

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. แพลตฟอร์มพื้นเมือง – แรงโน้มถ่วง 50 เบอร์เซ็นต์ เพศผู้ อายุเฉลี่ย 1 ปี 8 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 27 ± 2 กิโลกรัม จำนวน 10 ตัว
2. โรงเรือนแพและคอกสำหรับการทดลองหากการย่อยได้ในตัวสัตว์ (metabolism cages) ร่างอาหาร และภาชนะใส่น้ำ
3. หลู่เอนเปียร์สตดที่มีอายุการตัดประมาณ 45-60 วัน
4. วัตถุดินอาหารสัตว์ ได้แก่ มันเส้น ข้าวโพดบด กากถั่วเหลือง ปลายข้าว กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน กากน้ำตาล ญูเรีย เกลือ และไคแคลเซียมฟอสฟอรัส ซึ่งออกร้านขายอาหารสัตว์ใน อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา
5. แร่ธาตุและวิตามินพสม ของกรมปศุสัตว์
6. ยาถ่ายพยาธิกายนอกและพยาธิกายใน ได้แก่ ยาถ่ายพยาธิไอเวอร์เมกติน (Ivermectin, IDECTIN, [®] บริษัท The British Dispensary (L.P) CO., Ltd.)
7. วิตามินเอดีอี (AD_3E) บริษัท Woerden-Holland-P.O.B. 78
8. เครื่องชั่งอาหาร ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Fx 13L 3100
9. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะ ได้แก่ ถังรองรับมูล ถังรองรับปัสสาวะ ถุงพลาสติกใส ยาง ผ้าขาวบางสำหรับรองน้ำปัสสาวะ และเครื่องชั่ง
10. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างอาหาร ได้แก่ ขวดแก้ว ถุงพลาสติก และยาง
11. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างเดือด ได้แก่ เข็มฉีดยา สำลี หลอดพลาสติกปริมาตร 4 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด
12. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยได้ ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยได้ บีกเกอร์ และเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Hewlett-Packard รุ่น 1100
13. อุปกรณ์ในการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธีนับตรง ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยายขนาด 10x, 20x และ 40x) ที่กดนับเม็ดเดือด และ hematocytometer
14. สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธีประมาณ (proximate analysis)

15. สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Detergent method
16. ตู้อบ (hot air oven) ยี่ห้อ Binder รุ่น FED 720
17. เครื่องบด (willy mill) ยี่ห้อ Dietz
18. เครื่องปั่นเหวี่ยงยี่ห้อ Hermle รุ่น Z 230
19. อุปกรณ์ทำความสะอาดตัวสัตว์ ได้แก่ แปรงถูพื้นและไม้กวาด

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้แพะลูกผสมพื้นเมือง – แสงโกลนูเมียน 50 เปอร์เซ็นต์ เพศผู้ อายุประมาณ 1 ปี 8 เดือน มีน้ำหนักเฉลี่ย 27 ± 2 กิโลกรัม จำนวน 10 ตัว มีสุขภาพสมบูรณ์ แข็งแรง และผ่านการฉีดวัคซีนโรคป่ากและเท้าเปื่อยและคอมบวม รวมทั้งได้รับการทำจัดพยาธิภายใน และพยาธิภายนอก โดยใช้ยาถ่ายพยาธิไอล่าวอร์เมกติน ในอัตรา 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 50 กิโลกรัม และฉีดวิตามินเอคีวี ในอัตรา 2 มิลลิลิตรต่อตัว ในช่วงปรับสัตว์ก่อนเข้างานทดลอง เลี้ยงแพะทุกตัวในคอกเดียว ยกพื้นจำนวน 10 คอก และให้ได้รับหญ้าเนเปียร์สดอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ร่วมกับอาหารข้นในระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เป็นเวลา 30 วัน เพื่อให้แพะทุกตัวมีสภาพร่างกายที่ใกล้เคียงกัน

2. อาหารและการเตรียมอาหารทดลอง

อาหารหยาน ใช้หญ้าเนเปียร์สดอายุการตัดประมาณ 45-60 วัน เป็นอาหารหยานโดยหญ้าเนเปียร์ที่ใช้เป็นหญ้าเนเปียร์ที่ปลูกในแปลงขนาด 10 ไร่ ของศูนย์วิจัยและพัฒนาสัตว์เคียงเอื้องขนาดเล็ก สถานีวิจัยและฝึกสอนคลองหอยโ่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัย-สงขลานครินทร์ อ. คลองหอยโ่ง จ. สงขลา

