

Prince of Songkla University
ภาคผนวก
Pattani Campus

ภาคผนวก ก

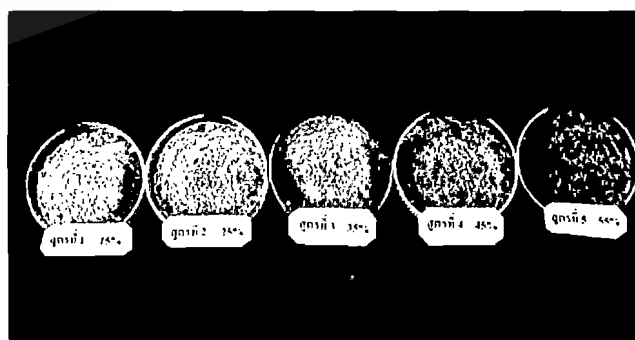
ภาพประกอบ



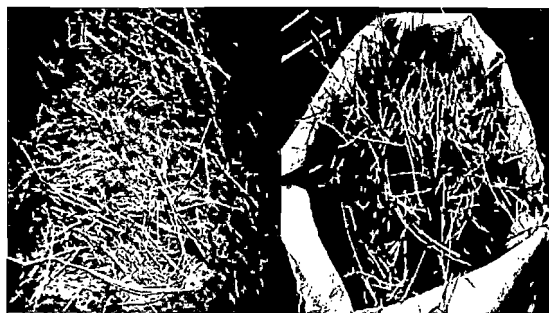
ภาพที่ 1 การชั่งน้ำหนักแพะ



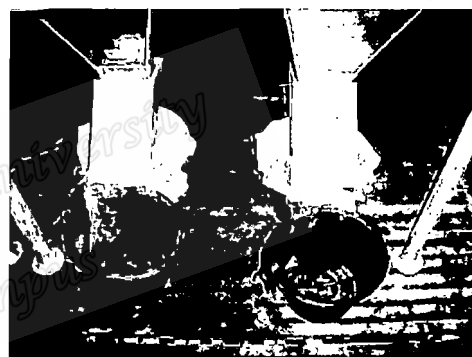
ภาพที่ 2 แพะทดลองในระยะปรับตัว
ในคอกขังเดี่ยว



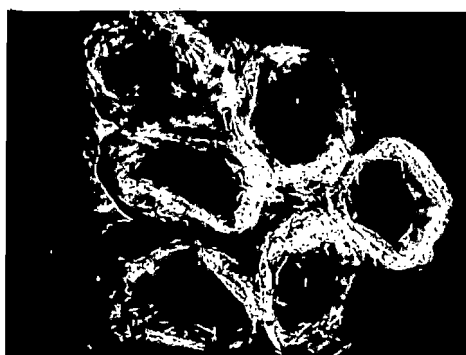
ภาพที่ 3 อาหารชั้นที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 4 หญ้าพลิกเคททุ้มแห้ง



ภาพที่ 5 กรงทดลองหาการย่อยได้



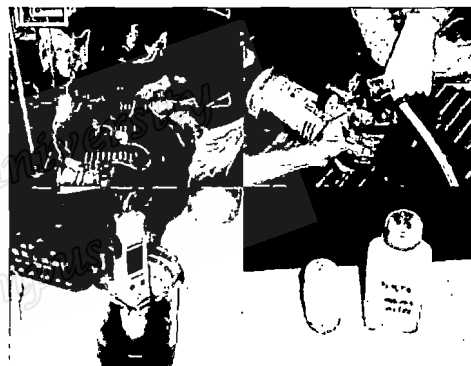
ภาพที่ 6 มูลแพะที่ขับออกในแต่ละวัน



ภาพที่ 7 ปัสสาวะเพาะที่จับออกในแต่ละวัน



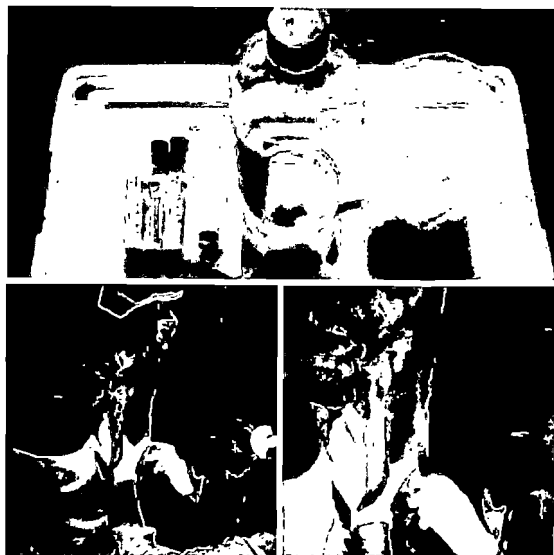
ภาพที่ 8 อุปกรณ์ในการเก็บของเหลวจาก
กระเพาะรูเมน



ภาพที่ 9 การเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมน



ภาพที่ 10 การวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง



ภาพที่ 11 อุปกรณ์ในการเก็บเลือด และการเก็บเลือด

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ภาคผนวก ข

การนับจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน โดยวิธีนับตรง (Total direct count)

การตรวจนับประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ได้แก่ แบคทีเรีย โปรโตซัว และ เชื้อรา โดยวิธีนับตรง (total direct count) ตามวิธีการของ Galyean (1989)

1. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

1.1. สารเคมี

- Normal saline (0.85 % w/v)
- Formalin (10 % v/v)
- น้ำกลั่น

1.2 อุปกรณ์

- Haemocytometer ขนาดกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 1 มิลลิเมตร และลึก 0.1 มิลลิเมตร
- ขวดพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง ขนาด 30 มิลลิลิตร
- สไลด์พร้อม clover grass
- บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
- กระดาษทิชชู
- ปิเปต
- กล้องจุลทรรศน์ (Model Olympus BX50)

2. การเตรียม 10% formalin in normal saline (fixing solution)

2.1 เตรียม normal saline ให้มีความเข้มข้น 0.85 % (W/V)

2.2 เตรียม formalin ให้มีความเข้มข้น 10 % (V/V) โดยใช้ normal saline (0.85 %)

เป็นตัวทำละลาย เช่น ถ้าต้องการเตรียม fix solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะต้องใช้ normal saline 90 มิลลิลิตร และ formaline 10 มิลลิลิตร

3. การเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษา

ทำการสุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนก่อนให้อาหาร (0 ชั่วโมง) และหลังให้อาหาร (4 ชั่วโมง) โดยนำของเหลวจากกระเพาะรูเมนปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดบรรจุ 10 % formalin in normal saline ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอนับจำนวนจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย, โปรโตซัว, และเชื้อรา ด้วยกล้องจุลทรรศน์รายละเอียดดังนี้

4. การนับจำนวนแบคทีเรีย (Bacterial count)

ทำการเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างของเหลวจากเดิม 10 เท่า เป็น 100 เท่า โดยการดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร ซึ่งทำให้ปลอดเชื้อโดยการนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่เจือจางแล้วจากหลอด หยดลงบน hamatocytometer วาง cover slip ปิดทับด้านบน ให้ตัวอย่างกระจายทั่ว แล้วทำการนับโดยนับจำนวน 20 ช่องเล็ก ใช้กำลังขยาย 400 เท่า ในแนวทแยงมุมและนับจำนวน 2 ซ้ำ แล้วนำมาคำนวณค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรแบคทีเรีย โดยใช้สูตร

$$Y = X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรแบคทีเรีย

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4×10^6

5. การนับจำนวนประชากรโปรโตซัว (Protozoal count)

ทำการนับจากตัวอย่างที่เก็บมาได้เลยโดยไม่ต้องทำการเจือจางอีก โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่า นับทั้งหมดใน 1 ช่องใหญ่ซึ่งประกอบด้วย 400 ช่องเล็ก ทำการนับ 2 ซ้ำ หลังจากนั้นทำการคำนวณประชากรโปรโตซัวโดยใช้สูตร

$$Y = X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรโปรโตซัว

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4×10^4

6. การนับจำนวนประชากรเชื้อรา (Fungal zoospores count)

ทำการนับประชากรเชื้อราเช่นเดียวกับโปรโตซัว แต่นับเพียง 25 ช่องกลาง ทำการนับ 2 ซ้ำ และคำนวณหาจำนวนประชากรเชื้อรา ดังนี้

$$Y = X \times F \times D$$

เมื่อ Y = จำนวนประชากรเชื้อรา

X = ค่าเฉลี่ยที่นับได้

D = dilution factor

F = square factor ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4×10^5

ภาคผนวก ก

น้ำหนักของแพะทดลองในแต่ละระยะเวลาการทดลอง

ระยะเวลาการทดลอง	แพะทดลอง				
	1	2	3	4	5
ระยะที่ 1	A	B	E	D	C
น้ำหนักเริ่มต้น	24.50	20.00	24.00	26.00	22.50
น้ำหนักสิ้นสุด	24.50	21.00	25.00	26.00	23.00
ระยะที่ 2	B	A	D	C	E
น้ำหนักเริ่มต้น	24.00	24.50	22.50	20.50	25.00
น้ำหนักสิ้นสุด	24.50	26.00	24.50	21.00	27.00
ระยะที่ 3	D	C	A	E	B
น้ำหนักเริ่มต้น	22.50	26.00	31.00	26.00	27.00
น้ำหนักสิ้นสุด	24.00	27.50	32.00	27.00	28.00
ระยะที่ 4	C	E	B	A	D
น้ำหนักเริ่มต้น	29.00	24.00	32.50	29.50	29.50
น้ำหนักสิ้นสุด	30.00	25.00	33.00	29.50	29.50
ระยะที่ 5	E	D	C	B	A
น้ำหนักเริ่มต้น	30.00	30.00	33.00	30.00	25.00
น้ำหนักสิ้นสุด	33.00	33.50	35.00	32.00	26.00

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษ A, B, C, D และ E คือ อาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