐	๑๘.๐๐
DE (kcal/g.)	๓.๕๐	๓.๕๐	๓.๕๐
เยื่อใย	๓.๘๕	๕.๖๕	๕.๓๑
ไขมัน	๕.๕๖	๖.๕๓	๘.๐๖
แคลเซียม	๐.๘๖	๐.๘๖	๐.๘๖
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	๐.๕๑	๐.๕๑	๐.๕๑
ไลซีน	๑.๐๐	๑.๐๐	๑.๐๐
ราคาอาหาร (บาท/กก.)^{๓/}	๑๕.๐๘	๑๕.๔๙	๑๕.๘๖

^{๑/} ใช้แบบต้ม มีโปรตีน ๒๙.๖๑% ไขมัน ๕.๒๓%, เยื่อใย ๒๗.๑๑% และ ME ๔.๗๕๕ kcal/g.

^{๒/} ปลาปน (๖๐% CP) เกลือ และฟอสฟอรัส^{๔/} ใช้จำนวน ๖.๕, ๐.๓๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

^{๓/} ราคาวัตถุดิบ (บาท/กก.) มีดังนี้ ข้าวโพด ๑๐.๒๐, กากถั่วเหลือง ๑๕.๑๐, รำละเอียด ๑๐.๗๐, ปลาปน ๓๗.๐๐, น้ำมันรำ ๓๘.๐๐, กากสับุดำลดสารพิษ ๕.๐๐, ไคแคลเซียมฟอสเฟต ๑๐.๕๐, แอล-ไลซีน ๙๓.๐๐, ดีแอล-เมทไธโอนีน ๑๕๘.๐๐, เกลือ ๕.๕๐ และฟอสฟอรัส ๕๐.๐๐

^{๔/} หน่วย มก./กก. อาหาร (ยกเว้นที่ระบุ); กลุ่มวิตามิน: เอ ๑.๒ MIU, บี ๑.๒, เค ๐.๑๕, บี_๑ ๐.๑๕, บี_๒ ๐.๒, บี_{๑๒} ๐.๐๐๑๕, ไนอะซิน ๑.๕, กรดแพนโทนิค ๑.๐, กรดโฟลิก ๐.๐๕, ไบโอดีน ๐.๐๐๓, โคบาลิน ๐.๐๐๑, โคลีนคลอไรด์ ๑๕.๐; กลุ่มแร่ธาตุ: เหล็ก ๓.๐, ทองแดง ๐.๖, แมงกานีส ๖.๐, สังกะสี ๖.๐, โคบอลต์ ๐.๐๐๕, ไอโอดีน ๐.๐๕, ซีลีเนียม ๐.๐๐๘๕; สารแต่งกลิ่น ๒.๕ และ สารถนอมคุณภาพอาหาร ๐.๖๒๕

ตาราง ๑๘ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองสุกรรุ่น(น้ำหนัก ๓๐-๖๐ กก.)

กากสับดูดำในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร (มก./กก.)	-	๐.๐๒๕	๐.๐๕๐	๐.๐๗๕
ชนิดวัตถุดิบ :				
กากสับดูดำที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐
ข้าวโพด	๔๒.๕๐	๔๑.๕๐	๔๑.๕๐	๓๙.๘๐
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๑๔.๓๕	๑๑.๙๐	๙.๕๐	๗.๐๐
รำละเอียด	๑๕.๐๐	๑๑.๑๐	๖.๒๕	๒.๙๙
น้ำมันรำ	๐.๗๕	๒.๙๐	๕.๙๕	๗.๒๐
โดแคลเซียม(P ๑๕%)	๐.๘๐	๐.๙๐	๐.๙๕	๑.๐๕
หินแป้ง	๑.๐๐	๐.๙๕	๐.๙๓	๐.๘๘
แอล-ไลซีน	-	๐.๑๐	๐.๒๒	๐.๓๓
ดีแอล-เมทไธโอนีน	-	๐.๐๕	๐.๑๐	๐.๑๕
ส่วนผสมคงที่ ^{๒/}	๒๕.๖๐	๒๕.๖๐	๒๕.๖๐	๒๕.๖๐
รวม	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐
คุณค่าทางโภชนาโดยการคำนวณ (% สภาพใช้เลี้ยง) :				
โปรตีน	๑๖.๐๐	๑๖.๐๐	๑๖.๐๐	๑๖.๐๐
DE (kcal/g.)	๓.๔๐	๓.๔๐	๓.๔๐	๓.๔๐
เยื่อใย	๓.๙๘	๔.๗๑	๕.๓๗	๖.๑๕
ไขมัน	๕.๑๐	๖.๘๕	๘.๐๖	๙.๗๘
แคลเซียม	๐.๘๓	๐.๘๓	๐.๘๓	๐.๘๓
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	๐.๓๙	๐.๓๙	๐.๓๙	๐.๓๙
ไลซีน	๐.๘๖	๐.๘๕	๐.๘๕	๐.๘๕
ราคาอาหาร (บาท/กก.)^{๓/}	๑๓.๕๑	๑๓.๘๙	๑๔.๒๕	๑๔.๖๗

^{๑/} ใช้แบบต้ม มีโปรตีน ๒๙.๖๑% ไขมัน ๕.๒๓%, เยื่อใย ๒๗.๑๑% และ ME ๔.๗๔๕ kcal/g.

^{๒/} ปลาป่น (๖๐% CP) เกลือ และฟอสเฟต^{๔/} ใช้จำนวน ๖.๕, ๐.๓๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

^{๓/} ราคาวัตถุดิบ (บาท/กก.) มีดังนี้ ข้าวโพด ๑๐.๒๐, กากถั่วเหลือง ๑๔.๑๐, รำละเอียด ๑๐.๗๐, ปลาป่น ๓๗.๐๐, น้ำมันรำ ๓๘.๐๐, กากสับดูดำลดสารพิษ ๕.๐๐, โดแคลเซียมฟอสเฟต ๑๐.๕๐, แอล-ไลซีน ๙๓.๐๐, ดีแอล-เมทไธโอนีน ๑๔๘.๐๐, เกลือ ๔.๕๐ และฟอสเฟต ๕๐.๐๐

^{๔/} หน่วย มก./กก. อาหาร (ยกเว้นที่ระบุ); กลุ่มวิตามิน: เอ ๑.๒ MIU, บี ๑.๒, ซี ๐.๑๕, บี_๑ ๐.๑๕, บี_๒ ๐.๒, บี_๖ ๐.๐๐๑๕, ไนอะซิน ๑.๕, กรดแพนโทนิค ๑.๐, กรดโฟลิก ๐.๐๕, ไบโอดีน ๐.๐๐๓, โคลีนคลอไรด์ ๑๕.๐; กลุ่มแร่ธาตุ: เหล็ก ๓๐, ทองแดง ๐.๖, แมงกานีส ๖.๐, สังกะสี ๖.๐, โคบอลต์ ๐.๐๐๕, ไอโอดีน ๐.๐๕, ซีลีเนียม ๐.๐๐๘๕; สารแต่งกลิ่น ๒.๕ และ สารถนอมคุณภาพอาหาร ๐.๖๒๕

ตาราง ๑๙ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองสุกรขุน(น้ำหนัก ๖๐-๙๐ กก.)

กากสับุดำในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร (มก./กก.)	-	๐.๐๒๕	๐.๐๕๐	๐.๐๗๕	๐.๑๐๐
ชนิดวัตถุดิบ :					
กากสับุดำที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
ข้าวโพด	๕๐.๓	๔๙.๙๕	๔๘.๕๐	๔๕.๕๒	๔๒.๖๔
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๑๑.๕๐	๙.๑๐	๖.๓๕	๓.๗๐	๑.๐๐
รำละเอียด	๑๒.๖๕	๘.๑๒	๕.๘๐	๒.๘๕	๑.๐๐
น้ำมันรำ	๐.๖๐	๒.๗๐	๕.๙๐	๗.๒๕	๙.๕๐
ไคแคลเซียม(P ๑๕%)	๑.๑๐	๑.๒๐	๑.๒๕	๑.๓๕	๑.๕๐
หินแป้ง	๑.๐๓	๐.๙๕	๐.๙๕	๐.๙๐	๐.๘๗
แอล-ไลซีน	๐.๑๗	๐.๒๘	๐.๔๑	๐.๕๓	๐.๖๔
ดีแอล-เมทไธโอนีน	๐.๐๕	๐.๑๐	๐.๒๕	๐.๓๐	๐.๓๕
ส่วนผสมคงที่ ^{๒/}	๒๒.๖๐	๒๒.๖๐	๒๒.๖๐	๒๒.๖๐	๒๒.๖๐
รวม	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐	๑๐๐.๐๐
คุณค่าทางโภชนาโดยการคำนวณ (% สภาพใช้เลี้ยง) :					
โปรตีน	๑๕.๐๐	๑๕.๐๐	๑๕.๐๐	๑๕.๐๐	๑๕.๐๐
DE (kcal/g.)	๓.๕๐	๓.๕๐	๓.๕๐	๓.๕๐	๓.๕๐
เยื่อใย	๓.๗๐	๕.๑๕	๖.๖๙	๖.๐๑	๖.๙๐
ไขมัน	๕.๗๕	๖.๓๖	๗.๘๗	๑๐.๓๒	๑๒.๓๓
แคลเซียม	๐.๘๓	๐.๘๓	๐.๘๓	๐.๘๓	๐.๘๓
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	๐.๓๙	๐.๓๙	๐.๓๙	๐.๓๙	๐.๓๙
ไลซีน	๐.๘๓	๐.๘๓	๐.๘๓	๐.๘๓	๐.๘๓
ราคาอาหาร (บาท/กก.)^{๓/}	๑๒.๙๕	๑๓.๓๕	๑๓.๘๘	๑๔.๓๓	๑๕.๗๓

