

วิธีการทดลอง

- การศึกษาในห้องปฏิบัติการ มี ๓ การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ ๑ : การลดสารพิษและการหาองค์ประกอบทางเคมีของกากสบูดำ

การลดสารพิษ

- กากสบูดำจากหน่วยวิจัยสบูดำฯ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

นำกากสบูดำที่ได้จากการสกัดน้ำมันออกโดยกระบวนการบีบอัดแบบเชิงกล (mechanical pressing) เพื่อนำไปทำไบโอดีเซล ของภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไปลดสารพิษด้วยวิธีการ ดังนี้

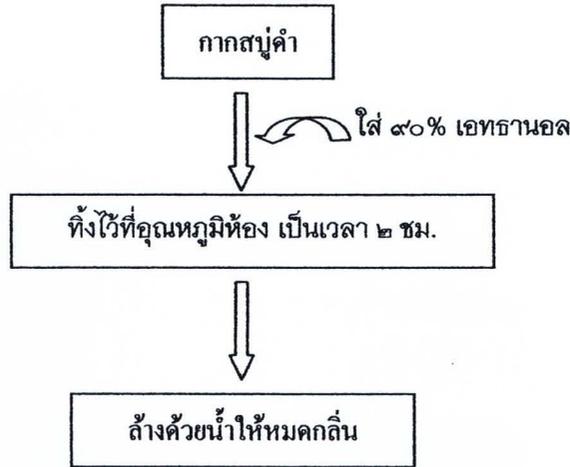
- ๑) แบบไม่ผ่านความร้อน ทำโดยใส่ ๙๐% เมทานอล ลงไปในกากสบูดำในอัตราส่วน ๑๐:๑ (v/w) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา ๒ ชม. ล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๙)

- ๒) แบบผ่านความร้อน จำแนกเป็น

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

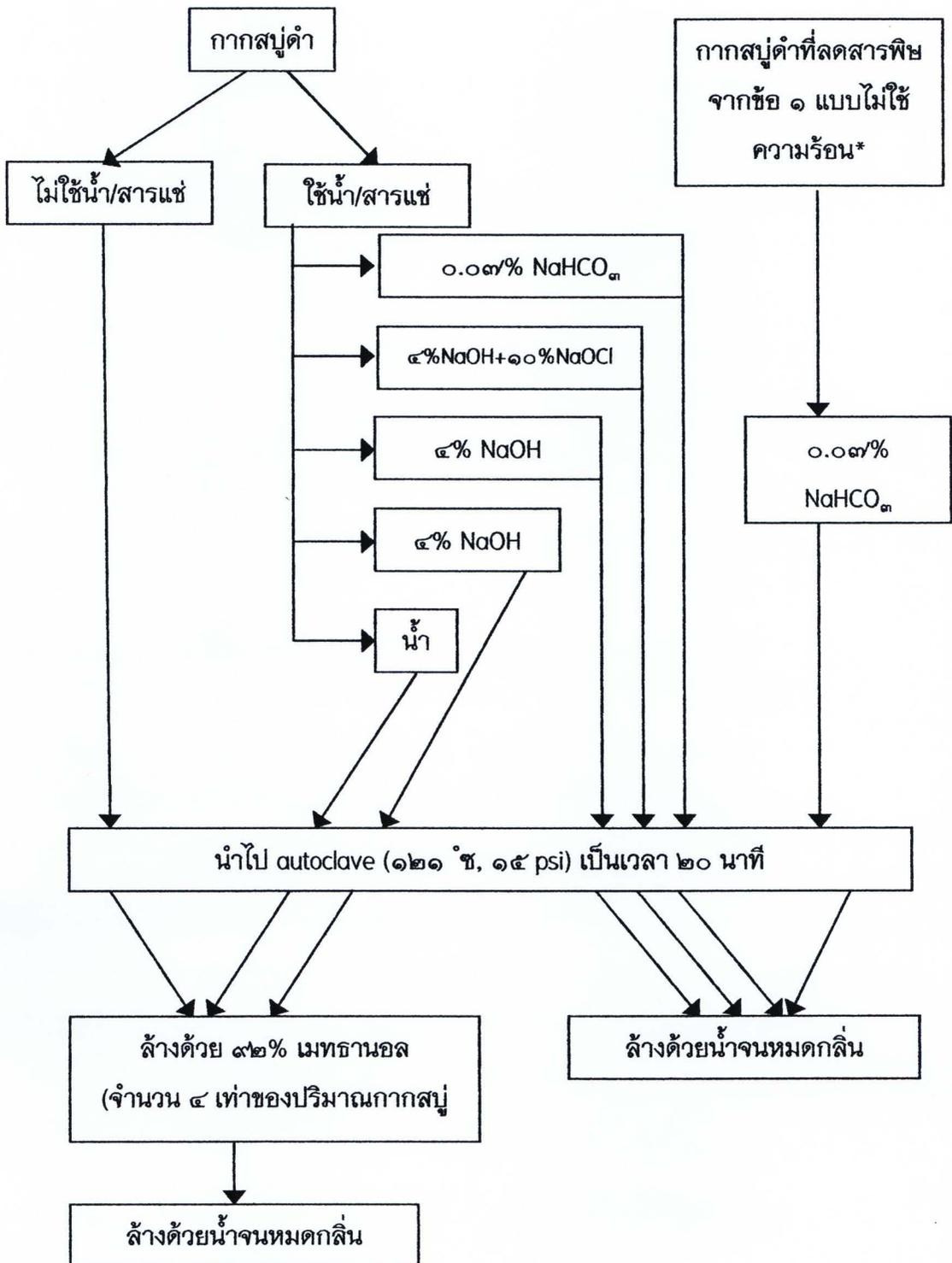
๒.๑.๑ นำกากสบูดำไปใส่ใน autoclave จากนั้นชะล้างด้วย ๙๒% เมทานอล จำนวน ๔ เท่าของปริมาณกากสบูดำ และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น

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



ภาพ ๙ ขั้นตอนการลดสารพิษโดยไม่ใช้ความร้อน

- ๒.๑.๓ ใส่ ๔% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ลงไปในกากสบูดำ ในอัตราส่วน ๒:๑ (v/w) นำไป autoclave เมื่อครบกำหนดแล้วชะล้างด้วย ๙๒% เมทานอล จำนวน ๔ เท่าของปริมาณกากสบูดำ และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น
- ๒.๑.๔ ทำเช่นเดียวกับข้อ ๒.๑.๓ แต่ไม่ต้องล้างด้วยเมทานอล
- ๒.๑.๕ ใส่ ๐.๐๗% โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO₃) ลงไปในกากสบูดำ ในอัตราส่วน ๕:๑ (v/w) นำไป autoclave เมื่อครบกำหนดแล้วล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น
- ๒.๑.๖ ใส่ ๔% โซเดียมไฮดรอกไซด์ และ ๑๐% โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) ลงไปในกากสบูดำ ในอัตราส่วน ๒:๑ และ ๐.๑:๑ (v/w) นำไป autoclave เมื่อครบกำหนดแล้วล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น
- ๒.๑.๗ ใส่ ๙๐% เอทานอล ลงไปในกากสบูดำในอัตราส่วน ๑๐:๑ (v/w) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา ๒ ชม. เมื่อครบกำหนดแล้วล้างด้วยน้ำ หลังจากนั้นใส่ ๐.๐๗% โซเดียมไบคาร์บอเนต ในอัตราส่วน ๕:๑ (v/w) นำไป autoclave เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้วล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น



ภาพ ๑๐ ขั้นตอนการลดสารพิษโดยผ่าน autoclave เป็นเวลา ๒๐ นาที ทั้งแบบใช้ และไม่ใช้ น้ำ หรือสารแช่ชนิดต่างๆ
 (* ใส่ ๙๐% เมทานอลลงในกากสบูดำ ในอัตราส่วน ๑๐:๑ (v/w) ทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา ๒ ชม. เมื่อครบกำหนดแล้วล้างด้วยน้ำ)

๒.๒ ใช้แบบต้ม โดยนำกากสบู่ดำไปต้มในน้ำเดือด อุณหภูมิ ๑๐๐ °ซ เป็นเวลา ๔๐ นาที (นับจากน้ำเดือด) จากนั้นชะล้างด้วย ๙๒% เมทธานอลปริมาณ ๔ เท่าของกากสบู่ดำ และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๑๑)

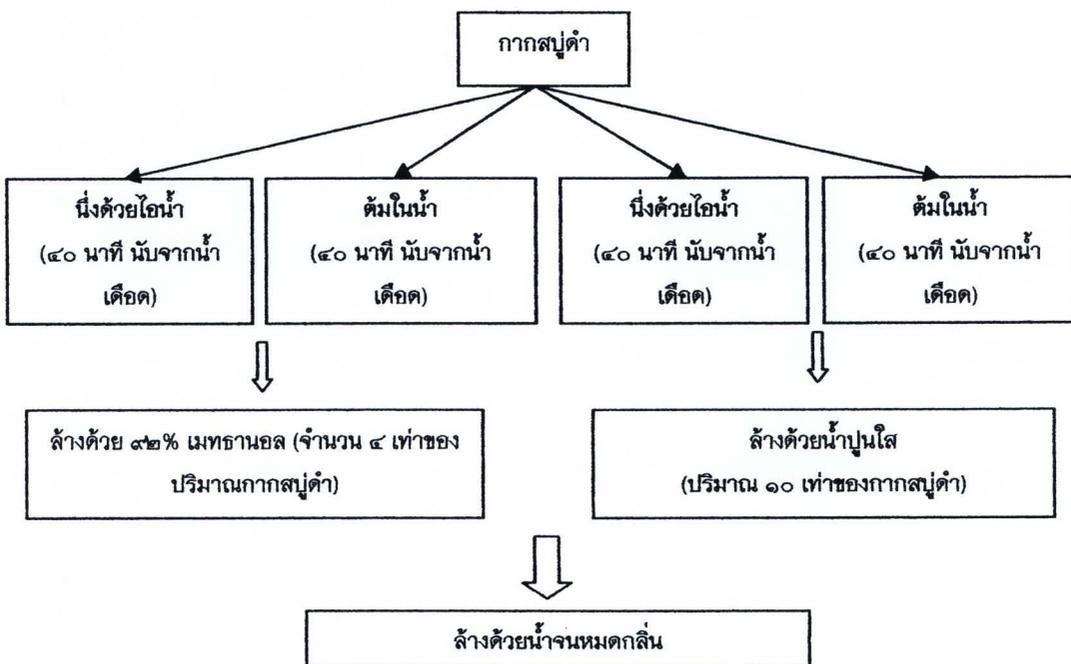
๒.๓ ใช้แบบนึ่ง โดยนำกากสบู่ดำไปใส่ในหม้อนึ่ง (ซึ่ง) มีฝาปิดสนิท มีน้ำอยู่ชั้นล่างสุดของหม้อนึ่ง ทำการนึ่งเป็นเวลา ๔๐ นาที (นับจากน้ำเดือด) จากนั้นชะล้างด้วย ๙๒% เมทธานอล จำนวน ๔ เท่าของปริมาณกากสบู่ดำ และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๑๑)

■ กากสบู่ดำจากบริษัทที่ผลิตไบโอดีเซล จังหวัดชลบุรี

กากสบู่ดำจาก จ.ชลบุรี ซึ่งเป็นกากที่ผ่านการสกัดน้ำมันโดยขบวนการบีบอัดแบบเชิงกล โดยนำมาใช้ในปี ๒๕๕๔ นำมาลดสารพิษดังนี้

๑) ใช้แบบต้ม โดยนำกากสบู่ดำไปต้มในน้ำเดือด อุณหภูมิ ๑๐๐ °ซ เป็นเวลา ๔๐ นาที (นับจากน้ำเดือด) จากนั้นชะล้างด้วยน้ำปูนใสที่ความเข้มข้น ๔๐ ก.ของCa(OH)₂/กก. ปริมาณ ๑๐ เท่าของกากสบู่ดำ และล้างด้วยน้ำจนหมดกลิ่น (ภาพ ๑๑)

