

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 วัตถุประสงค์ของการทดลอง

3.1.1 เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอ็นไซม์หลายชนิดร่วมกับกรดซิตริก ต่อการย่อยได้ของโภชนะในอาหารสุกรหลังหย่านม

3.1.2 เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอ็นไซม์หลายชนิดร่วมกับกรดซิตริก ต่ออัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และต้นทุนการผลิต ในอาหารสุกรหลังหย่านม

3.1.3 เพื่อศึกษาถึงระดับการเสริมกรดซิตริกในอาหารสุกรหลังหย่านมที่เหมาะสม

3.2 ขอบเขตในการทดลอง

ทำการศึกษาหาผลของการเสริมเอ็นไซม์หลายชนิดร่วมกับกรดซิตริกในอาหารลูกสุกรหลังหย่านม น้ำหนัก 8-21 กก. และใช้ระยะเวลาในการทดลอง 6 สัปดาห์ โดยศึกษาผลของการเสริมเอ็นไซม์หลายชนิดร่วมกับกรดซิตริก ที่มีต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหาร และในลูกสุกรหลังหย่านมน้ำหนัก 10-20 กก. ใช้ระยะเวลาในการทดลอง 4 สัปดาห์ โดยศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว การกินได้ และประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวเปรียบเทียบกับ กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และศึกษาถึงระดับการใช้ที่เหมาะสม ต้นทุนการผลิตและความคงตัวของสาร เมื่อใช้ผสมในอาหาร และเก็บไว้เลี้ยงสัตว์ในสภาพการเลี้ยงทั่วไป

3.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.3.1 ช่วยปรับปรุงการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะต่างๆ โดยเฉพาะช่วยเพิ่มการย่อยคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่น้ำตาล เช่น เยื่อใยเซลลูโลส, เอมิเซลลูโลส นอกจากนั้นยังช่วยปรับปรุงการย่อยได้ของโปรตีนและไขมัน เป็นต้น

3.3.2 เพิ่มปริมาณโภชนะที่ใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งโดยปกติพวกเยื่อใยจะป้องกันไม่ให้ น้ำย่อยจากภายในจากร่างกายเข้าไปสัมผัสกับโภชนะเหล่านั้น

3.3.3 ช่วยให้ลูกสุกรมีสุขภาพแข็งแรง เนื่องจากปริมาณโภชนะที่ดูดซึมจากลำไส้ เล็กเพิ่มมากขึ้น และการหมักของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารส่วนท้ายลดลง ทำให้ อาการท้องเสียของลูกสุกรลดลง การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น และ ลดความต้องการยาปฏิชีวนะลง

3.3.4 ลดการใช้อาหารนมในลูกสุกร

3.3.5 ลดต้นทุนในการผลิตอาหาร ตามปกติแล้วมักจะให้วัตถุดิบพวกธัญพืชที่ผ่าน ขบวนการต่างๆ เช่น ความร้อน เพื่อให้การใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น ซึ่งก็ทำให้ต้นทุนสูงขึ้นด้วย อีกทั้งยังอาจทำให้เกิดผลเสียตามมา เช่น ความร้อนทำให้คุณค่าทางโภชนาการ ลดลง โดยทำให้เกิดปฏิกิริยา Maillard's reaction มีผลทำให้การใช้ประโยชน์ได้ ของกรดอะมิโนในโปรตีนลดลง การเสริมเอนไซม์ที่ช่วยย่อยเยื่อใย ทำให้สามารถใช้วัตถุดิบ ประเภทธัญพืชได้มากขึ้น โดยไม่จำเป็นต้องผ่านขบวนการต่างๆ เสียก่อน จึงเป็นการลด ต้นทุนการผลิตได้อีกทางหนึ่ง

3.4 วิธีดำเนินการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์หลายชนิด (multienzyme) ร่วมกับ กรดซิตริก ต่อการย่อยได้ของโภชนะในอาหารลูกสุกรหลังหย่านม

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมเอ็นไซม์หลายชนิด (multienzyme) ร่วมกับกรดซิตริก ต่ออัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินอาหาร และประสิทธิภาพการใช้อาหารของลูกสุกรหลังหย่านม

3.5 แผนการดำเนินงาน และระยะเวลาในการทดลอง

3.5.1 เตรียมอุปกรณ์ 4 สัปดาห์

3.5.2 การทดลองที่ 1 เริ่มตั้งแต่วันที่ 27 ธันวาคม 2537 ถึงวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2538 รวมระยะเวลาในการทดลอง 6 สัปดาห์

