บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1.1 วิเคราะห์ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน อินทรียวัตถุ และเถ้า โดยวิธี Proximate analysis (A.O.A.C, 1984 อ้างโดย บุญล้อม และ บุญเสริม, 2525 และ บุญล้อม และ สมคิด, 2539b)

1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างของพืช โดยวิธี Detergent method ของ Goering and Van Soest (1970 อ้างโดย บุญล้อม และ บุญเสริม, 2525 และ บุญล้อม และ สมคิด, 2539b)

1.3 การวิเคราะห์พลังงานในอาหารและมูล โดยใช้ Bomb Calorimeter

2. การหาการย่อยได้ในตัวสัตว์ (*in vivo* digestibility)

2.1 **สัตว์ทดลอง** ประกอบด้วย โคนมสาวลูกผสมพื้นเมือง x พันธุ์ Holstein Friesian เพศเมียจำนวน 4 ตัว และแกะลูกผสมพื้นเมือง x Merino เพศผู้ 6 ตัว นำสัตว์มาทำความสะอาดในกรณีของแกะทำการตัดขนด้วย ทำการถ่ายพยาธิก่อนนำขึ้นกรง โดยโคใช้ยาถ่ายพยาธิ Adamas® 35 มล. ต่อตัว ส่วนแกะใช้ยาถ่ายพยาธิ Ivomex® 1 มล. ต่อตัว ชั่งน้ำหนักติดต่อกัน 3 วันเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลองในกรณีของแกะ แต่ของโคชั่งเพียงครั้งละ 1 วัน เพราะค่อนข้างยุ่งยากมาก การชั่งน้ำหนักสัตว์ทำก่อนให้อาหารเช้า โดยทำการอดน้ำและอาหารอย่างน้อย 6 ชั่วโมง

เนื่องจากโคนมที่ใช้ทดลองเป็นเพศเมีย ซึ่งมีช่องขับถ่ายมูลและปัสสาวะอยู่ใกล้กัน การเก็บมูลแยกจากปัสสาวะจึงต้องทำโดยใช้กรวยครอบที่ขับถ่ายปัสสาวะ โดยมีสายยึดโยงติดกับลำตัว ปลายตัวกรวยติดกับสายยางซึ่งนำไปที่ถังเก็บปัสสาวะ ดังแสดงในภาพที่ 4 ภายในถังใส่กรดซัลฟูริก 18 N ประมาณ 150 และ 10 มล. ในโคและแกะ ตามลำดับ เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงอันเนื่องจากการทำปฏิกิริยาของจุลินทรีย์

2.2 **คอกทดลอง** (metabolism cage) กรงแกะเป็นกรงขังเดี่ยวยกพื้นขนาด 80 x 40 x 75 ซม. มีรางอาหารและมีก๊อกน้ำอยู่ด้านหน้าเพื่อให้แกะกินน้ำได้ตลอดเวลา มีที่รองรับมูลและปัสสาวะแยกกันอยู่ใต้กรง ส่วนของโคจะเป็นคอกแบบยืนโรงขังเดี่ยว ขนาด 170 x 120 ซม. มีรางอาหารและมีก๊อกน้ำอยู่ด้านหน้าเพื่อให้โคกินน้ำได้ตลอดเวลาเช่นเดียวกับแกะ มีถาดรองรับมูลอยู่ด้านล่างต่ำกว่าพื้นคอกเล็กน้อย

ภาพที่ 4. โคทดลองและอุปกรณ์ในการเก็บปัสสาวะ ; Dairy cow and urine collector.

ภาพที่ 5. แกะทดลองและกรงทดลอง ; Sheep and metabolism cage

2.3 ตัวอย่างอาหารที่ใช้ทดลอง คือ ฟางข้าวเหนียว เป็นฟางข้าวที่ปลูกในปีพ.ศ. 2540 แหล่งที่มาของฟางข้าวคือ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ โดยให้ร่วมกับอาหารข้นที่ระดับต่างๆ ดังนี้