๒) ใช้แบบนึ่ง โดยนำกากสบู่ดำไปใส่ในหม้อนึ่ง (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 วิธีการลดสารพิษฟอร์บออลเอสเทอร์ในกากสับุดำ และแหล่งอ้างอิง

วิธี ที่	สารที่ใช้แช่กาก สับุดำ	วิธีการให้ความร้อน	การชะล้าง	แหล่งอ้างอิง
■ กากสับุดำจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่				
๑	๙๐% เอทานอล	- ^{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% เอทานอล	- ^{๑/}	น้ำ	Martinez-Herrera <i>et al.</i> (๒๐๐๖)
	๐.๐๓% NaHCO _๓	autoclave ^{๒/}	น้ำ	
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)

การหาค่าประกอบทางเคมี

นำกากสับุดำที่ได้จากขบวนการผลิตไบโอดีเซล ๒ แหล่ง คือ

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

ซึ่งเป็นกากสับุดำที่ไม่ผ่านและผ่านการลดสารพิษแล้ว มาบดผ่านตะแกรงขนาด ๑ มม. จากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบ 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) วิธีกรอกกากสับุดำทางปาก (force feeding)

ใช้ไก่ไข่เพศผู้โตเต็มที่อายุประมาณ ๔ เดือน จำนวน ๒๔ ตัว นำมาเลี้ยงในกรง metabolic cage แบบซิงเดี่ยวที่มีถาดรองรับมูลได้กรง ภาชนะใส่อาหารและน้ำให้แยกกันเป็นรายตัว กรอกกากสับุดำเข้าทางปากไก่ 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 เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและพลังงานรวมเช่นเดียวกับวิธีที่กล่าวมาแล้ว มูลที่ถ่ายออกจากไก่อีกกลุ่มให้อุดอาหาร (กลุ่มที่ ๔) ถือว่ามาจากร่างกาย (endogenous loss) ซึ่งจะนำไปคำนวณค่า ME แท้จริง (True ME, TME) แต่ถ้าไม่นำค่า endogenous

loss ไปหักออกจากมูลไก่อของตัวที่ให้อาหาร ค่าที่คำนวณได้จะเป็นค่า ME ปรากฏ (Apparent ME, AME)

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

$$\text{AME (kcal/g, DM)} = \frac{(\text{GE}_i \times F_i) - (\text{GE}_f \times E_f)}{F_i}$$

$$\text{TME (kcal/g, DM)} = \frac{(\text{GE}_i \times F_i) - [(\text{GE}_f \times E_f) - (\text{GE}_r \times E_r)]}{F_i}$$

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

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

(หมายเหตุ: การย่อยได้นี้เป็นแบบอนุโลม เพราะไม่ใช่การย่อยได้จริง เนื่องจากมิได้ทำการแยกปัสสาวะออกจากมูล)

ข) วิธีแทนที่ในอาหารฐาน (Basal diet)

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

ชุดที่ ๑ ให้กากสบู่ค่าที่ไม่ผ่านการลดสารพิษแทนที่อาหารฐานระดับ ๐, ๑๐, ๒๐ และ ๓๐%

ชุดที่ ๒ ให้กากสบู่ค่าที่ผ่านการลดสารพิษแล้วด้วยวิธีการนึ่งแทนที่อาหารฐาน ระดับ 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 (๔๔% CP)	๑๔.๕๕	เยื่อใย	๔.๘๕
ปลาป่น (๖๐% CP)	๓.๐๐	ไขมัน	๕.๔๘
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (๑๘% P)	๐.๗๓	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 ก./กก. (ยกเว้นที่ระบุ) : กลุ่มวิตามิน; เอ ๑.๒ MIU; บี ๐.๘; เค ๐.๒; บี ๐.๐๑; บี_{๑๒} ๐.๔; บี_๖ ๐.๓; บี_{๑๒} ๐.๐๐๑; กรดแพนโทนิค ๐.๙๕; ไนอาซิน ๑.๕; กรดฟอลิก ๐.๐๕; ไบโอดีน ๐.๐๐๘; กลุ่มแร่ธาตุ; ซีลีเนียม ๐.๐๐๑; เหล็ก ๖; แมงกานีส ๖; สังกะสี ๕; ทองแดง ๐.๖; ไอโอดีน ๐.๐๓๕; สารถนอมคุณภาพ ๐.๖๒๕ และ สารปรุงแต่ง ๒.๕

ตาราง ๗ ระดับของกากสับุดำที่ใช้ในอาหารทดลองแต่ละสูตร

	สูตรอาหารทดลอง			
	๑	๒	๓	๔
อาหารฐาน (basal diet) ^{๑/}	๑๐๐	๙๐	๘๐	๗๐
กากสับุดำ ^{๒/}	๐	๑๐	๒๐	๓๐
โปรตีน (% จากการค้านวน)	๑๖.๐๐	๑๖.๙๓	๑๗.๘๖	๑๘.๗๙

^{๑/} ส่วนประกอบของสูตรอาหาร แสดงในตาราง ๖

^{๒/} มี ๓ กลุ่ม; กลุ่มที่ ๑ กากสับุดำชนิดไม่ลดสารพิษ กลุ่มที่ ๒ กากสับุดำชนิดลดสารพิษด้วยวิธีต้ม กลุ่มที่ ๓ กากสับุดำชนิดลดสารพิษด้วยวิธีอื่น

เลี้ยงไก่แต่ละตัวใน metabolic cage เช่นเดียวกับวิธีการรอกปาก แบ่งระยะเวลาทดลองออกเป็น ๔ ช่วง ช่วงละ ๙ วัน รวมทั้งสิ้นเป็นเวลา ๓๖ วัน โดยในแต่ละช่วงแบ่งเป็น ๒ ระยะ คือ ระยะก่อนเก็บข้อมูล (preliminary period) ใช้เวลา ๕ วัน เป็นระยะเวลาปรับตัวให้เคยชินกับอาหารทดลอง และซั้บถ่ายมูลของอาหารสูตรอื่นที่ได้รับจากรอบที่แล้ว ออกจากตัวไก่ให้หมดโดยสมบูรณ์ ส่วน ๔ วันหลังเป็นระยะเวลาเก็บข้อมูล (collection period) บันทึกปริมาณอาหารที่กิน และซั้บถ่ายทุกวันทีเวลา 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 และวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการอื่น ๆ เพื่อนำไปคำนวณค่าการย่อยได้แบบอนุโลม และค่า AME ดังได้กล่าวมาแล้ว

หลังจากครบ ๙ วันในช่วงแรกแล้ว ให้เปลี่ยนอาหารทดลองไปให้กับไก่ทดลองตัวอื่นต่อไป โดยการสลับตัวไก่จนไก่แต่ละตัวได้รับอาหารครบทั้ง ๔ สูตร ดังแสดงไว้ในตาราง ๘

ตาราง ๔ 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

$$\text{การย่อยได้อินูโลมของโกชนะในกากสับุดำ} = \frac{\left[\text{ปริมาณโกชนะที่ย่อยได้ในสูตรอาหารที่ระดับทดสอบ} \right] - \left[\text{โกชนะนั้นที่ได้รับจากอาหารฐาน} \times \text{\%การย่อยได้อินูโลมของโกชนะในอาหารฐาน} \right]}{\text{ปริมาณโกชนะที่ได้รับจากกากสับุดำ}}$$

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 สุกร

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 สุกร ๔ ตัวจะได้รับอาหารทดลองที่ใช้กากสับุดำ (ลดสารพิษด้วยวิธีการต้ม) แทนที่อาหารฐาน ๔ ระดับ ส่วนอีก ๑ ตัวจะอดอาหารเพื่อหาค่า endogenous loss ส่วนผสมของอาหารฐานและอาหารทดลองแสดงไว้ในตารางที่ ๙ และ ๑๐

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

ชนิดของวัตถุดิบ:	ปริมาณ (กก.)	คุณค่าทางโภชนา (% 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	๕.๕๕
โดแคลเซียมฟอสเฟต (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: เภ ๑.๒ MIU, ซี ๑.๒, เค ๐.๑๕, บี_๑ ๐.๑๕, บี_๒ ๐.๒, บี_{๑๒} ๐.๐๐๑๕, ไนอะซิน ๑.๕, กรดแพนโทธินิก ๑.๐, กรดโฟลิก ๐.๐๕, ไบโอดีน ๐.๐๐๓, โคบาลิน ๐.๐๕, 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 ระดับของกากสับคั่วที่ใช้แทนที่ในอาหารฐานระดับต่างๆ

	สูตรอาหารทดลอง			
	๑	๒	๓	๔
อาหารฐาน (Basal diet) ^{๑/}	๑๐๐	๙๐	๘๐	๗๐
กากสับคั่วที่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการต้ม	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	S๑	S๒	S๓	S๔	S๕
	๓/					
๒	๑	S๒	S๓	S๔	S๕	S๑
	๓/					
๓	๑	S๓	S๔	S๕	S๑	S๒
	๓/					
๔	๑	S๔	S๕	S๑	S๒	S๓
	๓/					
๕	๑	S๕	S๑	S๒	S๓	S๔
	๓/					

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 ๕-๓๗ ของการทดลอง
๓. บันทึกน้ำหนักปัสสาวะแต่ละวันบรรจุในขวดเก็บปัสสาวะซึ่งบรรจุสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4) ๒๕% ปริมาณ ๒๕ มล.ต่อขวด เพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนียจากปัสสาวะ และรักษา pH ของปัสสาวะให้ต่ำกว่า ๒

คำนวณหาค่าการย่อยได้ของไนโตรเจนแบบปรากฏของกากสปูดำ จากสมการดังนี้

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

๓) การวิเคราะห์หาสารพิษ

๓.๑ การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารฟอร์บออลเอสเทอร์

● การสกัดสารฟอร์บออลเอสเทอร์

ใช้วิธีการตามที่บ่งไว้โดย Makkar *et al.* (๑๙๙๘) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

๑. ชั่งกากสปูดำ ๒ ก. ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงพลาสติกขนาด ๕๐ มล. เต็ม ๑๐๐% เมทธานอลเพื่อทำการสกัดจำนวน ๑๕ มล. นำไปเข้าเครื่องโซนิเคต (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. นำสารละลายส่วนใสซึ่งมีส่วนของเมทธานอลปนอยู่ในขวดก้นกลมไประเหยออกภายใต้สภาพแรงดันต่ำ อุณหภูมิต่ำกว่า 40°C

๕. เติม ๑๐๐% เมททานอล จำนวน ๒ มล. ลงในขวดก้นกลมแล้วนำไปโซนิเคท ๓-๔ นาที หลังจากนั้นบีบเมททานอลในขวดก้นกลมออกใส่หลอดทดลอง ๑๐ มล. ทำซ้ำ ๒ รอบ
๖. ใช้ก๊าซไนโตรเจนระเหยเมททานอลในหลอดทดลองให้เหลือประมาณ ๒ มล. หลังจากนั้นเขย่าตะกอนกับสารละลายให้เข้ากัน ดูดสารละลายใส่หลอดพลาสติกมีฝาปิด (vid)l
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 เพื่อหาสารฟอรับอลเอสเทอร์

รายละเอียดการสกัดปริมาณสารฟอรับอลเอสเทอร์ในกากสบู่ดำแบบสรุปย่อ แสดงไว้ในภาพ ๑๒

● การวิเคราะห์ปริมาณฟอรับอลเอสเทอร์

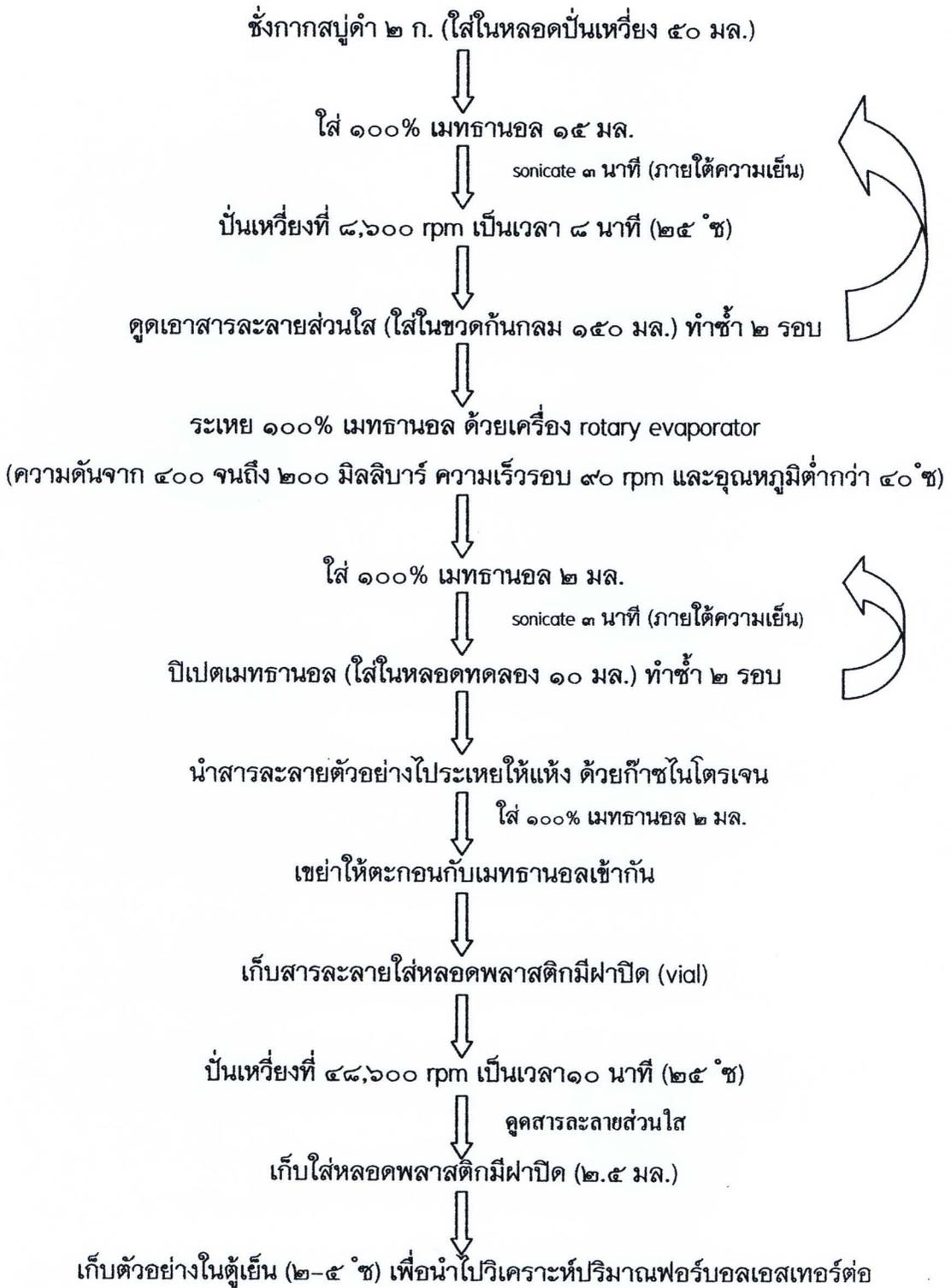
ใช้เทคนิค reverse-phase HPLC โดยใช้คอลัมน์ reversed phase ขนาด ๒๕๐x๔.๖ มม. (LiChrospher ๑๐๐, end-capped ๕ มค.ม.) อัตราการไหลผ่านคอลัมน์ ๑.๓ มล./นาที ภายใต้อุณหภูมิ ๒๕ °ซ และใช้ระบบตรวจวัด UV ที่ความยาวคลื่น ๒๘๐ nm. โดยเปรียบเทียบปริมาณกับสารมาตรฐาน (phorbol-๑๒-myristate ๑๓-acetate) มีขั้นตอนดังนี้



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

B: acetonitrile (HPLC grade)

C: Tetrahydrofuran (HPLC grade)



ภาพ ๑๒ ขั้นตอนการสกัดสารฟอรับอลเอสเทอร์ ตามวิธีที่อ้างโดย Makkar *et al.* (๑๙๙๘)

๓.๒ การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณ trypsin inhibitor ในกากสับุดำ

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 ๘.๔ – ๑๐.๐)



ปั่น หรือ เขย่า ๒ นาที



ปิเปต suspension หยดมา ๑ มล.

ภาพ ๑๓ ขั้นตอนการสกัดสารยับยั้งทริปซิน ตามวิธีที่อ้างโดย Kakade et al. (๑๙๙๓)

▪ 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 ย่นหลอดไว้ที่ ๓๗ °C เป็นเวลา ๑๐ นาที เติม ๕.๐ มล. ของสารละลาย BAPA ที่ย่นไว้ 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 : การใช้กากสบูดำที่ลดพิษแล้วในสัตว์ปีก มีรายละเอียดดังนี้

๑.๑ การใช้กากสบูดำที่ลดพิษแล้วในอาหารไก่เนื้อ

ใช้ไก่เนื้อพันธุ์อาร์เบอร์เฮเคอร์ เพศผู้ อายุ ๑ วัน จำนวน ๑,๔๒๔ ตัว ในช่วงไก่อายุ ๑-๗ วัน นำมาเลี้ยงและกรรวมกัน 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 มีส่วนผสมของกากสบูดำที่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการนึ่งในสูตรอาหารระดับ ๐, ๕, ๑๐, ๑๕

และ ๒๐% ในช่วงไก่อายุ ๒-๓, ๔-๕ และ ๖ สัปดาห์ กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีโปรตีนเท่ากับ ๒๑, ๑๙ และ ๑๗% ตามลำดับ ส่วนค่า ME กำหนดให้เท่ากับ ๓.๒ kcal/g. เหมือนกันทุกสูตรและทุกช่วงอายุ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองทั้ง ๓ ระยะ แสดงไว้ในตาราง ๑๓-๑๕

ตาราง ๑๓ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองไก่อายุ ๘-๒๑ วัน

กากสับดู๋ในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร (มก./กก.)	๐	๐.๐๑๕๘	๐.๐๒๙๖	๐.๐๔๕๔	๐.๐๕๙๒
ชนิดวัตถุดิบ :					
ข้าวโพด	๕๑.๕๕	๕๘.๗๙	๕๖.๑๓	๕๓.๕๘	๕๐.๘๒
กากสับดู๋ที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑)}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
น้ำมันรำ	๕.๗๕	๕.๑๐	๕.๕๖	๕.๘๒	๖.๑๘
กากถั่วเหลือง (๔๕% CP)	๒๓.๗๐	๒๑.๒๐	๑๘.๗๐	๑๖.๒๐	๑๓.๗๐
แอล-ไลซีน	๐.๐๕	๐.๐๕	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	๐.๖๕	๐.๖๖	๐.๖๘	๐.๗๑	๐.๗๒
ส่วนผสมคงที่ ^{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	๓.๙๙	๔.๘๒	๕.๖๕	๖.๔๘	๗.๓๒
ไขมัน	๘.๘๙	๑๐.๒๐	๑๑.๕๑	๑๒.๘๓	๑๔.๑๕
แคลเซียม	๑.๐๐	๑.๐๐	๑.๐๐	๑.๐๐	๑.๐๐
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	๐.๕๕	๐.๕๕	๐.๕๕	๐.๕๕	๐.๕๕
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)}	๑๕.๕๑	๑๕.๑๕	๑๓.๗๙	๑๓.๔๓	๑๓.๐๗

^{๑)} ใช้แบบหนึ่ง มีโปรตีน ๒๕.๒๙% ไขมัน ๒๐.๒๒%, เยื่อใย ๒๐.๐๑% และ ME ๒.๑๕ kcal/g. (รายละเอียดดูในภาคผนวก ข. ตาราง ๑)

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

^{๓)} ราคาวัตถุดิบ (บาท/กก.) มีดังนี้ ข้าวโพด ๔.๘๐, กากถั่วเหลือง ๑๕.๒๐, รำละเอียด ๑๐.๐๐, ปลาป่น ๓๘.๐๐, น้ำมันรำ ๓๐.๐๐, กากสับดู๋ที่ลดสารพิษ ๕.๐๐, โดแคลเซียมฟอสเฟต ๙.๕๐, แอล-ไลซีน ๗๐.๐๐, ดีแอล-เมทไธโอนีน ๑๖๐.๐๐, เปลือกหอย ๑.๕๐, เกลือ ๕.๕๐ และฟอสฟอรัส ๘๖.๐๐

^{๔)} วิตามินและแร่ธาตุมีหน่วยเป็น กก./กก. (ยกเว้นที่ระบุ) : กลุ่มวิตามิน: เอ ๒.๕ MIU; บี ๐.๕; เค ๐.๒; ซี ๐.๐๑; ดี ๐.๕; อี ๑.๕; บี_๖ ๐.๐๐๓; กรดแพนโทนิค ๓.๑; โนฮาชิน ๑.๕; กรดโฟลิก ๐.๑๓; ไบโอติน ๐.๐๐๕; กลุ่มแร่ธาตุ: ซีลีเนียม ๐.๐๐๑; เหล็ก ๒๕; แมงกานีส ๒๕.๕; สังกะสี ๑๒.๕; ทองแดง ๒.๕; ไอโอดีน ๐.๑๐๕๕; สารถนอมคุณภาพ ๐.๓๐ และสารปรุงแต่ง ๒.๕

ตาราง ๑๔ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองไก่เนื้อช่วงอายุ ๒๒-๓๕ วัน

กากสับคั่วในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร (%)	๐	๐.๐๑๔๘	๐.๐๒๙๖	๐.๐๔๔๔	๐.๐๕๙๒
ชนิดวัตถุดิบ :					
ข้าวโพด	๕๖.๐๒	๕๓.๓๖	๕๐.๗๑	๔๘.๐๕	๔๕.๕๐
กากสับคั่วที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
น้ำมันรำ	๔.๓๑	๔.๖๗	๕.๐๓	๕.๓๘	๕.๗๓
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๒๒.๔๑	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	-
โดแคลเซียมฟอสเฟต (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	๑.๐๓	๑.๐๓	๑.๐๓	๑.๐๓	๑.๐๓
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/ ๓๙/} เช่นเดียวกับตาราง ๑๓

^{๒/} รำละเอียด ปลาป่น (๖๐% CP) เกล็ด และฟอสฟอรัส^{๔/} ใช้จำนวน ๑๐.๐๐, ๕.๐๐, ๐.๒๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

ตาราง ๑๕ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองไก่เนื้อช่วงอายุ ๓๖-๕๒ วัน

กากสับคั่วในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับอลลเอสเทอร์ในอาหาร	๐	๐.๐๑๔๘	๐.๐๒๙๖	๐.๐๔๔๔	๐.๐๕๙๒
ชนิดวัตถุดิบ :					
ข้าวโพด	๖๓.๕๕	๖๐.๘๘	๕๘.๒๓	๕๕.๕๗	๕๒.๙๒
กากสับคั่วที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
น้ำมันรำ	๓.๔๔	๓.๘๐	๔.๑๖	๔.๕๒	๔.๘๘
กากถั่วเหลือง (๔๕% CP)	๑๙.๗/๑	๑๗.๒๑	๑๔.๗/๑	๑๒.๒๑	๙.๗/๑
แอล-ไลซีน	๐.๐๕	๐.๐๔	๐.๐๓	๐.๐๒	๐.๐๑
ดีแอล-เมทไธโอนีน	๐.๐๗	๐.๐๖	๐.๐๔	๐.๐๒	-
โดแคลเซียมฟอสเฟต (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	๗.๓๐	๘.๖๑	๙.๙๓	๑๑.๒๔	๑๒.๕๕
เยื่อใย	๓.๗/๑	๔.๕๕	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^{๓/} ใช้จำนวน ๘.๐๐, ๓.๐๐, ๐.๒๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

๑.๒ การใช้กากสบูดำที่ลดพิษแล้วในอาหารไก่ไข่

ใช้ไก่ไข่ลูกผสมพันธุ์ช่าบราวน์ 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 ในแต่ละซ้ำรางอาหารถูกกันแยกออกจากกันด้วยแผงกันเพื่อป้องกันไม่ให้ไก่กลุ่มอื่นเข้ามากินอาหาร อาหารทดลองที่แม่ไก่ได้รับเป็นอาหารแบบผสมเอง ที่มีส่วนผสมของกากสบูดำที่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการนี้ 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 ไชมัน ช่องท้อง สัดส่วนของเนื้อมอก น่อง สะโพก และปีก) รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ตกค้างในเนื้อมอก

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.* (๑๙๙๔) รวมทั้งบันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของไก่ไข่ เมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองด้วย

ตาราง ๑๖ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองไก่ใช้ช่วงอายุ ๒๘-๓๙ สัปดาห์

กากสับดูค่าในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร (%)	๐	๑.๕๘	๒.๙๖	๔.๔๔	๕.๙๒
ชนิดวัตถุดิบ :					
ข้าวโพด	๖๒.๓๒	๖๐.๑๔	๕๗.๙๕	๕๕.๖๒	๕๒.๗๘
กากสับดูค่าที่ผ่านการลดสารพิษ ^{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) เกล็ด และฟรังก์ชัน ใช้จำนวน ๑๐.๐๐, ๖.๐๐, ๐.๒๕ และ ๐.๒๕ กก.% ตามลำดับ

^{๓/} ไวตามินและแร่ธาตุมีหน่วยเป็น ก./กก. (ยกเว้นที่ระบุ) : กลุ่มวิตามิน; เย ๑.๒ MIU; ยี ๐.๘; เค ๐.๒; บี ๐.๐๑; บี_{๑๒} ๐.๕; บี_๖ ๐.๓; บี_{๑๒} ๐.๐๐๑; กรดแพนโทนิค ๐.๙๕; ไนอาซีน ๑.๕; กรดโฟลิก ๐.๐๕; ไบโอดีน ๐.๐๐๙; กลุ่มแร่ธาตุ; ซีลีเนียม ๐.๐๐๑; เหล็ก ๖; แมงกานีส ๖; สังกะสี ๕; ทองแดง ๐.๖; ไอโอดีน ๐.๐๓๕; สารถนอมคุณภาพ ๐.๖๒๕ และสารปรุงแต่ง ๒.๕

การทดลองที่ ๒ : การใช้กากสบู่ดำที่ลดพิษแล้วในอาหารสุกร มีรายละเอียดดังนี้

ใช้สุกรขุนสามสายเลือด (Duroc × Landrace - Large white) มีน้ำหนักตัว เริ่มต้นเฉลี่ย ๒๐ กก. จำนวน ๔๐ ตัว (เพศผู้ ๒๐ ตัว เพศเมีย ๒๐ ตัว) แบ่งออกโดยสุ่มเป็น ๕ กลุ่มๆ ละ ๘ ตัว เลี้ยงในคอกพื้นปูนขนาด ๑.๕×๒ ตารางเมตร จุดอกละ ๑ ตัว มีอุปกรณ์ให้น้ำ จำนวน ๑ ชุด อยู่ด้านท้ายของแต่ละคอก ส่วนรางอาหารเป็นแบบรางปูน มีความยาว ๐.๕ เมตร อยู่ด้านหน้าของแต่ละคอก สุกรในแต่ละกลุ่มได้รับอาหารทดลองเป็นอาหารผสมเองแบบ ผง มีส่วนผสมของกากสบู่ดำที่ผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีการต้ม ซึ่งสามารถลดสารพิษฟอรั บอลเฮลเทอร์ได้สูงถึง ๙๖.๖๑% ยังคงเหลือสารฟอรับอลอยู่เพียง ๐.๐๔๙ มก./กก. และสาร ยับยั้งทริปซินคงเหลือ ๗.๘๙ มก./กก. ในอาหารสุกรเล็ก (น้ำหนักตัว ๑๕-๓๐ กก.) ให้อาหารที่มี กากสบู่ดำเท่ากับ ๐, ๕, ๕, ๑๐ และ ๑๐% ในกลุ่ม ๑-๕ ตามลำดับ ในระยะสุกรรุ่น (น้ำหนัก สุกร ๓๐-๖๐ กก.) ให้อาหารที่มีกากสบู่ดำ ๐, ๕, ๑๐, ๑๐ และ ๑๕% ในกลุ่มที่ ๑-๕ ตามลำดับ และในอาหารสุกรขุน (น้ำหนัก ๖๐-๙๐ กก.) ให้อาหารที่มีกากสบู่ดำที่ระดับ 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.)

กากสับดูดำในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร (มก./กก.)	-	๐.๐๒๕	๐.๐๔๙
ชนิดวัตถุดิบ :			
กากสับดูดำที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐
ข้าวโพด	๓๘.๓/๕	๓๓.๐๓	๓๖.๓
กากถั่วเหลือง (๔๔% CP)	๑๓.๙๕	๑๕.๕๖	๑๓.๐๕
รำละเอียด	๑๒.๐๐	๘.๘๐	๕.๒๕
น้ำมันรำ	๐.๕๐	๒.๓/๒	๕.๘๐
โดแคลเซียม(P ๑๔%)	๐.๓/๐	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	๑๕.๕๙	๑๕.๘๖

^{๑/} ใช้แบบเต็ม มีโปรตีน ๒๙.๖๑% ไขมัน ๕.๒๓%, เยื่อใย ๒๗.๑๑% และ ME ๔.๓/๔๕ kcal/g.

