

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 หากการย่อยได้และค่าพลังงานของข้าวโพดหนึ่งปีบแตกโดยวิธี *in vivo digestibility* by difference

สัตว์ทดลอง

ใช้โคนมแห่งลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียนสุขภาพดีอายุ 4-6 ปี น้ำหนัก 470-550 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว กำจัดพยาธิภายในและภายนอกโดยฉีด Ivomex เข้ากล้ามเนื้อและฉีดยาบำรุง AD₃E เรียบร้อยแล้ว โคแต่ละตัวถูกขังเดี่ยวในคอกยื่นโรงของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ ต.ยูหา อ.สันป่าดอง จ.เชียงใหม่ มีรางอาหารและถ้วยน้ำอัตโนมัติอยู่ด้านหน้า มีถาดเก็บมูลอยู่ด้านหลัง เนื่องจากโคนมที่ใช้ทดลองเป็นเพศเมียซึ่งมีช่องขั้วถ่ายมูลและปัสสาวะอยู่ใกล้กัน การเก็บมูลแยกจากปัสสาวะจึงต้องทำโดยใช้กรวยครอบที่ขั้วถ่ายปัสสาวะ โดยมีสายยึดโยงติดกับลำตัวปลายตัวกรวยติดกับสายยางซึ่งนำไปที่ถังเก็บปัสสาวะเพื่อไม่ให้ปัสสาวะปนกับมูล

อาหารทดลอง

อาหารที่นำมาศึกษาการย่อยได้คือ หญ้าธัญที่สับให้มีขนาด 1-2 นิ้ว และข้าวโพดหนึ่งปีบแตกซึ่งได้จากการนำเมล็ดข้าวโพดมาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมานึ่งให้สุกเป็นเวลา 15 นาทีนับจากเห็นไอน้ำพุ่งออกจากฝาปิด จากนั้นนำมาบิบให้แตกด้วยลูกกลิ้ง 2 ลูกที่ตั้งให้มีระยะห่างกัน 1.5 มิลลิเมตร แล้วนำไปตากแดดให้แห้ง ให้โคได้รับอาหารวันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 09.00 น. และ 15.00 น. มีน้ำให้กินตลอดเวลา และมีแร่ธาตุในรูปก้อนให้โคทุกตัวเลียกิน

วิธีการทดลอง

ทำการศึกษการย่อยได้ของข้าวโพดหนึ่งปีบแตกโดยวิธี By difference (Schneider and Flatt, 1975) ซึ่งต้องทำ 2 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาการย่อยได้ของหญ้ารัฐซี่แห้ง

ช่วงปรับตัว (Preliminary period) ใช้เวลา 14 วัน โดยให้โคกินหญ้ารัฐซี่แห้งสับแบบเต็มที่ (*ad libitum*) บันทึกรปริมาณที่โคกินได้ต่อวัน

ช่วงเก็บข้อมูล (Measurement period) ใช้เวลา 7 วัน ให้โคกินหญ้ารัฐซี่แห้งสับโดยปรับปริมาณหญ้าแห้งที่ให้เหลือเพียง 90 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่กินได้เพื่อให้โคกินหญ้าได้หมดพอดี เก็บตัวอย่างหญ้ารัฐซี่แห้งที่ให้ และที่เหลือทุกวันเพื่อนำไปหาวัตถุแห้ง แล้วเก็บมูลที่ขับออกมาตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน คลุกผสมให้เข้ากัน สุ่มตัวอย่าง 10 % ของปริมาณที่ขับออก เก็บสะสมไว้ทุกวันทีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการย่อยได้ของหญ้ารัฐซี่แห้งร่วมกับข้าวโพดหนึ่งปีบแตก

โดยทำการทดลอง 2 ช่วง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่ให้โคกินข้าวโพดหนึ่งปีบแตกวันละ 1 กิโลกรัมต่อตัว เพิ่มจากการให้กินหญ้าแห้งตามปกติ

การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

ในการทดลองแต่ละระยะ ทำการเก็บตัวอย่างอาหารที่ให้และที่เหลือทุกวัน นำไปหาน้ำหนักวัตถุแห้งเพื่อคำนวณหาปริมาณวัตถุแห้งที่กินได้และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Proximate analysis (AOAC., 1995) วิเคราะห์เยื่อใยโดยวิธี Forage fiber analysis (Goering and Van Soest, 1970) วิเคราะห์พลังงาน โดย Bomb calorimeter ทำการเก็บตัวอย่างมูลที่ขับออกมา 10 % สะสมไว้ในตู้แช่แข็งเพื่อรอการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเช่นเดียวกับตัวอย่างอาหาร นำข้อมูลจากการวิเคราะห์มาคำนวณค่าการย่อยได้แบบปรากฏของโภชนะและพลังงาน ดังนี้