สูตร 1 ประกอบด้วยฟางข้าวกับอาหารข้นในอัตราส่วน 70 : 30 มีโปรตีน 10%

สูตร 2 ประกอบด้วยฟางข้าวกับอาหารข้นในอัตราส่วน 55 : 45 มีโปรตีน 13%

สูตร 3 ประกอบด้วยฟางข้าวกับอาหารข้นในอัตราส่วน 40 : 60 มีโปรตีน 16%

อาหารข้นที่ใช้ประกอบด้วยกากถั่วเหลืองและข้าวโพดในสัดส่วน 1:1.25 ปรับสัดส่วนให้อาหารทั้งสูตรมีโปรตีนประมาณ 10–16 % ทั้งนี้เพื่อให้จุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนได้รับโภชนะเพียงพอกับการเจริญเติบโตและการย่อยอาหาร

ฟางข้าวที่ใช้ทดลองได้หั่นให้มีขนาด 1-2 นิ้ว และให้ไปพร้อมกับอาหารข้น โดยโรยอาหารข้นลงบนอาหารหยาบ เพื่อให้ได้รับอาหารทั้ง 2 ชนิดไปพร้อม ๆ กัน pH ในกระเพาะรูเมนจะได้มีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด ให้อาหารวันละ 2 ครั้งคือ เวลา 8.00 น. และ 16.00 น. ส่วนน้ำมีให้กินเพียงพอตลอดเวลา สัตว์ทดลองทุกตัวได้รับแร่ธาตุสูตรเดียวกัน โดยโคได้รับ 80 ก.ต่อวัน และแกะได้รับ 10 ก.ต่อวัน

แร่ธาตุใช้ในการทดลองครั้งนี้ 1 กก.ประกอบด้วย

กระดูกป่น	750	ก.	$CuSO_4$	3.7	ก.
NaCl	160	ก.	MnO	0.7	ก.
MgO	45	ก.	$CoCl_2 \cdot H_2O$	0.04	ก.
S	35	ก.	KI	0.02	ก.
ZnO	5.5	ก.	Na_2Se	0.04	ก.

2.4 อุปกรณ์อื่น ๆ

2.4.1 เครื่องชั่ง

เครื่องชั่งที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มี 4 ชนิดคือ

- เครื่องชั่งอาหารเป็นเครื่องชั่งแบบจาน ชั่งสูงสุด 7 กก. ชั่งละเอียด 20 ก.
- เครื่องชั่งมูล เป็นเครื่องชั่งแบบจาน ชั่งสูงสุด 15 กก. ชั่งละเอียด 100 ก.
- เครื่องชั่งน้ำหนักสัตว์ (สำหรับโค) ชั่งสูงสุด 1000 กก. ชั่งละเอียด 200 ก.
- เครื่องชั่งน้ำหนักสัตว์(สำหรับแกะ) ชั่งสูงสุด 200 กก. ชั่งละเอียด 100 ก.

2.4.1 เครื่องหั่นพืช เป็นเครื่องหั่นไฟฟ้าใช้มอเตอร์2แรงม้าหั่นฟางข้าวให้มีขนาดประมาณ 1-2 นิ้ว

2.5 แผนการทดลอง

2.5.1 แผนการทดลองสำหรับโคทดลอง 4 ตัว ที่ต้องได้รับฟางข้าว 3 ระดับ ในช่วงการทดลอง 3 period

	ตัวที่1	ตัวที่2	ตัวที่3	ตัวที่4
Period 1	70%	55%	40%	70%
Period 2	40%	70%	55%	55%
Period 3	55%	40%	70%	40%

2.5.2 แผนการทดลองสำหรับแกะทดลอง 6 ตัว ที่ต้องได้รับฟางข้าว 3 ระดับ ในช่วงการทดลอง 3 period วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Latin square design โดยทดลอง 2 square พร้อมกัน คือมีอาหาร 3 สูตร และมีจำนวนซ้ำ 6 ซ้ำ แกะแต่ละตัวใน 1 period นับเป็น 1 experimental unit

	ตัวที่1	ตัวที่2	ตัวที่3	ตัวที่4	ตัวที่5	ตัวที่6
Period 1	70%	55%	40%	40%	70%	55%
Period 2	40%	70%	55%	55%	40%	70%
Period 3	55%	40%	70%	70%	55%	40%

2.6 ระยะเวลาในการทดลอง แต่ละช่วงการทดลองแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ

2.6.1 Preliminary period ใช้เวลา 21 วัน โดย 14 วันแรกให้สัตว์กินอาหารอย่างเต็มที่เพื่อวัดปริมาณอาหารที่สัตว์กินได้ หลังจากนั้นอีก 7 วันให้สัตว์กินอาหารลดลงเหลือ 90% ของปริมาณอาหารที่สัตว์กินได้ เพื่อให้สัตว์กินอาหารได้หมดและป้องกันการเลือกกินอาหารของสัตว์

2.6.2 Collection period เป็นช่วงที่เก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่กินและปริมาณมูลที่ขับออกมา และเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะ ใช้เวลา 5 วัน

2.7 การบันทึกข้อมูล

- บันทึกน้ำหนักตัวสัตว์เมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลอง
- บันทึกปริมาณอาหารที่ให้และที่เหลือในแต่ละวัน ๆ ละ 2 ครั้ง
- บันทึกปริมาณมูลและปัสสาวะที่ขับออกมาทั้งหมดในแต่ละวัน ๆ ละ 2 ครั้ง

2.8 การเก็บมูลและปัสสาวะ

เก็บมูลและปัสสาวะวันละ 2 ครั้ง ก่อนให้อาหารเช้าและเย็น คลุกเคล้าให้เข้ากันก่อนแล้วสุ่มเก็บตัวอย่าง ในกรณีของแกะเก็บ 10 % ของปริมาณทั้งหมด แต่ของโคจะเก็บเพียง 5% เก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะของสัตว์แต่ละตัวสะสมไว้ในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ -20 °C ทุกวันจนสิ้นสุดการทดลอง

2.9 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในมูล

นำตัวอย่างมูลที่เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง มาทิ้งไว้ให้ละลาย นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 °C จนแห้งในสภาพ air dry หลังจากนั้นนำมาบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มม. แล้วนำมาวิเคราะห์วัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีน และเถ้า โดยวิธี Proximate analysis วิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างของพืช โดยวิธี Detergent method ของ Goering and Van Soest (1970) และวิเคราะห์พลังงานในอาหารและมูล โดยใช้ Bomb Calorimeter

2.10 คำนวณค่าการย่อยได้ของโภชนะและพลังงาน

- คำนวณการย่อยได้ของโภชนะแต่ละชนิดจากสมการ

$$\% \text{ Nutrient digestibility} = \frac{\text{Nutrient consumed (g)} - \text{Nutrient in feces (g)}}{\text{Nutrient consumed (g)}} \times 100$$

- ประเมินหาค่าการย่อยได้ของโภชนะและพลังงานย่อยได้ในฟางข้าวโดยวิธี regression method ด้วยสมการ

$$Y = a + bX$$

เมื่อ Y = การย่อยได้ของโภชนะหรือพลังงานย่อยได้ของฟางข้าว

X = สัดส่วนของโภชนะนั้นที่มาจากฟางข้าวในอาหารแต่ละสูตร

- คำนวณค่าโภชนะย่อยได้ทั้งหมด (Total digestible nutrient, TDN) โดยใช้สูตร

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

เมื่อ DCP, DNDF, DNFC และ DEE คือ ปริมาณโภชนะ (crude protein, neutral detergent fibre, nonfibre carbohydrate และ ether extract) ที่ย่อยได้ตามลำดับ (ก./100 ก.)

สำหรับค่าพลังงานย่อยได้ (DE) พลังงานเมแทบอไลซ์ (ME) และพลังงานสุทธิ (NEL) ได้คำนวณจาก TDN โดยใช้สูตรของ NRC (1988) และสูตรที่ดัดแปลงจาก NRC (1988) ดังนี้คือ

DE (Mcal/kg) = 0.04409 x TDN (%)

ME (Mcal/kg) = -0.45 + 0.4453 x TDN★

NEL(Mcal /kg) = 0.0245 TDN (%) - 0.12

หรือคำนวณจาก DE โดยใช้สูตร

ME (Mcal/kg) = 0.82 x DE

NEL (Mcal /kg) = 0.556 x DE - 0.12★

หมายเหตุ : ★ คือสูตรที่ดัดแปลงจาก NRC (1988)

3. การหาการย่อยได้โดยใช้ถุงไนลอน (*in sacco*)

