

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ในการทดลอง

1. อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง

- 1.1 เครื่องย่อยและกลั่นโปรตีนยี่ห้อ Vapodest 45 s
- 1.2 เครื่องวิเคราะห์เยื่อใยยี่ห้อ Velp
- 1.3 เครื่องวิเคราะห์ไขมันยี่ห้อ Velp
- 1.4 เครื่องวิเคราะห์พลังงานยี่ห้อ PRSS

2. ตัวอย่างແຫຼ່ງ

ใช้ແຫຼ່ງ A. *microphylla* ซึ่งนำมาจากคลองน้ำบริเวณแปลงวิจัยและฝึกงาน
นิสิต คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

3. การเตรียมແຫຼ່ງเพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางโภชนาการในແຫຼ່ງ

เมื่อเก็บແຫຼ່ງออกมาจากบ่อโดยแยกกรรมวิธี บันทึกน้ำหนักสด จากนั้นนำเข้าไป
อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วบันทึกน้ำหนักแห้งที่ได้และเก็บ
ตัวอย่างไว้วิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

4. การเตรียมແຫຼ່ງเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสุกร

การเตรียมແຫຼ່ງแห้ง โดยเก็บແຫຼ່ງสดมาล้างด้วยน้ำสะอาด ทำการเก็บแยก
เศษใบไม้หรือเศษหญ้าออก จากนั้นนำແຫຼ່ງไปผึ่งแดดบนลานซึ่งปูด้วยมุ้งเขียว ระหว่างผึ่งแดดมี
การเกลี่ยเพื่อเป็นการกลับແຫຼ່ງอยู่เสมอทำให้ແຫຼ່ງแห้งเร็วขึ้น ใช้เวลาผึ่งแดดประมาณ 1-2
วัน จากนั้นนำมาบดเพื่อใช้ผสมอาหารสัตว์ต่อไป

5. อาหารทดลอง

อาหารทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นอาหารสุกรที่มีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 10% ปรับ
วิตามินและแร่ธาตุตามความเหมาะสม นำตัวอย่างอาหารมาวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์ด้วยวิธีประมาณ
(proximate analysis) ในการวิเคราะห์หา โปรตีน เยื่อใย ไขมัน และพลังงาน (AOAC, 2000)

วิธีทดลอง

1. การศึกษาปริมาณผลผลิตและโภชนะของแหนแดง (*A. Microphylla*) ในบ่อทดลอง

บ่อทดลองที่ใช้มีขนาด 0.32 ตารางเมตร วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยแบ่งเป็น 7 กลุ่มทดลอง แต่ละกลุ่มทดลอง มี 3 ซ้ำ ดังนี้

กลุ่มทดลอง 1 กลุ่มควบคุม (1:0)

กลุ่มทดลอง 2 มูลโค (1:0.5)

กลุ่มทดลอง 3 มูลสุกร (1:0.5)

กลุ่มทดลอง 4 กากตะกอนก๊าซชีวภาพ (1:0.5)

กลุ่มทดลอง 5 มูลโค (1:1)

กลุ่มทดลอง 6 มูลสุกร (1:1)

กลุ่มทดลอง 7 กากตะกอนก๊าซชีวภาพ (1:1)

กลุ่มควบคุมคือ แहनแดงที่เลี้ยงในบ่อทดลองโดยใส่ดินจำนวน 20 กิโลกรัม ไม่มีการใส่ปุ๋ย อัตราส่วน 1:0.5 (ดิน : ปุ๋ย) คือ ดิน 10 กิโลกรัม ปุ๋ยชนิดต่างๆ 5 กิโลกรัม อัตราส่วน 1:1 (ดิน : ปุ๋ย) คือ ดิน 10 กิโลกรัม ปุ๋ยชนิดต่างๆ จำนวน 10 กิโลกรัม ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำให้สูงกว่าผิวดินประมาณ 8-10 เซนติเมตร จากนั้นชั่งแหนแดงสด 1 กิโลกรัม ปล่อยให้แห้งในบ่อที่เตรียมไว้ โดยกากตะกอนก๊าซชีวภาพ คือ ส่วนของมูลสุกรที่อยู่ในบ่อก๊าซชีวภาพนำมาผึ่งแดดให้แห้ง เปรียบเทียบผลผลิตของแหนแดง และคุณค่าทางโภชนะของแหนแดงในแต่ละกลุ่มทดลองเพื่อหาชนิดของปุ๋ยและอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเลี้ยงแหนแดง เมื่อเริ่มเลี้ยงแหนแดงจะเก็บผลผลิตแหนแดงทุกๆ 7 วัน โดยเก็บแหนแดงออกทั้งหมด จากนั้นทำการจดบันทึกปริมาณผลผลิต และเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโภชนะของแหนแดง ได้แก่ โปรตีน เยื่อใย ไขมัน (ether extract) เถ้า พลังงานแคลเซียม และฟอสฟอรัส

2. การศึกษาการย่อยได้ของโภชนะของแหนแดง (*A. microphylla*) ในสุกร

ใช้สุกรลูกผสมสามสายเลือด ดูริอกเจอร์ซี่ X (ลาร์จไวท์ X แลนด์เลซ) เพศผู้จำนวน 6 ตัว น้ำหนักประมาณ 30 กิโลกรัม ตามแผนการทดลองแบบสลับ (Change - over design) (จรัญจันทลักษณ์, 2527) โดยสุกรจะได้รับอาหาร 2 สูตรดังนี้ (ตาราง 6)

สูตรที่ 1 อาหารสุกรที่มีใบกระถินเป็นหลัก

สูตรที่ 2 อาหารสุกรที่มีแหนแดงเป็นหลัก

โดยกำหนดให้สุกร ทุกตัวได้รับอาหารแบ่งมันเพื่อใช้ในการหา เอ็นโดรจีนัส ในโตรเจน (endogenous nitrogen) เพื่อเปรียบเทียบ อาหารทดลองทุกกลุ่ม จัดเป็นอาหารทดลองกึ่งบริสุทธิ์ (semi-purified diets) ซึ่งมีโปรตีนประมาณ 10% (ตาราง 7) ส่วนโภชนะอื่น เช่น แร่ธาตุ วิตามิน จะได้รับอย่างครบถ้วนตามความต้องการของร่างกาย ทั้งนี้ได้ทำการทดสอบการย่อยได้โดยเปรียบเทียบกับใบกระถินเนื่องจาก ใบกระถินมีโภชนะที่ใกล้เคียงกับແຫນແດງ และใบกระถินเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีราคาถูก

สุกรแต่ละกลุ่มใช้เวลาเลี้ยง 5 วัน โดย 3 วันแรกเป็นช่วงปรับตัวของสุกรให้คุ้นเคยกับอาหาร และ 2 วันสุดท้าย จะเป็นช่วงการเก็บมูลและปัสสาวะ โดยให้อาหารและน้ำเต็มที่ โดยให้อาหารวันละ 4 เวลา คือ เช้า (06.00 น.) สาย (10.00 น.) บ่าย (14.00น.) และเย็น (18.00 น.) บันทึกข้อมูลของปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักมูล น้ำหนักปัสสาวะ และเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์หาการย่อยได้ของโภชนะ หลังจากการเก็บข้อมูลจะให้สุกรพัก 5 วัน โดยให้อาหารที่มีโปรตีนปกติตามความต้องการของสุกร

การเก็บตัวอย่างทำโดยซึ่งน้ำหนักมูลสุกร และปัสสาวะทั้งหมด แยกตามกลุ่มทดลองทุกวัน วันละ 2 ครั้ง คือ เช้า (06.00 น.) และ เย็น (18.00 น.) โดยเก็บมูลทั้งหมดลงในถุงพลาสติกมัดปากถุง ให้แน่น โดยการเก็บตัวอย่าง (มูลสุกร) มีการใช้สารบ่งชี้ (Marker) ร่วมกับอาหารทดลองเพื่อทราบถึงปริมาณอาหารที่หลงเหลือจากการย่อยและการดูดซึม ซึ่งในการทดลองเพื่อหาการย่อยได้นี้ได้ใช้สารไทเทเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide; TiO_2) ผสมลงในอาหารทดลอง 0.5% โดยเก็บตัวอย่างมูลสุกรที่มีสีเทาทั้งหมดจนมูลสุกรไม่มีสีเทา แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ทางเคมี ส่วนปัสสาวะสุกร ทำการชั่งน้ำหนักปัสสาวะที่ขับออกมา เก็บปัสสาวะลงในขวดแก้ว โดยเติมกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 25% ปริมาณ 50 มิลลิลิตร สุ่มเก็บตัวอย่างปัสสาวะตัวละ 10% ของน้ำหนักที่ถ่ายออกมาทั้งหมด แล้วเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป

ตาราง 6 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองเพื่อศึกษาการย่อยได้ในสุกร

ส่วนประกอบของอาหารทดลอง	วัตถุดิบที่ใช้ผสมในสูตรอาหาร (เปอร์เซ็นต์)		
	แป้งมัน	กระถิน	แทนแดง
แป้งมัน	95.4	44.38	45.9
กระถิน	0	51.02	0
แทนแดง	0	0	49.5
ไคแคลเซียมฟอสเฟต	3	3	3
น้ำมันพืช	1	1	1
เกลือ	0.35	0.35	0.35
พรีมิกซ์	0.25	0.25	0.25
รวม	100	100	100

ตาราง 7 โภชนะของอาหารสุกรที่ได้จากการคำนวณ

	สูตรอาหาร		
	แป้งมัน	กระถิน	แทนแดง
โปรตีนรวม (%)	0	10	10
เยื่อใย (%)	4.02	18.30	19.26
ไขมัน (%)	1.2	2.8	2.6
พลังงานรวม (Kcal/Kg)	3,339	3,387	3,289

3. การคำนวณค่าการย่อยได้ของโภชนะ คำนวณโดยใช้สมการตั้งแต่สมการที่ 1-6 ดังต่อไปนี้ (Adeola, 2001)

$$\text{การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารแห้ง} - \text{น้ำหนักมูลแห้ง}}{\text{น้ำหนักอาหารแห้ง}} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

$$\text{การย่อยได้ของโปรตีน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนในอาหาร} - \text{น้ำหนักโปรตีนในมูล}}{\text{น้ำหนักโปรตีนในอาหาร}} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

$$\text{การย่อยได้ของเยื่อใย (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักเยื่อใยในอาหาร} - \text{น้ำหนักเยื่อใยในในมูล}}{\text{น้ำหนักเยื่อใยในอาหาร}} \times 100 \dots\dots\dots(3)$$

$$\text{การย่อยได้ของไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันในอาหาร} - \text{น้ำหนักไขมันในมูล}}{\text{น้ำหนักไขมันในอาหาร}} \times 100 \dots\dots\dots(4)$$

$$\text{พลังงานที่ย่อยได้} = \text{พลังงานในอาหาร} - \text{พลังงานในมูล} \dots\dots\dots(5)$$

$$\text{พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้} = \text{พลังงานในอาหาร} - \text{พลังงานในมูล} - \text{พลังงานในปัสสาวะ} \dots\dots\dots(6)$$

การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ทางองค์ประกอบของແໜແຂງ อาหารทดลองรวมทั้งตัวอย่างมูลและปัสสาวะ ในการวิเคราะห์หา โปรตีน เยื่อใย ไขมัน เถ้า (AOAC, 2000) แคลเซียม ฟอสฟอรัส และพลังงาน การทดลองที่ 1 นำข้อมูลเกี่ยวกับ ปริมาณผลผลิต และคุณค่าทางโภชนาของແໜແຂງที่ได้ จากการวิเคราะห์ทางเคมีแล้วในแต่ละระดับความเข้มข้นของปุ๋ย และชนิดของปุ๋ย นำมาวิเคราะห์ (analysis of variance) แบบ complete randomized design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Steel and Torrie, 1980)

การทดลองที่ 2 นำข้อมูลเกี่ยวกับการย่อยได้ของโภชนา ในการใช้ແໜແຂງเป็นวัตถุดิบใน อาหารสุกร ในระดับต่างๆ นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) ทาง สถิติตามวิธีการของแผนการทดลองแบบสลับ (Change-over Designs) (จรัญ จันทลักษณ์, 2527) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ระยะเวลาทำการวิจัย

เดือน มีนาคม พ.ศ. 2553 - เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2553

สถานที่ทำการทดลอง

สถานีวิจัยและฝึกอบรมบึงราชนค คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร ต. วังพิบูล อ. วังทอง จ. พิษณุโลก

แปลงวิจัยและฝึกงานนิสิต คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี เขตพื้นที่พิษณุโลก

