

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การศึกษาผลของระดับการใช้ใบปาล์มน้ำมันหมักร่วมกับหญ้ากินนีสีม่วงที่มีผลต่อปริมาณน้ำนม องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

3.1.1 สัตว์ทดลอง: ใช้โครีดนมลูกผสมโฮลสไตน์เฟรียเชียน 86.50 เปอร์เซนต์ จำนวน 16 ตัว มีระยะการให้นม และปริมาณน้ำนมเฉลี่ยก่อนการทดลองใกล้เคียงกัน ทำการสุ่มสัตว์ทดลองแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง โดยแบ่งออกเป็นกลุ่มๆ ละ 4 ตัว โดยอัตราส่วนของใบปาล์มหมัก:หญ้ากินนีสีม่วงสดที่ได้รับในกลุ่มทดลองดังนี้

Treatment 1	ทางใบปาล์มหมัก 30 % + หญ้ากินนีสีม่วง 70 %
Treatment 2	ทางใบปาล์มหมัก 40 % + หญ้ากินนีสีม่วง 60 %
Treatment 3	ทางใบปาล์มหมัก 50 % + หญ้ากินนีสีม่วง 50 %
Treatment 4	ทางใบปาล์มหมัก 60 % + หญ้ากินนีสีม่วง 40 %

3.1.2 วิธีการหมักใบปาล์มน้ำมัน : ใช้ต้นปาล์มน้ำมันอายุประมาณ 10 ปี นำส่วนของใบปาล์มซึ่งเป็นส่วนล่างของทะลายผลปาล์มหลังจากการเก็บผลผลิต โดยทำการตัดและสับให้เป็นท่อนสั้นๆขนาดความยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร แล้วนำมาหมัก (Oil palm frond silage: OPFS) ร่วมกับกากน้ำตาล 3 เปอร์เซนต์ คลุกเคล้าให้เข้ากัน บรรจุใส่ถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร อัดให้แน่น ปิดฝาถังไม่ให้มีอากาศด้านใน หมักเก็บไว้เมื่อครบกำหนด 30 วัน ทำการเก็บตัวอย่างพืชหมักนำมาวิเคราะห์และประเมินผลต่อไป โดยทำการศึกษาคูณภาพ โดยการวัด pH ดมกลิ่น ชิม และประเมินลักษณะความเป็นพืชหมักที่ดีจากการสัมผัส การประเมินผลสภาพการหมักและคุณภาพของพืชหมัก ใช้วิธีการของบุญล้อมและบุญเสริม (2525) ในการประเมินคุณภาพ pH ปริมาณกรดอินทรีย์ และปริมาณแอมโมเนีย ในพืชหมัก หลังจากนั้นนำตัวอย่างพืชหมักมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างผ่านตะแกรง 1.0 มิลลิเมตร นำตัวอย่างพืชหมักที่บด

แล้วมาวิเคราะห์ หางค์ประกอบทางโภชนาด้วยวิธี Proximate Analysis (AOAC, 2000) และหาสารเยื่อใย NDF และ ADF ด้วยวิธี Detergent method (Van Soest, 1982) นำข้อมูลขององค์ประกอบทางเคมีที่ได้วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test: (DMRT)

3.1.3 การศึกษาทางโภชนาทางด้านพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (Metabolizable Energy-ME) และพลังงานสุทธิ (Net Energy Lactation-NE_L) โดยเทคนิคการวัดแก๊ส (Hohenheim gas production technique)

นำตัวอย่างอาหารทดลองและใบปาล์มหมักกาน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ มาทำการหาค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) และค่าพลังงานสุทธิ (NE_L) โดยใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ ตามวิธีการเทคนิคการวัดแก๊ส (Hohenheim gas production technique) (Menke and Steingass, 1988) นำค่าแก๊สที่วัดได้มาคำนวณหาค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) และค่าพลังงานสุทธิ (NE_L) สำหรับอาหารหยาบ โดยอาศัยสมการของ Menke and Steingass (1988) ดังต่อไปนี้

$$\text{ME(MJ/kg)} = 2.20 + 0.1357 \text{ GP} + 0.0057 \text{ XP} + 0.0002859 \text{ XL}^2$$

$$\text{NE}_L \text{ (MJ/kg)} = 0.54 + 0.0959 \text{ GP} + 0.0038 \text{ XP} + 0.0001733 \text{ XL}^2$$

โดยที่ค่า GP - ค่าปริมาณแก๊สสุทธิที่วัดได้ (ml)

XP - crude protein

XL - crude fat

นำค่าที่หาได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อหาค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป
วิธีการทดลอง : ใช้สัตว์ทดลองคือโครีดนมจำนวน 16 ตัว วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยให้โคได้รับอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนหยาบที่ระดับ 21 เปอร์เซ็นต์ 2 กิโลกรัมต่อตัว และกากเบียร์สด 10 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน โดยแบ่งให้วันละ 2 ครั้ง ในช่วงเช้า-เย็น เวลา 05.30 น. และ 15.00 น.

อาหารหยาบแบ่งตามสัดส่วนที่กำหนดในแผนทดลอง โดยทำการแบ่งระยะเวลาในการทดลองเป็น 2 ระยะ ดังนี้

- 1) ระยะการปรับตัว (Preliminary period) เป็นช่วงที่ปล่อยให้โค และจุลินทรีย์ปรับตัวเข้ากับอาหารทดลอง และขับถ่ายอาหารเดิมในทางเดินอาหารออกให้หมด ระยะนี้ใช้เวลา 14 วัน
- 2) ระยะการเก็บข้อมูล (collection period) ใช้เวลา 90 วัน โดยแบ่งออกดังนี้
 - 2.1 ทำการบันทึกและชั่งน้ำหนักทุกครั้งที่รีดนม เช้า-เย็น สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมทุก 2 สัปดาห์ โดยเก็บตัวอย่างน้ำนมในช่วงรีดนมตอนเช้าแล้วนำน้ำนมไปแช่ในตู้เย็น และเก็บน้ำนมตอนเย็นแล้วนำมาผสมให้เข้ากัน เพื่อรอนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม (ปริมาณไขมัน โปรตีน แลคโตส ของแข็งทั้งหมด ของแข็งไม่รวมไขมัน) โดยใช้เครื่อง Milko-scan 133 V. 39 GB
 - 2.2 บันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือทุกครั้ง ก่อนที่จะให้อาหารครั้งต่อไป สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือของสัตว์แต่ละตัวทุกวัน นำไปอบให้แห้งบันทึกน้ำหนักแห้งเก็บรวบรวมไว้ เพื่อการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี โดยใช้วิธีการ Proximate Analysis (AOAC, 2000) และวิเคราะห์องค์ประกอบส่วนที่เป็นโครงสร้างของพืช ได้แก่ เยื่อใยหยาบ (CF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกลาง (NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด (ADF) และลิกนิน (ADL) ด้วยวิธี Detergent method (บุญล้อม และบุญเสริม, 2525 และ Van Soest, 1982)
 - 2.3 ทำการเก็บมูลเป็นช่วงท้ายของการทดลอง โดยใช้ระยะเวลาเก็บ 7 วัน บันทึกน้ำหนักมูลที่เก็บแต่ละครั้ง โดยแยกปฏิบัติเป็นรายตัว และสุ่มเก็บ 10 เปอร์เซ็นต์ ของมูลทั้งหมด เพื่อนำไปวิเคราะห์หาการย่อยได้ปรากฏ (apparent digestibility) ต่อไป

3.1.4 การหาค่าการย่อยได้แบบดั้งเดิม (Conventional method)

ในแต่ละคาบของการทดลอง (period) ใช้เวลาทั้งหมด 23 วัน โดย 14 วันแรกเป็นช่วงเวลาสำหรับให้โคและจุลินทรีย์ปรับตัวให้คุ้นเคยกับอาหาร (preliminary period) และช่วง 9 วันหลังเป็นช่วงการเก็บข้อมูล (collection period) โดยวันที่ 15-19 เป็นช่วงเวลาสำหรับเก็บมูลเพื่อหาค่าการย่อยได้ปรากฏ (apparent digestibility) บันทึกปริมาณอาหารที่กินและมูลที่ขับออกมา สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารและมูล (5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสด) โดยทำการเก็บมูลทุกครั้งที่โคถ่ายออกมานจนครบ 24 ชั่วโมงทำการชั่งน้ำหนัก แล้วสุ่มเก็บตัวอย่าง 10 เปอร์เซ็นต์ นำมาแช่แข็งเพื่อเก็บไว้

วิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี นำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์หาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ปรากฏจากสมการ (บุญล้อม, 2540) ดังสมการ 3

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ (\%)} = \frac{\text{โภชนะที่กิน} - \text{โภชนะที่ขับออก}}{\text{โภชนะที่กิน}} \times 100 \quad (3)$$

ประเมินค่าโภชนะรวมที่ย่อยได้ (Total Digestible Nutrient; TDN) จากสมการ 4

$$\begin{aligned} \text{TDN} &= \text{DCP} + \text{DNDF} + \text{DNFC} + 2.25 \times \text{DEE} \quad (4) \\ \text{เมื่อ DCP} &= \text{โปรตีนที่ย่อยได้} \\ \text{DNDF} &= \text{เชื้อใยที่ละลายในด่างที่ย่อยได้} \\ \text{DNFC} &= \text{คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เชื้อใยที่ย่อยได้} \\ \text{DEE} &= \text{ไขมันที่ย่อยได้} \end{aligned}$$

คำนวณค่าพลังงานรวม (gross energy, GE) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy, ME) และพลังงานสุทธิเพื่อการให้นม (net energy for lactation, NE_L) จากสมการที่เสนอโดย Kellner *et al.* (1984)

$$\text{GE (MJ/kg)} = 0.242\text{CP} + 0.0366\text{EE} + 0.0209\text{CF} + 0.0170\text{NFE} \quad (5)$$

$$\text{ME (MJ/kg)} = 0.0152\text{DCP} + 0.0342\text{DEE} + 0.0128\text{DCF} + 0.0159\text{DNFE} \quad (6)$$

$$\text{NE}_L \text{ (MJ/kg)} = 0.4632 + 0.0024q \times \text{ME} \quad (7)$$

$$q = (\text{ME}/\text{GE}) \times 100$$

3.1.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ผลการทดลองโดยการวิเคราะห์ตามแผนการทดลองแบบ CRD เพื่อหาค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (Steel and Torrie, 1980) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

3.2 การศึกษาการใช้ใบปล้ำมสด และหญ่ากินนีสีม่วงที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของโคนมรุ่นเพศเมีย

3.2.1 สัตว์ทดลอง: ใช้โคนมรุ่นเพศเมียลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน อายุเฉลี่ยประมาณ 7-8 เดือน จำนวน 8 ตัว ทำการสุ่มแบ่งสัตว์ทดลอง แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 4 ตัว

3.2.2 วิธีการทดลอง: ใช้โคนมรุ่นเพศเมียลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน จำนวน 8 ตัว วางแผนการทดลองแบบวิธี Group Comparison โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง (treatments) ดังนี้

กลุ่มที่1 ได้รับอาหารหยาบเป็นหญ่ากินนีสีม่วง (T1)

กลุ่มที่2 ได้รับอาหารหยาบเป็นใบปล้ำมสด (T2)

โคแต่ละกลุ่มได้รับอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนหยาบที่ระดับ 16 เปอร์เซ็นต์ 1 กิโลกรัม ร่วมกับกากเนื้อในปล้ำม 1 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ให้กินอาหารหยาบอย่างเต็มที่ โดยแบ่งให้วันละ 2 ครั้ง ในช่วง เช้า-เย็น เวลา 08.00 น. และ 17.00 น. ทำการแบ่งระยะเวลาในการทดลองเป็น 2 ระยะ ดังนี้

1) ระยะการปรับตัว (Preliminary period) เป็นช่วงที่ปล่อยให้โค และจุลินทรีย์ปรับตัวเข้ากับอาหารทดลอง และขับถ่ายอาหารเดิมในทางเดินอาหารออกให้หมด ระยะนี้ใช้เวลา 14 วัน

2) ระยะการเก็บข้อมูล (Collection period) ใช้เวลา 90 วัน โดยแบ่งออกดังนี้

2.1 บันทึกน้ำหนักโคก่อนการทดลองและหลังจากนั้นซึ่งในสัปดาห์แรกของทุกๆ เดือนรวมทั้งหมด 3 เดือน

2.2 ทำการชั่งปริมาณอาหารที่โคกินและเหลือในแต่ละวัน

2.3 ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารชั้นและอาหารหยาบที่ตัดแล้วสับก่อนให้โคกินเดือนละ 1 ครั้ง นำไปอบให้แห้งบันทึกน้ำหนักแห้ง เก็บรวบรวมไว้เพื่อรอการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีต่อไปโดยใช้วิธีการ Proximate Analysis (AOAC, 2000) และทำการเก็บมูลช่วงท้ายของการทดลอง ใช้ระยะเวลาเก็บ 7 วัน บันทึกน้ำหนักมูลที่เก็บแต่ละครั้งโดยแยกปฏิบัติเป็นรายตัว และสุ่มเก็บ 10 เปอร์เซ็นต์ ของมูลทั้งหมด เพื่อนำไปวิเคราะห์หาการย่อยได้ปรากฏ (Apparent digestibility) ต่อไป

3.2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดโดยการสุ่มโคนมรุ่นเพศเมียเข้าทดลองตามวิธี Group Comparison โดยแบ่งโคนมรุ่นเพศเมียออกเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 4 ตัว ตามชนิดของอาหารทดลอง หลังจากนั้นนำข้อมูลมาวิเคราะห์ เปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธีการ Student's Test (Steel and Torrie, 1980)

3.2.4 สถานที่ในการทดลอง

1. ฟาร์มโคนมนายชวน มุ่งดี ตำบลบ้านไร่ใหม่พัฒนา อำเภอลำดวน จังหวัดเพชรบุรี
2. ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก ตำบลหนองกวาง อำเภอ โพธาราม จังหวัดราชบุรี

3.2.5 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

ประมาณ 12 เดือน ตั้งแต่เดือนกันยายน 2553 ถึงเดือนกันยายน 2553