

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาในห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย

1. เครื่องชั่งน้ำหนัก ใช้เครื่องชั่ง 2 ชนิด คือ

1.1 ชนิดไฟฟ้า ขนาดชั่งได้ 3,110 ก. มีความละเอียดอ่านได้ 0.01 ก. สำหรับชั่งอาหารและมูลสดในการหาค่าการย่อยได้

1.2 ชนิดไฟฟ้า ขนาดชั่งได้ 160 ก. มีความละเอียดอ่านได้ 0.001 ก. สำหรับชั่งตัวอย่างอาหารและมูลในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis)

2. ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven) ใช้สำหรับอบตัวอย่างอาหารและมูลไก่

3. โถดูดความชื้น (desiccator) บรรจุด้วยซิลิกาเจล (silica gel)

4. เครื่องบดตัวอย่างอาหารและมูลไก่ ขนาดบดละเอียด 1 มม.

5. ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บมูลและตัวอย่างอาหาร

6. เตาเผา (ยี่ห้อ Heraeus type MR 200 E) สำหรับเผาเถ้าตัวอย่างอาหารและมูล

7. เครื่อง spectrophotometer (ยี่ห้อ Beckman : Model DU 7500) สำหรับหาปริมาณ P

8. เครื่องย่อย (digestion apparatus) และเครื่องกลั่น (distillation apparatus) ใช้สำหรับวิเคราะห์หาโปรตีน

9. เครื่องสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ใช้สำหรับวิเคราะห์หาไขมัน

10. เครื่องหาเยื่อใย (crude fiber apparatus) และปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) ใช้สำหรับวิเคราะห์เยื่อใย

การศึกษาในฟาร์มทดลอง ประกอบด้วย

1. เครื่องชั่งน้ำหนัก ใช้เครื่องชั่ง 4 ชนิด คือ

1.1 ชนิดไฮดรอลิก ขนาดชั่งได้ 150 กก. มีความละเอียดอ่านได้ 50 ก. ใช้ชั่งวัตถุดิบและอาหาร

1.2 จานสปริง ขนาดชั่งได้ 3 กก. มีความละเอียดอ่านได้ 10 ก. โดยได้ตัดแปลงตรงจานรองรับน้ำหนักเป็นถาดรูปกรวย สำหรับให้ไก่สอดหัวลงไปได้ ใช้ชั่งน้ำหนักไก่เป็นรายตัว

1.3 ชนิดไฟฟ้า ขนาดซังได้ 3,110 ก. มีความละเอียดอ่านได้ 0.01 ก. ใช้ซังวัตถุชนิดที่ใช้น้อยในสูตรอาหาร เช่น สารผสมล่วงหน้า (premix) ซึ่งเป็นพวกวิตามิน แร่ธาตุ และสารเสริมบางชนิด เกลือ และกรดอะมิโนแอล-ไลซีนหรือดีแอล-เมทไธโอนีน เป็นต้น

1.4 ชนิดดัดแปลงไว้สำหรับชั่งน้ำหนักไขในน้ำ ซึ่งใช้เครื่องชั่งแบบคานกระดก โดยแขนของคานที่มีถาดสำหรับวางไขเพื่อชั่งน้ำหนัก ถูกดัดแปลงให้อยู่ในน้ำ เพื่อชั่งน้ำหนักไขที่จมอยู่ในน้ำ จากนั้นนำไปหาความถ่วงจำเพาะ (ถ.พ.) ของฟองไข เป็นรายฟอง ดังสูตร

$$\text{ถ.พ.} = \frac{\text{น้ำหนักไขในอากาศ}}{\text{น้ำหนักไขในอากาศ} - \text{น้ำหนักไขในน้ำ}}$$

2. คอกทดลอง มีกรงบรรจุไก่แบบกรงคับขนาดช่องละ $24 \times 40 \times 36$ ซม. แต่ละช่องจุไก่จำนวน 3 ตัว มีจำนวนทั้งสิ้น 120 ช่อง อยู่ในโรงเรือนเดียวกัน ซึ่งเป็นโรงเรือนที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ (Controlled temperature house ใช้ระบบ Evaporative cooling system)

3. กรงเมแทบอลิซึม (metabolism cage) เป็นแบบกรงขังเดี่ยว สำหรับใช้หาค่าการย่อยได้ แต่ละช่อง มีขนาด $43 \times 36 \times 51$ ซม. ใช้จำนวน 10 ช่อง มีภาชนะใส่น้ำและอาหารแยกกันเฉพาะช่องเป็นรายตัว มีขาตั้งกรงสูง 70 ซม. ได้กรงของแต่ละช่องมีถาดอะลูมิเนียมสำหรับรองรับมูล

4. อุปกรณ์ให้น้ำใช้แบบหยด แต่ละช่องมีหัวหยด 1 หัว อยู่ด้านบนของกรง ซึ่งไก่ (มีไก่ 3 ตัว) สามารถชีดหัวไปแตะ (กิน) น้ำจากหัวหยดได้อย่างสะดวก ส่วนอุปกรณ์ให้อาหาร ใช้แบบรางยาวตลอดแถว โดยอยู่ด้านบนหน้าของกรง มีแผงกั้นระหว่างขี้ (5 ช่อง) เพื่อป้องกันมิให้ไก่ข้ามไปกินอาหารของกลุ่มอื่น

5. เครื่องผสมอาหารแบบเกลียวนอน มีความจุ 60 กก. ต่อการผสม 1 ครั้ง

6. ไก่ไข่ ใช้ไก่สายพันธุ์อิซาบราวน์ (Isa-brown) อายุเริ่มทดลอง 33 สัปดาห์ จำนวน 360 ตัว

7. พัดเทียบสีไข่แดงของบริษัทโรช (Roche yolk colour fan) มีระดับความเข้มของสีตามความเข้มของสีไข่แดงที่มากขึ้นตั้งแต่เบอร์ 1 ถึง 15

8. เครื่องวัดความหนาเปลือกไข่ชนิดดิจิทัล มีความละเอียดที่อ่านได้ 0.001 มม. ใช้วัดความหนาเปลือกไข่จากตรงกลางของฟองไข่ จำนวน 3 จุด โดยลอกเยื่อหุ้มเปลือกออกก่อนวัด จากนั้นนำค่าความหนาจากทั้ง 3 ตำแหน่งมาหาค่าเฉลี่ย

9. เครื่องวัดความสูงไข่ขาวยี่ห้อ TSS (ผลิตจากประเทศอังกฤษ) ใช้วัดความสูงไข่ขาวบริเวณกึ่งกลางระหว่างขั้วทั้งสอง และห่างจากไข่แดงประมาณ 1 ซม. หรือกึ่งกลางระหว่างขอบไข่

ชาวค้ำน้ำหนักสุดท้ายของไข้แดง นำค่าความสูงไข้ขาวที่ได้มาเทียบตาราง Haugh unit (ดูรายละเอียดในตารางภาคผนวก ก. ที่ 1)

10. เครื่องคัคน้ำไข้ โดยจะแบ่งเป็น 3 เกรด เกรด A มีน้ำหนักมากกว่า 70 ก., เกรด B มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 61-70 ก. และเกรด C มีน้ำหนักน้อยกว่า 61 ก.

วิธีการทดลอง แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 : ศึกษาการใช้ประโยชน์ได้ของ P และ Ca

ใช้ไข้ไข้พันธุ์ชวบราวน์ อายุ 33 สัปดาห์ ที่มีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกันจำนวน 6 ตัว ให้แต่ละตัวได้รับอาหารกึ่งบริสุทธิ์ (semi-purified diet) ที่มี aP 3 ระดับ คือ 0.35, 0.50 และ 0.65% ในแต่ละระดับของ aP มีทั้งไม่เสริมและเสริมเอนไซม์ไฟเตส (Natumix[®])¹ ระดับ 300 หน่วย (FTU)/กก. อาหาร รวมเป็นอาหาร 6 สูตร ไข่ทดลองทุกตัวเลี้ยงในกรง metabolic cage ที่มีภาชนะใส่อาหารและน้ำอยู่ด้านหน้าของกรงแยกเฉพาะตัว บันทึกน้ำหนักตัวไข้เมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง ในช่วง 5 วันแรกให้ไข้ทุกตัวได้รับอาหารสูตรเดียวกันหมด เพื่อให้ปรับตัวเข้ากับสภาพกรงก่อนทดลอง (preliminary period) พร้อมทั้งขับถ่ายอาหารเดิมออกให้หมดก่อน หลังจากนั้นเป็นระยะทดลองจริง (collection period) ซึ่งไข้แต่ละตัวจะได้รับอาหารทดลองที่มี aP ระดับต่างกันทั้งไม่เสริมและเสริมไฟเตสตั้งที่กล่าวไว้ข้างต้น อย่างเต็มที่เป็นเวลา 4 วัน ทำการบันทึกปริมาณอาหารที่กินและปริมาณสิ่งขับถ่าย ซึ่งประกอบด้วยมูลและปัสสาวะที่ขับออกมารวมกัน โดยบันทึกทุกวันที่เวลา 9.00, 13.00 และ 17.00 น. ส่วนปริมาณอาหารที่กินในแต่ละวันบันทึกครั้งเดียวที่เวลา 17.00 น. นำสิ่งขับถ่ายที่เก็บรวบรวมได้ไปไว้ในตู้แช่แข็ง เมื่อจะทำการวิเคราะห์ให้นำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง คนให้เข้ากันแล้วชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60° ซ เป็นเวลา 72 ชั่วโมงหรือจนกว่าจะแห้ง บันทึกน้ำหนักหลังอบ ซึ่งจะได้ค่าน้ำหนักในสภาพ air dry จากนั้นนำไปบดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1 มม. โดยแยกบดเป็นรายตัว เพื่อวิเคราะห์หาค่าวัตถุแห้ง (dry matter, DM) รวมทั้งปริมาณของ P และ Ca ในมูล² เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองในรอบแรก (9 วัน) ให้ทำต่อไปอีก 5 รอบ การให้อาหารและเก็บมูลกระทำเช่นเดียวกับรอบแรก เพียงแต่ทำการสลับตัวไข้ โดยให้ไข้แต่ละตัวได้รับอาหารชนิดถัดไปจนในที่สุด ไข่ทุกตัวได้รับอาหารทุกชนิดเหมือนกันทั้งหมด แผนการให้อาหารและวิธีการจัดตัวไข้ในแต่ละรอบแสดงไว้ในตารางภาคผนวก ก.ที่ 1

¹ เอนไซม์ไฟเตสที่ผสมกับสื่อเพื่อให้สะดวกในการใช้ โดยใน 1 ก. ประกอบด้วยเอนไซม์ไฟเตส 300 หน่วย

² มูลที่กล่าวถึงในทุกการทดลอง หมายถึง สิ่งขับถ่ายซึ่งรวมทั้งมูลและปัสสาวะ

ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองแต่ละสูตร แสดงไว้ในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารกึ่งบริสุทธ์ที่ใช้ในการศึกษาการใช้ประโยชน์ได้ของ Ca และ P ในไก่ไข่ (ส่วนที่ 1)

ระดับ aP ในอาหาร (%)	0.35	0.50	0.65
ชนิดวัตถุดิบ :			
กากถั่วเหลือง (44% CP)	36.36	36.36	36.36
แป้งมันสำปะหลัง	39.27	38.95	38.74
น้ำตาลทราย	10.00	10.00	10.00
น้ำมันรำ	4.80	4.80	4.80
เปลือกหอย	8.17	7.60	7.03
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (18% P)	0.70	1.54	2.38
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.20	0.20	0.20
เกลือ	0.25	0.25	0.25
พรีมิกซ์ ^{1/}	0.25	0.25	0.25
รวม	100.00	100.00	100.00
คุณค่าทางโภชนาการโดยการคำนวณ (% air dry basis)			
โปรตีน	16.00	16.00	16.00
ME (กิโลแคลอรี/ก.)	2.90	2.90	2.90
แคลเซียม	3.40	3.40	3.40
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.35	0.50	0.65
ฟอสฟอรัสรวม	0.68	0.83	0.97
ไลซีน	1.17	1.17	1.17
เมทไธโอนีน	0.46	0.46	0.46

^{1/}วิตามินและแร่ธาตุมีหน่วยเป็น ก./กก.อาหาร (ยกเว้นที่ระบุ): วิตามินเอ 1.2 MIU; วิตามินดี₃ 0.24 MIU; วิตามินอี 0.8; วิตามินเค₃ 0.20; วิตามินบี₁ 0.01; วิตามินบี₂ 0.40; วิตามินบี₁₂ 0.001; กรดแพนโททีนิก 0.95; ไนอาซิน 1.50; กรดโฟลิก 0.05; ไบโอดีน 0.009; ซิลิเนียม 0.001; เหล็ก 6; แมงกานีส 6; สังกะสี 4; ทองแดง 0.6; ไอโอดีน 0.035; สารถนอมคุณภาพอาหาร 0.625 และสารปรุงแต่ง 2.5

ส่วนที่ 2 : ศึกษาการย่อยได้ของโภชนะและประสิทธิภาพการเสริมไฟเตสในอาหารไก่ไข่ที่ลดโภชนะบางส่วน ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

ก. การทดลองที่ 1 : ศึกษาการย่อยได้ของโภชนะในอาหาร

ใช้ไก่ไข่พันธุ์ชิวบราวัน อายุ 33 สัปดาห์ ที่มีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกัน จำนวน 4 ตัว มีแผนการทดลองและเลี้ยงดูกระทำเช่นเดียวกับส่วนที่ 1 (การใช้ประโยชน์ได้ของ Ca และ P) ยกเว้นอาหารทดลองใช้สูตรอาหารดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารฐาน (control diet) ซึ่งเป็นสูตรปกติที่ใช้กันทั่วไป มีโปรตีน (CP) 16% และ aP 0.35%

สูตรที่ 2 อาหารฐาน (สูตรที่ 1) ที่มีการลดระดับโภชนะลงตามค่า matrix value แล้วเสริมด้วยไฟเตส (Natumix[®]) ระดับ 300 หน่วย/กก.อาหาร

สูตรที่ 3 อาหารสูตรที่ 2 ไม่เสริมไฟเตส ซึ่งจะมี CP และ aP เท่ากับ 15.7 และ 0.25% ตามลำดับ

สูตรที่ 4 อาหารที่มีการลดโปรตีนลงจากระดับปกติ 1.5% ส่วนโภชนะอื่นเหมือนสูตรที่ 1 เสริมด้วยไฟเตส (Natumix[®]) ระดับ 300 หน่วย/กก.อาหาร

อาหารฐาน (สูตรที่ 1) และอาหารสูตรที่ 2 เมื่อนำค่าประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ได้ของไฟเตส (matrix value) มาคำนวณรวมด้วยจะมีคุณค่าทางโภชนะเท่ากัน กล่าวคือมี CP, aP และ ME เท่ากับ 16.0, 0.35% และ 2.85 กิโลแคลอรี/กรัมเท่ากัน ส่วนสูตรที่ 3 มีคุณค่าทางโภชนะต่ำลงเล็กน้อย คือมี CP และ aP เท่ากับ 15.7 และ 0.25% ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากไม่ได้เสริมไฟเตส จึงไม่มีการนำค่าประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ได้ของไฟเตสมาคำนวณเพิ่มเข้าไป สำหรับอาหารสูตรที่ 4 เมื่อนำค่าประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ได้ของไฟเตสมาคำนวณรวมด้วยจะมีค่า CP และ aP เท่ากับ 14.8 และ 0.45% ส่วนโภชนะอื่นๆ มีปริมาณใกล้เคียงกับสูตรอาหารฐาน (สูตรที่ 1) ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองทั้งสี่สูตร แสดงไว้ในตารางที่ 15

มูลที่เก็บได้ทั้งหมดและตัวอย่างอาหารนำมาวิเคราะห์หาค่าของโภชนะต่างๆ อันได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และ NFE เพื่อใช้คำนวณค่าการย่อยได้ของโภชนะแต่ละชนิดดังกล่าว โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{การย่อยได้ปรากฏของโภชนะ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณโภชนะที่กิน} - \text{ปริมาณโภชนะที่ขับออกในมูล}}{\text{ปริมาณโภชนะที่กิน}} \times 100$$

ตารางที่ 15 ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไก่ไข่ในส่วนที่ 2 (ศึกษาหาค่าการย่อยได้ของ โภชนะและประสิทธิภาพการเสริมไฟเตสในอาหารไก่ไข่ที่ลด โภชนะบางส่วน)

ระดับ CP ในอาหาร (%)	16.0	15.7	14.8 ²	
การเสริมเอนไซม์ไฟเตส ¹	-	+	+	
ชนิดวัตถุดิบ :				
ข้าวโพด	55.54	57.02	57.12	60.65
กากถั่วเหลือง (44% CP)	17.48	17.26	17.26	13.09
ปลาป่น (57% CP)	3.35	2.73	2.73	3.35
น้ำมันรำ	2.04	1.64	1.64	1.16
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (18% P)	0.91	0.45	0.45	0.94
เปลือกหอย	7.77	7.87	7.87	7.78
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.10	0.11	0.11	0.12
แอล-ไลซีน	0.11	0.12	0.12	0.21
วัตถุดิบคงที่ ³	12.50	12.50	12.50	12.50
Natumix [®]	-	0.10	-	0.10
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00
คุณค่าทางโภชนาการโดยการคำนวณ (% air dry basis)				
โปรตีน	16.00	16.00	15.70	14.80
ME (กิโลแคลอรี/ก.)	2.85	2.85	2.85	2.85
เยื่อใย	4.78	4.80	4.80	4.60
ไขมัน	5.95	5.56	5.56	5.21
แคลเซียม	3.40	3.40	3.31	3.40
ฟอสฟอรัสรวม	0.71	0.71	0.61	0.70
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.35	0.35	0.25	0.45
ไฟเตทฟอสฟอรัส	0.36	0.36	0.36	0.25
ไลซีน	0.80	0.80	0.79	0.80
เมทไธโอนีน	0.35	0.35	0.35	0.35
คุณค่าทางโภชนาการโดยการวิเคราะห์ (% air dry basis)				
โปรตีน	16.51	16.48	15.58	15.06
เยื่อใย	4.79	4.83	4.80	4.65
ไขมัน	6.13	5.65	5.59	5.34
แคลเซียม	3.44	3.46	3.33	3.41
ฟอสฟอรัสรวม	0.75	0.78	0.66	0.75

¹ เสริมไฟเตสในรูปของ Natumix[®] ระดับ 0.1% เทียบเท่ากับมีไฟเตส 300 หน่วย/กก.อาหาร และมีค่าประสิทธิภาพการทดแทน โภชนะในอาหาร (Matrix value) ตามที่บ่งไว้ในตารางที่ 13

² ถ้าไม่คิดค่า matrix value อาหารสูตรนี้จะมี CP = 14.5% และ aP = 0.35%

³ ประกอบด้วย (%) : รำข้าว 12.00, เกล็ด 0.25 และไวดามิน-แร่ธาตุพรีเม็กซ์ 0.25

ข. การทดลองที่ 2 : ศึกษาถึงประสิทธิภาพการเสริมไฟเตสในอาหารไก่ไข่ที่ลดโภชนะบางส่วน

ใช้ไก่ไข่และสูตรอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่ใช้ไก่ไข่จำนวนทั้งสิ้น 360 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 6 ซ้ำ (15 ตัว/ซ้ำ) ไก่ทุกตัวเลี้ยงในกรงตับแบบ 3 ชั้น ขังช่องละ 3 ตัว มีที่ให้น้ำแบบหยดอยู่ด้านบนของกรง แต่ละช่องของกรงมีหัวหยด 1 หัว ซึ่งไก่สามารถยืคคอกขึ้นไปแตะ (กิน) น้ำได้อย่างสะดวก ส่วนที่ให้อาหารเป็นแบบรางยาวติดต่อกันตลอดทั้งแถวอยู่ด้านหน้าของกรง ในแต่ละซ้ารางอาหารถูกกั้นแยกออกจากกันด้วยแผงไม้ (กระดาน) เพื่อป้องกันมิให้ไก่ข้ามไปกินอาหารของกลุ่มอื่น ไก่มีน้ำ-อาหารกินตลอดเวลา และได้รับแสงสว่างวันละ 16 ชั่วโมง อาหารทดลองที่ไก่ได้รับเป็นแบบผสมเอง ใช้เวลาทดลองทั้งสิ้น 12 ช่วง (period) ช่วงละ 28 วัน รวม 336 วัน ข้อมูลด้านผลผลิตไข่บันทึกทุกวัน ในขณะที่ปริมาณอาหารที่กินบันทึกเมื่อสิ้นสุดในแต่ละช่วง ใน 3 วันสุดท้ายของแต่ละช่วง (วันที่ 26, 27 และ 28) บันทึกน้ำหนักไข่ ความถ่วงจำเพาะ ความหนาเปลือกไข่ สีไข่แดง และ Haugh unit โดยสุ่มเก็บไข่มาซ้าละ 3 ฟอง สำหรับน้ำหนักตัวไก่ซ้แบบรายตัวเมื่อเริ่มต้นทดลอง และเมื่อครบทุกๆ 3 ช่วง รวมทั้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ส่วนอัตราการตายและอาการผิดปกติบันทึกทุกครั้งที่เกิดขึ้น แล้วรายงานผลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากส่วนที่ 1 (การใช้ประโยชน์ได้ของ Ca และ P) นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบ 3×2 factorial in CRD โดยมีระดับของ aP และการเสริมไฟเตสเป็นปัจจัยหลัก สำหรับส่วนที่ 2 ทั้งสองการทดลอง ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) และหาลำดับความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Analysis System (SAS) ตามคำแนะนำของมนต์ชัย (2537)

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์และฟาร์มสัตว์ปีก ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่