บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ และอุปกรณ์

1 โคพื้นเมืองภาคใต้เพศผู้ อายุเฉลี่ย 24.40±1.67 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 286.00±29.24 กิโลกรัม จำนวน 5 ตัว

2 โรงเรือนโค ประกอบด้วย คอกสำหรับการทดลองหาการย่อยได้ในตัวสัตว์ (metabolism cage) รางอาหาร และอุปกรณ์ให้น้ำอัตโนมัติ

3 หญ้าพลิแคททูลั่มแห้ง (*Paspalum plicatulum*) หลังจากเก็บเมล็ดแล้ว

4 วัตถุดิบอาหารสัตว์ ได้แก่ กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน ข้าวโพดบด กากถั่วเหลือง เกลือ ไดแคลเซียมฟอสเฟต เปลือกหอยป่น โซเดียมคลอไรด์ และผลพลอยได้ที่มีโซเดียมคลอไรด์ และกรดนิวคลีอิก 3 ชนิด คือ (1) Double crystal mother liquid (2) Nucleic acid salt 1 และ (3) Nucleic acid salt 2

5 ยาถ่ายพยาธิภายใน ได้แก่ ยาถ่ายพยาธิอัลเบนดาโซล (Valbazen ® บริษัท Better Pharma Co., Ltd.)

6 เครื่องชั่งน้ำหนักโค Iconix รุ่น Fx 21

7 เครื่องชั่งอาหาร Sartorius รุ่น 13L 310

8 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง มูล ปัสสาวะ เลือด ได้แก่ พลั่วสำหรับตักมูล ถังรองรับมูล ถังรองรับปัสสาวะ ถุงพลาสติกใส ผ้าขาวบางสำหรับกรองน้ำปัสสาวะ สายยางสำหรับรองรับน้ำปัสสาวะจากตัวโค สายยางรัดสำหรับผูกยึดติดลำตัวโค หลอดเก็บเลือดที่เคลือบสารเฮพพาริน

9 อุปกรณ์สำหรับสุ่มเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงมือพลาสติก ขวดพร้อมฝาเกลียวสำหรับใส่ปัสสาวะ ถาดกลมสำหรับใส่มูลเพื่ออบหาความชื้น และอุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล

10 สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Proximate analysis

11 สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Detergent method

12 สารเคมีวิเคราะห์อนุพันธ์พิวรีนและเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimatsu รุ่น UV 1601

13 ตู้อบ (hot air oven) ยี่ห้อ Binder รุ่น FED 720

14 เครื่องบด (willy mill) ยี่ห้อ Dietz

15 เครื่องปั่นเหวี่ยงยี่ห้อ Hermle รุ่น Z 230

16 อุปกรณ์ทำความสะอาดคอกและตัวสัตว์

วิธีการทดลอง

1 การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารหยาบ ใช้หญ้าพลิแคททูลั่มแห้ง ของศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ จังหวัดสตูล มีโปรตีนรวมประมาณ 3.05 เปอร์เซ็นต์

อาหารข้น ใช้อาหารข้นที่มีระดับโปรตีนรวม 14.16 เปอร์เซ็นต์ อาหารข้นประกอบด้วย กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน ข้าวโพดบด กากถั่วเหลือง ไดแคลเซียมฟอสเฟต และเปลือกหอยป่น เป็นองค์ประกอบพื้นฐานเสริมด้วยโซเดียมคลอไรด์ หรือ ผลพลอยได้ที่มีโซเดียมคลอไรด์และกรดนิวคลีอิก (nucleic acid salt) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการหมักแป้งเพื่อผลิตกรดนิวคลีอิกสังเคราะห์ แบ่งเป็น 3 ชนิด คือ

1 Double crystal mother liquid (Dx - ML) หรือสารเหลวตั้งต้น ประกอบด้วยของแข็ง 24 เปอร์เซ็นต์ กรดนิวคลีอิก 3 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมคลอไรด์ 14.65 เปอร์เซ็นต์

2 Nucleic acid salt 1 (NS1) เป็นของแข็งที่ได้ในระหว่างการตกผลึกของโซเดียม-คลอไรด์จาก Dx-ML ประกอบด้วยของแข็ง 94 เปอร์เซ็นต์ กรดนิวคลีอิก 1 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมคลอไรด์ 82.89 เปอร์เซ็นต์