อาหารข้น ใช้อาหารข้นที่ประกอบด้วย มันเส้น ข้าวโพดบด กาจถั่วเหลือง กากเนื้อใน เมล็ดปาล์มน้ำมัน และปลายข้าว เป็นองค์ประกอบพื้นฐาน ทำการประกอบสูตรอาหารข้นให้มีระดับมันเส้นต่างกัน 5 สูตร โดยใช้มันเส้นทัดแทนข้าวโพดในสูตรอาหาร 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และทำการคำนวณให้อาหารข้นมีระดับโภชนาต่างๆ ตามความต้องการของแพะตาม

คำแนะนำของ NRC (1981) ส่วนประกอบของวัตถุคิบและคุณค่าทางโภชนาะของอาหารขันที่ใช้ในการทดลอง แสดงดังตารางที่ 1

3. การวางแผนและวิธีการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบจตุรัสละตินที่ทำซ้ำหลายจตุรัส (Replicate Latin Square Design) ประกอบด้วย 5 ทรีทเม้นต์ (treatment) คือ อาหารขันสูตรต่างๆ และใช้หญ้าเนเปียร์สดเป็นอาหารขยาย โดยให้กินแบบเต็มที่ดังนี้

ทรีทเม้นต์ที่ 1 อาหารขันที่ใช้มันเส้นทดแทนข้าวโพด 0 เปอร์เซ็นต์

ทรีทเม้นต์ที่ 2 อาหารขันที่ใช้มันเส้นทดแทนข้าวโพด 25 เปอร์เซ็นต์

ทรีทเม้นต์ที่ 3 อาหารขันที่ใช้มันเส้นทดแทนข้าวโพด 50 เปอร์เซ็นต์

ทรีทเม้นต์ที่ 4 อาหารขันที่ใช้มันเส้นทดแทนข้าวโพด 75 เปอร์เซ็นต์

ทรีทเม้นต์ที่ 5 อาหารขันที่ใช้มันเส้นทดแทนข้าวโพด 100 เปอร์เซ็นต์

การทดลองประกอบด้วย 5 ช่วงการทดลอง (ตารางที่ 2) แต่ละช่วงการทดลองใช้เวลาทั้งหมด 21 วัน รวมระยะเวลาการทดลองทั้งหมด 105 วัน ในแต่ละช่วงการทดลองแบ่งเป็น 2 ระยะ คือระยะปรับตัว (adaptation period) 15 วัน และระยะเก็บตัวอย่าง (sample collection period) 6 วัน ดังแสดงในภาพที่ 1

ในแต่ละระยะการทดลอง มีรายละเอียดของการทดลองดังนี้

1. ระยะปรับตัว เป็นช่วงที่ฝึกให้สัตว์มีความคุ้นเคยกับสภาพการทดลองและอาหารทดลอง ใช้เวลา 15 วัน โดยแบ่งเป็น 2 ช่วง คือ

1.1 ช่วงปรับตัวนกอกรังเดี่ยว ใช้เวลา 10 วัน สุ่มแพททดลองตามแผนการทดลองแบบ 5×5 Replicate Latin Square Design เลี้ยงแพทแต่ละตัวในคอกอกรังเดี่ยว มีร่างอาหารและที่ให้น้ำอยู่ด้านหน้า ให้แพทได้รับหญ้าเนเปียร์สดแบบเต็มที่และเสริมอาหารขันตามกลุ่มทดลองในระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (คิดเป็นวัตถุแห้ง) วันละ 2 ครั้งคือ ช่วงเช้าเวลา 08.00 นาฬิกา และช่วงบ่ายเวลา 16.00 นาฬิกา โดยให้อาหารขันก่อนให้อาหารขยาย 1 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 สัดส่วนของวัตถุคิบ (คิดเป็นวัตถุแห้ง) ที่ใช้ประกอบสูตรอาหารข้น และคุณค่าทางโภชนา (เบอร์เซ็นต์บนฐานวัตถุแห้ง)

