

## บทที่ 2

### วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

#### วัสดุ และอุปกรณ์

- 1 โคพื้นเมืองภาคใต้เพศผู้ อายุเฉลี่ย  $13 \pm 2$  เดือน น้ำหนักเฉลี่ย  $142.9 \pm 6.7$  กิโลกรัม จำนวน 6 ตัว
- 2 โรงเรือนโค ประกอบด้วย รางอาหาร อุปกรณ์ให้น้ำอัตโนมัติ ราวเหล็กกั้นระหว่างตัวโค
- 3 คอกสำหรับการทดลองหาการย่อยได้ในตัวสัตว์ (metabolism cages)
- 4 หญ้าพลิแคทูลัมแห้งที่มีอายุการตัดประมาณ 45-60 วัน
- 5 วัตถุดิบอาหารสัตว์ ได้แก่ กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน ข้าวโพดบด กากถั่วเหลือง เหลือ ไคแคลเซียมฟอสเฟต และเปลือกหอยปน
- 6 แร่ธาตุก้อน ยี่ห้อ แมกนัม 50 บริษัท เบสท์ อโกร จำกัด
- 7 ยาถ่ายพยาธิภายในได้แก่ ยาถ่ายพยาธิอัลเบนดาโซล Valbazen<sup>®</sup> บริษัท Better Pharma Co., Ltd.
- 8 เครื่องชั่งน้ำหนักโคยี่ห้อ Iconix รุ่น Fx 21 บริษัท กิสส์ มาร์เกตติ้ง จำกัด
- 9 เครื่องชั่งอาหารยี่ห้อ Sartorius รุ่น 13L 3100 บริษัท เอส. วี. เมดิโก จำกัด
- 10 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง มูล ปัสสาวะ ได้แก่ พลับสำหรับตักมูล ถังรองรับมูล ถังรองรับปัสสาวะ ถังพลาสติกใส ผ้าขาวบางสำหรับกรองน้ำปัสสาวะ สายยางสำหรับรองรับน้ำปัสสาวะ จากตัวโค และสายยางสำหรับผูกยึดติดลำตัวโค
- 11 อุปกรณ์สำหรับสุ่มเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถังมือพลาสติก ขวดพร้อมฝาเกลียวสำหรับใส่ปัสสาวะ ภาตกลมสำหรับใส่มูลเพื่ออบหาความชื้น และอุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล
- 12 สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Proximate Analysis
- 13 สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยวิธี Detergent method
- 14 ตู้อบ (hot air oven) ยี่ห้อ binder รุ่น FED 720 บริษัท เอส. วี. เมดิโก จำกัด
- 15 เครื่องบด (willy mill) ยี่ห้อ Dietz บริษัท Thomas Technological Co., Ltd
- 16 อุปกรณ์ทำความสะอาดคอก และตัวสัตว์

## วิธีการทดลอง

### 1 การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารหยาบ ใช้หญ้าพลิกแคทมูล่มแห่งของสถานีพัฒนาอาหารสัตว์สตูล ซึ่งมีอายุการตัดประมาณ 45-60 วัน

อาหารข้น ใช้อาหารข้นที่มีระดับโปรตีนรวม 13.40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสัดส่วนของวัตถุดิบที่ใช้ประกอบสูตรอาหารข้น และคุณค่าทางโภชนาที่<sup>1</sup>ได้จากการคำนวณ แสดงดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** สัดส่วนของวัตถุดิบและคุณค่าทางโภชนาของอาหารข้นที่ใช้เสริมให้แก่โคทดลอง

วัตถุดิบ	เปอร์เซ็นต์
กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน	30
ข้าวโพดบด	54
กากถั่วเหลือง	12
เกลือ	2
ไคแคลเซียม ฟอสเฟต	1
เปลือกหอยปูน	1
รวม	100
คุณค่าทางโภชนา (สภาพใช้เลี้ยงจริง : as fed basis )	เปอร์เซ็นต์
โปรตีนรวม <sup>1</sup>	13.40
แคลเซียม <sup>1</sup>	0.75
ฟอสฟอรัส <sup>1</sup>	0.60
โภชนารวมที่ย่อยได้ <sup>2</sup>	73.74

<sup>1</sup>คำนวณจากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารสัตว์ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

<sup>2</sup>คำนวณจากตารางองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารสัตว์ของ NRC (1996) และ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## 2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้โคพื้นเมืองภาคใต้เพศผู้อายุเฉลี่ย  $13 \pm 2$  เดือน น้ำหนักเฉลี่ย  $142.9 \pm 6.7$  กิโลกรัม จำนวน 6 ตัว มีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์ ทำการกำจัดพยาธิภายใน โดยใช้ยาถ่ายพยาธิอัลเบนดาโซล (Valbazen<sup>®</sup> บริษัท Better pharma Co., LTD.) โดยการกรอกให้กินในอัตราส่วน 1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักโค 10 กิโลกรัม

## 3 การวางแผนและวิธีการทดลอง

### แผนการทดลอง

ทำการสุ่มโคทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ตัว ประกอบด้วย 2 ทริทเมนต์ คือ ทริทเมนต์ที่เสริมอาหารชั้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักร่าง (G<sub>1</sub>) และ ทริทเมนต์ที่เสริมอาหารชั้น 1.0-เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักร่าง (G<sub>2</sub>) โดยโคทั้ง 2 ทริทเมนต์ได้รับหญ้าพลิกแคลทูลัมแห้งเป็นอาหารขยายแบบเต็ม

### วิธีการทดลอง

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ

**ระยะที่ 1** ทำการศึกษ้อัตราการเจริญเติบโตของโคพื้นเมืองภาคใต้เพศผู้ โดยเลี้ยงโคแต่ละตัวในคอกกั้นโรง มีราวเหล็กกั้นระหว่างตัวโค มีรางอาหารขยายและอาหารชั้นซึ่งแยกกันอยู่ด้านหน้าและมีที่ให้น้ำอัตโนมัติ ซึ่งโคสามารถดื่มน้ำได้ตลอดเวลา ให้อาหารโคทดลองวันละ 2 ครั้งในเวลา 08.00 นาฬิกา และ 16.00 นาฬิกา โดยให้อาหารชั้นตามทริทเมนต์ที่โคได้รับ คือ 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักร่าง ก่อนให้หญ้าพลิกแคลทูลัมแห้งแบบเต็มและมีแร่ธาตุก้อนแขวนไว้ให้โคทดลองทุกตัว ฝึกให้โคคุ้นเคยกับสภาพการทดลองและอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 1 เดือนก่อนทำการเก็บข้อมูลปริมาณการกินได้ และอัตราการเจริญเติบโตของโคเป็นระยะเวลา 91 วัน ทำการบันทึกปริมาณหญ้าแห้งและอาหารชั้นที่ให้โคกิน และปริมาณหญ้าแห้งและอาหารชั้นที่เหลือในแต่ละวันเพื่อคำนวณปริมาณอาหารที่กินได้ สุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าแห้งและอาหารชั้นที่ให้ และที่เหลือ โดยแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนละประมาณ 500 กรัม ส่วนหนึ่งนำมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาค่าวัตถุแห้ง และนำมาปรับการกินได้ของสัตว์ในแต่ละวัน อีกส่วนหนึ่งนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 72-ชั่วโมง สดสุมไว้จนครบ 5 วัน สุ่มอีกครั้งให้ได้ตัวอย่างประมาณ 300 กรัม และนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและพลังงานรวม ทำการชั่งน้ำหนักโคทุก

2 สัปดาห์ เพื่อปรับปริมาณอาหารชั้นที่ให้ตามน้ำหนักโค และคำนวณปริมาณอาหารที่โคกินได้ ปริมาณโภชนาที่โคได้รับ และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ดังนี้

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (กรัมต่อวัน)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลอง}}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

$$\text{ปริมาณโภชนาที่โคได้รับต่อวัน (กรัมต่อวัน)} = \text{ปริมาณโภชนาในอาหาร} \times \text{ปริมาณอาหารที่โคได้รับต่อวัน}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัมต่อวัน)} \\ = \frac{\text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มการทดลอง}}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}} \end{aligned}$$

เมื่อเสร็จสิ้นการศึกษากาการเจริญเติบโตของโค ทำการศึกษาย่อยได้ของโภชนา และสมดุลไนโตรเจน โดยระยะนี้ใช้เวลา 5 วัน ในการเก็บข้อมูล ให้โคได้รับหญ้าฟลิแคททุ้มแห้งแบบเต็มที และเสริมอาหารชั้น ตามทริทเมนต์ที่โคได้รับ วันละ 2 ครั้งในเวลา 08.00 นาฬิกา และ 16.00 นาฬิกา ทำการเก็บข้อมูลดังนี้

1 ปริมาณอาหารที่กินได้ ทำการบันทึกปริมาณหญ้าแห้งและอาหารชั้นที่ให้โคกินและปริมาณหญ้าแห้งและอาหารชั้นที่เหลือในแต่ละวันเพื่อคำนวณปริมาณอาหารที่กินได้ สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารที่ให้ และที่เหลือ โดยแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนละประมาณ 500 กรัม ส่วนหนึ่งนำมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาค่าวัตถุแห้ง อีกส่วนหนึ่งนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง สละสมไว้จนครบ 5 วัน สุ่มอีกครั้งให้ได้ตัวอย่างประมาณ 300 กรัม และนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและพลังงานรวม

2 เก็บตัวอย่างมูล ในแต่ละวันก่อนให้อาหารเช้าเวลา 08.00 น. โดยเก็บมูลตลอด 24 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเหยียบย่ำจากตัวโค เก็บมูลใส่ในภาชนะที่เตรียมไว้และบันทึกปริมาณมูลที่ขับออกมาทั้งหมดในแต่ละวันในช่วงเช้าก่อนให้อาหารทุกวัน จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างมูลประมาณ 10-เปอร์เซ็นต์ โดยแบ่งเป็นสองส่วน มูลส่วนหนึ่งนำมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-ชั่วโมง เพื่อหาค่าวัตถุแห้ง มูลอีกส่วนหนึ่งนำมาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง สละสมไว้จนครบ 5 วัน นำมาสุ่มอีกครั้งหนึ่งให้ได้ตัวอย่าง 300 กรัม แล้วนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1.0-