3 Nucleic acid salt 2 (NS2) เป็นของแข็งที่ได้ในระหว่างการตกผลึกของโซเดียมคลอไรด์จาก Dx-ML เช่นเดียวกับ NS1 ประกอบด้วยของแข็ง 90 เปอร์เซ็นต์ กรดนิวคลีอิก 8 เปอร์เซ็นต์ และ โซเดียมคลอไรด์ 75.80 เปอร์เซ็นต์

กระบวนการผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของ Dx-ML, NS1 และ NS2 แสดงดังภาพที่ 2 และภาพที่ 3

ในการประกอบสูตรอาหาร คำนวณให้ระดับโซเดียมคลอไรด์ในสูตรอาหารทุกสูตรเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามคำแนะนำของ NRC (1980) ซึ่งส่วนประกอบและสัดส่วนของวัตถุดิบที่ใช้ประกอบสูตรอาหารข้น ดังแสดงในตารางที่ 1

Dx-ML

			%	Wt.g
Wt. g	340.82	TN	0.37	1.261
Vol.ml	300.0	Na	5.76	19.630
pH	6.68	Cl	8.89	30.299
Moisture%	76.11	PO_4	0.95	3.238
		IMP $7.5H_2O$	1.55	5.274
		GMP $7H_2O$	0.94	3.215
		HxR	0.02	0.085
		Hx	0.11	0.368
		GR	0.02	0.08
		G	0.03	0.096
		NaCl	14.65	49.929

(Concentrate) *bath 60º C 0.007 Mpa

Conc. Slurry Wt.132.54 g

Loss 1 Wt. 14.24 g ←

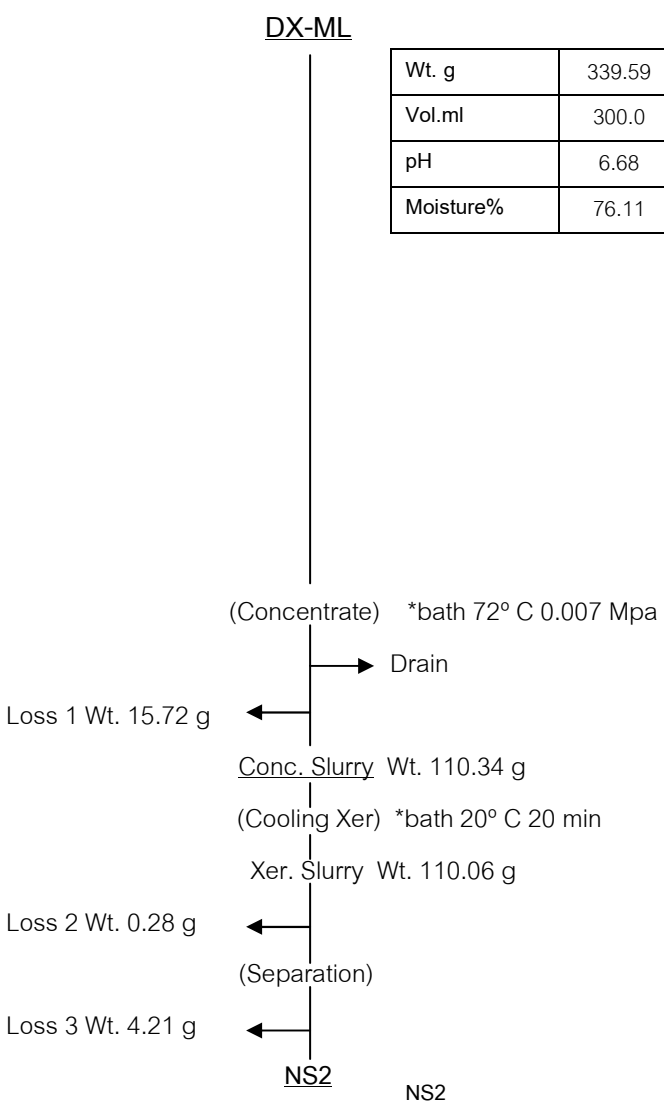
(Separation)

