

บทที่ 3

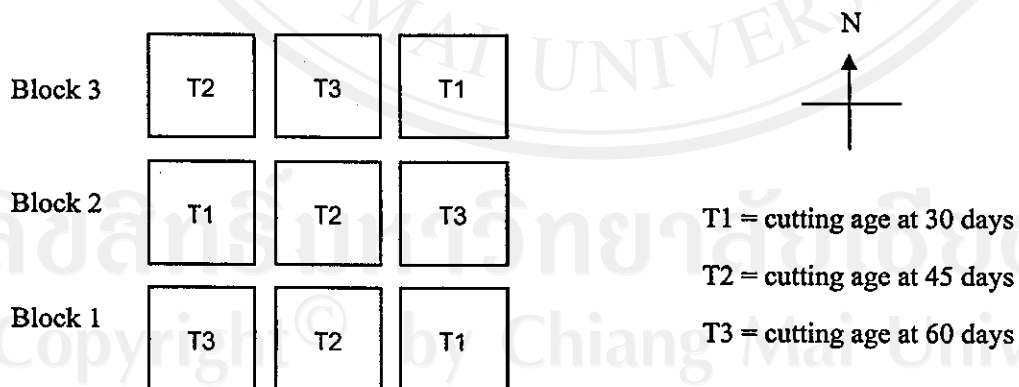
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลผลิต คุณภาพ และคุณค่าทางโภชนาการของหญ้าที่ตัดที่อายุต่าง ๆ กัน ในช่วงระยะเวลาที่เท่ากัน

การทดลองที่ 1.1 การศึกษาผลผลิตและคุณภาพของหญ้าที่ตัดที่อายุ 30, 45 และ 60 วัน

การเตรียมแปลงทดลอง

ใช้แปลงหญ้าที่เก่า อายุ 2 ปี พื้นที่ทั้งหมด 2.4 ไร่ ของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ เชียงใหม่ ต.ยุหว่า อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ ได้รับน้ำฝนตามธรรมชาติโดยไม่มีการชลประทาน ทำการเก็บตัวอย่างดินส่งวิเคราะห์ ใส่ปุ๋ยรองพื้นตามเอกสารแนะนำเรื่องหญ้าของกรมปศุสัตว์ (2545) สูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ แล้วใช้รถแทรกเตอร์ลงตัดปรับครั้งแรก หลังจากนั้นปล่อยให้โตเต็มที่ในต้นฤดูฝน



ภาพ 3.1 ลักษณะผังของแปลงหญ้าที่ใช้ทดลอง

Figure 3.1 Experimental plot diagram

จากนั้นทำการแบ่งแปลงทดลอง เนื่องจากพื้นที่มีสภาพค่อนข้างลาดเอียงจากแนวทิศใต้ไปทางทิศเหนือ จึงวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยแบ่งพื้นที่ตามแนวเหนือ - ใต้ออกเป็น 3 บล็อก แต่ละบล็อก มี 3 แปลงย่อย แต่ละแปลงย่อยมีขนาด 20 x 20 เมตร ระหว่างแปลงมีทางเดินกว้าง 0.5 เมตร ดังแสดงในภาพ 3.1 โดยมี 3 ทรีตเมนต์ ได้แก่อายุการตัดหญ้าที่ 30, 45 และ 60 วัน ทำการเก็บข้อมูลเป็นเวลา 120 - 135 วัน (ตลอดช่วงฤดูฝนที่หญ้ามักมีการเจริญเติบโตดี) ดังนั้นการตัดหญ้าอายุ 30 วัน จึงตัดได้ 4 ครั้ง, 45 วัน ตัดได้ 3 ครั้ง และ 60 วัน ตัดได้ 2 ครั้ง หลังจากตัดแล้วได้ใส่ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ในอัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ทุกครั้ง

การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมี

เมื่อถึงอายุการตัดหญ้าที่กำหนด ทำการสุ่มวัดผลผลิตโดยใช้เกี่ยวตัดจากกรอบสุ่ม (quadrat) ขนาด 100 x 100 เซนติเมตร ตัดให้สูงจากพื้นดิน 15 เซนติเมตร ทำเช่นนี้จำนวนแปลงละ 5 จุด นำมารวมกันแล้วสุ่มเก็บตัวอย่างหญ้าที่ตัดแต่ละครั้งประมาณ 500 กรัม ชั่งน้ำหนักสดแล้วนำเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60°C นาน 48 ชั่วโมง จึงชั่งน้ำหนักอีกครั้ง บดตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำมาวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

- Proximate analysis ได้แก่ ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ ไขมันหยาบ และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1995)
- Detergent analysis ได้แก่ Neutral detergent fiber (NDF), Acid detergent fiber (ADF) และ Acid detergent lignin (ADL) ตามวิธีของ Goering and Van Soest (1970)

เพื่อให้การพิจารณาผลผลิตของการตัดหญ้าที่อายุต่างกันเป็นไปด้วยความยุติธรรม คือใช้ระยะเวลาที่เท่ากัน (120 วัน) จึงนำผลผลิตจากการตัดที่อายุ 30 วันจำนวน 4 ครั้ง และ 60 วันจำนวน 2 ครั้งมารวมกัน ส่วนการตัดที่อายุ 45 วัน ไม่สามารถรวมผลผลิตได้โดยตรง เพราะถ้ารวมจากการตัด 3 ครั้ง จะเท่ากับ 135 วัน จึงทำการปรับโดยอาศัยสมการถดถอยเชิงเส้น (linear regression) $y = a + bx$ ที่สร้างขึ้นสำหรับแต่ละบล็อกเพื่อใช้ในการทำนาย เมื่อ x เป็นระยะเวลา (วัน) และ y เป็นผลผลิตของหญ้า (กิโลกรัมสด/ไร่) ที่ระยะเวลานั้น ๆ

การทดลองที่ 1.2 การหาค่าอินทรีย์วัตถุย่อยได้และพลังงานของหญ้าที่ตัดที่อายุต่าง ๆ กัน โดยวิธี

In Vitro Gas Production Technique

อุปกรณ์

- อ่างน้ำอุ่น (water bath) ที่ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ 39°C ภายในติดตั้งแกนหมุน (rotater) ต่อกับมอเตอร์ไฟฟ้าควบคุมความเร็วในการหมุน 1 - 2 รอบต่อนาที และจานติดกับแกนหมุน เส้นผ่าศูนย์กลาง 50 เซนติเมตร เจาะรูสำหรับใส่หลอดแก้ว
- หลอดแก้ว (glass syringe หรือ piston pipettes) ขนาดใหญ่ที่มีขีดบอกปริมาตรข้างหลอด ปลายหลอดมีสายยางที่ทำจากซิลิโคน และมีคลิปเพื่อใช้ปิดเปิด
- สารละลายแร่ธาตุและบัฟเฟอร์ที่ปรับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เตรียมโดยผสมสารละลายหมายเลข 1 - 5 แล้วแช่ในอ่างน้ำอุ่นไว้ก่อน เมื่อผสมกับน้ำรูเมนจะได้ rumen-buffer-micronutrient solution ดังตาราง 3.1
- โคนมแห้งไม่อุ้มท้องที่ได้เจาะกระเพาะไว้แล้ว (fistulated cow) จำนวน 2 ตัว ให้โคได้รับอาหารปกติ ได้แก่ หญ้าที่สด 10 กิโลกรัม และอาหารข้น 1 กิโลกรัม/ตัว/วัน โดยให้อาหารวันละ 2 เวลา ภายในคอกมีน้ำและก้อนแร่ธาตุให้โคตลอดเวลา
- ตัวอย่างอาหารข้น และอาหารหยาบมาตรฐานที่ทราบค่าแก๊สแล้ว
- อาหารทดสอบ ได้แก่ตัวอย่างหญ้าที่ ได้จากการทดลองที่ 1.1

วิธีการศึกษา

ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักแห้งประมาณ 230 มก. ใส่ในหลอดแก้ว แล้วอุ่นในตู้ที่อุณหภูมิ 39°C แต่ละตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ โดยในการทดลองทุกครั้งต้องมีตัวอย่างมาตรฐานที่ทราบค่าแก๊สอยู่แล้ว เพื่อใช้ตรวจสอบกิจกรรมของจุลินทรีย์ในน้ำรูเมนว่าเป็นปกติหรือไม่ และต้องมี blank (คือส่วนผสมของน้ำรูเมน แร่ธาตุ และสารบัฟเฟอร์โดยไม่มีตัวอย่างอาหาร) สำหรับใช้เป็นค่าหักลบเพื่อคำนวณปริมาณแก๊สสุทธิที่เกิดขึ้น

เก็บน้ำรูเมนจากโคเจาะกระเพาะ นำของเหลวที่เก็บได้มากรองเพื่อเอาอาหารข้นและหยาบออก แล้วนำมาผสมกับสารละลายแร่ธาตุและบัฟเฟอร์ภายใต้สภาพไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 39°C นำ rumen-buffer-micronutrient solution ตามสัดส่วนที่แสดงในตาราง 3.1 ที่ได้มาใส่ในหลอดแก้วที่ใส่ตัวอย่างอาหารไว้แล้ว หลอดละ 30 มล. ทำการไล่อากาศออกจากหลอดให้หมด บันทึกปริมาณแก๊สเริ่มต้น แล้วนำหลอดใส่ในช่องของแกนหมุน บ่มในอ่างน้ำอุ่นอุณหภูมิ 39°C อ่านค่าแก๊สที่เกิดขึ้น ในชั่วโมงที่ 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72 และ 96

ตาราง 3.1 ส่วนผสมของน้ำจากรูเมน แร่ธาตุ และสารบัฟเฟอร์

Table 3.1 Rumen-buffer-micronutrient solution

Composition	Volume (ml) per 1 tube
1. น้ำกลั่น	14
2. Buffer solution	10
3. Macro mineral solution	5
4. Micro mineral solution	0.0025
5. Resazurine solution	0.025
6. Reduction solution	1
7. Rumen fluid	10

การวิเคราะห์ค่าพลังงานจากปริมาณแก๊ส

นำค่าแก๊สที่เกิดขึ้นที่ชั่วโมงต่าง ๆ มาคำนวณค่าสุทธิจากสูตร

$$GP_t = \frac{(V_t - V_0 - GP_0) \times 200 \times (F_H + F_C)/2}{\text{Weight (mg DM)}}$$

- เมื่อ GP_t คือ ปริมาตรแก๊สสุทธิที่เกิดจากการบ่มอาหาร 200 mg DM ณ เวลา t ชั่วโมง
 GP_0 คือ ปริมาตรแก๊สเฉลี่ยที่เกิดขึ้นในหลอด blank ณ เวลา t ชั่วโมง
 V_t คือ ปริมาตรที่อ่านได้ที่ข้างหลอด ณ เวลา t ชั่วโมง
 V_0 คือ ปริมาตรที่อ่านได้ที่ข้างหลอด ณ เวลาเริ่มต้น
 F_H คือ ค่า factor ของตัวอย่างอาหารหยาบมาตรฐาน คำนวณจากค่าแก๊สสุทธิที่ระบุไว้ คือ 44.16 / ค่าแก๊สสุทธิที่เกิดขึ้นที่ 24 ชั่วโมง
 F_C คือ ค่า factor ของตัวอย่างอาหารข้นมาตรฐาน คำนวณจากค่าแก๊สสุทธิที่ระบุไว้ คือ 61.1 / ค่าแก๊สสุทธิที่เกิดขึ้นที่ 24 ชั่วโมง

นำค่าปริมาตรแก๊สสุทธิที่ชั่วโมงที่ 24 (หลังจากปรับค่าโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างมาตรฐานแล้ว) รวมทั้งส่วนประกอบทางเคมีของอาหารที่ได้วิเคราะห์ไว้ในการทดลองที่ 1 มาคำนวณค่าการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (OMD) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) และพลังงานสุทธิเพื่อการให้นม (NEL) โดยใช้สมการที่เสนอโดย Menke and Steingass (1988) สำหรับอาหารหยาบ ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{OMD (\%)} &= 15.38 + 0.8453\text{GP} + 0.0595\text{XP} + 0.0675\text{XA} \\ \text{ME (MJ/kg DM)} &= 2.20 + 0.1357\text{GP} + 0.0057\text{XP} + 0.0002859\text{XL}^2 \\ \text{NEL (MJ/kg DM)} &= 0.54 + 0.0959\text{GP} + 0.0038\text{XP} + 0.0001733\text{XL}^2 \end{aligned}$$

เมื่อ GP คือ ปริมาตรแก๊สสุทธิที่ 24 ชั่วโมง หน่วย ml / 200 mg DM
XP, XL และ XA คือ ปริมาณของ โปรตีน(CP), ไขมัน(EE) และเถ้า(Ash) หน่วย g/kg DM

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 10.0 (กัลยา, 2543)

การทดลองที่ 2 การใช้หญ้าที่สดเสริมแหล่งโปรตีนและพลังงานต่อประสิทธิภาพการผลิตและส่วนประกอบของน้ำนมโค

สัตว์ทดลองและคอกทดลอง

ใช้แม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน ระดับสายเลือดประมาณ 87.5% จำนวน 6 ตัว น้ำหนักตัว 501.89 ± 40.42 กิโลกรัม อายุ 4 - 6 ปี จำนวนวันที่ให้นม 101 ± 26 วัน ให้นมประมาณ 16 กิโลกรัม นำมาเลี้ยงในของขังเดี่ยวผูกขึ้นโรง มีที่ให้น้ำอัดโนมิตีและรางอาหารอยู่ด้านหน้าตัวโค ด้านข้างและด้านบนติดตั้งพัดลมเพื่อระบายความร้อนให้แก่โคทดลอง บริเวณที่ให้โคยืนรองด้วยผ้ายางสีดำหนา 1 เซนติเมตรปูบนพื้นซีเมนต์ เพื่อให้โคมีความสบายในคอนขังและนอน

อาหารทดลอง

ปริมาณอาหารหยาบ อาหารข้น และส่วนประกอบของอาหารเสริม คำนวณโดยใช้ข้อมูลเฉลี่ยของโคนมดังกล่าวข้างต้น นำมาจัดสัดส่วนให้ได้โภชนะตามความต้องการของโคตามที่แนะนำโดย NRC (1988) ด้วยโปรแกรม XRATION (สมคิด, 2542) ซึ่งอาหารทดลองแบ่งเป็น 3 กลุ่ม (ทรีตเมนต์) ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 หญ้าที่สด + อาหารข้น (กลุ่มควบคุม; T1)
- กลุ่มที่ 2 หญ้าที่สด + อาหารข้น + อาหารเสริมสูตรที่ 1 (T2)
- กลุ่มที่ 3 หญ้าที่สด + อาหารข้น + อาหารเสริมสูตรที่ 2 (T3)

กำหนดให้โคทุกตัวได้รับอาหารรวมซึ่งมีเชื้อใย ADF ประมาณ 25 - 26% และมี NFC ประมาณ 25 - 27% ซึ่งจะเป็นหญ้าที่สดวันละประมาณ 30 กิโลกรัม และอาหารข้นวันละ 9 กิโลกรัม เท่ากันทุกกลุ่ม สำหรับกลุ่มที่ให้อาหารเสริม (กลุ่มที่ 2 และ 3) จะให้อาหารเสริมวันละ 1 กิโลกรัม ซึ่งอาหารเสริมประกอบด้วยกากน้ำตาลและข้าวโพดบด โดยสูตรที่หนึ่งให้ร่วมกับ รำละเอียดและกากถั่วเหลือง ส่วนสูตรที่สองให้ร่วมกับใบกระถินแห้ง ดังแสดงไว้ในตาราง 3.2 ซึ่งอาหารเสริมในระดับดังกล่าวนี้ จะทำให้โคได้รับพลังงานและโปรตีนเพียงพอกับความ ต้องการนอกเหนือจากจากปริมาณที่ได้รับจากอาหารหยาบและอาหารข้น โดยอาหารข้นที่ให้โค กินเป็นอาหารทางการค้า อัดเม็ดขนาด 0.4 ม.ม. มีโปรตีนหยาบร้อยละ 20 และใช้ชนิดเดียวกัน ตลอดการทดลอง

ตาราง 3.2 ส่วนประกอบของอาหารเสริมที่ให้

Table 3.2 Composition of supplement

Composition ¹⁾	T2		T3	
	kg/d	%	kg/d	%
Molasses	0.12	12	0.12	12
Ground corn	0.50	50	0.50	50
Rice bran	0.33	33	-	-
Soybean meal	0.05	5	-	-
Dry Leucaena leaves	-	-	0.38	38

¹⁾ as fed basis

ใช้หญ้าที่สดตัดที่อายุ 60 วันเป็นอาหารหยาบหลัก ได้จากการเตรียมแปลงล่วงหน้า 60 วันก่อนการทดลอง ซึ่งเป็นพื้นที่แปลงเดิมที่ใช้ในการทดลองที่ 1 ใส่น้ำปุ๋ยรองพื้นครั้งแรกสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ช่วงต้นฤดูฝน ทำการแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 2.5 x 60 เมตร จำนวน 60 แปลง รวมพื้นที่ 9,000 ตารางเมตร เมื่อปล่อยให้หญ้าเติบโตเต็มที่ ทำการตัดปรับ วันละแปลงจนครบ 60 แปลง และใส่น้ำปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่หลังตัดทุกครั้ง แล้วจึงเริ่มตัดหญ้าจากแปลงแรกนำไปใช้เลี้ยงโคทดลอง ทำเช่นนี้หมุนเวียนกันไปตลอดระยะเวลาทดลอง ซึ่งจะทำให้โคได้รับหญ้าที่มีอายุ 60 วันเท่ากันตลอดการทดลอง

แผนการทดลอง

ในการทดลองนี้ เนื่องจากไม่สามารถจัดหาโคนมที่มีผลผลิตน้ำนม และระยะเวลาการให้นมใกล้เคียงกันจำนวนเพียงพอที่จะใช้ในแผนการทดลองอื่นได้ จึงใช้แผนการทดลองแบบสลับ (Change over design) และเนื่องจากไม่สามารถจัดระยะพักระหว่างทรีดเมนที่ได้ เพราะโคต้องถูกรีดนมอย่างต่อเนื่อง จึงได้วางแผนสำรวจผลตกค้าง (residual effect) โดยวางทรีดเมนที่สลับกันภายใน 2 สแควร์ (Balance design) (จรัญ, 2540) แบ่งออกเป็น 3 ระยะ ๆ ละ 15 วัน ใช้โคนมสแควร์ละ 3 ตัว รวม 6 ตัว การจัดกลุ่มทดลองแสดงดังตาราง 3.3

ตาราง 3.3 การจัดกลุ่มโคทดลอง

Table 3.3 Treatment arrangement

	Cow 1	Cow 2	Cow 3	Cow 4	Cow 5	Cow 6
Period 1	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Period 2	T2	T3	T1	T3	T1	T2
Period 3	T3	T1	T2	T2	T3	T1