อาหารข้น	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5
ส่วนประกอบ (กิโลกรัม)					
มันเส้น	0.00	12.50	25.00	37.50	50.00
ข้าวโพดป่น	50.00	37.50	25.00	12.50	0.00
ากลั่วเหลือง	18.36	16.79	15.13	13.55	13.93
ปลายข้าว	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
ากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน	8.39	8.96	10.12	10.70	10.07
ญูเรีย	0.00	0.50	1.00	1.50	1.75
ไಡแคลเซียม-ฟอสเฟต	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
ากน้ำตาล	0.50	1.00	1.00	1.50	1.50
เกลือ	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
กำมะถัน	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
แร่ธาตุและวิตามินผสม ¹	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
รวม	100	100	100	100	100
คุณค่าทางโภชนา²					
โปรตีนรวม (เบอร์เซ็นต์)	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (เมกกะแคลอรี่ต่อ กิโลกรัม)	3.20	3.15	3.10	3.05	3.02
โภชนารวมที่ย่อยได้ (เบอร์เซ็นต์)	80.77	79.80	78.79	77.81	77.35
ราคา³ (บาท/กิโลกรัม)	8.14	7.82	7.48	7.15	6.96

หมายเหตุ

¹ประกอบด้วย ซีเลเนียม 0.02 กรัม วิตามินเอ 1,000,000.00 หน่วยสาгал วิตามินดี 3 250,000 หน่วยสาгал วิตามิน-อี 3.50 กรัม เหล็ก 4.00 กรัม โคบอลต์ 60.00 มิลลิกรัม แมงกานีส 4.00 กรัม สังกะสี 8.00 กรัม ไอโอดีน 0.10 กรัม โพแทสเซียม 0.03 กรัม และฟอสฟอรัส 21.00 กรัม

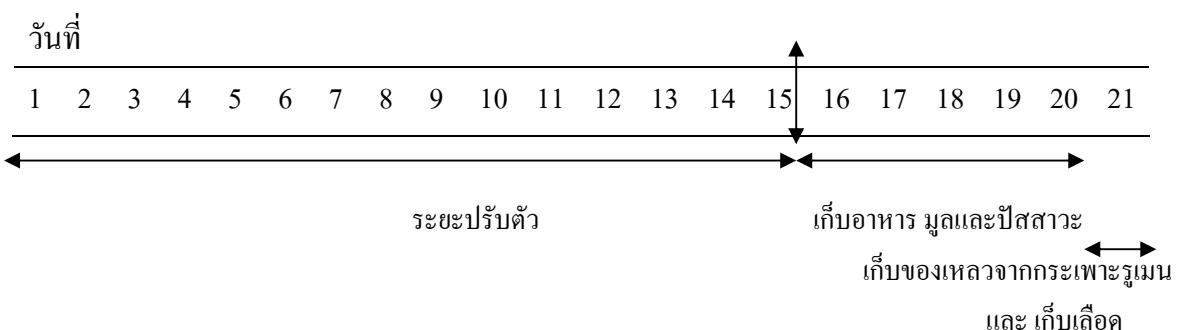
²คำนวณจากการคำนวณอาหารสัตว์ตามคำแนะนำของ NRC (1981)

³คำนวณจากการคำนวณอาหารสัตว์ (บาท/กิโลกรัม) ณ โรงผลิตอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เมื่อเดือนกันยายน พ.ศ. 2548 : มันเส้น 4.80 บาท ข้าวโพด 6.80 บาท ากลั่วเหลือง 13.07 บาท ปลายข้าว 8.90 บาท ากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน 5.10 บาท ญูเรีย 12.40 บาท ไಡแคลเซียม-ฟอสเฟต 6.80 บาท ากน้ำตาล 7.50 บาท เกลือ 4.33 บาท และกำมะถัน 15 บาท

ตารางที่ 2 แผนผังการทดลอง

อาหารทดลอง	ระยะเวลาของการสลับสูตร										แพะทดลอง									
	สแควร์ 1					สแควร์ 2														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10										
ระยะที่ 1	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E										
ระยะที่ 2	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A										
ระยะที่ 3	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B										
ระยะที่ 4	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C										
ระยะที่ 5	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D										