Loss 2 Wt. 8.71 g ←

NS1

			%	Wt.g
Wt. g	31.75	TN	0.13	0.041
Vol.ml	-	Na	32.59	10.347
pH	-	Cl	50.30	15.970
Moisture%	5.85	PO_4	0.49	0.156
		IMP $7.5H_2O$	0.79	0.251
		GMP $7H_2O$	0.41	0.131
		HxR	0.05	0.015
		Hx	0.06	0.018
		GR	0.03	0.10
		G	0.00	0.000
		NaCl	82.89	26.317

ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของ Dx-ML และ NS1



			%	Wt.g
Wt. g	339.59	TN	0.37	1.256
Vol.ml	300.0	Na	5.76	19.630
pH	6.68	Cl	8.89	30.190
Moisture%	76.11	PO_4	0.95	3.226
		IMP $7.5H_2O$	1.55	5.255
		GMP $7H_2O$	0.94	3.203
		HxR	0.02	0.085
		Hx	0.11	0.367
		GR	0.02	0.052
		G	0.03	0.096
		NaCl	14.65	49.929

NS2			%	Wt.g
Wt. g	43.57	TN	0.802	0.349
Vol.ml	-	Na	29.80	12.985
pH	-	Cl	46.00	20.042
Moisture%	10.42	PO_4	0.939	0.409
		IMP $7.5H_2O$	5.369	2.399
		GMP $7H_2O$	2.804	1.222
		HxR	0.043	0.019
		Hx	0.098	0.043
		GR	0.026	0.011
		G	0.035	0.015
		NaCl	75.800	33.027

ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตและองค์ประกอบทางเคมีของ Dx-ML และ NS2

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและสัดส่วนของวัตถุดิบ[1] ในอาหารข้นที่ใช้เสริมแก่โคทดลอง

ส่วนประกอบ (กิโลกรัม)	**อาหารข้น**				
	Free salt	Control	Dx-ML-diet	NS1-diet	NS2-diet
กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน	30.61	30.61	30.61	30.61	30.61
ข้าวโพดบด	55.10	55.10	55.10	55.10	55.10
กากถั่วเหลือง	12.25	12.25	12.25	12.25	12.25
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02
เปลือกหอยป่น	1.02	1.02	1.02	1.02	1.02
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
องค์ประกอบทางเคมีจากการคำนวณ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)					
โปรตีนรวม [2]	14.16	14.16	14.16	14.16	14.16
โภชนะรวมที่ย่อยได้ [3]	79.13	79.13	79.13	79.13	79.13
ปริมาณ NaCl/Nucleic acid salt (กรัม/กิโลกรัม)					
NaCl	-	20.00	-	-	-
Dx – ML[4]	-	-	143.30	-	-
NS1[5]	-	-	-	24.00	-
NS2[6]	-	-	-	-	27.00
ปริมาณ NaCl รวม[7]	0	20.00	20.00	20.00	20.00
ปริมาณกรดนิวคลีอิก[8]	-	-	4.30	0.24	2.16

[1] น้ำหนักในสภาพให้สัตว์กิน (as fed basis)

[2] คำนวณจากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารสัตว์ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[3] คำนวณจากตารางองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารสัตว์ของ NRC (1996) และภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[4] ประกอบด้วยของแข็ง 24 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ 14.65 เปอร์เซ็นต์ และกรดนิวคลีอิก 3 เปอร์เซ็นต์

[5] ประกอบด้วยของแข็ง 94 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ 82.89 เปอร์เซ็นต์ และกรดนิวคลีอิก 1 เปอร์เซ็นต์

[6] ประกอบด้วยของแข็ง 90 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ 75.80 เปอร์เซ็นต์ และกรดนิวคลีอิก 8 เปอร์เซ็นต์

[7] ปริมาณ NaCl รวมในสูตรอาหารข้นแต่ละสูตร

[8] ปริมาณกรดนิวคลีอิกในอาหารข้นแต่ละสูตร ยกเว้นสูตร free salt และ control ซึ่งไม่ได้ทำการคำนวณ

2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้โคพื้นเมืองเพศผู้ อายุ 24.40±1.67 เดือน น้ำหนักตัวเฉลี่ย 286.00±29.24 กิโลกรัม จำนวน 5 ตัว มีสุขภาพสมบูรณ์ แข็งแรง กำจัดพยาธิภายในโดยใช้ยาถ่ายพยาธิอัลเบนดาโซน 11.25 เปอร์เซ็นต์ (Valbazen® บริษัท Better Pharma Co.,LTD.) โดยการกรอกให้กินในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักโค 10 กิโลกรัม ก่อนนำโคเข้าทดลอง

