บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
2. เครื่องชั่งน้ำหนัก ขนาด 60 และ 200 กิโลกรัม
3. ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)
4. เครื่องย่อยโปรตีน (digestion apparatus)
5. เครื่องกลั่นโปรตีน (distillation apparatus)
6. เครื่องไตเตรท
7. เครื่องสกัดไขมัน (soxhlet apparatus)
8. เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย
9. เตาเผา (muffle furnace)
10. โถดูดความชื้น (desicator)
11. หลอดย่อยและกลั่นโปรตีน
12. บีกเกอร์ขนาด 50, 100, 150, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
13. ปิเปต (pipet) ขนาด 0.5, 1, 5, 10 และ 100 มิลลิลิตร
14. วอลูเมทริค ขนาด 100, 500, 1000 และ 5000 มิลลิลิตร
15. วอลูเมทริค ฟลาสค์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
16. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
17. หม้ออบความดันไอ (korimat)
18. ตู้แช่แข็ง (freezer)
19. เครื่องผสมอาหารสุกรถังนอน (100 กิโลกรัม)
20. ถังเก็บอาหารขนาดความจุ 20 แกลลอน
21. อุปกรณ์ที่ใช้ประเมินคุณภาพซาก
    - เลื่อย
    - สายวัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- ไม้บรรทัดวัดซาก
- กระดาษลอกลาย

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) ความบริสุทธิ์ 99.8 เปอร์เซ็นต์
2. สารบ่งชี้ (marker) ได้แก่ ferric oxide
3. การวิเคราะห์หาไขมัน
   - ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether)
   - Pumice stone
4. การวิเคราะห์หาไนโตรเจน และโปรตีน
   - กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (sulfuric acid)
   - ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) โปแตสเซียมซัลเฟต (Potassium sulphate) คอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulphate) และ Selenium mixture reagent
   - สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์
   - สารละลายกรดบอริก (boric acid) เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์
   - สารละสายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4 conc.)
   - สารละลายอินดิเคเตอร์ Tashiro
5. การวิเคราะห์หาเยื่อใย
   - กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)
   - โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hyroxide)
   - อะซีโตน (acetone)
   - ซีไลท์ (celite)

3.2 อาหารที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 หลักการประกอบสูตรอาหาร

การประกอบสูตรอาหารของสุกรขุน (60-90 กิโลกรัม) จะใช้วัตถุดิบหลักคือ ข้าวโพด และกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งของพลังงาน และโปรตีน โดยให้มีโปรตีน 3 ระดับ คือระดับสูง กลาง และต่ำ ซึ่งโปรตีนระดับสูง มีระดับโปรตีนตามความต้องการตามคำแนะนำของ NRC (1998) โปรตีนระดับกลาง และต่ำจะลดระดับโปรตีนลงระดับละ 2 เปอร์เซ็นต์ คือ 15.5, 13.5 และ11.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยแต่ละระดับของโปรตีนจะมี dEB อยู่ 3 ระดับ คือ 200, 350 และ 500 mEq ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) เสริมเพื่อปรับค่า dEB ให้ได้ตามที่กำหนด ซึ่ง dEB ระดับ 200 mEq ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระดับที่ไม่ได้เสริม $NaHCO_3$ ใช้ค่า dEB ที่มีอยู่จริงในสูตรอาหาร องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลองดังแสดงในตาราง 8 อาหารทุกสูตรมีการปรับให้มีระดับกรดอะมิโน และพลังงานใกล้เคียงกัน และยึดระดับไลซีนย่อยได้ที่ปลายลำไส้เล็ก โดยใช้ค่าไลซีนย่อยได้ที่ปลายลำไส้เล็ก (apparent ileal digestible) ของข้าวโพด และกากถั่วเหลือง จากรายงานของ Tartrakoon (2000) โดยคำนวณให้มีค่าไลซีนย่อยได้ที่ปลายลำไส้เล็ก 0.61 เปอร์เซ็นต์ และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์เท่าที่จำเป็นโดยยึดหลักให้ใกล้เคียงกับโปรตีนอุดมคติมากที่สุด

3.2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของอาหาร

สุ่มตัวอย่างอาหารแต่ละสูตรทุกครั้งที่มีการผสมอาหาร มาวิเคราะห์ทางเคมีหาองค์ประกอบของโภชนะต่าง ๆ ดังนี้ วัตถุแห้ง (dry matter) เถ้า (ash) โปรตีนรวม (crude protein) ไขมัน (ether extract) และเยื่อใยรวม (crude fiber) โดยวิธี Proximate analysis (AOAC, 2000) และวิเคราะห์หาปริมาณโซเดียม โปแตสเซียม และคลอไรด์ ในวัตถุดิบแต่ละชนิดที่นำมาประกอบสูตรอาหาร เพื่อใช้ในการคำนวณหาระดับของ dEB ในสูตรอาหารแต่ละสูตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 องค์ประกอบของอาหารทดลองของสุกรขุน (60-90 กิโลกรัม)

Ingredients (%)	**diet 1**	**diet 2**	**diet 3**	**diet 4**	**diet 5**	**diet 6**	**diet 7**	**diet 8**	**diet 9**
Corn	23.2	23.2	23.2	28.6	28.6	28.6	34.05	34.05	34.05
Broken rice	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Fine rice bran	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Soybean meal (44% Crude Protein)	18.4	18.4	18.4	12.9	12.9	12.9	7.35	7.35	7.35
Palm oil	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Limestone	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Dicalcium phosphate (18% Phosphorus)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Normal salt	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Vitamin-mineral mixes[a]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
L-Lysine.HCl[b]	-	-	-	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
Total	***100***	***100***	***100***	***100***	***100***	***100***	***100***	***100***	***100***
$NaHCO_3$	-	0.97	2.25	-	1.16	2.44	-	1.36	2.64
Crude protein (%)	**15.5**	**15.5**	**15.5**	**13.5**	**13.5**	**13.5**	**11.5**	**11.5**	**11.5**
Metabolizable energy (ME, Kcal/kg)	3155	3155	3155	3164	3164	3164	3174	3174	3174
dEB (mEq/kg)[c]	**236**	**350**	**501**	**214**	**350**	**500**	**190**	**350**	**501**
Feedcost, Baht/kg	8.58	8.72	8.90	8.11	8.27	8.45	7.64	7.83	8.01

[a]Supplied per kilogram of diet : vitamin A, 1.2 ppm; vitamin D3, 0.24 ppm; vitamin E, 1.5 g; vitamin K3, 0.25 g; thiamine, 0.2 g; riboflavin, 0.5 g; pyridoxine, 0.4 g; cyanocobalamin, 2 g; pantothenic acid, 1.2 g; folic acid, 0.06 g; niacin, 2.4 g; coline, 17.141 g; Fe, 20 g; Cu, 25 g; Mn, 6 g; Zn, 16 g; Co, 0.2 g; I, 0.2 g;

[b] 78.8 % L-Lysine.

[c]$dEB = Na^+ + K^+ - Cl^-$ (Patience, 1990)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การศึกษาสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพซากของสุกรขุนที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ ทั้ง 9 สูตร

3.3.1 สัตว์ทดลอง

ใช้สุกรลูกผสม Duroc x (Large x Landrace) น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 60 กิโลกรัม จำนวน 90 ตัว แบ่งออกเป็น 9 กลุ่ม กลุ่มละ10 ตัว (เพศผู้ตอน 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว) เลี้ยงสุกรในคอกขังเดี่ยว และสุ่มให้สุกรได้รับอาหารทดลอง 1 ใน 9 สูตร เลี้ยงสุกรจนมีน้ำหนักเฉลี่ย 90 กิโลกรัม

3.3.2 การให้อาหาร

อาหารทดลองมี 9 สูตร ดังแสดงในตาราง 9 มีการให้อาหารและน้ำเต็มที่ (*ad libitum*) โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้งในเวลา 06.00 น. และ 18.00 น.