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษ A, B, C, D และ E คือ อาหารทดลองที่ermen ที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ระยะเวลาการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

1.2 ช่วงปรับตัวนั้นทรงทดลองทำการย่อยได้ ใช้เวลา 5 วัน โดยเลี้ยงแพะแต่ละตัวในกรงทดลองทำการย่อยได้ มีร่างอาหารและที่ให้น้ำอยู่ด้านหน้า ให้แพะได้รับหญ้าเนเปิร์สตด แบบเต็มที่และเสริมอาหารข้นตามกลุ่มทดลองในระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (คิดเป็นวัตถุ-แห้ง) ทำการวัดปริมาณอาหารข้นและหญ้าเนเปิร์สตดที่ให้ โดยให้อาหารขันตั้งแต่เวลา 08.00-11.00 นาฬิกา และจึงเปลี่ยนมาให้อาหารหยาบตั้งแต่เวลา 11.00-13.00 นาฬิกา หลังจากนั้นเปลี่ยนมาให้อาหารขันอีกรังตั้งแต่เวลา 13.00-16.00 นาฬิกา เมื่อถึงเวลา 16.00 นาฬิกา ทำการวัดปริมาณอาหารข้นที่เหลือและเปลี่ยนมาให้อาหารหยาบอีกรัง ในเวลา 08.00 นาฬิกาของวันรุ่งขึ้นทำการวัดปริมาณอาหารหยาบที่เหลือ และคำนวนปริมาณอาหารที่กินได้อย่างอิสระ (voluntary feed intake)

2 ระยะเก็บข้อมูล ใช้เวลา 6 วัน ให้แพะได้รับอาหารตามกลุ่มทดลองเหมือนระยะปรับตัวช่วงที่ 2 โดยให้อาหารขัน 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว แต่ปริมาณอาหารหยาบที่ให้ให้เพียง

90 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณการกินได้ทั้งหมดในช่วงระยะเวลา 5 วัน เพื่อให้แพทย์ดูแลอาหารหมดทำการเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะ ตลอดระยะเวลา 5 วัน และทำการเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมนและตัวอย่างเลือดในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง

4. การเก็บข้อมูลและการเก็บตัวอย่าง

4.1 การบันทึกปริมาณการกินได้และการเก็บตัวอย่างอาหาร

4.1.1 บันทึกปริมาณการกินได้ของหญ้าเนเปียร์สดและอาหารข้น ตลอดระยะเวลาทดลอง โดยชั่งน้ำหนักและบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือ เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณการกินได้ในแต่ละวัน

4.1.2 สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าเนเปียร์สดและอาหารข้นที่ให้แพทย์กินในระยะเวลา 5 วัน ประมาณ 500 กรัม ชั่งน้ำหนักแล้วทำการอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักหลังอบ และหาเปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง เพื่อใช้คำนวณปริมาณอาหารที่ให้แพทย์กินในระยะเวลา 5 วัน

4.1.3 สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าเนเปียร์สดและอาหารข้นที่ให้แพทย์กินในระยะเวลา 5 วัน นำตัวอย่างอาหารของทั้ง 5 วันมารวมกันแล้วสุ่มอีกครั้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

4.2 การเก็บตัวอย่างมูล บันทึกปริมาณมูลของแพะแต่ละตัวที่ขับออกมากทั้งหมด ในแต่ละวัน ในช่วงเช้าก่อนให้อาหารเวลา 08.00 นาฬิกา และสุ่มเก็บตัวอย่างมูล แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 เก็บมูลประมาณ 100 กรัม นำไปอบในเตาอบที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ห้าเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง ส่วนที่ 2 เก็บมูลประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักมูลทั้งหมดในแต่ละวัน นำมาอบที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักและใส่ถุง สะสมไวนิลครบร 5 วัน นำปริมาณมูลของแพะแต่ละตัวมาสุ่มอีกครั้งหนึ่งได้ตัวอย่างมูลแห้ง 300 กรัม แล้วนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ใส่ขวดเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

4.3 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ ก่อนให้อาหารในช่วงเช้าทำการเก็บปัสสาวะของแพะแต่ละตัวที่ขับออกมากทั้งหมดในแต่ละวันตลอดระยะเวลา 5 วัน โดยใช้ถังพลาสติกที่เติมกรด-ซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ($1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$) ปริมาตร 80 มิลลิลิตร รองรับปัสสาวะ เพื่อให้ปัสสาวะมีสภาพเป็นกรด ($\text{pH} < 3$) เพื่อป้องกันการสูญเสียในโตรเจนเนื้องจากกิจกรรมของ

จุลินทรีย์ จดบันทึกปริมาตรปัสสาวะทั้งหมดที่ได้ในแต่ละวันและทำการสุ่มเก็บไว้ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรปัสสาวะทั้งหมด เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนครบ 5 วัน แล้วจึงนำตัวอย่างปัสสาวะของแพะแต่ละตัวทั้ง 5 วันมารวมกัน ทำการสุ่มอิกรึ่งประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรปัสสาวะทั้งหมด กรองด้วยผ้าขาวบางใส่ขวดเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ในโตรเจน

4.4 การเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน (rumen fluid) ในวันสุดท้ายของแต่ละระยะทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมนของสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่มก่อนให้อาหาร (0 ชั่วโมง) และหลังการให้อาหาร 4 ชั่วโมง โดยใช้ stomach tube ร่วมกับ vacuum pump สุ่มตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมนปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างทันทีโดยใช้ pH electrode MP. 125 LE 413 (Mettler Toleds AG.) หลังจากนั้นแบ่งของเหลวจากกระเพาะรูเมนออกเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 สุ่มเก็บปริมาตร 60 มิลลิลิตร ใส่ขวดพลาสติกปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อของเหลวจากกระเพาะรูเมน 10 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ แล้วจึงนำไปปั่นให้วาย (centrifuge) ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที (352 g) เป็นเวลา 15 นาที เก็บเอาเฉพาะส่วนไส (supernatant) ปริมาตร 10 – 15 มิลลิลิตร นำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแอมโมเนียม – ในโตรเจน กรดไขมันที่ระเหยได้ทั้งหมด (total volatile fatty acid, TVFA) และกรดไขมันที่ระเหยได้ที่สำคัญได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพธิโโนนิก และกรดบิวทีริก

ส่วนที่ 2 สุ่มเก็บปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดพลาสติกขนาด 30 มิลลิลิตรที่บรรจุฟอร์มาลิน (formalin) เข้มข้น 1 โมลาร์ (10% formalin solution in 0.9% normal saline) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เพื่อนำมาศึกษาจำนวนของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ได้แก่ แบคทีเรีย โปรต็อกซ์ และเชื้อรา โดยวิธีนับตรง (direct count method) ตามวิธีการของ Galyean (1989)

4.5 เก็บตัวอย่างเลือดก่อนให้อาหาร (0 ชั่วโมง) และหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมง ในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำในหง่ายบริเวณคอ (jugular vein) แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 เก็บปริมาตร 3 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของยูเรีย-ในโตรเจนในเลือด ส่วนที่ 2 เก็บปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (pack cell volumen, PCV) และส่วนที่ 3 เก็บปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของกลูโคสในเลือด

4.6 คำนวณสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนาะ โภชนาะรวมที่ย่อยได้ (total digestible nutrient, TDN) ปริมาณโภชนาะที่ย่อยได้ (digestible nutrient intake) และสมดุลของไนโตรเจน (nitrogen balance) ดังนี้

สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนาะ (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{(\text{โภชนาะที่สัตว์ได้รับ} - \text{โภชนาะในมูล})}{\text{โภชนาะที่สัตว์ได้รับ}} \times 100$$

โภชนาะรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

$$\text{TDN} = \text{DCP} + \text{DCF} + \text{DNFE} + (\text{DEE} \times 2.25)$$

$$\text{เมื่อ DCP} = \text{โปรตีนรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)}$$

$$\text{DCF} = \text{เยื่อไขรูมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)}$$

$$\text{DNFE} = \text{ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรกที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)}$$

$$\text{DEE} = \text{ไขมันรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)}$$

ปริมาณโภชนาะที่ย่อยได้ (กรัม/วัน)

$$= \text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนาะ} \times \text{ปริมาณโภชนาะที่กินได้}$$

สมดุลไนโตรเจน (กรัม/วัน)

$$= \text{ปริมาณไนโตรเจนที่สัตว์กิน} - (\text{ปริมาณไนโตรเจนในมูล} + \text{ปริมาณไนโตรเจนในปัสสาวะ})$$

4.7 คำนวณการขับออกของอนุพันธ์พิวรีนรวมในปัสสาวะ อนุพันธ์-พิวรีนที่ถูกคัดซึมที่ลำไส้ และการสังเคราะห์ไนโตรเจนของจุลินทรีย์ ดังนี้

การขับออกของอนุพันธ์พิวรีนรวมในปัสสาวะ (มิลลิโมล/วัน)

$$= 5.86 (\text{ปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ย่อยได้}) - 0.33 (\text{Makkar and Chen, 2004})$$

อนุพันธ์พิวรีนที่ถูกคัดซึมที่ลำไส้ (มิลลิโมล/วัน)

$$= (Y - 0.150 \text{BW}^{0.75}) / 0.84 (\text{Chen and Gomes, 1995})$$

การสังเคราะห์ในโตรเจนของจุลินทรีย์ (กรัมในโตรเจน/วัน)

$$= \frac{70X}{0.085 \times 0.83 \times 1000} \quad (\text{Jetana et al., 2003a, b อ้างโดยโภภาน และทองสุข, 2547})$$

เมื่อ X = อนุพันธ์พิวรินที่ถูกดูดซึมที่คำากำไส (มิลลิโมล/วัน)

Y = การขับออกของอนุพันธ์พิวรินรวมในปัสสาวะ (มิลลิโมล/วัน)

BW^{0.75} = น้ำหนักเมแทบอลิก (กิโลกรัม)

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์สด อาหารขี้น และมูล คือ วัตถุแห้ง อินทรีย์วัตถุ โปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใยรวม และเต้า วิเคราะห์โดยวิธีประมาณ ตาม วิธีการของ AOAC (1990) สำหรับการวิเคราะห์ผนังเซลล์ ลิกโนเซลลูโลส และลิกนิน (lignin) ใช้ วิธี Detergent Method ของ Goering และ Van Soest (1970) การวิเคราะห์แอมโมเนีย-ในโตรเจนใน ของเหลวจากกระเพาะรูเมน โดยใช้การกลั่นตามวิธีการของ Bremner และ Keeney (1965) ส่วน การวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยได้ โดยใช้เครื่อง HPLC ตามวิธีการของ Samuel และคณะ (1997) การวิเคราะห์ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นตามวิธีการของ ไชยณรงค์ (2541) ส่วนการวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของยูเรีย-ในโตรเจนในเลือดใช้วิธี Urea two steps enzymatic colorimetric test โดยใช้ น้ำยาสำเร็จรูป Urea Liquicolor ของบริษัท Diagnostic ประเทศไทยและสารณรัฐเยอร์มัน และ ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดใช้วิธี GOD-PAP method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูป Glucose Liquicolor ของบริษัท Human ประเทศไทยและสารณรัฐเยอร์มัน

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลปริมาณการกินได้ สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนาะ โภชนาะรวมที่ย่อย ได้ ปริมาณโภชนาะที่ย่อยได้ สมดุลในโตรเจน อนุพันธ์พิวรินรวมในปัสสาวะ ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ที่ย่อยได้ในกระเพาะรูเมน ในโตรเจนของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ความเข้มข้นของยูเรีย-ในโตรเจนและกลูโคสในเลือด ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของ แอมโมเนีย-ในโตรเจนและกรดไขมันที่ระเหยได้ในของเหลวจากกระเพาะรูเมน รวมทั้งจำนวน ประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตาม

แผนการทดลองแบบ 5×5 Replicate Latin Square Design และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980)

7. ระยะเวลาการวิจัย

การศึกษาผลการใช้มันเส้นทดแทนข้าวโพดบดในอาหารข้นต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาะ และนิเวศวิทยาในระดับรูเมนของแพะ ดำเนินการทดลองในตัวสัตว์ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก สถานีวิจัยและฝึกภาคสนามคลองหอย โข่ง คณฑ์-ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนตุลาคม - มกราคม พ.ศ. 2548 และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ ภาควิชา-สัตวศาสตร์ คณฑ์ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ - ตุลาคม พ.ศ. 2549