3 การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ 5X5 ลาตินสแควร์ (latin square design) ประกอบด้วย 5 ทรีทเมนต์ คือ

ทรีทเมนต์ที่ 1 หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งและอาหารข้นที่ไม่เสริมโซเดียมคลอไรด์ (free salt)

ทรีทเมนต์ที่ 2 หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งและอาหารข้นที่เสริมโซเดียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ (control)

ทรีทเมนต์ที่ 3 หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งและอาหารข้นที่เสริม Dx-ML

ทรีทเมนต์ที่ 4 หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งและอาหารข้นที่เสริม NS1

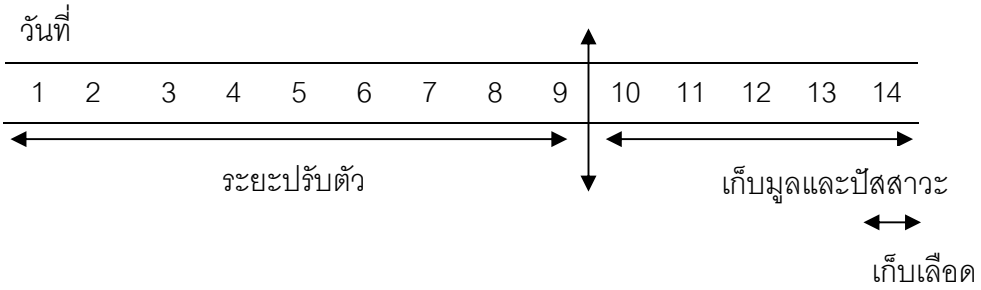
ทรีทเมนต์ที่ 5 หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งและอาหารข้นที่เสริม NS2

การทดลองประกอบด้วย 5 ช่วงการทดลอง (ตารางที่ 2) แต่ละช่วงการทดลองใช้เวลาทั้งหมด 14 วัน รวมระยะเวลาการทดลองทั้งหมด 70 วัน ในแต่ละช่วงการทดลองแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะปรับตัว 9 วัน และระยะเก็บตัวอย่างมูล ปัสสาวะ และเลือด 5 วัน (ภาพที่ 4)

ตารางที่ 2 แผนผังการทดลอง

ระยะเวลาของการสลับสูตรอาหารทดลอง	**โคทดลอง**				
	ตัวที่ 1	**ตัวที่ 2**	**ตัวที่ 3**	**ตัวที่ 4**	**ตัวที่ 5**
ระยะที่ 1	A	B	C	D	E
ระยะที่ 2	E	A	B	C	D
ระยะที่ 3	D	E	A	B	C
ระยะที่ 4	C	D	E	A	B
ระยะที่ 5	B	C	D	E	A

หมายเหตุ : อักษร A, B, C, D และ E คือ อาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 ระยะการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

1. ระยะปรับตัว (adaptation period) ใช้ระยะเวลา 9 วัน เป็นช่วงที่ฝึกให้โคมีความคุ้นเคยกับสภาพการทดลองและอาหารก่อนเข้าสู่ระยะการทดลองจริง ทำการสุ่มโคทดลองตามแผนการทดลองแบบ 5x5 ลาตินสแควร์ โดยโคแต่ละตัวถูกขังในคอกทดลองหาการย่อยได้ มีรางอาหารอยู่ด้านหน้าและมีที่ให้น้ำอัตโนมัติให้ดื่มน้ำได้ตลอดเวลา โคทดลองทุกตัวได้รับอาหารข้นตามทรีทเมนต์ที่กำหนด (ตารางที่ 2) ในระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ก่อนให้หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งแบบเต็มที่ (*ad libitum*) โดยแบ่งการให้อาหารวันละ 2 ครั้งคือ 08.00 และ 16.00นาฬิกา และทำการเก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่กินได้ในแต่ละวัน