มิลลิเมตร เก็บใส่ถุงติดเบอร์ไว้และเก็บใส่ตู้แช่แข็ง (-13 องศาเซลเซียส) เพื่อวิเคราะห์ทางองค์ประกอบทางเคมีและพลังงานรวม

3 เก็บตัวอย่างปัสสาวะ เก็บปัสสาวะที่ขับออกมาทั้งหมดในแต่ละวัน ก่อนให้อาหารเช้าทุกวัน โดยใช้กรวยผูกยึดติดกับตัวโคซึ่งออกแบบเพื่อใช้สำหรับรองรับปัสสาวะโดยตรงจากตัวโค โดยมีสายยางต่อไปยังภาชนะที่รองรับปัสสาวะซึ่งมีการดัดฟิวรีดความเข้มข้น 1 โมลาร์ (1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 50 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันการสูญเสียของไนโตรเจนเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ จดบันทึกปริมาณปัสสาวะทั้งหมดและเก็บตัวอย่างไว้ 5 เปอร์เซ็นต์ กรองด้วยผ้าขาวบางใส่ขวดเก็บใส่ตู้แช่แข็ง (-13 องศาเซลเซียส) เพื่อรอการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนและพลังงานรวมต่อไป

4 ทำการคำนวณหาสมมูลไนโตรเจน สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ โภชนะรวมที่ย่อยได้ (total digestible nutrient, TDN) พลังงานย่อยได้ (digestible energy, DE) และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy, ME) โดยใช้สูตรดังนี้

#### สมมูลไนโตรเจน

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

#### สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (เปอร์เซ็นต์)

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

#### โภชนะรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

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

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

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

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

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

#### พลังงานย่อยได้ (เมกกะแคลอรีต่อวัน)

$$= \text{ปริมาณพลังงานที่ได้รับ} - \text{ปริมาณพลังงานที่ขับออกทางมูล}$$

### พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (เมกกะแคลอรีต่อวัน)

$$= 0.82 \times \text{DE (NRC, 1976)}$$

เมื่อ DE = พลังงานย่อยได้

**ระยะที่ 2** เมื่อเสร็จสิ้นการศึกษาการย่อยได้ของโภชนะ และสมมูลไนโตรเจนของโคพื้นเมืองภาคใต้ในระยะที่ 1 ทำการเปลี่ยนทริทเมนต์การให้อาหารชั้นแกโค โดยโคที่ได้รับอาหารชั้น 0.5-เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ในระยะที่ 1 จะได้รับอาหารชั้นเสริม 1.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวในระยะนี้ ทำการศึกษาปริมาณการกินได้ ปริมาณโภชนะที่โคได้รับ และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันเป็นระยะเวลา 91 วัน ทำการเก็บข้อมูล และศึกษาการย่อยได้ของโภชนะ และสมมูลไนโตรเจนเช่นเดียวกับการทดลองในระยะที่ 1

#### 4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าพลิกแคทพูล์มแห้ง อาหารชั้นและมูล คือ วัตถุประสงค์อินทรีย์วัตถุ โปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใยรวม และเถ้า ใช้วิธี proximate analysis (AOAC, 1984) สำหรับการวิเคราะห์ผงแห้งเซลล์ ลิกโนเซลลูโลส และลิกนิน ใช้วิธี detergent method ของ Goering และ Van Soest (1970) การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในมูลและปัสสาวะ ใช้วิธีการของ AOAC (1984) และการวิเคราะห์หาพลังงานในหญ้าพลิกแคทพูล์มแห้ง อาหารชั้น มูล และปัสสาวะ โดยใช้เครื่อง Automatic adiabatic bomb calorimeter (Gallenkamp autobomb calorimeter, BA-350-K)

#### 5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลปริมาณอาหารที่โคกินได้ ปริมาณโภชนะที่โคได้รับ อัตราการเจริญเติบโตของโคสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ พลังงานย่อยได้ พลังงานใช้ประโยชน์ได้ และสมมูลไนโตรเจน มาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างทริทเมนต์โดยใช้วิธี Student T-test (Steel and Torrie, 1980)

## 6 ระยะเวลาการวิจัย

การศึกษารูปแบบของระดับอาหารชั้นต่อปริมาณการกินได้ การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ และการเจริญเติบโตของโคพื้นเมืองภาคใต้เพศผู้ ดำเนินการทดลองในสัตว์สัตว์ ณ สถานีวิจัยและฝึกภาคสนาม คลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ ระหว่าง เดือนพฤษภาคม 2546 - เดือน พฤศจิกายน 2547 และดำเนินการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ และการวิเคราะห์ข้อมูล ระหว่างเดือน ธันวาคม 2547 - เดือน เมษายน 2548