^{๑/} ใช้แบบต้ม มีโปรตีน ๒๙.๖๑% ไขมัน ๕.๒๓%, เยื่อใย ๒๗.๑๑% และ ME ๔.๗๔๕ kcal/g.

^{๒/} ปลาป่น (๖๐% CP) เกลือ และฟอสฟอรัส^{๓/} ใช้จำนวน ๖.๕, ๐.๓๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

^{๓/} ราคาวัตถุดิบ (บาท/กก.) มีดังนี้ ข้าวโพด ๑๐.๒๐, กากถั่วเหลือง ๑๕.๑๐, รำละเอียด ๑๐.๗๐, ปลาป่น ๓๗.๐๐, น้ำมันรำ ๓๘.๐๐, กากสับุดำลดสารพิษ ๕.๐๐, ไคแคลเซียมฟอสเฟต ๑๐.๕๐, แอล-ไลซีน ๙๓.๐๐, ดีแอล-เมทไธโอนีน ๑๔๘.๐๐, เกลือ ๕.๕๐ และฟอสฟอรัส ๕๐.๐๐

^{๔/} หน่วย มก./กก. อาหาร (ยกเว้นที่ระบุ); กลุ่มวิตามิน: เอ ๑.๒ MIU, ซี ๑.๒, เค ๐.๑๕, บี_๑ ๐.๑๕, บี_๖ ๐.๒, บี_{๑๒} ๐.๐๐๑๕, โนอะซิน ๑.๕, กรดแพนโทนิค ๑.๐, กรดโฟลิก ๐.๐๕, ไบโอดีน ๐.๐๐๓, โคบาลิน ๐.๐๐๐๑, โคลีนคลอไรด์ ๑๕.๐; กลุ่มแร่ธาตุ: เหล็ก ๓.๐, ทองแดง ๐.๖, แมงกานีส ๖.๐, สังกะสี ๖.๐, โคบอลต์ ๐.๐๐๑, ไอโอดีน ๐.๐๑, ซีลีเนียม ๐.๐๐๘๕; สารแต่งกลิ่น ๒.๕ และ สารถนอมคุณภาพอาหาร ๐.๖๒๕

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลจากการศึกษาหาค่า ME ที่ได้จากวิธีกรอกปาก ค่าการย่อยได้จากวิธีแทนที่ในอาหารฐาน และปริมาณสารฟอรับออลเอสเทอร์ที่ตรวจพบในเนื้อ และในไข่ นำมาเข้าสมการสหสัมพันธ์แบบเส้นตรง (linear regression) เพื่อคาดคะเนหาค่า ME ค่าการย่อยได้ของกากสับุดำ และสารฟอรับออลเอสเทอร์เมื่อใช้กากสับุดำระดับสูง สำหรับข้อมูล ME ที่ได้จากวิธีแทนที่ในอาหารฐาน ตามแผนการทดลองแบบ 2×4 Factorial ข้อมูลด้านสมรรถภาพการผลิตไก่เนื้อ ไก่ไข่ และการย่อยได้จากวิธีกรอกปากในไก่ นำไปวิเคราะห์ค่าแปรปรวน ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) สำหรับข้อมูลด้านสมรรถภาพการผลิตสุกร วางแผนการทดลองแบบบล็อก (Randomized block design, RBD) โดยใช้เพศเป็น block และหาลำดับความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธี Duncan's new multiple range test ตามที่กล่าวข้างไว้ โดย กัลยา (๒๕๔๔) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows

สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล

๑. ฟาร์มสัตว์ปีก และฟาร์มสุกร ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
๒. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ และห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ช่วงเวลาที่ทำการวิจัย

ระหว่างเดือนตุลาคม ๒๕๕๒ – มีนาคม ๒๕๕๕