บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. แพะลูกผสมพื้นเมืองไทย x แองโกลนูเบียนเพศผู้ อายุเฉลี่ยประมาณ 15-16 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 20±1 กิโลกรัม จำนวน 5 ตัว
2. โรงเรือนเลี้ยงแพะและกรงสำหรับการทดลองหาการย่อยได้ในตัวสัตว์ (metabolism cages) รางอาหาร และภาชนะใส่น้ำ
3. วัตถุดิบอาหารสัตว์ ประกอบด้วย ข้าวโพดป่น กากถั่วเหลือง กากเนื้อในเมล็ดปาล์ม-น้ำมัน เกลือ และไดแคลเซียมฟอสเฟตเป็นต้น
4. แร่ธาตุและวิตามินผสม
5. ยาถ่ายพยาธิภายนอกและภายในได้แก่ ไอเวอร์เมกติน, IDECTIN, ®The British Dispensary (L.P) CO., Ltd., ประเทศไทย)
6. วิตามินเอดีอี (AD_3E) บริษัท Woerden-Holland-P.O.B. 78
7. เครื่องชั่งอาหาร
8. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะ เช่น ถังพลาสติก ขวดพลาสติก ผ้าขาวบาง เครื่องชั่ง ถุงพลาสติก และยาง
9. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างอาหาร เช่น ขวดแก้ว ถุงพลาสติก และยาง
10. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างเลือด เช่น เข็มฉีดยา สำลี และหลอดพลาสติกปริมาตร 4 มิลลิลิตร
11. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน ได้แก่ บิกเกอร์ ขวดพลาสติก เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างยี่ห้อ HANNA instruments (HI 98153 microcomputer pH meter) กระบอกตวง stomach tube และ vacuum pump
12. เครื่องชั่งน้ำหนักแพะ
13. อุปกรณ์ในการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธีนับตรง ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 10x, 20x, และ 40x) ที่กดนับเม็ดเลือด และ hematocytometer

Prince of Songkla University Pattani Campus

14. สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธีประมาณ (proximate analysis)
15. สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธีdetergent method
16. ตู้อบ (hot air oven) ยี่ห้อ Binder รุ่น FED 720
17. เครื่องบด (Willy mill) ยี่ห้อ Dietz
18. เครื่องปั่นเหวี่ยงยี่ห้อ Hermel Z 230
19. อุปกรณ์ทำความสะอาดคอก ได้แก่ ไม้กวาด และแปรงถูพื้น

วิธีการทดลอง

1. อาหารและการเตรียมอาหารทดลอง

1.1 อาหารหยาบ

ใช้หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งของสถานีพัฒนาอาหารสัตว์จังหวัดสตูล เป็นอาหารหยาบหลัก โดยให้สัตว์กินแบบเต็มที่ (*ad libitum*)

1.2 อาหารข้น

อาหารข้นที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยอาหาร 5 สูตร โดยใช้กากเนื้อในเมล็ดปาล์ม-น้ำมันในสูตรอาหารในระดับ 15, 25, 35, 45 และ 55 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) อาหารข้นทั้ง 5 สูตรมีระดับโภชนะต่างๆตามคำแนะนำของ NRC (1981)

Prince of Songkla University Pattani Campus

JOHN F. KENNEDY LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY
PATTANI THAILAND

ตารางที่ 3 สัดส่วนของวัตถุดิบที่ใช้ประกอบสูตรอาหารข้น (เปอร์เซ็นต์ในสภาพให้สัตว์กิน) และคุณค่าทางโภชนะของอาหารข้น (เปอร์เซ็นต์บนฐานวัตถุแห้ง)

วัตถุดิบ	ระดับกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันในอาหารข้น(เปอร์เซ็นต์)				
	15	25	35	45	55
ข้าวโพดบด	60.00	58.36	50.41	42.24	28.80
รำอ่อน	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
กากถั่วเหลือง	15.54	5.64	2.89	0.17	-
กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน	15.00	25.00	35.00	45.00	55.00
ยูเรีย	-	1.00	1.10	1.20	1.20
กากน้ำตาล	1.46	2.00	2.00	2.00	5.00
เกลือ	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
แร่ธาตุ และวิตามินผสม[1]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
น้ำมันพืช	-	-	0.60	1.38	2.00
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
โภชนะโดยการคำนวณ[2]					
โปรตีน(เปอร์เซ็นต์)	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
โภชนะที่ย่อยได้รวม (เปอร์เซ็นต์)	80.88	79.21	79.00	79.00	79.00
ราคา (บาท/กก)[3]	11.18	10.31	10.10	9.94	9.93

หมายเหตุ:

[1]ประกอบด้วย วิตามินเอ 2.50 ล้านหน่วยสากล วิตามินดี 3 0.50 ล้านหน่วยสากล วิตามินอี 8,000 หน่วยสากล โคบอลต์ 0.08 กรัม ซีลีเนียม 0.08 กรัม ไอโอดีน 0.34 กรัม ทองแดง 4.00 กรัม แมงกานีส 17.00 กรัม สังกะสี 23.00 กรัม เหล็ก 27.00 กรัม โปแทสเซียม 31.00 กรัม และแมกนีเซียม 35.00 กรัม

[2]คำนวณจากตารางคุณค่าทางโภชนะของวัตถุดิบอาหารสัตว์ของกรมปศุสัตว์ (2547)

[3]กากเนื้อในเมล็ดปาล์ม 6.80 บาท/กิโลกรัม กากน้ำตาล 10.00 บาท/กิโลกรัม เกลือ 6.77 บาท/กิโลกรัมไดแคลเซียมฟอสเฟต 7.20 บาท/กิโลกรัม แร่ธาตุและวิตามินผสม 80 บาท/กิโลกรัม น้ำมันพืช 37.50 บาท/กิโลกรัม กากถั่วเหลือง 17.00 บาท/กิโลกรัมข้าวโพดบด 9.60 บาท/กิโลกรัม ยูเรีย 14 บาท/กิโลกรัม รำอ่อน 10.50 บาท/กิโลกรัม (ราคาวัตถุดิบที่สั่งซื้อโดยโรงผสมอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ณ วันที่ 25 มกราคม 2552)

Prince of Songkla University
Pattani Campus

636.3485
๐๒๗๓๗
๒๕๕๔

2.การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้แพะลูกผสมพื้นเมืองไทย x แองโกลนูเบียน เพศผู้ อายุเฉลี่ย 15-16 เดือน และมีน้ำหนักเฉลี่ย 20±1 กิโลกรัมจำนวน 5 ตัวมีสุขภาพสมบูรณ์ แข็งแรง ก่อนนำเข้าการทดลองทำการกำจัดพยาธิภายนอก และพยาธิภายในโดยใช้ยาถ่ายพยาธิไอเวอร์เมกติน (ไอเดกติก, IDECTIN,®The British Dispensary (L.P) CO., Ltd., ประเทศไทย) ขนาด 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 50 กิโลกรัม และฉีดวัคซีน โรคปากและเท้าเปื่อยและคอบวมแพะทุกตัวได้รับหญ้าพลิเคททูลั่มแห้งอย่างเต็มที่ร่วมกับอาหารข้นในระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เป็นเวลา 30 วัน เพื่อปรับให้แพะทุกตัวมีสภาพร่างกายที่ใกล้เคียงกัน

3. การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ 5 × 5 จัตุรัสลาติน (5 × 5 Latin squares design) โดยมีทรีทเมนต์ (treatment) คือ อาหารข้นสูตรต่างๆ และใช้หญ้าพลิแคททูลั่มแห้งเป็นอาหารหยาบหลักดังนี้

ทรีทเมนต์ที่ 1 อาหารข้นที่มีกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์
ทรีทเมนต์ที่ 2 อาหารข้นที่มีกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์
ทรีทเมนต์ที่ 3 อาหารข้นที่มีกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน ระดับ 35 เปอร์เซ็นต์
ทรีทเมนต์ที่ 4 อาหารข้นที่มีกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์
ทรีทเมนต์ที่ 5 อาหารข้นที่มีกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน ระดับ 55 เปอร์เซ็นต์

โดยสุ่มให้แพะแต่ละตัวได้รับอาหารที่กำหนด ในการทดลองได้แบ่งระยะเวลาการทดลองออกเป็น 5 ช่วงการทดลอง (period) แต่ละช่วงในเวลา 21 วัน ประกอบด้วยระยะปรับตัวสัตว์ 14 วัน และระยะเก็บข้อมูล 7 วัน รวมระยะเวลาทั้งหมด 105 วัน แผนผังการทดลองและการเก็บตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 4และภาพที่ 4