3.5.3 การทดลองที่ 2 เริ่มตั้งแต่วันที่ 27 เมษายน 2538 ถึงวันที่ 31 พฤษภาคม 2538 รวมระยะเวลาในการทดลอง 4 สัปดาห์

3.5.4 การวิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร, ตัวอย่างมูล และปัสสาวะ 6 สัปดาห์

3.5.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 4 สัปดาห์

3.5.6 การวิเคราะห์การทำงานของเอ็นไซม์ ระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.5.7 การเรียบเรียงข้อมูล และเขียนวิทยานิพนธ์ 3 เดือน

3.6 สถานที่ทำการทดลอง

3.6.1 การทดลองที่ 1 ทำการทดลองที่หมวดสุกร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.6.2 การทดลองที่ 2 ทำการทดลองที่ บริษัทสามพรานฟาร์ม จำกัด อ.โพธาราม จ.ราชบุรี

3.6.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร ตัวอย่างมูล และเอ็นไซม์ ทำการวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.6.4 การผสมอาหารสัตว์ ดำเนินการที่โรงผสมอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.7 อุปกรณ์ในการทดลอง

การทดลองที่ 1

1. โรงเรือนสำหรับศึกษาการย่อยได้ที่มีเครื่องควบคุมอุณหภูมิในโรงเรือน
2. กรงสำหรับศึกษาการย่อยได้ 12 กรง
3. เครื่องชั่งชนิดหยาบและชนิดละเอียด
4. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็นสำหรับการจัดการภายในโรงเรือน

การทดลองที่ 2

1. โรงเรือนยกพื้น 1.60 เมตร หลังคากระเบื้อง ลักษณะจั่ว 2 ชั้น
2. คอกสุกรขนาด 2x3 เมตร จำนวน 18 คอก
3. ที่ให้น้ำและอาหารอย่างละ 1 ชุด/คอก
4. เครื่องชั่งชนิดหยาบและละเอียด
5. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็นสำหรับการจัดการภายในโรงเรือน

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารสัตว์และมูล โดยวิเคราะห์วิธีประมาณ (proximate analysis) ในการวิเคราะห์หาโปรตีน เยื่อใย ไขมัน แคลเซียม (เขามาเลย์ และ สาริซ, 2521) วิเคราะห์หาพลังงานในอาหารและมูลด้วยเครื่อง บาลลิสติก บอมป์ คาลอริมิเตอร์ (ballistic bomb calorimeter)^{1/} วิเคราะห์หาฟอสฟอรัส และโครมิกออกไซด์ โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)^{2/} วิเคราะห์หา pH ในอาหาร โดยใช้เครื่องอีเล็กโทรนิก พีเอช มิเตอร์

^{1/} Ballistic bomb calorimeter (Gallenkamp), Smith Industries Ltd. England

^{2/} Hitachi spectrophotometer U-1100, Hitachi Ltd. Tokyo, Japan

(electronic pH meter)^{3/} ตามวิธีของ Radecki และคณะ (1988) และวิเคราะห์การทำงานของกลุ่มเอ็นไซม์ โดยเอ็นไซม์ แอลฟา-อัมัยเลส ใช้เครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ตามวิธีของ Street (1965)

3.8 สัตว์ทดลอง

การทดลองที่ 1

ใช้ลูกสุกรผสม 3 สายเลือด (ดอร์คเจอร์ซี่ x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) ตัวผู้ 6 ตัว ตัวเมีย 6 ตัว น้ำหนักประมาณ 8 กก. โดยแบ่งลูกสุกรแต่ละเพศให้ได้รับอาหารสูตรต่างๆ 6 สูตร เปลี่ยนสูตรอาหารให้แก่ลูกสุกรแต่ละตัวทุกสัปดาห์ ซึ่งตลอดการทดลองลูกสุกรจะได้รับสูตรอาหารครบทั้ง 6 สูตร ในเวลา 6 สัปดาห์ ตามแผนการทดลอง 6 x 6 Latin Square ที่มี 2 ซ้ำ (replicated L.S.) และก่อนการทดลองทำการถ่ายพยาธิ ฉีดวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกรและโรคปากเท้าเปื่อยตามโปรแกรมปกติของหมวดสุกร

การทดลองที่ 2

ใช้ลูกสุกรพันธุ์ผสมสามสายเลือด (ดอร์คเจอร์ซี่ x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) น้ำหนักประมาณ 10 กิโลกรัม จำนวน 108 ตัว แบ่งสุกรออกเป็น 6 กลุ่ม แต่ละกลุ่มได้รับอาหารสูตรใดสูตรหนึ่งในจำนวน 6 สูตร แต่ละสูตรทดลองมี 3 ซ้ำ ตามแผนแบบการทดลอง Completely Randomized Design (C.R.D.) สัตว์ทดลองในแต่ละหน่วยทดลอง (experimental unit หรือคอก) มี 6 ตัว ตัวผู้ 3 ตัว ตัวเมีย 3 ตัว และสุกรทุกตัวได้รับการถ่ายพยาธิ ฉีดวัคซีนโรคปากเท้าเปื่อย และอหิวาต์สุกร ก่อนนำสัตว์เข้าการทดลอง การทดลองสิ้นสุดในระยะเวลา 4 สัปดาห์

^{3/} Model 500-2324, Barnant Co., Barrington.

3.9 อาหารทดลอง

อาหารทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นอาหารสุกรเล็กที่มีข้าวโพด ปลายข้าว และรำอ่อน เป็นแหล่งพลังงาน และมีกากถั่วเหลือง ปลาป่น เป็นแหล่งโปรตีนหลัก คำนวณสูตรให้มีโปรตีนหยาบ 18% และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ประมาณ 3,160-3,200 kcal/kg และเสริมด้วยเอ็นไซม์หลายชนิด และ/หรือกรดซิตริก ให้ได้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน ตามแผนแบบการทดลอง 2 x 3 factorial arrangement ดังนี้

ระดับกรดซิตริก, %	ระดับเอ็นไซม์	
	0.0	0.1
0.0	trt 1-0.0, 0.0	trt 4-0.1, 0.0
1.5	trt 2-0.0, 1.5	trt 5-0.1, 1.5
3.0	trt 3-0.0, 3.0	trt 6-0.1, 3.0

หรือ

- trt 1. อาหารสูตรเปรียบเทียบ + เอ็นไซม์หลายชนิด 0.0% + กรดซิตริก 0.0%
- trt 2. สูตรอาหาร + เอ็นไซม์หลายชนิด 0.0% + กรดซิตริก 1.5%
- trt 3. สูตรอาหาร + เอ็นไซม์หลายชนิด 0.0% + กรดซิตริก 3.0%
- trt 4. สูตรอาหาร + เอ็นไซม์หลายชนิด 0.1% + กรดซิตริก 0.0%
- trt 5. สูตรอาหาร + เอ็นไซม์หลายชนิด 0.1% + กรดซิตริก 1.5%
- trt 6. สูตรอาหาร + เอ็นไซม์หลายชนิด 0.1% + กรดซิตริก 3.0%

นอกจากนี้ในการทดลองที่ 1 ได้มีการเติมโครมิกออกไซด์ลงไปในอาหารทดลองในระดับ 0.25% ของอาหาร เพื่อช่วยวัดการย่อยได้ด้วย ส่วนประกอบของอาหารทดลองในการทดลองที่ 1 และการทดลองที่ 2 แสดงอยู่ในตารางที่ 3-10 และ 3-11 องค์ประกอบของโภชนะในอาหารทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 3-12 และ 3-13 สูตรวิตามินและแร่ธาตุพรีมิกซ์ในทานองเดียวกัน แสดงไว้ในตารางที่ 3-14 และ 3-15 ตามลำดับ และราคาวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 3-16

เอ็นไซม์หลายชนิด (multienzyme)^{4/}

เอ็นไซม์หลายชนิดที่ใช้ซึ่งประกอบด้วย เอมิเซลล์เลส (15,000,000 หน่วย/กก.) เพคติเนส (1,000,000 หน่วย/กก.) แอลฟา-อัมัยเลส (2,000,000 หน่วย/กก.) โปรติเอส (1,500,000 หน่วย/กก.) เอนโดกลูคาเนส (400,000 หน่วย/กก.) เบต้า-กลูคาเนส (14,000 หน่วย/กก.) ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นาน 14 เดือน ในสภาพอุณหภูมิห้อง และสามารถทนต่อความร้อนได้ถึงอุณหภูมิ 85°C

กรดซิตริก^{5/}

ประกอบด้วย กรดซิตริก ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) 99.93 %

อาร์ซีนิก ไม่มากกว่า 1 PPM

เหล็ก ไม่มากกว่า 50 PPM

ซัลเฟต ไม่มากกว่า 0.1 %

คาร์บอนไดต์ ไม่เกินมาตรฐาน

^{4/} Lohnmann-Lte-GMBH, Germany.

^{5/} บ. เอส. เอ็ม. เคมีคอล ซัพพลาย จำกัด, กรุงเทพฯ.

ตารางที่ 3-10 แสดงองค์ประกอบวัตถุดิบในอาหารลูกสุกรเล็ก (8-21 กก.) สำหรับ
การทดลองที่ 1, %

วัตถุดิบ	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6
ข้าวโพด	37.92	41.00	44.52	37.50	44.00	45.50
ปลายข้าว	24.00	19.00	15.00	24.00	16.00	14.80
รำละเอียด	8.00	7.60	5.90	8.00	7.00	4.81
กากถั่วเหลือง	17.00	16.50	15.40	17.32	17.52	15.41
ปลายุ่น	7.80	8.52	9.80	7.60	7.80	9.90
น้ำมันรำ	2.60	3.20	3.70	2.80	3.40	3.80
ไคแคลเซียมฟอสเฟต	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
กลูโคส	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
เกลือ	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
แอล-ไลซีน	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
วิตามินพรีมิกซ์ ^{1/}	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
แร่ธาตุพรีมิกซ์ ^{1/}	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
ออกซีเตตราไซคลิน	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
โปรเบเนนีนท์	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
ไทแลน	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
เอ็นไซม์หลายชนิด	-	-	-	0.10	0.10	0.10
กรดซิทริก	-	1.50	3.00	-	1.50	3.00
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ราคา (บาท/กก.)	8.42	9.62	10.86	8.51	9.67	10.97

^{1/} สูตรวิตามินแร่ธาตุพรีมิกซ์ แสดงในตารางที่ 3-14

ตารางที่ 3-11 แสดงองค์ประกอบวัตถุดิบในอาหารสุกสุกรเล็ก (10-20 กก.) สำหรับ
การทดลองที่ 2, %

วัตถุดิบ	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6
ข้าวโพด	33.13	37.93	43.70	39.28	39.38	43.30
ปลายข้าว	29.10	23.00	15.80	23.00	21.00	15.70
รำละเอียด	8.85	7.05	6.00	7.90	7.40	6.30
ถั่วเหลืองยูนิโปร	16.50	20.00	22.00	19.00	20.20	22.10
ปลายัน	9.94	8.04	7.02	8.24	7.94	7.02
ไคแคลเซียมฟอสเฟต	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
กลูโคส	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
เกลือ	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
แอล-ไลซีน	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
วิตามินแร่ธาตุพรีเม็กซ์ ^{1/}	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
ออกซีเตตราไซคลีน	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
ไทแลน	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
เอ็นไซม์หลายชนิด	-	-	-	0.10	0.10	0.10
กรดซิตริก	-	1.50	3.00	-	1.50	3.00
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ราคา (บาท/กก.)	7.87	9.03	10.13	7.93	9.09	10.20

^{1/} สูตรวิตามินแร่ธาตุพรีเม็กซ์ แสดงในตารางที่ 3-15

ตารางที่ 3-12 แสดงส่วนประกอบทางเคมีของอาหารลูกสุกรเล็ก (8-21 กก.) การทดลองที่ 1, %

องค์ประกอบอาหาร	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6
จากการคำนวณ						
โปรตีน	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
พลังงานใช้ประโยชน์ (ME, Kcal/kg)	3175.08	3169.25	3161.79	3180.81	3179.00	3166.50
ไขมัน	6.94	7.58	7.92	7.12	7.74	7.87
เยื่อใย	3.35	3.31	3.08	3.36	3.36	3.07
แคลเซียม	0.79	0.84	0.94	0.77	0.79	0.94
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	0.65	0.67	0.69	0.64	0.65	0.69
แอล-ไลซีน	1.21	1.22	1.24	1.21	1.21	1.24
เมทไธโอนีน-ซิสตีน	0.76	0.76	0.77	0.76	0.76	0.77
ราคา (บาท/กก.)	7.87	9.03	10.13	7.93	9.09	10.20
จากการวิเคราะห์						
สิ่งแห้ง	91.47	90.92	91.44	91.34	91.43	90.98
โปรตีน	18.30	18.28	18.11	18.55	18.20	17.90
พลังงานทั้งหมด (GE, Kcal/Kg)	4331	4231	4291	4432	4130	4163
ไขมัน	7.64	7.85	8.81	7.90	8.86	8.40
ไนโตรเจนฟรีแอกแทรกซ์	56.85	56.45	55.10	56.09	55.83	55.93
เยื่อใย	3.25	3.26	3.40	3.02	3.26	2.95
ถั่ว	5.43	5.08	6.02	5.78	5.28	5.80
แคลเซียม	0.70	0.67	0.76	0.68	0.74	0.68
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	0.84	0.88	0.94	0.88	0.90	0.90

ตารางที่ 3-13 แสดงส่วนประกอบทางเคมีของอาหารลูกสุกรเล็ก (10-20 กก.) การ
ทดลองที่ 2, %

องค์ประกอบอาหาร	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6
จากการคำนวณ						
โปรตีน	18.06	18.06	18.06	18.01	18.09	18.09
พลังงานใช้ประโยชน์ (ME, Kcal/kg)	3200.58	3183.93	3160.01	3225.66	3184.58	3156.27
ไขมัน	6.88	7.16	7.40	7.20	7.29	7.46
เยื่อใย	3.48	3.58	3.69	3.57	3.66	3.73
แคลเซียม	0.95	0.81	0.73	0.82	0.80	0.73
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	0.81	0.74	0.71	0.76	0.75	0.71
แอล-ไลซีน	1.24	1.22	1.21	1.21	1.22	1.21
เมทไธโอนีน-ซิสตีน	0.76	0.75	0.74	0.75	0.75	0.74
ราคา (บาท/กก.)	7.87	9.03	10.13	7.93	9.09	10.20
จากการวิเคราะห์						
สิ่งแห้ง	88.29	89.10	89.09	89.33	89.10	89.53
โปรตีน	18.34	18.21	18.55	18.50	18.52	18.32
พลังงานทั้งหมด (GE, Kcal/Kg)	4925	4817	4656	4875	4796	4667
ไขมัน	6.68	5.80	6.65	6.31	7.48	6.82
ไนโตรเจนฟรีแอกแทรกซ์	52.82	55.56	54.54	55.06	53.86	55.12
เยื่อใย	3.25	3.30	3.32	3.25	3.15	3.42
ถั่ว	7.20	6.23	6.03	6.21	6.09	5.85
แคลเซียม	0.77	0.73	0.72	0.68	0.72	0.68
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	1.07	0.95	0.87	1.07	0.94	0.86

ตารางที่ 3-14 แสดงส่วนประกอบของวิตามินแร่ธาตุพรีมิกซ์ที่ใช้ในสูตรอาหารลูกสุกรเล็ก
(8-21 กก.) ต่อ 1 กิโลกรัมอาหาร ในการทดลองที่ 1

ส่วนประกอบ	ระดับที่ใช้ ^{1/}
วิตามินเอ, ไอยู	2,850.00
วิตามินดี, ไอยู	570.00
วิตามินอี, ไอยู	23.75
วิตามินเค, มก.	1.00
วิตามินบี 1, มก.	2.00
วิตามินบี 2, มก.	5.04
วิตามินบี 6, มก.	2.74
วิตามินบี 12, มคก.	19.0
แคลเซียมแพนโททีนเนต, มก.	18.00
กรดนิโคตินิก, มก.	25.00
ไบโอติน, มคก.	100.00
กรดฟอสฟอริก, มก.	0.60
โซลีนคลอไรด์, มก.	427.50
เหล็ก, มก.	130.93
แมงกานีส, มก.	5.14
ทองแดง, มก.	8.23
สังกะสี, มก.	113.77
ไอโอดีน, มก.	0.28
ซีลีเนียม, มก.	0.50

^{1/} ข้อมูลได้จากการคำนวณ

ตารางที่ 3-15 แสดงส่วนประกอบของวิตามินแร่ธาตุพรีมิกซ์ที่ใช้ในสูตรอาหารลูกสุกรเล็ก
(10-20 กก.) ต่อ 1 กิโลกรัมอาหาร ในการทดลองที่ 2

ส่วนประกอบ	ระดับที่ใช้ ^{1/}
วิตามินเอ, ใอยู	15,000.00
วิตามินดี, ใอยู	3,000.00
วิตามินอี, ใอยู	15.00
วิตามินเค, มก.	2.00
วิตามินบี 1, มก.	1.50
วิตามินบี 2, มก.	4.00
วิตามินบี 6, มก.	2.00
วิตามินบี 12, มคก.	20.00
แคลเซียมแพนโททีเนต, มก.	12.00
กรดนิโคตินิก, มก.	20.00
ไบโอติน, มคก.	100.00
กรดโฟลิก, มก.	1.00
โคลีนคลอไรด์, มก.	100.00
เหล็ก, มก.	116.00
โคบอลต์, มก.	0.30
แมงกานีส, มก.	53.00
ทองแดง, มก.	200.00
สังกะสี, มก.	116.00
ไอโอดีน, มก.	0.70
ซีลีเนียม, มก.	0.10

^{1/} บ.บี. เอฟ. ฟีด. จำกัด

ตารางที่ 3-16 ราคาวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ ^{1/}	ราคา/กก. (บาท)
ข้าวโพด	4.60
ปลายข้าว	5.40
รำละเอียด	3.20
กากถั่วเหลือง (44 % CP)	9.50
ถั่วเหลือง ยูนิโปร (38% CP) ^{2/}	10.20
ปลายัน (55 % CP)	15.00
น้ำมันรำ	13.00
เกลือ	3.00
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (P20) ^{3/}	15.00
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (P18) ^{4/}	12.00
วิตามินแร่ธาตุพรีเม็กซ์	80.00
แอล-ไลซีน ^{5/}	110.00
ดีแอล-เมทไธโอนีน ^{6/}	110.00
โปรไบโอติก	516.80
อ็อกซีเตตราไซคลิน	480.00
กลูโคส ^{6/}	18.00
ไทแลน ^{6/}	157.00
เอ็นไซม์หลายชนิด ^{7/}	80.00
กรดซิตริก (99.93 %) ^{8/}	80.00

1/ ราคาทั่วไป

2/ แหล่ง : บ.ยูนิโปร อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด กทม.

3/ แหล่ง : บ.เอ็ม ดับบลิว พัฒนา จำกัด ชอนแก่น

4/ แหล่ง : บ.สามพราน ฟาร์ม จำกัด ราชบุรี

5/ แหล่ง : บ.อายิโนะโมะโต๊ะ เซลล์ (ประเทศไทย) จำกัด กทม.

6/ แหล่ง : บ.ซินะพันธ์ อุตสาหกรรม จำกัด กทม.

7/ แหล่ง : บ.อโกรเมด จำกัด กทม.

8/ แหล่ง : บ.เอส.เอ็ม. เคมีคอล ขีพพลาย จำกัด กทม.

3.10 วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1

ศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในอาหารสุกรหลังหย่านม เปรียบเทียบอาหารทดลองทั้ง 6 สูตร โดยใช้แผนการทดลองแบบ Replicated (6 x 6) Latin Square ซึ่งมี 2 ซ้ำ (Federer, 1955) คือ สูตรเพศผู้และเมียเพศละ 1 ซ้ำ โดยมีผังการทดลองเปลี่ยนสูตรอาหารในแต่ละสัปดาห์ ดังนี้

การวางผังการทดลองที่ 1

ช่วงระยะเวลาในการทดลอง (สัปดาห์)	สัตว์ทดลอง เพศผู้และเพศเมีย (ซ้ำ)					
	1	2	3	4	5	6
1	trt 2	trt 3	trt 4	trt 5	trt6	trt1
2	trt 3	trt 4	trt 5	trt 2	trt1	trt6
3	trt 4	trt 5	trt 6	trt 1	trt2	trt3
4	trt 1	trt 2	trt 3	trt 6	trt5	trt4
5	trt 6	trt 1	trt 2	trt 4	trt3	trt5
6	trt 5	trt 6	trt 1	trt 3	trt4	trt2

สุกรทดลองได้รับอาหารในระดับ 80% ของปริมาณอาหารที่กินได้ตามปกติ โดยแบ่งให้กินเช้า-เย็นในปริมาณเท่ากัน ในระยะการเก็บข้อมูล (วันที่ 5 ถึงวันที่ 7 หลังจากเปลี่ยนสูตรอาหาร) จะทำการวัดปริมาณอาหารที่กินไม่หมด ปริมาณมูลที่ขับถ่าย และเก็บตัวอย่างไว้เพื่อวิเคราะห์ทางเคมี การเก็บตัวอย่างและชั่งน้ำหนักมูลทั้งหมดแยกตามซ้ำและหรือเพศทุกวันๆละ 5 ครั้ง แยกเป็นช่วง 06.00 09.00 12.00 15.00 และ 16.00 น.

โดยเก็บทั้งหมด และนำตัวอย่างใส่ไว้ในถุงพลาสติกเติมกรดกำมะถัน (H_2SO_4) 3% (Schneider and Flatt, 1975) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร มัดปากถุงให้แน่น นำตัวอย่างมูลที่ได้แช่เย็นที่อุณหภูมิ 10°C (Ambo *et al*, 1962 อ้างถึงใน Schneider and Flatt, 1975) เพื่อรอการวิเคราะห์ โดยนำมูลที่ได้มานำไปอบที่อุณหภูมิ $55-85^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Swift and Bratzler, 1959; Briggs and Heller, 1945b; Tillman *et al.*, 1954; Putnum *et al*, 1964 อ้างถึงใน Schneider and Flatt, 1975)

การทดลองสิ้นสุดเมื่อทำการทดสอบการย่อยได้ 6 สัปดาห์ สุกรทดลองได้รับการบันทึกน้ำหนักเป็นรายตัวเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง

การทดลองที่ 2

ศึกษาอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กินได้ และประสิทธิภาพการใช้อาหาร เปรียบเทียบอาหาร 6 สูตร เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แผนการทดลอง ใช้แบบ 2×3 Factorial in Completely Randomized Design (Steel and Torrie, 1960) 6 หรีทเมนต์ละ 3 ตัว ดังผังการทดลอง

trt4	trt5	trt5	trt6	trt1	trt2	trt2	trt3	trt1
trt2	trt3	trt3	trt4	trt1	trt6	trt6	trt4	trt5

ในแต่ละคอกหรือหน่วยทดลองจะมีลูกสุกรทดลอง 6 ตัว เป็นเพศผู้ 3 ตัว เพศเมีย 3 ตัว สุกรทดลองได้รับอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) และมีน้ำให้กินตลอดเวลา การให้อาหารใช้วิธีการให้ด้วยมือ โดยให้ครั้งละน้อยๆ แต่บ่อยครั้ง การชั่งน้ำหนักสุกรทดลอง กระทำทุกสัปดาห์ มีการเก็บตัวอย่างอาหารทุกสูตรเพื่อทำการวิเคราะห์ทางเคมี โดยทำการสุ่มเก็บอาหารแต่ละสูตรทุกครั้งที่มีการผสมอาหารใหม่ครั้งละประมาณ 500 กรัม และ

ทำการสุ่มตัวอย่างอาหารที่ผสมแล้วทุกสูตรทุกๆ 7 วัน ในช่วงการทดลองครั้งละประมาณ 200 กรัม/สูตร อาหารทุกตัวอย่างบรรจุลงในถุงพลาสติก มัดปากถุงให้แน่นนำเข้าเก็บที่อุณหภูมิ 2-5°C เพื่อรอการวิเคราะห์การบันทึกข้อมูล ทำการจดบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และปริมาณอาหารที่เหลือภายในแต่ละคอกทุกวัน โดยทำการชั่งอาหารที่เหลือออกในตอนเช้าก่อนการให้อาหารใหม่ทุกครั้ง และทำการชั่งน้ำหนักแยกตามคอกทุกๆ 7 วัน จนถึงสิ้นสุดการทดลอง

3.11 การวิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร มูล และเอ็นไซม์

ตัวอย่างอาหารและมูลที่เก็บไว้ได้รับการวิเคราะห์หาส่วนประกอบโดยการวิเคราะห์ประมาณ (proximate analysis) วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัส และพลังงาน โดยวิธีการของ A.O.A.C. (1984) นอกจากนี้ยังวิเคราะห์หา pH (Redecki *et al.*, 1988) ไครมิกออกไซด์ (Lin *et al.*, 1987) และวิเคราะห์ปริมาณเอ็นไซม์แอลฟา-อัมัยเลส (Street, 1965) ปริมาณของเอ็นไซม์ชนิดอื่นคำนวณโดยยึดปริมาณของเอ็นไซม์แอลฟา-อัมัยเลส เป็นหลักอ้างอิง

การวิเคราะห์การทำงานของเอ็นไซม์ แอลฟา-อัมัยเลส (Street, 1965)

การเตรียมสารละลาย

1. อัมัยเลส

1.1 Stock solution 1% w/v

นำสารละลาย 0.1 N NaOH จำนวน 80 มล. ในบีกเกอร์ 250 มล. ทำให้ร้อนที่ 90°C ตั้งเปลาไฟออก จากนั้นเติมสารละลายอัมัยเลส 1.0 กรัมในเอทานอล (ethanol) 5 มล. ลงไป แล้วล้างเศษสารละลายอัมัยเลสที่ติดภาชนะและแท่งแก้วคนด้วยเอทานอล 2 ครั้งๆละ 1 มล. ผสมสารละลายที่ล้างภาชนะลงไปในสารละลายเดิม ทั้งไว้ให้เย็น แล้วย้ายลงสู่ volumetric flask ขนาด 100 มล. ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ด้วย 0.1 N NaOH แล้วผสมให้เข้ากันดี และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.2 Dilute solution 0.1% w/v

เจือจาง stock solution 10 มล. ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น ปรับให้ได้ปริมาตร และเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง

2. ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (0.02 โมล, pH 7.0)

ละลายไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 3.476 กรัม และ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 2.118 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตร ให้ได้ 2,000 มล.

3. Iodine-potassium iodide solution

3.1 Stock solution 0.1 N iodine

ละลายโพแทสเซียม ไอโอไดด์ (KI) 30 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มล. ละลายไอโอดีน 12.7 กรัม ในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ข้างต้น และเจือจางด้วย น้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มล. เก็บไว้ในที่มืด

3.2 Dilute solution 0.01 N iodine

เจือจาง Stock solution ในข้อ 3.1 จำนวน 10 มล. ด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. แล้วเก็บในที่มืด

การวัดเอ็นไซม์

1. นำเอ็นไซม์มาตรฐาน (90 units/mg) มา 0.01 มก. เจือจางด้วยโซเดียม คลอไรด์ (0.1 N NaCl) ให้ได้ 100 มล. ใน volumetric flask

2. ไปเปิดสารละลายข้างล่างนี้ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล.

	เอ็นไซม์ทดสอบ	Standard
ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (0.02M) (2)	5 มล.	5 มล.
สารละลาย อมัยเลส เจือจาง (1.2)	2 มล.	2 มล.
ไฮโดรคลอริก 0.01 N	2 มล.	2 มล.

3. แช่ volumetric flask ที่มีสารละลายข้างต้นใน water bath อุณหภูมิ 37°C นาน 3 นาที จากนั้นเติมสารละลายเอ็นไซม์มาตรฐาน โดยเตรียมจากการไปเปิดสารละลายเอ็นไซม์มาตรฐานจำนวน 0.55, 1.11, 1.66, 2.22, 2.77, 3.33 และ 3.88 มล. (คำนวณเทียบจากซีรัม 6-33 ยูนิตต่อ 100 มล. ซีรัม) ลงใน flask เอ็นไซม์ทดสอบ และนำไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 37°C นาน 15 นาที

4. เจือจางสารละลายใน flask ทั้งหมด ด้วยน้ำกลั่น 80 มล. แล้วเติมสารละลายไอโอดีน (0.01 N) จำนวน 4 มล. อย่างรวดเร็ว

5. เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มล. ผสมเข้ากันให้ดี

6. นำไปวัดค่า optical density ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นสารละลายอ้างอิง (blank)

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐานของเอ็นไซม์หลายชนิด (multienzyme) และ ตัวอย่างอาหารที่มีเอ็นไซม์หลายชนิด

1. นำเอ็นไซม์หลายชนิดและตัวอย่างอาหารที่มีเอ็นไซม์หลายชนิดมาคืให้ละเอียด จำนวน 1 มก. และ 1 กรัม ตามลำดับ จากนั้นละลายด้วยโซเดียมคลอไรด์ (0.1 N) แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง เจือจางด้วยโซเดียมคลอไรด์ให้ได้ปริมาตร 100 มล.

2. นำสารละลายที่ได้มา 1 มล. และ 0.1 มล. ตามลำดับ ทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกับวิธีการเตรียมเอ็นไซม์มาตรฐาน

3.12 การวัดความเป็นกรดและด่าง (pH) ในอาหาร โดย Redeki และคณะ (1988)

1. นำอาหารที่จะวัด pH จำนวน 20 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 250 มล.

2. ใส่น้ำกลั่นจำนวน 40 มล. ลงใน beaker

3. ผสมเข้าด้วยกันโดยใช้ Stir bar และ electromagnetic

4. ทำการวัด pH โดยเครื่อง electronic pH meter

3.13 ข้อมูลที่ต้องการศึกษา

1. อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว (average daily gain, ADG)
2. ปริมาณการกินได้ (feed consumption, FC)

$$3. \text{ประสิทธิภาพการใช้อาหาร} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}}$$

(feed conversion ratio ; FCR)

4. % การย่อยได้ของโภชนะ

$$= 100 - \frac{100 (\% \text{ indicator ในอาหาร} \times \% \text{ โภชนะในมูล})}{(\% \text{ indicator ในมูล} \times \% \text{ โภชนะในอาหาร})}$$

3.14 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว ปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ของอาหาร ทั้ง 2 การทดลอง จะนำมาวิเคราะห์หาแนวโน้ม (Analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test และหาความแปรปรวนโดยวิธี General Linear Model (GLM) (Steel and Torrie, 1980) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99% ($P < 0.05$ และ $P < 0.01$)