- คำนวณการย่อยได้แบบปรากฏของโภชนะแต่ละชนิดจากสมการ

$$\text{Apparent nutrient digestibility (\%)} = \frac{\text{Nutrient consumption (g/d)} - \text{Nutrient in feces (g/d)}}{\text{Nutrient consumption (g/d)}} \times 100$$

- คำนวณค่าโภชนะย่อยได้ทั้งหมด (Total digestible nutrient, TDN) โดยใช้สูตร

$$\text{TDN (\%)} = \text{DCP} + \text{DNDF} + \text{DNFC} + (\text{DEE} \times 2.25)$$

เมื่อ DCP, DNDF, DNFC และ DEE คือ ปริมาณโภชนะ (Crude protein, Neutral detergent fiber, Non fibrous carbohydrate และ Ether extract) ที่ย่อยได้ตามลำดับ

- คำนวณค่าพลังงานในรูปแบบ Digestible Energy (DE) จากค่าพลังงานของอาหาร และมูลที่วัดโดยใช้ bomb calorimeter แล้วนำมาคำนวณโดยใช้สูตร นอกจากนี้ทำการคำนวณค่า Metabolizable (ME) และ Net energy for lactation (NEL) จากค่า DE ที่วัดโดยตรงจากตัวสัตว์โดยใช้สมการของ NRC (2001) คือ

$$\text{ME (Mcal/kgDM)} = -0.45 + (1.01 \times \text{DE})$$

$$\text{NEL (Mcal/kgDM)} = -0.12 + (0.556 \times \text{DE})^*$$

และคำนวณพลังงานในรูปแบบ ME และ NEL จากค่า TDN โดยใช้สมการของ NRC (2001) และสมการที่ดัดแปลงจาก NRC (2001) ดังนี้คือ

$$\text{DE (Mcal/kgDM)} = 0.04409 \times \% \text{TDN}$$

$$\text{ME (Mcal/kgDM)} = -0.45 + (0.04453 \times \% \text{TDN})^*$$

$$\text{NEL (Mcal/kgDM)} = -0.12 + (0.0245 \times \% \text{TDN})$$

หมายเหตุ * คือ สูตรที่ดัดแปลงจาก NRC (2001)

คำนวณค่าการย่อยได้ของโภชนะและพลังงานย่อยได้ของเมล็ดข้าวโพดหนึ่งบิบแตกโดยวิธีหักลบ (by difference) โดยนำค่าโภชนะที่ย่อยได้และพลังงานที่ย่อยได้เนื่องจากหญ้าแห้งร่วมกับข้าวโพดหนึ่งบิบแตก หักลบด้วยค่าโภชนะที่ย่อยได้และพลังงานที่ย่อยได้เนื่องจากหญ้าแห้ง หากรด้วยโภชนะที่กินและพลังงานที่กินเนื่องจากข้าวโพดหนึ่งบิบแตก

การทดลองที่ 2 ผลของการใช้เมล็ดข้าวโพดหนึ่งบิบแตกต่อองค์ประกอบน้ำนมและความสมบูรณ์พันธุ์ของโครีดนม

สัตว์ทดลอง

ใช้โคลูกผสมที่มีสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเซียน 96.87 – 100 เปอร์เซนต์ จำนวน 20 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 450-500 กิโลกรัม อายุประมาณ 3 – 4 ปี เลี้ยงในคอกขังรวม ซึ่งมีที่ลือคอกแบบให้อาหารรายตัว ด้านหน้าเป็นลานให้อาหารและมีอ่างน้ำกลางคอกให้กินแบบอิสระ พื้นคอกเป็นแผ่นซีเมนต์มีรูระบายน้ำเพื่อไม่ให้น้ำขัง แบ่งโคทดลองออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว ให้มีขนาดน้ำหนักตัว ช่วงการให้นม ปริมาณการให้นม พันธุ์โค และอายุ ใกล้เคียงกัน

อาหารทดลอง

ให้โคกลุ่มที่ 1 ได้รับความสำเร็จรูปชนิดเม็ดทางการค้าที่มีโปรตีน 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มที่ 2 ให้อาหารสำเร็จรูปครั้งหนึ่งอีกครั้งหนึ่งเป็นอาหารชั้นผสมเองที่มีเมล็ดข้าวโพดหนึ่งปีบแตกเป็นแหล่งพลังงาน และถั่วเหลืองไขมันเต็มเป็นแหล่งโปรตีน เสริมด้วยแร่ธาตุและวิตามิน ดังนี้

กลุ่ม 1 ให้อาหารสำเร็จรูปอย่างเดียว

กลุ่ม 2 ให้อาหารสำเร็จรูปและอาหารชั้นผสมเองอย่างละครึ่ง

อาหารหยาบที่ใช้เป็นไปตามฤดูกาล คือ หนักร้อนให้หญ้าแห้งแห้งผสมกากน้ำตาล 5 % หนาฝนให้หญ้าแห้งสด ส่วนหนักร้อนให้ข้าวโพดหมักผสมหญ้าแห้ง ในอัตรา 6 : 1 ส่วนของน้ำหนักสด

ทำการคำนวณสัดส่วนของอาหารหยาบและอาหารชั้นที่ให้โคแต่ละตัวด้วยโปรแกรม MRATION (สมคิด, 2549) โดยใช้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวในแต่ละเดือน และปริมาณผลผลิตน้ำนมเฉลี่ยต่อสัปดาห์เป็นตัวกำหนดส่วนประกอบของอาหารชั้นแต่ละชนิดและปริมาณการให้อาหารจากการคำนวณดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตาราง 3.1 ส่วนประกอบของอาหารชั้น 2 สูตร ที่ให้โคในแต่ละวัน

Table 3.1 Composition of 2 concentrate diets and daily amount offered per cow

Ingredient (%)	T ₁	T ₂
Concentrate (20% CP)	100	50.0
Steamed cracked corn		24.5
Full fat soybean		24.5
Mineral premix ^{1/}		0.95
Vitamin premix ^{2/}		0.05

^{1/}ใน 1 กก. ประกอบด้วย : Ca₃(PO₄)₂ = 0.49 g, CaCO₃ = 0.18 g, MgO = 0.03 g, NaCl = 0.23 g, S = 0.01 g, MgSO₄ = 0.03 g,

ZnSO₄ = 0.47 mg, CuSO₄·5H₂O = 0.18 mg, MnSO₄ = 0.10 mg, CoSO₄ = 0.002 mg,

Na₂SeO₃·5H₂O = 0.002 mg, KIO₃ = 0.009 mg.

^{2/}ใน 1 กก. ประกอบด้วย : vit A = 15,000,000 IU, vit D₃ = 3,000,000 IU, vit E = 11,000 IU, vit K₃ = 0.50 g, vit B₁ = 1.80 g,

vit B₁ = 1.80 g, vit B₂ = 3.00 g, vit B₆ = 3.50 g, vit B₁₂ = 0.01 g, niacin = 25 g, pantothenic acid = 10 g,

potassium = 45 g, chloride = 210 g, sodium = 110 g, preservatives = 5 g, carrier = 1 g.

แผนการทดลอง

เนื่องจากโคทั้ง 20 ตัวเข้าสู่การทดลองไม่พร้อมกัน เพราะต้องรอให้โคคลอด หลังจากนั้น 7 วันจึงนำเข้าสู่การทดลอง และการทดลองจะสิ้นสุดเมื่อโคตัวนั้นได้รับการตรวจท้องว่าผสมติด โดยวิธีคลำคลุกหลังจากผสมไปแล้ว 90 วัน ดังนั้นข้อมูลจึงเป็นแบบ non orthogonal data ที่มี การจำแนก 2 ทางขึ้นไป ทำให้วิเคราะห์ด้วยวิธีปกติไม่ได้ เพราะไม่สามารถแยกอิทธิพลของปัจจัยออกจากกันได้โดยเด็ดขาด จึงใช้วิธีวิเคราะห์และประเมินผลแบบ Least-square method (เจริญ, 2549) โดยปัจจัยหลัก คือ อาหารที่ให้ และปัจจัยร่วม คือ ระดับสายเลือด น้ำหนัก คะแนนร่างกาย ช่วงการให้นม และวัดตัวแปรตามเป็นค่าสังเกต คือ องค์ประกอบน้ำนม ปริมาณน้ำนม ความเข้มข้นของยูเรียในน้ำนม จำนวนวันเมื่อเป็นสัตว์ครั้งแรกหลังคลอด ช่วงห่างของการเป็นสัตว์ โดยมีหุ่นการวิเคราะห์ (model) คือ

$$Y_{ijklmn} = \mu + T_i + B_j + B_1(W_k - \mu_w) + BCS_1 + L_m + \epsilon_{ijklmn}$$

เมื่อ

- μ = ค่าเฉลี่ยของลักษณะที่ศึกษา
- Y_{ijklmn} = ค่าสังเกตลักษณะที่ศึกษา
- T_i = อิทธิพลเนื่องจากทรินเมนต์ที่มี 2 ระดับ (i = 1 ถึง 2)
- B_j = อิทธิพลเนื่องจากระดับเลือดที่มี 2 ระดับ (j = 1 ถึง 2)
- W_k = อิทธิพลเนื่องจากน้ำหนักตัว
- BCS_1 = อิทธิพลเนื่องจากคะแนนร่างกายที่มี 5 ระดับ (l = 1 ถึง 5)
- L_m = อิทธิพลเนื่องจากแลคเตชันมี 4 ระดับ (m = 1 ถึง 4)
- ϵ_{ijklmn} = อิทธิพลความคลาดเคลื่อนอื่นๆที่สัตว์ได้รับซึ่งเป็นไปโดยสุ่ม

หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ของตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กับการผสมติดของโคนม ได้แก่ การผสมครั้งแรกหลังคลอด ระยะห่างของการเป็นสัตว์ ปริมาณอาหารโดยรวมที่โคได้รับ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่โคได้รับ ปริมาณโปรตีนที่โคได้รับ ปริมาณยูเรียที่โคได้รับ ความเข้มข้นของยูเรียในน้ำนม (MUN) ค่าคะแนนร่างกายของโค และน้ำหนักโค

วิธีการทดลอง

ให้อาหารตามแผนการทดลอง แบ่งเป็นเวลา 4 เวลา คือ 07.00, 10.30, 12.30, 18.30 น. โดยให้อาหารขึ้นก่อนแล้วตามด้วยอาหารหยาบ ริดนมด้วยเครื่องรีดอัตโนมัติวันละ 2 เวลา คือ 05.30 และ 15.30 น. ทำการทดลองหลังจากโคคลอด 7 วัน แล้วให้อาหารตามแผนการทดลองในวันถัดไป โดย 14 วันแรกเป็นช่วงปรับให้โคคุ้นเคยกับอาหารแล้วบันทึกผลการทดลองทุกวันจนกว่าโคจะได้รับการตรวจว่าผสมติด

การเก็บข้อมูล

ในระหว่างทำการทดลองจะบันทึกปริมาณน้ำนม ปริมาณอาหารหยาบและอาหารข้นที่กินได้ ช่วงเวลาเป็นสัปดาห์ วันที่กลับสัปดาห์ วันที่ผสมติด น้ำหนักตัว ค่าคะแนนร่างกาย (body condition score) ครั้งที่ให้นม (lactation) ระดับสายเลือด อายุการคลอด โคจะได้รับการผสมครั้งแรกหลังคลอดอย่างน้อย 60 วัน โดยใช้วิธีการผสมเทียม สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมก่อนทดลองและหลังผสมเทียมรวมทั้งวัตถุดิบที่เสริมแต่ละชนิดหลังจากผสมไปแล้ว 4 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารที่ใช้แยกเป็นวัตถุดิบรายตัว ได้แก่ อาหารหยาบ ข้าวโพดนึ่งบิบแตก ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และอาหารข้นโปรตีน 20% เก็บสะสมตัวอย่างโดยวิธีแช่แข็งไว้รอการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Proximate analysis (AOAC., 1995) Forage fiber analysis (Goering and Van Soest, 1970) และวิเคราะห์หายูเรียในอาหารข้น (บุญล้อมและบุญเสริม, 2525) สำหรับน้ำนมทำการสุ่มตัวอย่าง 3 วันติดต่อกัน ทั้งในช่วงเช้าและเย็นในอัตรา 1% ของปริมาณน้ำนม ใส่ sodium azide เพื่อรักษาสภาพน้ำนม เก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -20 °C วิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำนมโดยเครื่อง Milkoscan และหายูเรียในน้ำนมโดยใช้วิธี Enzymatic method (Patton and Crouch, 1977)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้วิธีวิเคราะห์ค่า Least-squares mean และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ย และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

สถานที่ทำการวิจัย

- ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการและคอกทดลอง ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ ต.ยุหว่า อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม เกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตกาฬสินธุ์

ระยะเวลาทำการวิจัย

ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย 16 เดือน