# บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การวิจัยแบ่งออกเป็น 3 การทดลอง การทดลองที่ 1 หาอัตราส่วนฟางอัดฟ่อน: น้ำที่เหมาะสม เมื่อใช้ยูเรียในอัตราร้อยละ 6 ของน้ำหนักฟาง นอกจากนี้หาวิธีการผึ่งฟางแห้งที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบการผึ่งในร่มและผึ่งกลางแดด เป็นเวลาที่ต่างกันที่ 2 , 4 และ 6 ชั่วโมง การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของอาหารหยาบผสมที่ใช้ฟางหมักยูเรีย หญ้ารูซี่แห้งและข้าวโพดหมักเสริมหญ้ารูซี่แห้งเป็นหลัก ส่วนการทดลองที่ 3 ศึกษาผลการนำฟางอัดฟ่อนหมักยูเรียเป็นอาหารหยาบหลักเสริมแหล่งโปรตีนและพลังงานเพื่อผลิตอาหารหยาบผสมใช้เลี้ยงโครีดนม

**การทดลองที่ 1 อัตราส่วนฟางอัดฟ่อน : น้ำ ที่เหมาะสมเมื่อใช้ยูเรีย 6% ของน้ำหนักฟาง**

**ก. การหมักฟางอัดฟ่อน**

1. ฟางอัดฟ่อน ที่ใช้เป็นฟางข้าวเหนียวที่ได้จากการนวดด้วยเครื่องแล้วอัดเป็นฟ่อนในแปลงนาของเกษตรกร โดยใช้เครื่องอัดฟ่อนของสถานีวิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์พะเยา ฟางอัดฟ่อนที่ได้มีขนาดกว้าง 40 ซม. สูง 30 ซม. ยาว 70 ซม. มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 7.34 กก. โดยผันแปรระหว่าง 7.10 – 7.58 กก.

2. น้ำ ที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำบาดาลปริมาตรผันแปรตามน้ำหนักฟาง ตั้งแต่ 50% , 75% และ 100% ของน้ำหนักฟาง โดยชั่งน้ำที่ใช้ตามต้องการนำไปละลายยูเรียในอัตรา 6% ของน้ำหนักฟาง แล้วเทน้ำละลายยูเรียลงในฝักบัวราดลงบนฟ่อนฟางที่วางบนพลาสติก จากนั้นนำฟ่อนฟางไปชั่งหาน้ำหนักน้ำที่ถูกดูดซับ

น้ำที่ถูกดูดซับเท่ากับ (นน. ฟ่อนฟาง + น้ำที่ถูกดูดซับ) - น้ำหนักฟ่อนฟางเริ่มต้น

3. แผนการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แบ่งเป็น 3 ทรีทเมนต์ ดังนี้คือ ทรีทเมนต์ที่1 ฟางอัดฟ่อน :น้ำ : ยูเรีย อัตราส่วน 100 : 50 : 6 โดยน้ำหนัก ทรีทเมนต์ที่ 2 อัตราส่วน 100:75:6 โดยน้ำหนักและ ทรีทเมนต์ที่ 3 อัตราส่วน 100 :100 : 6 โดยน้ำหนัก แต่ละทรีทเมนต์มี 7 ซ้ำ ทำซ้ำละ 1 ฟ่อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**ข. ระยะเวลาและวิธีการตากที่เหมาะสม**

1.นำฟางอัดฟ่อนที่หมักมาแล้ว 21 วัน ดังกล่าวข้างต้นมาแกะเชือกรัดแล้วนำไปผึ่ง โดยใช้วิธีการผึ่ง 2 แบบ คือ ผึ่งในร่ม และผึ่งแดด ใช้ระยะเวลาผึ่ง 3 ระยะคือ 2 , 4 และ 6 ชั่วโมง ใช้แผนการทดลอง 3 x 2 x 3 แฟคตอเรียล ในแผน CRD หลังจากนั้นนำฟางหมักที่ทดลองมาหาเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งและเก็บตัวอย่างไว้ในตู้แช่แข็งเพื่อรอวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยวิธี Proximate analysis (AOAC., 1984), Detergent method (Goering and Van Soest, 1970) การหาปริมาณแอมโมเนียและยูเรียที่ตกค้างในฟางคือนำฟางตัวอย่างที่แช่แข็งมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดไม่เกิน 1 เซนติเมตรใส่ตัวอย่างที่มีน้ำหนัก 3 กรัม ลงในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำกลั่นลงไป 100 ซีซี แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นนาน 5 นาที นำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นโปรตีนและเก็บส่วนที่ควบแน่นไปไตรเตรตหาค่าแอมโมเนียและใช้วิธีหักลบเพื่อคำนวณหาค่ายูเรียที่ตกค้าง

2. นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบ CRD ในการทดลอง ก และวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลอง แบบ 3x2x3 Factorial in CRD รวมทั้งหาปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยหลักในการทดลอง ทั้ง 2 การทดลองทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Scheffe's Multiple Contrast (SMC)

**การทดลองที่ 2 การย่อยสลายของอาหารหยาบผสมในกระเพาะรูเมนหาโดยวิธีใช้ถุงไนล่อน**

**ก. สัตว์ทดลอง**

ใช้โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียน ระดับสายเลือด 87.5% ที่เจาะกระเพาะรูเมนแล้วระยะแห้งนม ไม่อุ้มท้อง อายุประมาณ 4 – 5 ปี จำนวน 3 ตัว เลี้ยงที่คอกสัตว์ทดลองของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ แบบซองขังเดี่ยวผูกยืนโรง ด้านหน้าเป็นรางอาหาร มีรางน้ำอัตโนมัติที่โคสามารถกินได้ตลอดเวลา บริเวณพื้นคอกที่โคยืนรองด้วยแผ่นยาง เพื่อป้องกันปัญหากีบรวมทั้งบริเวณขาและข้อเข่า

การให้อาหารข้นเป็นอาหารผสมสำเร็จรูปชนิดอัดเม็ดที่มีโปรตีน 20% ให้กินตัวละ 2 กก. ต่อวัน วันละ 2 ครั้ง (06.30 น. และ 15.30 น.) ส่วนอาหารหยาบให้แบบเต็มที่โดยให้กินข้าวโพดหมักผสมหญ้ารูซี่แห้งอัตราส่วน 12 : 1 โดยน้ำหนัก

**ข. การเตรียมอาหารทดลอง**

เตรียมอาหารผสม 3 สูตรคือ ฟางหมักยูเรียเสริมแหล่งโปรตีน พลังงาน (T1) หญ้ารูซี่แห้งเสริมแหล่งโปรตีน พลังงาน (T2) และข้าวโพดหมักเสริมหญ้ารูซี่แห้ง(T3) ดังแสดงตาราง 3.1 ในการทดลองที่ 3 นำตัวอย่างอาหารไปอบในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 60 $^{0}$C นาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดผ่านรูตะแกรงขนาด 2 มม. ทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหาร จำนวน 3 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บรรจุลงในถุงไนล่อน ขนาด 70 x 150 มม. ซึ่งมีขนาดรูประมาณ 40 ไมครอน แล้วใช้เชือกไนล่อนขนาดเล็กยาวประมาณ 15 ซม. วางบนปากถุง พับปากถุงรัดด้วยยางรัด และนำถุงที่รัดปากแล้วไปผูกติดกับเชือกร่มที่ทำห่วงไว้ ยาวประมาณ 1.50 เมตร แล้วถ่วงน้ำหนักด้วยน๊อตตัวเมียกันสนิมไว้ตรงส่วนกลางของเชือก อาหารทดลองแต่ละชนิดมีจำนวน 18 ถุง/ตัว โดยนำอาหารไปหย่อนลงในกระเพาะโคทุกตัวเป็นระยะเวลานานต่างกัน 6 ระยะ คือ 4, 8, 12, 24, 48 และ 72 แต่ละระยะเวลาทำ 3 ถุง เมื่อครบกำหนดเวลานำถุงออกจากกระเพาะรูเมน นำไปซักล้างด้วยน้ำที่สะอาดแล้ว จึงนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 $^{0}$C นาน 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างอาหารออกมาจากตู้อบใส่ลงในโถดูดความชื้นปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ทำการชั่งตัวอย่างอาหารแล้วบันทึกน้ำหนักไว้