4. วิธีการทดลอง

4.1 การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ระยะ ดังนี้

4.1.1 ระยะปรับตัว (adaptation period) เป็นช่วงให้สัตว์มีความคุ้นเคยกับสภาพการทดลอง และอาหารก่อนเข้าสู่การทดลองจริงใช้ระยะเวลา 14 วัน ทำการสุ่มแพะทดลองตาม

แผนการทดลองแบบ 5×5 จัตุรัสลาติน โดยแพะแต่ละตัวอยู่ในกรงขังเดี่ยว มีรางอาหารหยาบอยู่ด้านหน้า รางอาหารข้นและรางน้ำอยู่ด้านในคอก จัดให้มีน้ำดื่มตลอดเวลา ให้แพะได้รับอาหารวันละ 2 ครั้ง คือ 08.00 นาฬิกา และ 16.00 นาฬิกา โดยให้อาหารข้นคิดเป็นวัตถุแห้งในปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว และให้อาหารหยาบแบบเต็มที่ทุกกลุ่มทดลอง ทำการวัดปริมาณอาหารที่กินได้อย่างอิสระ (voluntary feed intake) ในแต่ละวัน โดยชั่งอาหารที่ให้ และอาหารที่เหลือในช่วงเช้าของวันถัดไป

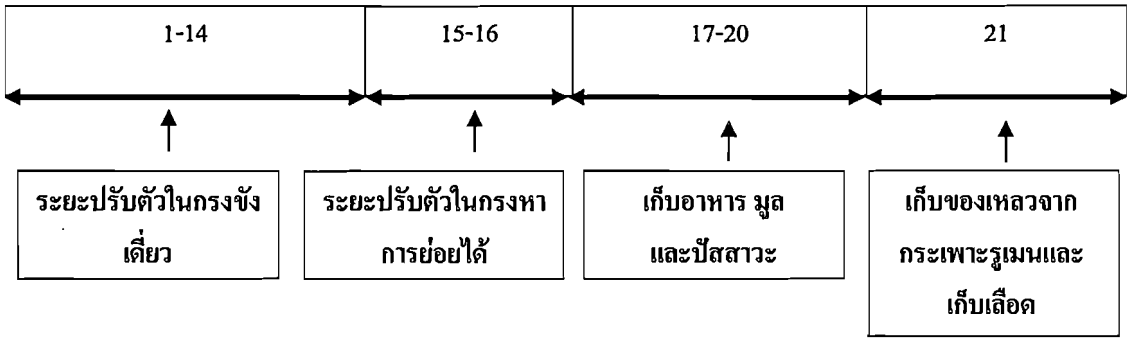
4.1.2 ระยะการทดลอง (experimental period) เป็นระยะเก็บข้อมูลใช้ระยะเวลา 7 วัน โดยสัตว์ทดลองอยู่บนกรงทดลองหาการย่อยได้ (metabolism cages) ให้แพะได้รับอาหารวันละ 2 ครั้ง คือ 08.00 นาฬิกา และ 16.00 นาฬิกา ให้อาหารข้นคิดเป็นวัตถุแห้งในปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว และให้อาหารหยาบเพียง 90 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณการกินได้ทั้งหมดในช่วงปรับตัวเพื่อให้สัตว์กินอาหารหมด โดยในช่วง 2 วันแรก ทำการปรับตัวสัตว์ให้คุ้นเคยกับกรงทดลองและในช่วง 5 วัน สุดท้ายทำการเก็บตัวอย่างอาหาร มูล และปัสสาวะ ติดต่อกัน 5 วัน และทำการเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมน (rumen fluid) และตัวอย่างเลือดในวันสุดท้ายของการทดลอง

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 4 แผนผังการทดลอง

ระยะเวลาการทดลอง	แพะทดลอง				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
ระยะที่ 1	A	B	E	D	C
ระยะที่ 2	B	A	D	C	E
ระยะที่ 3	D	C	A	E	B
ระยะที่ 4	C	E	B	A	D
ระยะที่ 5	E	D	C	B	A

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษ A, B, C, D และE คืออาหารทดลองทรีทเมนต์ที่ 1, 2, 3, 4 และ5 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 ระยะทดลองและการเก็บตัวอย่างในระหว่างการทดลอง

4.2 การเก็บตัวอย่างและการเก็บข้อมูล

4.2.1 การเก็บตัวอย่างอาหาร และการหาปริมาณการกินได้

4.2.1.1 การเก็บตัวอย่างอาหารทำการเก็บตัวอย่างอาหารหยาบในแต่ระยะการทดลองและตัวอย่างอาหารข้นทุกๆ ครั้งที่ทำการผสมอาหาร โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนๆ ละ 500 กรัม ดังนี้

ส่วนที่ 1 ชั่งน้ำหนักและนำมาอบที่อุณภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้งและนำมาปรับปริมาณอาหารที่ให้สัตว์กิน

ส่วนที่ 2 นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72ชั่วโมง แล้วนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

4.2.1.2 บันทึกปริมาณการกินได้ของหญ้าแห้งและอาหารข้น โดยทำการชั่งน้ำหนัก และบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือในวันถัดไป แล้วนำมาคำนวณปริมาณการกินได้ในแต่ละวัน

4.2.2 การสุ่มเก็บตัวอย่างมูล

ชั่งและบันทึกน้ำหนักมูลที่ขับออกมาทั้งหมดในแต่ละวันในช่วงเช้าก่อนให้อาหาร ทำการคลุกมูลทุกส่วนให้เข้ากันและแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 สุ่มเก็บประมาณ 100 กรัม นำไปอบในตู้อบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของมูลที่ขับถ่ายออกมาในแต่ละวัน

ส่วนที่ 2 สุ่มเก็บไว้ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักมูลทั้งหมดในแต่ละวัน นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง และเก็บใส่ถุงไว้ ทำเช่นนี้จนครบ 5 วัน นำมูลทั้งหมดมาคลุกให้เข้ากัน ทำการสุ่มเก็บอีกครั้งประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ นำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี และคำนวณหาค่าการย่อยได้ตามวิธีการของ Schnieder และ Flatt (1975)

4.2.3 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

บันทึกปริมาตรปัสสาวะที่ขับออกมาทั้งหมดของแพะแต่ละตัวในแต่ละวันในช่วงเช้าก่อนให้อาหาร โดยใช้ถังพลาสติกที่เติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ (1 M H_2SO_4) เพื่อให้ปัสสาวะมีสภาพเป็นกรด (pH < 3)ป้องกันการสูญเสียไนโตรเจนเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ (เมธา, 2533)จดบันทึกปริมาตรปัสสาวะทั้งหมดที่ได้ในแต่ละวันและทำการสุ่มเก็บไว้ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของปัสสาวะทั้งหมด เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนครบ 5 วัน แล้วจึงนำตัวอย่างปัสสาวะของแพะแต่ละตัวทั้ง 5 วันมารวมกัน ทำการสุ่มอีกครั้งประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของปัสสาวะทั้งหมด เก็บใส่ขวดพลาสติกนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน (AOAC, 1990)

4.2.4 การสุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน(rumen fluid)

สุ่มตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมนของสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่มทดลองก่อนให้อาหาร (0 ชั่วโมง) และหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมงโดยใช้ stomach tube ร่วมกับ vacuum pump ในวันสุดท้ายของระยะทดลอง สุ่มเก็บปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างทันที หลังจากนั้นแบ่งของเหลวจากกระเพาะรูเมนออกเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 สุ่มเก็บปริมาตร 60 มิลลิลิตร ใส่ขวดพลาสติกปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติม 1 โมลาร์ H_2SO_4จำนวน 1 มิลลิลิตรต่อของเหลวจากกระเพาะรูเมน 10 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บเอาเฉพาะส่วนใส (supernatant) เก็บไว้ประมาณ 30มิลลิลิตร ใส่ขวดพลาสติกแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจน กรดไขมันที่ระเหยง่ายทั้งหมด (total volatile fatty acid, TVFA) และกรดไขมันที่ระเหยง่ายที่สำคัญ ได้แก่ กรดแอซิติก (acetic acid, C_2) กรดโพรพิออนิก (propionic acid, C_3) และกรดบิวทิริก (butyric acid, C_4) เป็นต้น

ส่วนที่ 2 สุ่มเก็บปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดพลาสติกขนาด 30 มิลลิลิตรที่บรรจุฟอร์มาลิน (formalin) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (10 % fomalin solution in 0.9 % normal saline) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาตรวจนับประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน ได้แก่ แบคทีเรีย โปรโตซัว และเชื้อรา โดยวิธีนับตรง (total direct count) ตามวิธีการของ Galyean (1989)

4.2.5 การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดก่อนให้อาหาร (0 ชั่วโมง) และหลังให้อาหาร 4 ชั่วโมงในวันสุดท้ายของการเก็บข้อมูล จากเส้นเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (jugular vain) แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนที่

1 เก็บปริมาตร 3 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด ส่วนที่ 2 เก็บปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (pack cell volumn, PCV) และส่วนที่ 3 เก็บปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของกลูโคสในเลือด

4.2.6 การชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลอง

ทำการชั่งน้ำหนักสัตว์ทดลอง3 ครั้งในแต่ละช่วงการทดลองคือ ก่อนเข้างานทดลอง หลังจากปรับสัตว์ และหลังจากสิ้นสุดการทดลองในแต่ละช่วงการทดลองทำการจดบันทึกเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลอง

4.2.7 การคำนวณหาสัมประสิทธ์การย่อยได้ของโภชนะปริมาปริมาณโภชนะที่ได้รับ(digestible nutrient intake)โภชนะที่ย่อยได้รวม (total digestible nutrient, TDN)และ สมดุลของไนโตรเจน โดยใช้สูตรดังนี้

สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{โภชนะที่สัตว์ได้รับ} - \text{โภชนะในมูล}}{\text{โภชนะที่ได้รับ}} \times 100$$

ปริมาณโภชนะที่ย่อยได้ที่ได้รับ (กิโลกรัม/วัน)

= สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะx ปริมาณโภชนะที่ได้รับ

โภชนะที่ย่อยได้รวม(เปอร์เซ็นต์)

$$TDN = DCP + DCF + DNFE + (2.25 \times DEE)$$

เมื่อ DCP = โปรตีนรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

DDF = เยื่อใยรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

DNFE = ไนโตรเจนฟรเอกซ์แทรกที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

DEE = ไขมันรวมที่ย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์)

สมดุลไนโตรเจน (กรัม/วัน)

= ปริมาณไนโตรเจนที่สัตว์กิน (กรัม/วัน)- (ปริมาณไนโตรเจนในมูล (กรัม/วัน) + ปริมาณไนโตรเจนในปัสสาวะ(กรัม/วัน))

Prince of Songkla University Pattani Campus

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าแห้ง อาหารข้น และมูล ได้แก่ วัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีนรวม ไขมันรวม เยื่อใยรวม และเถ้า โดยใช้วิธี Proximate analysis (AOAC, 1990) สำหรับการวิเคราะห์ผนังเซลล์ ลิกโนเซลลูโลส และลิกนิน ดัดแปลงตามวิธีการของ Goering และVan Soest (1970) การวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวในกระเพาะรูเมน โดยการกลั่น ตามวิธีการของ Bermnerและ Keeney (1965)

การวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยง่าย ในของเหลวจากกระเพาะรูเมนส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสงขลา อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา โดยใช้ Gas Chromatography Agilent 6890n คอลัมน์ DB-FFAP ขนาดยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร หนา 0.25 ไมโครเมตร โดยดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ตามวิธีของ Josefaและคณะ (1999)

สำหรับการวิเคราะห์หาระดับยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และระดับกลูโคสในเลือด ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่คลินิกหาดใหญ่แล็บ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัด สงขลา โดยทั้งนี้การวิเคราะห์หาระดับยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด ใช้วิธีการ Urea two steps enzymatic colorimetric test โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูป Urea Liquicolorของบริษัท Diagnostic ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน การวิเคราะห์ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดใช้วิธี GOD-PAPmethod โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูป Glucose Liquicolor ของบริษัท Human ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมันส่วนการวิเคราะห์ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นใช้วิธีการ Centrifuge (Heamatocrit 24)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลปริมาณอาหารที่กินได้ สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ สมดุลไนโตรเจน ระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจน และกรดไขมันที่ระเหยง่ายในของเหลวในกระเพาะรูเมน จำนวนประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และระดับยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และความเข้มข้นของกลูโคสในเลือด มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ 5×5 จัตุรัสลาติน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1981) และวิเคราะห์แนวโน้มการตอบสนองจากค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Orthogonal polynomial