2. ระยะเก็บข้อมูล (collection period) ใช้ระยะเวลา 5 วัน ในระยะนี้ให้โคได้รับอาหารเช่นเดียวกับระยะปรับตัว คือให้อาหารข้นตามทรีทเมนต์ที่กำหนด ในระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ก่อนให้หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งในระดับ 90 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณการกินได้ทั้งหมดในระยะปรับตัว ทำการเก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่กินได้ เก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะตลอดระยะเวลา 5 วันของแต่ละช่วงการทดลอง และเก็บตัวอย่างเลือดในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง

4. การเก็บข้อมูลและการเก็บตัวอย่าง

4.1 การหาปริมาณการกินได้ บันทึกปริมาณหญ้าแห้งและอาหารข้นที่ให้และที่เหลือจากที่สัตว์กินในแต่ละวัน เพื่อคำนวณหาปริมาณการกินได้ สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารที่ให้และที่เหลือโดยแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนละประมาณ 300 กรัม ส่วนหนึ่งนำมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อคำนวณค่าวัตถุแห้ง อีกส่วนหนึ่งนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง สะสมไว้จนครบ 5 วัน แล้วนำมารวมกันสุ่มอีกครั้งให้ได้ตัวอย่างประมาณ 300 กรัม และนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตรเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

4.2 ตัวอย่างมูล เก็บตัวอย่างมูล โดยใช้พลั่วรองรับมูลที่โคขับออกมาทุกครั้ง สะสมในภาชนะที่เตรียมไว้ และบันทึกปริมาณมูลที่ขับออกมาทั้งหมดในแต่ละวันในช่วงเช้าก่อนให้อาหาร จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างมูลประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนละประมาณ 300 กรัม ส่วนหนึ่งนำมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อคำนวณค่าวัตถุแห้ง อีกส่วนหนึ่งนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง สะสมไว้จนครบ 5 วัน แล้วนำมารวมกัน สุ่มอีกครั้งให้ได้ตัวอย่างประมาณ 300 กรัม และนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เก็บใส่ถุงติดเบอร์ไว้และเก็บใส่ตู้แช่แข็ง (-13 องศาเซลเซียส) เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี

4.3 ตัวอย่างปัสสาวะ เก็บตัวอย่างปัสสาวะที่ขับออกมาทั้งหมดในแต่ละวันในช่วงเช้าก่อนให้อาหาร โดยใช้กรวยผูกยึดติดกับตัวโคซึ่งออกแบบเพื่อใช้สำหรับรองปัสสาวะโดยตรงจากตัวโค โดยมีสายยางต่อไปยังภาชนะที่รองรับปัสสาวะซึ่งเติมกรดซัลฟุริคความเข้มข้น 1 โมลาร์ (1 M H_2SO_4) 250 มิลลิลิตร เพื่อให้ปัสสาวะมีสภาพเป็นกรด (pH<3) เพื่อป้องกันการสูญเสียของไนโตรเจนเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งที่ปลายสายยางมีผ้าขาวบางผูกปิดไว้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเศษขนของตัวโคที่อาจส่งผลให้ค่าไนโตรเจนผิดพลาด จดบันทึกปริมาณปัสสาวะทั้งหมด และเก็บตัวอย่างปัสสาวะ 5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นแบ่งปัสสาวะออกเป็นสองส่วน ปัสสาวะส่วนที่หนึ่งใส่ขวดเก็บตัวอย่างขนาด 250 มิลลิลิตร ปัสสาวะส่วนที่สองนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:3 จากนั้นนำตัวอย่างปัสสาวะที่เจือจางแล้ว 80 มิลลิลิตร ใส่ขวดเก็บตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเก็บตัวอย่างปัสสาวะทั้งสองส่วนไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Pimpa และคณะ (2003a) เพื่อวิเคราะห์หาระดับไนโตรเจน และอนุพันธ์พิวรีน คือ กรดยูริก และอะแลนโตอิน

4.4 ตัวอย่างเลือด ทำการเก็บตัวอย่างเลือดก่อนให้อาหารในช่วงเช้าของวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง ตามวิธีของ Kawashima และคณะ (2000a) โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำใหญ่ (jugular vein) ที่บริเวณคอ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างเลือดไปปั่นแยกซีรัมที่ 3000 รอบต่อนาที (352 g) เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บตัวอย่างซีรัมไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์หาระดับยูเรียไนโตรเจนและครีเอทินีน

4.5 ทำการคำนวณหาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ โภชนะรวมที่ย่อยได้ (total digestible nutrient, TDN) ปริมาณโภชนะที่ย่อยได้ที่ได้รับ (digestible nutrient intake) สมดุลไนโตรเจน อนุพันธ์พิวรีนที่ถูกดูดซึมที่ลำไส้ และการสังเคราะห์ไนโตรเจนของจุลินทรีย์ดังนี้

สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{(\text{โภชนะที่สัตว์ได้รับ} - \text{โภชนะในมูล})}{\text{โภชนะที่สัตว์ได้รับ}} \times 100$$

โภชนะรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

TDN = DCP + DCF + DNFE + (2.25 x DEE)

เมื่อ DCP = โปรตีนรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

DCF = เยื่อใยรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

DNFE = ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรกที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

DEE = ไขมันรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

ปริมาณโภชนะที่ย่อยได้ (กิโลกรัม/วัน)

= สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ x ปริมาณโภชนะที่กินได้

สมดุลไนโตรเจน (กรัม/วัน)

= ปริมาณไนโตรเจนที่สัตว์กิน – (ปริมาณไนโตรเจนในมูล + ปริมาณไนโตรเจนในปัสสาวะ)

อนุพันธ์พิวรีนที่ถูกดูดซึมที่ลำไส้ (มิลลิโมล/วัน)

= (**Y**/0.85) - (0.30 $W^{0.75}$) (Pimpa *et al.*, 2001)

การสังเคราะห์จุลินทรีย์ไนโตรเจน (กรัมไนโตรเจน/วัน)

$$= \frac{\mathbf{X}\ (\text{มิลลิโมลต่อวัน}) \times 70}{0.073 \times 0.83 \times 1000} \quad \text{(Pimpa, 2002)}$$

เมื่อ X = อนุพันธ์พิวรีนที่ถูกดูดซึมที่ลำไส้ (มิลลิโมล/วัน)

Y = การขับออกของอนุพันธ์พิวรีนในปัสสาวะ(มิลลิโมล/วัน)

$W^{0.75}$ = น้ำหนักเมแทบอลิก (กิโลกรัม)

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าพลิแคททูลั่มแห้ง อาหารข้นและมูล คือ วัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใยรวม และเถ้า ใช้วิธี proximate analysis (AOAC, 1984) สำหรับการวิเคราะห์ผนังเซลล์ ลิกโนเซลลูโลสและลิกนินใช้วิธี detergent method ของ Goering และ Van Soest (1970) การวิเคราะห์ไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะใช้วิธีการของ AOAC (1984) การวิเคราะห์กรดยูริกในปัสสาวะใช้ Biocode Hycel Uric acid Kit (R5B100A-R5B150A-R5B155A : BIOCODE- HYCEL, France) และการวิเคราะห์อะแลนโตอินในปัสสาวะใช้วิธี Colorimetric method (Abdulrazak and Fujihara, 1999) ส่วนการวิเคราะห์ยูเรียไนโตรเจนในพลาสมา ใช้วิธีการ Urea two steps enzymatic colorimetric test

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลปริมาณการกินได้ของโภชนะ สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ โภชนะรวม-ที่ย่อยได้ ปริมาณโภชนะย่อยได้ สมดุลไนโตรเจน ระดับยูเรียไนโตรเจน และครีเอทินีนในพลาสมา ปริมาณการขับออกของอนุพันธ์พิวรีนในปัสสาวะ และปริมาณจุลินทรีย์ไนโตรเจน มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ 5x5 ลาตินสแควร์ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (Steel and Torrie, 1980)

7. ระยะเวลาการวิจัย

การศึกษาผลการเสริมผลพลอยได้ที่มีโซเดียมคลอไรด์และกรดนิวคลีอิกในอาหารข้นต่อการย่อยได้ของโภชนะ สมดุลของไนโตรเจน และการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนในโคพื้นเมืองภาคใต้เพศผู้ที่ได้รับหญ้าพลิแคททูลั่มแห้งเต็มที่ ดำเนินการทดลองในตัวสัตว์ ณ สถานีวิจัยและฝึกภาคสนามคลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ ระหว่างเดือน สิงหาคม – พฤศจิกายน 2547 ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ รวมทั้งทำการวิเคราะห์ข้อมูลระหว่างเดือน ธันวาคม 2547 – สิงหาคม 2548