**ค. การวิเคราะห์ผลการทดลอง**

นำข้อมูลที่บันทึกไว้ไปหาค่าการย่อยสลายของวัตถุแห้งของอาหารที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน ไปเข้าโปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY (Orskov *et al*, 1988)ได้สมการ exponential, $P= a+b ( 1- e^{-ct} )$ เมื่อ P = ค่าการย่อยสลายของโภชนะที่เวลา t , a = ค่าของเส้นกราฟที่ตัดแกนy, b=(A+B) – a และ c = อัตราการย่อยสลาย ในโปรแกรมสำเร็จรูปดังกล่าว และได้ค่าอื่นด้วย คือA= ส่วนที่ละลายได้ทันที ( immediately soluble fraction), B = ส่วนที่ไม่ละลายแต่สามารถหมักย่อยได้ (insoluble but potentially fermentable fraction), A+B = ค่าการย่อยสลายสูงสุด และ L= ระยะเวลาที่รอให้จุลินทรีย์เข้าย่อยสลาย ส่วนค่าการละลายของตัวอย่างอาหารหาโดยนำถุงบรรจุตัวอย่างมาแช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 39$^{0}$C นาน 1 ชม. แล้วนำไปล้างและอบแห้งเช่นเดียวกับตัวอย่างอื่นเพื่อคำนวณหาส่วนที่ละลายได้หรือส่วนที่หายไปเนื่องจากการชะล้าง(washing loss, A ) ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**การทดลองที่ 3 การใช้ฟางอัดฟ่อนหมักยูเรียเสริมด้วยโปรตีนและพลังงานเป็นอาหารหยาบผสมเพื่อเลี้ยงโครีดนม**

**ก. สัตว์ทดลอง**

ใช้แม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนระดับสายเลือด 87.5 % จำนวน 6 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 500 กก. จำนวนวันที่ให้นมมาแล้ว 120 วัน ให้น้ำนมประมาณ 18 กก. ระยะการให้นมที่ 3 อายุ 4-6 ปี เลี้ยงที่คอกสัตว์ทดลองของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ แบบซองขังเดี่ยวผูกยืนโรง ด้านหน้าเป็นรางอาหาร มีรางน้ำอัตโนมัติที่โคสามารถกินได้ตลอดเวลา บริเวณพื้นคอกที่โคยืนรองด้วยแผ่นยาง เพื่อป้องกันปัญหากีบรวมทั้งบริเวณขาและข้อเข่าของโค การรีดนมใช้เครื่องรีดนมแบบลงถังรายตัว( bucket type ) และรีดนมวันละ 2 ครั้ง (05.00 น. และ 15.30 น.)

**ข. อาหารทดลองและการให้อาหาร**

โคทดลองจะได้รับอาหารหยาบผสม ในแต่ละทรีทเมนต์ ดังนี้ ทรีทเมนต์ที่1 ประกอบด้วย ฟางหมักยูเรีย ข้าวโพดบด กากน้ำตาล รำ และกากถั่วเหลือง ทรีทเมนต์ ที่2 ประกอบด้วยหญ้ารูซี่แห้ง กากน้ำตาล รำ และกากถั่วเหลือง ทรีทเมนต์ ที่3 ประกอบด้วย ข้าวโพดหมัก หญ้ารูซี่แห้ง โดยฟางหมักยูเรียและหญ้ารูซี่แห้ง ที่ใช้ในการทดลองจะนำมาหั่นสับเป็นท่อนยาวประมาณ 2 นิ้วด้วยเครื่องสับพืชอาหารสัตว์ก่อนนำไปผสมกับส่วนอื่น

สัดส่วนของอาหารหยาบผสมและอาหารข้นในแต่ละทรีทเมนต์คำนวณโดยใช้โปรแกรม XRATION (สมคิด, 2542) กำหนดให้ปริมาณโภชนะผันแปรไม่เกิน 5 % จากความต้องการโภชนะของโคนมที่ให้ผลผลิตน้ำนมประมาณ 18 กิโลกรัมต่อวัน ตามคำแนะนำของ NRC (1988) ทั้งนี้ได้คำนึงถึงน้ำหนักตัวก่อนการทดลองด้วย สูตรอาหารที่ใช้มีเยื่อใย (ADF) ประมาณ 22-24 เปอร์เซ็นต์

วิธีการผสมอาหารหยาบกับอาหารเสริมโปรตีนและพลังงานเพื่อผลิตอาหารหยาบผสมโดยการนำ ฟางหมักยูเรียหรือหญ้ารูซี่แห้งที่หั่นแล้วมากองลงบนพื้นซีเมนต์โรยด้วยกากน้ำตาล ข้าวโพดบด รำและกากถั่วเหลืองตามลำดับ แล้วใช้ส้อมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ส่วนการเตรียมอาหารหยาบผสมทรีทเมนต์ที่ 3 โดยกองข้าวโพดหมักลงบนพื้นซีเมนต์แล้วใช้หญ้ารูซี่แห้งที่หั่นแล้วผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน

อาหารข้นที่ใช้ในการทดลอง เป็นอาหารผสมสำเร็จรูปชนิดอัดเม็ดจากบริษัทที่ผลิตจำหน่าย โดยระบุว่ามีโปรตีน 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนประกอบของอาหารแต่ละทรีทเมนต์และปริมาณการให้อาหารจากการคำนวณ แสดงในตาราง 3.1 ให้โคได้รับอาหารข้นวันละ 3 เวลาคือ 06.30, 11.30 และ 16.00 น. ส่วนอาหารหยาบผสมให้กินตามปริมาณที่กำหนด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**ตาราง 3.1** ส่วนประกอบของอาหารหยาบผสม และปริมาณอาหารที่โคได้รับในแต่ละวัน

**Table 3.1** Composition of mixed roughages and amount of daily total feed offered to cows

| | T1 | | T2 | | T3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | kg./day[1] | (%) | kg./day[1] | (%) | kg./day[1] | (%) |
| Urea treated straw | 9.0 | 73.77 | - | | - | |
| Ruzi hay | - | | 8.0 | 71.43 | 2.0 | 8.62 |
| Corn silage | - | | - | | 21.2 | 91.38 |
| Molasses | 0.8 | 6.56 | 0.8 | 7.14 | - | |
| Ground corn | 1.2 | 9.84 | 1.2 | 10.71 | - | |
| Rice bran | 1.0 | 8.19 | 1.0 | 8.93 | - | |
| Soybean meal | 0.2 | 1.64 | 0.2 | 1.79 | - | |
| Total | 12.2 | 100 | 11.2 | 100 | 23.2 | 100 |
| Concentrate | 9.0 | | 9.0 | | 9.0 | |

[1] as fed basis

**ค. แผนการทดลอง**

วางแผนการทดลองแบบ Balanced design เนื่องจากไม่สามารถจัดระยะพักระหว่างทรีทเมนต์ได้ เพราะโคต้องถูกรีดนมอย่างต่อเนื่อง จึงได้วางแผนสำรวจผลตกค้าง (residual effect) โดยวางทรีทเมนต์สลับกันใน 2 สแควร์ (Balanced design) (จรัญ, 2540) โดยใช้โคนมสแควร์ละ 3 ตัว รวม 6 ตัว ทำการทดลอง 3 ระยะ แต่ละระยะใช้เวลา 15 วัน ดังผังการจัดกลุ่มโคในตาราง 3.2 โดยมีช่วงให้สัตว์ปรับตัวเข้ากับอาหารเป็นเวลา 7 วันส่วนอีก 8 วันหลังเป็นช่วงเก็บข้อมูล ทำการบันทึกข้อมูล เก็บตัวอย่างอาหารและน้ำนม รวมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและน้ำนมด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**ตาราง 3.2** การจัดกลุ่มโคทดลอง

**Table 3.2** Experimental cow arrangement

| | Cow no. 1 | Cow no. 2 | Cow no. 3 | Cow no. 4 | Cow no. 5 | Cow no. 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 |

**ง. การวิเคราะห์ผลการทดลอง**

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ Balanced design และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Scheffe 's Multiple Contrast

**สถานที่ทำการวิจัย**

1. ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธ์สัตว์เชียงใหม่ ต.ยุหว่า อ.สันป่าตอง จ. เชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. คอกสัตว์ทดลองของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธ์สัตว์เชียงใหม่

**ระยะเวลาในการทดลอง**

มีนาคม 2548 ถึง มีนาคม 2549 ใช้เวลาในการวิจัยประมาณ 12 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved