

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ประกอบด้วย 2 ส่วน โดยส่วนแรกจะกล่าวถึงอุปกรณ์ที่ใช้ในฟาร์มเลี้ยงสุกร จากนั้นนำตัวอย่างจากการทดลองส่วนแรกไปดำเนินการในห้องปฏิบัติการ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ส่วนฟาร์มทดลอง ประกอบด้วย

1. แม่สุกรพันธุ์แลนด์เรซ (Landrace) จำนวน 18 ตัว และลาร์จไวท์ (Large white) จำนวน 3 ตัว
2. พ่อสุกรพันธุ์แลนด์เรซ (Landrace) จำนวน 6 ตัว และลาร์จไวท์ (Large white) จำนวน 1 ตัว
3. คอกทดลองสุกรอุ้มท้อง ขนาด 0.7 x 2.0 ม. และคอกคลอดพร้อมอุปกรณ์กักลูกสุกร ขนาด 2.0 ตร.ม.
4. เครื่องผสมอาหารสัตว์ แบบเกลียวนอน (horizontal mixer) ขนาดผสมได้สูงสุดครั้งละ 1,000 กก.
5. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดไฮโดรลิก ขนาดชั่งได้สูงสุด 150 กก. มีความละเอียดอ่านได้ 50 ก. ใช้สำหรับชั่งน้ำหนักอาหารและน้ำหนักลูกสุกร
6. อาหารสุกร 2 สูตร คือ อาหารแม่อุ้มท้อง และอาหารแม่เลี้ยงลูก

ส่วนห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย

1. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดไฟฟ้า ขนาดชั่งได้สูงสุด 160 ก. มีความละเอียดอ่านได้ 0.001 ก. ใช้สำหรับชั่งมูลสุกร และตัวอย่างอาหาร
2. เครื่องบดตัวอย่างอาหาร ขนาดบดละเอียด 1 มม.
3. โถอบแห้ง (desicator) ที่บรรจุซิลิกาเจล (silica gel)
4. เครื่องย่อย (digestion apparatus) และเครื่องกลั่น (distillation apparatus)

5. เครื่องสกัดไขมัน (soxhlet apparatus)
6. เตาเผา (muffle furnace)
7. เครื่องหาเยื่อใย (crude fiber apparatus) และปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump)
8. ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)
9. เครื่องวัดความเป็นกรดค่า (pH meter)
10. หม้อหุงต้มความดัน (pressure cooker หรือ autoclave)
11. ช้อนตักสาร (spatula)
12. แท่งแก้ว (glass rod)
13. หลอดทดลองมีฝาปิด (screw capped tube) ขนาด 16x100 มม.
14. ขวดบรรจุอาหาร ฝาเกลียว ขนาด 500 มล. สำหรับบรรจุอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
15. ตู้ปฏิบัติการปลอดเชื้อ (Laminar flow)
16. จานเพาะเชื้อ (culture plate)
17. ปิเปตอัตโนมัติ (autopipetting)
18. น้ำไร้ประจุ (deionized H₂O) และแอลกอฮอล์ 95%
19. anaerobic chamber
20. water bath
21. vortex mixer
22. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ

วิธีการทดลอง

แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

- ส่วนฟาร์มทดลอง

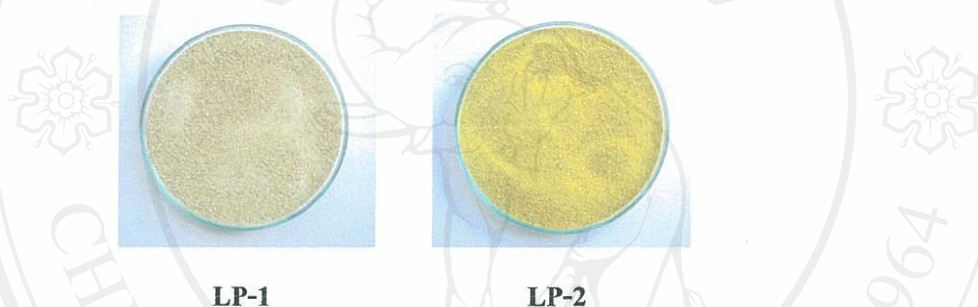
ใช้แม่สุกรพันธุ์แท้ (แลนด์เรซและลาร์จไวท์) ที่มีลำดับครอกที่ 1-3 จำนวน 21 ตัว แบ่งออกเป็น 7 ชุด (block) ๆ ละ 3 ตัว โดยในแต่ละชุด มีลำดับค่าเฉลี่ยครอกเท่ากับ 2 ครอก และในแต่ละชุด ใช้สุกรพ่อพันธุ์แท้ (แลนด์เรซหรือลาร์จไวท์) ตัวเดียวกัน ผสมแบบธรรมชาติ หลังจากนั้นให้สุกรแม่พันธุ์แต่ละชุดได้รับอาหารแตกต่างกัน 3 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารควบคุม

สูตรที่ 2 อาหารสูตรที่ 1 เสริมด้วยผลิตภัณฑ์แลคโตบาซิลลัส (LP - 1)^{1/} ในอัตรา 1 กก./ตัน

สูตรที่ 3 อาหารสูตรที่ 1 เสริมด้วยผลิตภัณฑ์แลคโตบาซิลลัสผสมสมุนไพร (LP - 2)^{1/} ในอัตรา 1 กก./ตัน

แลคโตบาซิลลัส LP-1 และ LP-2 เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเป็นการค้า โดยมีกระบวนการผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์แลคโตบาซิลลัส 8 สายพันธุ์ เช่น *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* และ *L. bulgaricus* ฯลฯ นำของเหลวดังกล่าวมาหมักกับกากถั่วเหลืองในอัตราส่วน 2 : 1 แล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °ซ ซึ่งจะเป็นชนิด LP-1 หากนำผลิตภัณฑ์ข้างต้นไปผสมกับสมุนไพรอย่างละครึ่ง โดยมีอัตราส่วนระหว่าง LP-1 : ฟ้ายะลาโย : ขมิ้นชัน : ไพล เท่ากับ 5 : 2 : 2 : 1 จะเป็นชนิด LP-2 (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 ผลิตภัณฑ์แลคโตบาซิลลัสชนิด LP - 1 และ LP - 2 ที่ใช้ในการทดลอง

อาหารทดลองดังกล่าว แบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ

- 1) ระยะอู้มท้อง ให้สุกรแม่พันธุ์กินตั้งแต่หลังผสมจนถึงคลอดลูก
- 2) ระยะแม่เลี้ยงลูก ให้ในระยะหลังคลอดจนถึงลูกสุกรหย่านมที่อายุ 4 สัปดาห์

ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองระยะอู้มท้องและเลี้ยงลูก แสดงไว้ในตารางที่ 5 สำหรับในลูกสุกรระหว่างคุณนมแม่ตั้งแต่อายุ 7 วันเป็นต้น ไปจนถึงหลังหย่านม ให้ได้รับอาหารเลี้ยงรายที่มีจำหน่ายเป็นการค้า (commercial creep feed) ทั่วไปอย่างเต็มที่ ซึ่งลูกสุกรจะถูกฝึกให้กินอย่างอิสระนอกเหนือจากการได้รับนมแม่ อาหารเลี้ยงรายนี้มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 26% (ตามรายละเอียดที่บ่งไว้ในฉลาก)

การทดลอง จะทำในระยะตั้งแต่หลังผสมพันธุ์ไปถึงหย่านม เป็นเวลารวม 2 ครอบ หรือเท่ากับแต่ละแม่ใช้เวลาศึกษาทั้งสิ้นประมาณ 298 วัน

^{1/} บริษัท พี. บี. โอ. เพื่อคุณภาพชีวิต จำกัด 1575/55 ถ. พหลโยธิน แขวงสามเสนใน เขตพญาไท กรุงเทพฯ

ตารางที่ 5 ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาของอาหารสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) ของแม่สุกรระยะอู้มท้อง และเลี้ยงลูก

ชนิดอาหาร	สุกรอู้มท้อง ^{1/}	สุกรเลี้ยงลูก ^{1/}
ชนิดวัตถุดิบ		
ปลายข้าว	55.04	63.00
กากถั่วเหลือง (44% CP)	12.36	14.40
รำละเอียด	25.00	15.00
ปลายป่น (58% CP)	5.00	5.00
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (18% P)	2.00	2.00
เกลือ	0.35	0.35
วิตามินแร่ธาตุพรีมิกซ์ ^{2/}	0.25	0.25
รวม	100.00	100.00
คุณค่าทางโภชนา โดยการคำนวณ (% สภาพใช้เลี้ยง)		
โปรตีน	16.00	16.00
ME (กิโลแคลอรี/กก.)	3.08	3.13
เยื่อใย	4.70	3.62
ไขมัน	4.60	3.27
แคลเซียม	0.84	0.82
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	0.63	0.62
เมทไธโอนีน	0.32	0.32
ไลซีน	0.88	0.91

^{1/} อาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3 เสริมด้วยผลิตภัณฑ์แลคโตบาซิลลัส LP - 1 และ LP - 2 ในอัตรา 1 กก./ตัน เท่ากัน

^{2/} มก./กก. อาหาร (ยกเว้นที่ระบุ) : กลุ่มวิตามิน : เอ 1.2 MIU, ดี, 0.2 MIU, อี 1.2, เค, 0.15, บี₁ 0.15, บี₂ 0.4, บี₆ 0.2, บี₁₂ 0.0015, กรดแพนโททีนิก 1.0, ไนอาซิน 1.5, กรดโฟลิก 0.05, ไบโอติน 0.003, กลุ่มแร่ธาตุ : โคลิน คลอไรด์ 15.0, ซีลีเนียม 0.0085, เหล็ก 3.0, แมงกานีส 6.0, สังกะสี 6.0, ทองแดง 0.6, โคบอลต์ 0.004, ไอโอดีน 0.04 กลุ่มอื่นๆ : สารถนอมคุณภาพอาหาร 0.625 และสารปรุงแต่ง 2.5

ข้อมูลที่บ้านทึกในส่วนของแม่พันธุ์ประกอบด้วย ปริมาณอาหารที่กิน ระยะเวลาอุ้มท้อง จำนวนวันที่ผสมรอบใหม่ และอัตราการกลับสัด (การผสมติด) ส่วนในลูกสุกรประกอบด้วย ปริมาณอาหารที่กินตั้งแต่ระยะหลังคลอด 7 วันถึงหย่านม (อาหารเลียราง) จำนวนลูกและน้ำหนัก เมื่อแรกคลอด จำนวนและน้ำหนักเมื่อหย่านม นอกจากนี้บันทึกสุขภาพและประวัติการรักษาทิ้งตัว แม่และลูก โดยจะทำการรักษาเมื่อลูกสุกรป่วยด้วยการให้ยาปฏิชีวนะ เป็นต้น บันทึกระยะเวลาในการรักษาจนหาย และปริมาณยาที่ใช้ บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือนทดลอง

หลังจากแม่สุกรคลอด ทำการเก็บมูลของแม่และลูกสุกรจำนวน 2 ครั้ง คือ วันที่ 7 และ 28 หลังคลอด โดยเก็บครั้งเดียวในช่วงเช้าเวลา 10.00 น. มูลของแม่สุกรเก็บโดยวิธีล้วงทวารหนัก ประมาณ 300 ก. แต่ถ้าเป็นลูกสุกร (ทุกตัว) ใช้สำลีพันปลายไม้ (cotton bud) สอดเข้าทางทวารหนัก เพื่อกระตุ้นให้ลูกสุกรถ่ายมูลออกมา มูลที่ได้ตั้งแต่ชุดที่ 4 จนถึงชุดที่ 7 นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เพื่อรอการตรวจหาจำนวนแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์และแบคทีเรียที่เป็นโทษ โดยจะสุ่มไปวิเคราะห์ ประมาณ 1 ก. ซึ่งจะกล่าวรายละเอียดในส่วนของห้องปฏิบัติการต่อไป

งานทดลองกระทำที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ เป็นเวลา 16 เดือน ช่วงระหว่างเดือนสิงหาคม 2546 ถึงพฤศจิกายน 2547

● การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ก) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

นำตัวอย่างอาหารแม่สุกรระยะอุ้มท้อง เลี้ยงลูก และอาหารของลูกสุกรระยะเลียราง โดยจะเก็บทุกครั้งเมื่อมีการผสมอาหาร มูลที่ได้นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ จากนั้นเมื่อครบ 8-9 ครั้ง นำมาตุลกลดให้เข้ากัน แล้วสุ่มไปประมาณ 200 ก. มาบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มม. เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีแบบ Proximate analysis (AOAC, 1995)

ข) การวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์และแบคทีเรียที่เป็นโทษในมูล

นำมูลจากแม่และลูกสุกรที่เก็บได้ในแต่ละครั้งมาตุลกลดให้เข้ากัน จากนั้นสุ่มมาจำนวน 1 ก. นำไปผสมกับสารละลายน้ำเกลือ 0.85% ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 9 มล. ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยเครื่อง homogenizer แล้วเจือจางด้วย 0.85% สารละลายน้ำเกลือ 9 มล.ต่อไปเรื่อยๆ จนได้สารละลายเจือจาง 10^{-5} , 10^{-7} , 10^{-9} , 10^{-11} และ 10^{-13} นำสารละลาย 1 มล. ถ่ายลงในจานเพาะเชื้อ ภายใต้ Laminar flow hood โดยใช้อาหารเฉพาะสำหรับจุลินทรีย์แต่ละชนิด คือ Eosin methylene

blue agar (EMBA) สำหรับ *E. coli*, Violet red bile glucose agar (VRBGA) สำหรับ Enterobacteria, MRS agar with 2% bromocresol purple สำหรับ Lactic acid bacteria และ Nutrient agar (NA) สำหรับ Total bacteria count (รายละเอียดส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด แสดงไว้ในภาคผนวก ก.) บ่มงานเพาะเชื้อของ MRS agar ไว้ในสภาพไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชม. งานเพาะเชื้อของ EMBA และ VRBGA บ่มไว้ในสภาพมีอากาศที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 24 ชม. ส่วนงานเพาะเชื้อของ NA บ่มไว้ในสภาพมีอากาศที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชม. ทำการนับและคำนวณจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียต่อกรัมของมูล (Sa-nguansook, 2002)

งานทดลองกระทำที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีวเทคโนโลยี คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เป็นเวลา 6 เดือน ช่วงระหว่างเดือนมิถุนายน 2547 ถึงพฤศจิกายน 2547

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) ด้วยแผนการทดลองแบบ Completely randomized block design โดยให้ชุดของแม่สุกรเป็น block ส่วนการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มใช้วิธี Duncan's new multiple range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 10.0.1 (กัลยา, 2542)