

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ 3x2x2 factorial arrangement in randomized complete block design (RCBD) โดยกำหนดให้

ปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดของสัตว์ 3 ชนิด คือ

1. กระบือปลัก
2. โคพื้นเมือง
3. โคผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียน

ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับของโปรตีนหยาบในอาหารชั้น 2 ระดับ คือ

1. 10% CP
2. 14% CP

ปัจจัยที่ 3 คือ ระดับการเสริมเชื่อยีสต์ 2 แบบ คือ

1. ไม่เสริมเชื่อยีสต์ในอาหาร
2. เสริมด้วยเชื่อยีสต์ ปริมาณ 10 กรัมต่อตัวต่อวัน

Block คือ น้ำหนักของสัตว์ทดลอง ซึ่งมี 2 block

3.2. รายละเอียดของปัจจัยการทดลอง (treatment combination) แบ่งออกเป็น 12 แบบ คือ

- แบบที่ 1 กระบือได้รับอาหารชั้น 10%CP, 75%TDN ไม่เสริมยีสต์
- แบบที่ 2 กระบือได้รับอาหารชั้น 10%CP, 75%TDN เสริมยีสต์ 10 กรัมต่อตัวต่อวัน
- แบบที่ 3 กระบือได้รับอาหารชั้น 14%CP, 75%TDN ไม่เสริมยีสต์
- แบบที่ 4 กระบือได้รับอาหารชั้น 14%CP, 75%TDN เสริมยีสต์ 10 กรัมต่อตัวต่อวัน
- แบบที่ 5 โคพื้นเมืองได้รับอาหารชั้น 10%CP, 75%TDN ไม่เสริมยีสต์
- แบบที่ 6 โคพื้นเมืองได้รับอาหารชั้น 10%CP, 75%TDN เสริมยีสต์ 10 กรัมต่อตัวต่อวัน
- แบบที่ 7 โคพื้นเมืองได้รับอาหารชั้น 14%CP, 75%TDN ไม่เสริมยีสต์

- แบบที่ 8 โคพื้นเมืองได้รับอาหารชั้น 14%CP, 75%TDN เสริมยีสต์ 10 กรัมต่อตัวต่อวัน
 แบบที่ 9 โคนมได้รับอาหารชั้น 10%CP, 75%TDN ไม่เสริมยีสต์
 แบบที่ 10 โคนมได้รับอาหารชั้น 10%CP, 75%TDN เสริมยีสต์ 10 กรัมต่อตัวต่อวัน
 แบบที่ 11 โคนมได้รับอาหารชั้น 14%CP, 75%TDN ไม่เสริมยีสต์
 แบบที่ 12 โคนมได้รับอาหารชั้น 14%CP, 75%TDN เสริมยีสต์ 10 กรัมต่อตัวต่อวัน

3.3. สัตว์ทดลอง

ใช้สัตว์ 3 ชนิด คือ กระบือปลัก (*Bubalus bubalis*), โคพื้นเมือง (*Bos indicus*) และโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เพศเมียชนิดละ 8 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 226 ± 23 กิโลกรัม ทำการสุ่มบังจัยทั้ง 12 แบบให้สัตว์แต่ละตัวได้รับบังจัยในแต่ละบล็อก (Block) โดยสัตว์จะถูกเลี้ยงในคอกขังเดี่ยวมีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาตั้งแต่ช่วงปรับสภาพสัตว์จนสิ้นสุดการทดลอง ก่อนเริ่มการทดลองสัตว์ได้ผ่านการฉีดวัคซีนเพื่อป้องกันโรคที่สำคัญและฉีดยาถ่ายพยาธิ โรคใบไม้ในคับ และพยาธิในระบบทางเดินอาหาร และฉีดวิตามิน เอ ดี3 อี ทางกล้ามเนื้อ

3.4. อาหารและการเตรียมอาหารทดลอง

3.4.1. อาหารหญ้าใช้ฟางข้าว ได้จากฟางข้าวนาปี นวดด้วยมือมีลักษณะเป็นเส้นยาว มีคเก็บรวบรวมไว้ในโรงเก็บก่อนนำออกมาใช้เลี้ยงสัตว์

3.4.2. อาหารชั้น ผสมขึ้นจากวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่สามารถหาได้ง่ายในห้องกินและมีราคาถูก มีแหล่งพลังงาน และให้มีส่วนประกอบทางเคมีคือ โปรตีนหยาบ (CP) 10 และ 14% โดยมีพลังงานประมาณ 75% TDN เท่ากัน

3.4.3. เชื้อยีสต์มีชีวิต เป็นเชื้อยีสต์มีชื่อทางการค้า คือ YEASACC 1206 ในสัตว์ได้กินพร้อมกับอาหารชั้นในช่วงเช้าและบ่าย

3.5. การให้อาหารสัตว์ทดลอง

3.5.1. การให้อาหารสัตว์ทดลองในระยะปรับสัตว์ (preliminary feeding period) จัดให้สัตว์ทดลองกินอาหารหยาบ (ฟางข้าว) อย่างเต็มที่ (ad libitum) โดยให้อาหารแบ่งเป็น 2 เวลา ในแต่ละวัน คือ เช้า เวลา 0700 น. และบ่ายเวลา 1500 น. ทุกครั้งที่ให้ฟางข้าวจะชั่งน้ำหนักก่อนให้และฟางข้าวที่เหลือจะชั่งออกมาในตอนเช้าของวันถัดไปก่อนการให้อาหารในตอนเช้า มีน้ำสะอาดให้ดื่มตลอดเวลานาน 30 วัน

3.5.2. การให้อาหารสัตว์ทดลองในระยะทดลอง (experimental period) ให้สัตว์ทดลองกินฟางข้าวแบบเต็มที่ (ad libitum) สำหรับอาหารชั้นสัตว์ได้รับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว และมีการแบ่งให้อาหารออกเป็น 2 เวลา เช่นเดียวกับในระยะปรับ ปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละครั้งจะชั่งน้ำหนักก่อนและอาหารที่เหลือจะชั่งออกทุกวัน ก่อนการให้อาหารใหม่ในภาคเช้า ส่วนเชื้อยีสต์ให้สัตว์กินพร้อมกับการให้อาหารชั้นโดยพยายามให้กินหมดก่อนให้อาหารชั้นการทดลองใช้เวลา 90 วัน

3.6. การเก็บข้อมูลและการเก็บตัวอย่าง

3.6.1. การชั่งน้ำหนักสัตว์ ทำการชั่งน้ำหนักสัตว์ก่อนและระหว่างการทดลองทุก 2 สัปดาห์ในตอนเช้าก่อนการให้อาหารในภาคเช้า แล้วนำไปปรับน้ำหนักโดยใช้สมการ regression และคำนวณหา ADG และปริมาณการกินได้

3.6.2. บันทึกการให้อาหารทุกวันทั้งช่วงเช้าและช่วงบ่าย ด้วยการชั่งน้ำหนักอาหารก่อนการให้ทุกครั้งสำหรับอาหารที่เหลือจะชั่งออกก่อนการให้อาหารในภาคเช้าของวันถัดไปจดบันทึกปริมาณอาหารที่เหลือแล้วนำไปคำนวณหาปริมาณการกินได้โดยอิสระ และคำนวณปริมาณการกินได้โดยอิสระเฉลี่ย

3.6.3. เก็บตัวอย่างอาหารคือ ฟางข้าวและอาหารชั้นที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ในระหว่างการทดลองเพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี คือ วัตถุแห้ง (DM), เถ้า (Ash), โปรตีนหยาบ (CP) ตามวิธีการของ AOAC (1985) และหา neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (ADL) ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970) และเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) โดยวิธีการของ Van Keulen and Young (1977)

3.6.4. เก็บตัวอย่างมูลของสัตว์ทั้ง 24 ตัว ในระหว่างการทดลอง 3 ครั้ง นานติดต่อกัน 2 วัน เก็บวันละ 1 ครั้งในช่วงเช้า โดยการเก็บผ่านทางทวารหนักหรือเก็บจากกองที่ใหม่ที่สุดเอาเฉพาะ ส่วนปลายยอดที่ไม่มีการปนเปื้อนของดิน นำตัวอย่างเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง เพื่อรอการวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีต่างๆ ได้แก่ วัตถุแห้ง (DM), เถ้า (Ash), โปรตีน (CP), NDF และ AIA ตามวิธีการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารสัตว์

3.6.5. เจาะเก็บตัวอย่างเลือดจาก jugular vein จากสัตว์แต่ละตัวเพื่อนำมาวิเคราะห์หา blood urea nitrogen (BUN), ในช่วงเวลาที่ 0, 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหารเช้า 2 ครั้ง ระหว่างการทดลอง

3.6.6. เก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะรูเมน (rumen fluid) โดยผ่านทาง stomach tube และ vacuum pump จากสัตว์แต่ละตัว ในช่วงเวลาที่ 0, 2, 4 และ 6 หลังการให้อาหารเช้าระหว่างการทดลอง 2 ครั้ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.6.7. วิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างเลือด คือ BUN (Crocker, 1967) และ ของของเหลวจากรูเมนคือ pH (โดยใช้ pH meter), total volatile fatty acids (TVFA)ตามวิธีการของBriggs et al.(1957), แอมโมเนีย-ไนโตรเจน, $\text{NH}_3\text{-N}$ (โดยใช้เครื่อง Ammonia Electrode Orion Model 501 Digital Ionalyzer) แบคทีเรีย โปรตีนที่สังเคราะห์ได้ (bacterial protein synthesis) ตามวิธีการของ Zinn and Owen (1986) จำนวนโปรโตซัว ตามวิธีของ Dehority (1984) และจำนวนแบคทีเรีย (total bacterial count) ตามวิธีการของ Galyean (1989)

3.7. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

หาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนาด้วยวิธีใช้ตัวชี้บ่งภายในคือ acid-insoluble ash (AIA) ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1977) และการคำนวณตามวิธีการของ Schnieder and Platt (1975)

เปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (dry matter)

$$= 100 - 100 \times \frac{\% \text{ AIA ในอาหาร}}{\% \text{ AIA ในมูล}}$$

เปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของโภชนะ (nutrient)

$$= 100 - 100 \times \frac{\% \text{ AIA ในอาหาร}}{\% \text{ AIA ในมูล}} \times \frac{\% \text{ โภชนะ ในมูล}}{\% \text{ โภชนะ ในอาหาร}}$$

3.8. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลอง ใช้การวิเคราะห์หาความแปรปรวนแบบ analysis of variance (ANOVA) ตามแผนการทดลอง แบบ 3x2x2 factorial arrangement in randomized complete block design (RCBD) โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1985) และใช้การวิเคราะห์ความแตกต่างเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ โดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (Steel and Torries, 1980)