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

^{๓/} ราคาวัตถุดิบ (บาท/กก.) มีดังนี้ ข้าวโพด ๑๐.๒๐, กากถั่วเหลือง ๑๔.๑๐, รำละเอียด ๑๐.๓/๐, ปลาป่น ๓๓.๐๐, น้ำมันรำ ๓๘.๐๐, กากสับดูดำลดสารพิษ ๕.๐๐, โดแคลเซียมฟอสเฟต 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 ๐.๑๕, บี ๐.๒, บี ๐.๐๐๑๕, ไนอะซิน ๑.๕, กรดแพนโทนิค ๑.๐, กรดโฟลิก ๐.๐๕, ไบโอดีน ๐.๐๐๓, โคลีคลอไรด์ ๑๕.๐: กลุ่มแร่ธาตุ: เหล็ก ๓.๐, ทองแดง ๐.๖, แมงกานีส ๖.๐, สังกะสี ๖.๐, โคบอลต์ ๐.๐๐๔, ไอโอดีน ๐.๐๔, ซีลีเนียม ๐.๐๐๘๕; สารแต่งกลิ่น ๒.๕ และ สารถนอมคุณภาพอาหาร ๐.๖๒๕

ตาราง ๑๘ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองสุกรรุ่น(น้ำหนัก ๓๐-๖๐ กก.)

กากสับดู๋ด้าในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕
ฟอร์บออลเอสเทอร์ในอาหาร (มก./กก.)	-	๐.๐๒๕	๐.๐๕๐	๐.๓๗๕
ชนิดวัตถุดิบ :				
กากสับดู๋ด้าที่ผ่านการลดสารพิษ ^{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	๐.๓๗๕	๒.๙๐	๕.๙๕	๗.๒๐
โดแคลเซียม(P ๑๔%)	๐.๘๐	๐.๙๐	๐.๙๕	๑.๐๕
หินบั้ง	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	๔.๓๑	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	๑๔.๖๓

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

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

^{๓/} ราคาวัตถุดิบ (บาท/กก.) มีดังนี้ ข้าวโพด ๑๐.๒๐, กากถั่วเหลือง ๑๔.๑๐, รำละเอียด ๑๐.๓๐, ปลาป่น ๓๗.๐๐, น้ำมันรำ ๓๘.๐๐, กากสับดู๋ด้าลดสารพิษ ๕.๐๐, โดแคลเซียมฟอสเฟต ๑๐.๕๐, แอล-ไลซีน ๙๓.๐๐, ดีแอล-เมทไธโอนีน ๑๔๘.๐๐, เกลือ ๔.๕๐ และฟอสฟอรัส ๔๐.๐๐

^{๔/} หน่วย มก./กก. อาหาร (ยกเว้นที่ระบุ); กลุ่มวิตามิน: เอ ๑.๒ MIU, บี ๑.๒, เค ๐.๑๕, บี๑ ๐.๑๕, บี๒ ๐.๒, บี๑๒ ๐.๐๐๑๕, ไนอะซิน ๑.๕, กรดแพนโทธินิค ๑.๐, กรดโฟลิก ๐.๐๕, ไบโธติน ๐.๐๐๓, โคลีนคลอไรด์ ๑๕.๐; กลุ่มแร่ธาตุ: เหล็ก ๓๐, ทองแดง ๐.๖, แมงกานีส ๖.๐, สังกะสี ๖๐, โคบอลต์ ๐.๐๐๔, ไอโอดีน ๐.๐๔, ซีลีเนียม ๐.๐๐๘๕; สารแต่งกลิ่น ๒.๕ และ สารถนอมคุณภาพอาหาร ๐.๖๒๕

ตาราง ๑๙ ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารทดลองสุกรขุน(น้ำหนัก ๖๐-๙๐ กก.)

กากสับคั่วในอาหาร (%)	๐	๕	๑๐	๑๕	๒๐
ฟอรับอลเอสเทอร์ในอาหาร (มก./กก.)	-	๐.๐๒๕	๐.๐๕๐	๐.๐๗๕	๐.๑๐๐
ชนิดวัตถุดิบ :					
กากสับคั่วที่ผ่านการลดสารพิษ ^{๑/}	-	๕.๐๐	๑๐.๐๐	๑๕.๐๐	๒๐.๐๐
ข้าวโพด	๕๐.๓	๔๙.๙๕	๔๘.๕๐	๔๕.๕๒	๔๒.๖๔
กากถั่วเหลือง (๔๕% CP)	๑๑.๕๐	๙.๑๐	๖.๓๔	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
โดแคลเซียม(P ๑๕%)	๑.๑๐	๑.๒๐	๑.๒๕	๑.๓๕	๑.๔๐
หินบั้ง	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	๑๔.๐๐	๑๔.๐๐	๑๔.๐๐	๑๔.๐๐	๑๔.๐๐
DE (kcal/g.)	๓.๔๐	๓.๔๐	๓.๔๐	๓.๔๐	๓.๔๐
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	๑๓.๓๔	๑๓.๘๘	๑๔.๓๓	๑๔.๗๓

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

^{๒/} ปลาป่น (๖๐% CP) เกลือ และฟอสฟอรัส 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, กากสับคั่วลดสารพิษ ๕.๐๐, โดแคลเซียมฟอสเฟต ๑๐.๕๐, แอล-ไลซีน ๙๓.๐๐, ดีแอล-เมทไธโอนีน ๑๔๘.๐๐, เกลือ ๔.๕๐ และฟอสฟอรัส ๔๐.๐๐

^{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, ไบโอดิน ๐.๐๐๓, โคลินคลอไรด์ 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

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลจากการศึกษาหาค่า ME ที่ได้จากวิธีกรอกปาก ค่าการย่อยได้จากวิธีแทนที่ในอาหารฐาน และปริมาณสารฟอรับอเลสเทอร์ที่ตรวจพบในเนื้อ และในไข่ นำมาเข้าสมการสหสัมพันธ์แบบเส้นตรง (linear regression) เพื่อคาดคะเนหาค่า ME ค่าการย่อยได้ของกากสับุดำ และสารฟอรับอเลสเทอร์เมื่อใช้กากสับุดำระดับสูง 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 ตามที่กล่าวอ้างไว้ โดย กัลยา (๒๕๔๔) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows

สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล

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

ช่วงเวลาที่ทำการวิจัย

ระหว่างเดือนตุลาคม ๒๕๕๒ – มีนาคม ๒๕๕๔