3.1 เครื่องมือ

- ถุงไนลอน ที่มีขนาดช่อง (pore size) 20–40 µm มีขนาด 70 x 150 มม. โดยที่ก่อนทดลองนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 °C จนน้ำหนักคงที่
- สายยางพลาสติกเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 มม. ยาว 30 ซม. ที่เจาะช่องไว้เป็นระยะ ๆ ประมาณ 9 ช่อง
- เชือกไนลอนและยางรัด
- เครื่องชั่ง
- ตู้อบและโถดูดความชื้น
- เครื่องซักผ้า

ภาพที่ 6. โคเจาะกระเพาะและถุงไนลอนที่ใช้วัดการย่อยได้

Fistulated cow and nylon bags to measure degradation

ภาพที่ 7. การใส่ถุงไนลอนลงไปในกระเพาะรูเมน ; Incubation of nylon bags in the rumen

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

3.2 สัตว์ทดลอง

โคนมลูกผสมพื้นเมือง x Holstein Friesian อายุ 3-4 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 400 – 470 กก. จำนวน 4 ตัว ที่ได้เจาะกระเพาะหมักไว้แล้ว (fistulated cow) โดยตัว cannula และฝาสำหรับปิด - เปิด ทำด้วยซิลิโคน (silicone)

อาหารที่ใช้เลี้ยงโคทดลองมีทั้งอาหารหยาบ คือ ฟางข้าว ที่หั่นให้มีขนาดประมาณ 1-2 นิ้ว และอาหารข้นโดยใช้สัดส่วนเดียวกับที่ทดลองหาการย่อยได้แบบ *in vivo* คือมีสัดส่วนของฟางข้าวต่ออาหารข้นเท่ากับ 70:30, 55:45 และ 60:40 อาหารข้นที่ใช้รวมทั้งแร่ธาตุและวิธีการให้อาหารเป็นเช่นเดียวกับการทดลองแบบ *in vivo*

3.3 ตัวอย่างอาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ทดลองคือ ฟางข้าว นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 10–12 ชั่วโมง แล้วบดผ่านตะแกรงขนาด 2 มม.

3.4 วิธีการ

3.4.1 บดตัวอย่างอาหารผ่านตะแกรงขนาด 2.0 มม.

3.4.2 ชั่งน้ำหนักถุง (W_1)

3.4.3 ชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 3 ก. (W_2) ใส่ลงในถุงไนลอน

3.4.4 ร้อยถุงไนลอนติดกับสายยางพลาสติก

3.4.5 นำถุงไนลอนไปแช่ในกระเพาะรูเมน ที่ช่วงเวลาต่าง ๆ คือ 4, 8, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

3.4.6 หลังจากครบกำหนดเวลาแล้ว นำถุงไนลอนไปล้างในน้ำสะอาดเป็นเวลา 15 นาที

3.4.7 เตรียมถุงไนลอนอีก 1 ชุด (2 ซ้ำ) แช่น้ำอุ่นที่ 39 °C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างและอบพร้อมถุงอื่น ๆ เพื่อหาค่า washing loss

3.4.8 อบถุงไนลอนในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4.9 ชั่งน้ำหนักถุงและตัวอย่างอาหารที่เหลือ (W_3)

คำนวณเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งที่หายไป (% Dry matter disappearance)

$$\% \text{ DM disappearance} = \frac{W_1 + W_2 - W_3}{W_2} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักถุง

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างอาหารเริ่มต้น

W_3 = น้ำหนักถุง + ตัวอย่างอาหารหลังอบ

นำค่า % DM disappearance ที่ชั่วโมงต่าง ๆ ไปเข้าโปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY เพื่อคำนวณหาค่าการย่อยสลาย โดยใช้สมการ

$$P = A + B(1 - e^{-ct})$$

เมื่อ P = โภชนะที่หายไปที่เวลา t (degradation at time t)

A = ส่วนที่ละลายได้ (immediately soluble material)

B = ส่วนที่ไม่ละลายแต่สามารถหมักย่อยได้ (insoluble fermentable material)

c = อัตราการย่อยสลาย (degradation rate)

ค่าการย่อยสลายที่ได้นำมาทำนายปริมาณวัตถุแห้งที่กินได้ (DMI) และปริมาณวัตถุแห้งย่อยได้ที่สัตว์ได้รับ (DDMI) โดยใช้สมการที่เสนอโดย Shem *et al.* (1995) ดังนี้

$$\text{DMI (kg/day)} = -8.286 + 0.226A + 0.102B + 17.696c$$

$$\text{DDMI (kg/day)} = -7.609 + 0.219A + 0.080B + 24.191c$$

4. วิธีการหาการย่อยได้แบบ *in vitro* โดยวิธี Gas production

4.1 เตรียมตัวอย่างอาหาร

ชั่งตัวอย่างอาหารที่บดผ่านตะแกรง ขนาด 1 มม. ประมาณ 500 มก. ลงในหลอดแก้วขนาดใหญ่ ลักษณะคล้ายเข็มฉีดยา (syringe) ที่มีขีดบอกปริมาตรอยู่ข้างหลอด ปลายหลอดไม่มีเข็ม แต่มีสายยางสั้น ๆ พร้อมคลิปปิดเปิด ดังในภาพที่ 8 ใช้วาสลีนทาแกน (piston) ให้ทั่ว แล้วสอดเข้าในหลอดแก้ว อุ่นหลอดที่ได้ใส่ตัวอย่างไว้แล้วในตู้อบที่อุณหภูมิ 39 °C จนกว่าจะนำมาใช้

เตรียมหลอด syringe หลอดที่ 1-3 สำหรับทำ blank

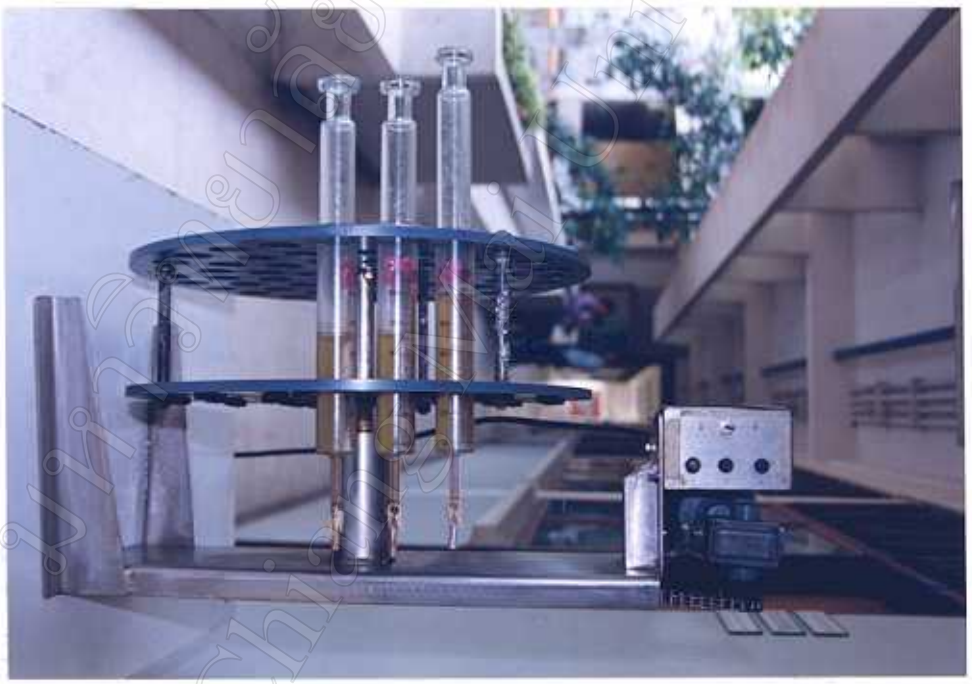
หลอด syringe หลอดที่ 4-6 สำหรับตัวอย่างอาหารหยาบมาตรฐาน

หลอด syringe หลอดที่ 7-9 สำหรับตัวอย่างอาหารข้นมาตรฐาน

หลอดที่เหลือเป็นของตัวอย่างที่ต้องการศึกษาโดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

หลอด syringe 3 หลอดสุดท้าย สำหรับทำ blank

หมายเหตุ : ตัวอย่างมาตราฐานของอาหารหยาบและอาหารข้นได้มาจากมหาวิทยาลัย Hohenheim ประเทศเยอรมัน



ภาพที่ 8. หลอดที่ใช้ในการวัดปริมาณแกส ; Syringes for measure gas production

ภาพที่ 9. การเก็บน้ำจากกระเพาะรูเมน ; Collection of rumen fluid

ภาพที่ 10.สารละลายที่ใช้ในการบ่มตัวอย่างอาหาร ; Solution for the incubation of samples

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

4.2 การเตรียม rumen liquor buffer

	ปริมาตร (มล.) ต่อ 1 หลอด
1. น้ำ	14
2. Buffer solution	10
3. Macro mineral solution	5
4. Resazurine solution	0.025
5. Micro mineral solution	0.0025
6. Reduction solution	1
7. Rumen fluid	10

ผสมสารละลายหมายเลข 1–5 ก่อนที่จะเก็บน้ำจากรูเมน แช่สารละลายในอ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิที่ 39 °C คนด้วย magnetic stirror พร้อมทั้งจุ่มสายยางที่มีแกสคาร์บอนไดออกไซด์ลงในสารละลายตลอดเวลา เพื่อรักษาสภาพไร้ออกซิเจน (anaerobic) จากนั้นเติม reduction solution ลงไป สีของสารละลายจะค่อย ๆ เปลี่ยนจากสีฟ้า เป็นชมพู และไม่มีสี ตามลำดับ แล้วจึงค่อยเติม rumen liquor ที่ได้กรองเอาอาหารหยาบออกแล้วลงไป

4.3 การเก็บน้ำจากรูเมน และการ incubated กับตัวอย่าง

เก็บน้ำจากรูเมนก่อนให้สัตว์กินอาหารเช้า ขวดที่ใช้เก็บควรมีขนาด 1 ลิตร ขวดที่นำไปเก็บน้ำจากกระเพาะรูเมนต้องเป็นสภาพไร้ออกซิเจน โดยใช้แกสคาร์บอนไดออกไซด์เป่าลงไปและลวกขวดด้วยน้ำอุ่น ปั๊มน้ำจากกระเพาะรูเมนหรืออาจใช้วิธีบีบผ่านผ้ากรองตาห่างลงไปในขวดเก็บน้ำจากกระเพาะรูเมนให้เต็มขวดเพื่อไม่ให้มีออกซิเจน ปิดฝาอย่าให้ออกซิเจนเข้า ถ้าสัตว์เจาะกระเพาะอยู่ห่างจากห้องปฏิบัติการมากควรใช้กระติก เพื่อช่วยรักษาอุณหภูมิ เมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการให้แช่ในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 39 °C ผ่านแกสคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อไล่ออกซิเจนออกตลอดเวลา ทำการตรวจและผสมกับสารละลายในข้อ 4.2 ตามปริมาณที่ต้องการ จากนั้นใช้ปิเปตอัตโนมัติปั๊มสารละลาย rumen liquor buffer จำนวน 30 ml ลงในหลอด (syringe) ที่มีตัวอย่าง 200 มก.นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 39 °C อ่านค่าแกสที่เกิดขึ้นในช่วงเวลา 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง บันทึกปริมาณแกสไว้ ถ้ามีแกสเกิดขึ้นมากที่ระยะ 6 หรือ 8 ชั่วโมง ให้ทำการไล่ออกโดยดันแกนหลอดกลับมาที่ปริมาตร 30 มล. ทำเครื่องหมาย ↓ ไว้ในตารางข้อมูล เพื่อให้ทราบว่าได้ทำการปรับปริมาตรแล้ว อ่านค่าแกสเป็นระยะ ๆ

คำนวณค่าแกสสุทธิ (net gas production) ที่ 24 ชั่วโมง โดยนำค่าแกสที่เกิดขึ้นในหลอด blank (GP_0) ซึ่งปกติจะได้ประมาณ 6–12 มล./24 ชั่วโมง ไปหักออกจากค่าแกสของตัวอย่างมาตรฐาน และตัวอย่างที่ต้องการศึกษาที่ได้ปรับให้เท่ากับ 200 มก.พอดีจะได้ค่าสุทธิ (GP) ดังในสมการ

$$GP\ (ml/200\ mgDM,\ 24\ h) = \frac{(V_{24} - V_0 - GP_0)}{W} \times 200$$

เมื่อ V_0 = ปริมาตรส่วนผสมทั้งหมดที่อ่านได้ก่อน incubate

V_{24} = ปริมาณแกสเมื่อ incubate ได้ 24 ชั่วโมง

GP_0 = ค่าเฉลี่ยของแกสที่เกิดในหลอด blank ที่ 24 ชั่วโมง

W = น้ำหนักตัวอย่าง (มก.วัตถุแห้ง)

สำหรับค่าแกสที่อ่านเป็นระยะๆ ที่ชั่วโมงต่างๆ นำไปเขียนกราฟ และเข้าสมการเพื่อคำนวณอัตราการเกิดแกส โดยใช้สมการในทำนองเดียวกับ *in sacco* คือ

$$P = A + B\ (1 - e^{-ct})$$

เมื่อ P = ปริมาตรแกสที่เกิดขึ้นที่เวลา t (gas producton at time t)

A = ปริมาตรเริ่มต้น (initial gas volume)

B = ปริมาตรแกสสูงสุด (potential gas production)

c = อัตราการเกิดแกส (gas production rate)

ค่าการย่อยสลายจากปริมาณแกสที่เกิดขึ้นนำมาทำนายปริมาณวัตถุแห้งที่กินได้ (DMI) และปริมาณวัตถุแห้งย่อยได้ที่สัตว์ได้รับ (DDMI) โดยใช้สมการ Bluemmel and Orskov (1993) ดังนี้

DMI (kg/day) = 1.529 + 0.455a + 0.0324b

DDMI (kg/day) = -0.933 + 0.301a + 0.0496b

ชั่งตัวอย่างอีกหนึ่งชุดน้ำหนักประมาณ 500 มก. นำไป incubate กับ rumen liquor buffer จำนวน 40 มล. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างอาหารที่เหลือมาย่อยด้วย neutral detergent solution เพื่อย่อยจุลินทรีย์ออกไป ปริมาณที่เหลือเมื่อนำมาอบแล้วจะเป็นค่าวัตถุแห้งที่ย่อยไม่ได้จริง (true undegraded dry matter) หลังจากนั้นนำไปหาเถ้าโดยเผาที่ 500 °C ปริมาณที่เหลือจะเป็นค่า true undegraded organic matter ค่าเหล่านี้เมื่อนำไปหักลบจากค่าเดิมจะเป็นค่าโภชนะที่ย่อยได้จริง ซึ่งสามารถนำมาคำนวณหาค่า PF (Partitioning factor) โดยใช้สูตร

$$PF_{DM} = \frac{\text{True digestible dry matter (TDDM, g)}}{\text{Volume of gas (ml)}}$$

$$PF_{OM} = \frac{\text{True digestible organic matter (TDOM, g)}}{\text{Volume of gas (ml)}}$$

5. การคำนวณค่า TDN โดยอาศัย Theoretical based model

นอกจากจะคำนวณค่า TDN จากการย่อยได้แล้วยังได้คำนวณหาค่า TDN โดยอาศัย Theoretical based model (Weiss *et al.*, 1992 อ้างโดย บุญล้อม และ สมคิด, 2539a) ด้วย โดยใช้สมการดังนี้

$$TDN (\%) = E_{CP} + E_{FA} + E_{NDF} + E_{NFC} - 7$$

เมื่อ E_{CP} = พลังงานจากโปรตีน = $e^{-1.2\,ADIN} \times CP$

E_{FA} = พลังงานจากไขมัน = [1.03 - (0.03 FA)] 2.25 FA

E_{NDF} = พลังงานจาก NDF = $0.75 (NDF_N) - Lignin [1 - Lignin / NDF_N^{0.667}]$

E_{NFC} = พลังงานจาก NFC = 0.98 [100 - NDF_N - CP -Ash - (FA + 1)]

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์วาเรียนซ์ (Analysis of Variance) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) ในกรณีของโค ส่วนในแกะใช้แผนการทดลองแบบ 3x3 Latin square design โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS นอกจากนี้ใช้สมการ regression ในการทำนายค่าการย่อยได้ของโภชนะ ค่า TDN และ DE ในฟางข้าว และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างโคกับแกะโดยวิธี t - test

สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. คอกสัตว์ทดลองภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาทำการทดลอง

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย เมษายน 2541 - ธันวาคม 2541

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University