วิธีการศึกษา

ในช่วงแรกเป็นระยะปรับตัว (preliminary period) ให้โคได้ปรับตัวเข้ากับสภาพของคอกทดลองและอาหารเป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงทำการให้อาหาร โคนมตามแผนการทดลอง โดยให้อาหารชิ้นวันละ 4 เวลา คือ 07.30, 10.00, 13.30 และ 16.00 น. อาหารหยาบทำการหั่นด้วยเครื่องหั่นหญ้าแบบโยกด้วยมือให้มีความยาวประมาณ 1 ฟุต เพื่อสะดวกในการให้และป้องกันโคสะดุ้งหล่นจากรางอาหาร ทำการชั่งน้ำหนักหญ้าที่ให้ทุกครั้งแล้วเติมให้แม่โคกินแบบอิสระ ส่วนโคในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริม ได้แบ่งให้ก่อนการให้หญ้าสดแต่ละครั้งเพื่อให้โคกินได้หมด ทั้งนี้การที่ไม่ได้ผสมอาหารเสริมร่วมกับหญ้านั้น เพราะหญ้านี้มีความชื้นมาก ถ้าอาหารคั่งค้างในรางอาหารจะเกิดการหมักบูดง่าย ทำให้ไม่นำกินและส่งกลิ่นเหม็น รวมทั้งอาจเกิดปัญหาเรื่องมดและแมลงวันตามมา การรีดนมทำโดยใช้เครื่องแบบ bucket รีดวันละ 2 เวลา คือ 05.30 และ 15.30 น.

การทดลองแต่ละระยะใช้เวลา 15 วัน โดย 7 วันแรกเป็นการปรับตัว ส่วนอีก 8 วันหลังเป็นช่วงเก็บข้อมูล โดยตลอดการทดลองบันทึกข้อมูลปริมาณอาหารที่กินได้และปริมาณน้ำนม ทำการสุ่มเก็บอาหารที่ให้และเหลือทุกวัน ไปห่าน้ำหนักวัตถุแห้งเพื่อคำนวณหาปริมาณ

วัตถุแห้งที่กินได้ สุ่มเก็บตัวอย่างวัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ หญ้าสด กากน้ำตาล ข้าวโพดบด รำละเอียด กากถั่วเหลือง ใบกระถินแห้ง และอาหารชั้น เพื่อรอการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีและหาค่าพลังงาน นอกจากนี้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมระยะละ 3 วัน โดยสุ่มเก็บช่วงเช้าและเย็นในอัตรา 1% ของปริมาณน้ำนม ใส่ sodium azide อัตรา 0.1% เพื่อรักษาสภาพน้ำนม เก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ส่วนประกอบน้ำนมต่อไป และเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองในแต่ละระยะได้ทำการประเมินน้ำหนักตัวแม่โค โดยการวัดรอบอกด้วยสายวัดแบบพิเศษที่สามารถอ่านค่าเป็นน้ำหนักตัวได้

การวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารและน้ำนม

- ประเมินส่วนประกอบทางเคมีของอาหาร โดยวิธี Proximate analysis (AOAC, 1995) และส่วนประกอบโครงสร้างของพืชโดยวิธี Detergent method (Goering and Van Soest, 1970)

- ประเมินค่าพลังงานในอาหาร โดยวิธี *In vitro* gas production technique (Menke and Steingass, 1988) แล้วนำค่า NEL มาแปลงเป็น TDN เพื่อใช้ในการคำนวณสูตรอาหาร โดยอาศัยสมการที่แนะนำโดย NRC (1988) ดังนี้

$$NEL \text{ (Mcal/kg of DM)} = 0.0245 \times \text{TDN (\% of DM)} - 0.12$$

- วิเคราะห์หาส่วนประกอบของน้ำนม ได้แก่ fat, protein, lactose, total solid และ solid not fat, โดยใช้เครื่อง Milkoscan 133 V 3.9 GB

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ของผลผลิต และส่วนประกอบของน้ำนม ได้แก่ fat, protein, solid not fat, lactose และ total solid ตามแผนการทดลองแบบ Balanced design และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Scheffe's Multiple Contrasts