3.3.3 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in RCBD (Randomized Completely Block Design) บันทึกน้ำหนักตัวเมื่อเริ่มต้น น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และน้ำหนักสุดท้ายของสุกรแต่ละตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง รวมทั้งปริมาณอาหารที่กิน และปริมาณอาหารที่สุกรกินตกหล่น เพื่อนำมาคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ปริมาณอาหารที่กิน และต้นทุนการผลิต นอกจากนี้เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (สุกรน้ำหนัก 90 กิโลกรัม) สุ่มสุกรในแต่ละกลุ่ม มาจำนวนกลุ่มละ 6 ตัว (เพศผู้ตอน 3 ตัว เพศเมีย 3 ตัว) เพื่อศึกษาคุณภาพซากโดยวัดความหนาของไขมันสันหลัง (back fat) ที่จุด P2 และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เนื้อแดง พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน ความยาวซาก และเปอร์เซ็นต์ซาก (สัญชัย, 2534)

3.3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) จากแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in RCBD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test (Steel and Torrie, 1980) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2001)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4 การศึกษาองค์ประกอบของไนโตรเจนในสิ่งขับถ่ายของสุกรขุนที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ ทั้ง 9 สูตร

3.4.1 สัตว์ทดลอง

ใช้สุกรลูกผสม Duroc x (Large x Landrace) เพศผู้ตอน น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 70 กิโลกรัม จำนวน 36 ตัว แบ่งออกเป็น 9 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว เลี้ยงสุกรบนกรงหาการย่อยได้ (metabolic cage) เพื่อเก็บมูล และปัสสาวะ

3.4.2 การให้อาหาร

อาหารทดลองมี 9 สูตร ดังแสดงในตาราง 9 มีการให้น้ำแบบเต็มที่ แต่อาหารให้ 80 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณอาหารที่กินได้ เพื่อให้สุกรกินอาหารหมด และลดการตกหล่นของอาหาร โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง (ครั้งละ 1 กิโลกรัม) ในเวลา 06.00 น. และ 18.00 น.

3.4.3 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in CRD (Completely Randomized Design) โดยนำสุกรขึ้นเลี้ยงบน metabolic cage ครั้งละ 9 ตัว สุ่มสุกรให้ได้รับอาหาร1ใน 9 สูตร ซึ่งในแต่ละช่วงการทดลองจะใช้ระยะเวลาประมาณ 10 วัน โดยแบ่งเป็นระยะปรับตัว 5 วัน และ อีก 5 วัน เป็นระยะเก็บข้อมูล ซึ่งในระยะที่เก็บข้อมูลสุกรจะได้รับอาหารที่มีการผสมสารบ่งชี้ (maker) ferric oxide ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร โดยให้อาหารผสมสารบ่งชี้ (maker) ในมื้อเช้าวันแรกของการเก็บข้อมูล และมื้อเย็นวันที่ 2 ของการเก็บข้อมูล และจะเริ่มเก็บมูลสุกรเมื่อมูลสุกรเปลี่ยนสี (สีแดง) และหยุดเก็บเมื่อสีของมูลสุกรกลับมาเป็นสีเดิม (ดำ-เทา) ส่วนปัสสาวะใช้เวลาเก็บ 2 วัน และเพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนียในปัสสาวะต้องรักษา pH ให้ต่ำกว่า 2 โดยการเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4) 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 50 มิลลิลิตร ลงในขวดเก็บปัสสาวะ ซึ่งการเก็บตัวอย่างจะทำวันละ 2 ครั้งในช่วงเวลาก่อนการให้อาหารคือ 5.45 น. และ 17.45 น. สุ่มเก็บปัสสาวะ และมูลเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณทั้งหมด นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสทันทีเพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ บันทึกปริมาณอาหารที่กิน ปริมาณมูล และปัสสาวะที่สุกรแต่ละตัวขับถ่ายออกมา โดยแยกเก็บตัวอย่างมูล และปัสสาวะแยกออกจากกัน ส่วนการวัดค่า pH ในปัสสาวะของสุกรจะวัดทันทีที่สุกรปัสสาวะออกมา โดยวัดก่อนสุกรกินอาหารเวลาเช้าและเย็น ด้วย pH meter แบบ Electrometric titrator ที่มีความละเอียดไม่ต่ำกว่า 0.1 หน่วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.4 การคำนวณหาสมดุลไนโตรเจน

จากปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับในอาหาร ปริมาณไนโตรเจนในปัสสาวะ และปริมาณไนโตรเจนในมูลในรูปวัตถุแห้ง ในแต่ละวันนำมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนที่ขับถ่าย ปริมาณไนโตรเจนที่ร่างกายกักเก็บไว้ ค่าการย่อยได้ของไนโตรเจนในมูล และค่าทางชีวภาพของโปรตีน สามารถคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้ (Wang and Fuller, 1990; McDonald *et al*., 2002)

ไนโตรเจนในสิ่งขับถ่าย (กรัมต่อตัวต่อวัน) = N ในมูล + N ในปัสสาวะ

ไนโตรเจนในสิ่งขับถ่าย (% ไนโตรเจนที่ได้รับ) $= \frac{\text{(N ในมูล + N ในปัสสาวะ)}}{\text{N ที่กิน}} \times 100$

ไนโตรเจนที่กักเก็บไว้ (กรัมต่อตัวต่อวัน) = N ที่กิน – (N ในมูล + N ในปัสสาวะ)

ไนโตรเจนที่กักเก็บไว้ (% ไนโตรเจนที่ได้รับ) $= \frac{\text{N ที่กิน – (N ในมูล + N ในปัสสาวะ)}}{\text{N ที่กิน}} \times 100$

ค่าการย่อยได้ของไนโตรเจนในมูล $= \frac{\text{(N ที่กิน – N ในมูล)}}{\text{N ที่กิน}} \times 100$

ค่าการใช้ประโยชน์ได้ทางชีวภาพของไนโตรเจนแบบปรากฏ

$= \frac{\text{N ที่กิน – (N ในมูล + N ในปัสสาวะ)}}{\text{N ที่กิน - N ในมูล}} \times 100$

3.4.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของมูล และปัสสาวะ

สุ่มตัวอย่างมูล และปัสสาวะของสุกรแต่ละตัวมาวิเคราะห์ทางเคมีหาองค์ประกอบของโภชนะต่าง ๆ ดังนี้ วัตถุแห้ง (dry matter) เถ้า (ash) โปรตีนรวม (crude protein) ไขมัน (ether extract) เยื่อใยรวม (crude fiber) และไนโตรเจน โดยวิธี Proximate analysis (AOAC, 2000) ส่วนในปัสสาวะจะวิเคราะห์หาค่าไนโตรเจนเพียงค่าเดียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) จากแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorial in CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test (Steel and Torrie, 1980) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2001)

3.5 สถานที่ในการดำเนินการวิจัย

- ฟาร์มสุกร ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา วิทยาเขตพิษณุโลก

3.6 ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย

จากเดือนเมษายน 2547 ถึงเดือนสิงหาคม 2548 รวม 16 เดือน

ภาพ 12 การเลี้ยงสุกรในคอกขังเดี่ยว เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพการผลิต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 13 การเลี้ยงบนกรงหาการย่อยได้ (metabolic cage) เพื่อทำการเก็บมูล และปัสสาวะ

ภาพ 14 อุปกรณ์ที่ใช้ในการประเมินคุณภาพซาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved