

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาวิธีการผลิตไบโอมันสำปะหลังหมักและประเมินค่าพลังงาน

ทำการปลูกมันสำปะหลัง โดยใช้ท่อนพันธุ์ระยะของ 90 ปลูกในแปลงที่มีการไถแบบไม่ยก ร่องจำนวน 2 แปลง เนื้อที่รวม 7 ไร่ ระยะปลูก 50 x 50 เซนติเมตร ให้ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ในครั้งแรกของการปลูก และหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตทุกครั้ง เก็บเกี่ยวไบโอมันสำปะหลังเมื่อต้นมันอายุประมาณ 3 เดือนและตัดหลังจากนั้นทุกๆ 2 เดือน โดยหักยอดยาว ประมาณ 30 - 50 เซนติเมตร เพื่อนำไปและก้านสดไปใช้ในการหมักและทำแห้ง

1.1 วิธีที่เหมาะสมในการหมักไบโอมันสำปะหลัง

- การวางแผนการทดลอง

วางแผนแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 5 ซ้ำ แต่ละกลุ่มใช้ไบโอมันสำปะหลังรวมก้านสด 1 กิโลกรัมหมักร่วมกับสารช่วยหมักต่างๆ ดังนี้

กลุ่ม 1. ไม่ใช้สารเสริมช่วยหมัก ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม

กลุ่ม 2. ใช้มันเส้นบด 200 กรัม และน้ำ 200 กรัม เป็นสารช่วยหมัก

กลุ่ม 3. ใช้รำละเอียด 200 กรัม และน้ำ 200 กรัม เป็นสารช่วยหมัก

กลุ่ม 4. ใช้กากน้ำตาล 50 กรัม ละลายในน้ำ 50 กรัม เป็นสารช่วยหมัก

- วิธีการหมัก

หันไบโอมันสำปะหลังรวมก้านสดเป็นชิ้นขนาด 2.5 - 5 เซนติเมตร ผสมกับสารช่วยหมัก ตามที่กำหนดไว้ในแต่ละกลุ่ม บรรจุในถุงพลาสติกใสขนาด 12 x 15 นิ้ว 2 ชั้น ดูดอากาศออกด้วย เครื่องปั๊มสุญญากาศเพื่อให้มีสภาพไร้ออกซิเจน แล้วรัดปากถุงให้แน่นด้วยยางรัด และเก็บไว้ในร่ม ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน

- การประเมินคุณภาพและส่วนประกอบของไขมันหมักในสภาพสด

ก. ประเมินคุณภาพด้วยประสาทสัมผัส (Gross, 1982 อ้างโดยบุญล้อมและคณะ, 2543) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก 1

ข. วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีการของ Bal *et al.*, (1997) โดยนำตัวอย่าง 50 กรัมผสมกับน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นในโถปั่น (blender jar) เป็นเวลา 2 นาที กรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำน้ำที่กรองได้ไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย glass electrode pH meter ยี่ห้อ Eutech cybermetics รุ่น pH1000 โดยใช้ standard pH 4 และ 7 เป็นตัวปรับเครื่อง

ค. วัดปริมาณกรดอินทรีย์โดยวิธีการกลั่น (Zimmer, 1966 อ้างโดยบุญล้อมและบุญเสริม, 2525) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก 2

ง. วิเคราะห์กรดไฮโดรไซยานิก (HCN) โดยวิธีการกลั่น (AOAC, 1984) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก 3

- การหาค่าการสูญเสียวัตถุแห้งระหว่างการหมัก (dry matter loss)

นำไขมันสำปะหลังหมักมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง (Nagel and Broderick, 1992) ทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียวัตถุแห้งจากสูตร

$$\text{DM loss (\%)} = \frac{\{(DM \times \text{weight}/100)_{\text{before ensiling}} - (DM \times \text{weight}/100)_{\text{after ensiling}}\} \times 100}{(DM \times \text{weight}/100)_{\text{before ensiling}}}$$

- การหาส่วนประกอบทางเคมี

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Proximate analysis (AOAC, 1984) และวิเคราะห์เยื่อใยโดยวิธี Detergent method (Göring and Van Soest, 1970)

1.2 ประเมินค่าพลังงานของไขมันต่ำปะหลังหมักโดยวิธี *in vitro* gas production technique

สัตว์ทดลองและคอกทดลอง

ใช้แม่โคลูกผสมโฮลสไตน์ฟริเซียนสายเลือด 75% ขึ้นไป ที่เจาะกระเพาะรูเมนไว้แล้ว (fistulated cow) อยู่ในระยะท้องว่างและไม่ให้นม จำนวน 3 ตัว เลี้ยงในชองขังเดี่ยวผูกยืนโรง มีที่ให้น้ำอัตโนมัติและมีรางอาหารอยู่ด้านหน้าตัวโค แม่โคดังกล่าวนี้เตรียมไว้สำหรับเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนมาใช้ในการศึกษา ก่อนทำการเก็บให้แม่โคได้รับอาหารหยาบคือ หญ้าหมักร่วมกับอาหารข้น อัตราส่วน 60 : 40 เป็นเวลา 2 สัปดาห์

อาหารและวิธีการทดลอง

ใช้ไขมันต่ำปะหลังหมักในข้อ 1.1 นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ซึ่งตัวอย่างประมาณ 200 มิลลิกรัม นำมาประเมินค่าการย่อยได้และค่าพลังงานด้วยวิธีวัดปริมาตรแก๊ส ตามวิธีของ Menke and Steingass (1988) ซึ่งแสดงไว้ในภาคผนวก 3

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้อามาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Scheffe's Multiple Contrasts (SMC) และวิเคราะห์สหสัมพันธ์ โดยใช้โปรแกรม SPSS version 10 (กัลยา, 2542)

การทดลองที่ 2 การใช้ไขมันแห้งและหมักในอาหารหยาบผสมคุณภาพดีสำหรับเลี้ยงโครีดนม

สัตว์ทดลองและคอกทดลอง

ใช้โคลูกผสมโฮลสไตน์ฟริเซียนระดับสายเลือด 87.5% จำนวน 6 ตัว น้ำหนักประมาณ 504.5 ± 45.4 กิโลกรัม อยู่ในระยะการให้นมที่ 2 และ 3 อายุ 4 - 6 ปี โดยให้นม 143.5 ± 25.4 วัน ให้น้ำนมประมาณ 16.43 ± 2.73 กิโลกรัม เลี้ยงในคอกขังเดี่ยวผูกยืนโรง มีที่ให้น้ำอัตโนมัติและรางอาหารอยู่ด้านหน้าตัวโค บริเวณที่ให้โคยืนรองด้วยผ้าขี้ด้าหนาประมาณ 1 เซนติเมตร เพื่อป้องกันการเกิดบาดแผลบริเวณขาของโคเนื่องจากการลุกขึ้นหรือนอน

อาหารทดลอง

ให้โคได้รับหญ้าที่แห้งเป็นอาหารหลัก หญ้าแห้งที่ใช้เป็นหญ้าที่ผลิตโดยวิธีตากแดดแล้วอัดฟ่อนเพื่อใช้เป็นอาหารสำรองตามปกติของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ นำหญ้างัดกล่าวนำมาสับเป็นท่อนยาวประมาณ 2 นิ้ว ด้วยเครื่องสับก่อนนำไปทำเป็นอาหารหยาบผสม 3 สูตร โดยทุกสูตรมีการเสริมแหล่งพลังงานและโปรตีน คือกากน้ำตาล ข้าวโพดบด รำ และกากถั่วเหลือง ร่วมกับหญ้าที่แห้งเหมือนกัน แต่สูตร 2 และ 3 ใช้ใบมันสำปะหลังแห้งและใบมันสำปะหลังหมัก ทดแทนรำและกากถั่วเหลืองบางส่วน

ใบมันสำปะหลังแห้งเตรียมโดยใช้ใบมันรวมกันสดจากแปลงเดียวกับที่ใช้ในการทดลองที่ 1 โดยหักยอดยาวประมาณ 30 - 50 เซนติเมตร นำมาหั่นเป็นชิ้นขนาด 2.5 - 5 เซนติเมตร แล้วตากแดด กลับวันละ 2 - 3 ครั้ง ตากประมาณ 2 วันจนแห้ง แล้วเก็บใส่ถุงไว้ใช้ตลอดการทดลอง

ใบมันสำปะหลังหมักเตรียมโดยใช้ใบมันสดที่ปลูกแปลงเดียวกับที่ใช้ทำใบมันแห้ง โดยหักยอดยาวประมาณ 30 - 50 เซนติเมตร หั่นเป็นชิ้นประมาณ 2.5 - 5 เซนติเมตรเช่นเดียวกัน แต่นำมาผสมกับสารเสริมที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 คือใบมันหมักร่วมกับรำละเอียดในอัตราส่วน 100 : 20 บรรจุในถังพลาสติกขนาด 120 ลิตรที่มีฝาปิดล็อก ทำการเหยียบให้แน่นและปิดฝาให้สนิท แล้วเก็บไว้ในที่ร่มเป็นเวลา 1 เดือน

ตาราง 3.1 ส่วนประกอบและปริมาณอาหารหยาบผสมที่โคได้รับในแต่ละวัน

Table 3.1 Composition of mixed roughage and daily amount offered per cow

	T1		T2		T3	
	kg/day ¹	(%)	kg/day ¹	(%)	Kg/day ¹	(%) ¹
Ruzi hay	8.0	72.7	8.0	72.7	8.0	59.3
Molasses	1.0	9.1	1.0	9.1	1.0	7.4
Ground corn	0.5	4.6	0.6	5.5	0.6	4.4
Rice bran	1.2	10.9	0.2	1.8	0.2	1.5
Soybean meal	0.3	2.7	0.2	1.8	0.2	1.5
Cassava hay	-	-	1.0	9.1	-	-
Cassava silage	-	-	-	-	3.5 (1.0) ²	25.9 (10.8) ²
Total	11	100	11	100	13.5	100

¹ as fed basis

² Figure in parenthesis indicates DM basis

ให้โคทุกตัวได้รับอาหารข้น ชนิดเม็ดที่มีขายในท้องตลาดซึ่งมีโปรตีน 20% เสริมในอัตรา น้ำนม : อาหารข้น 2.5 : 1 ให้อาหารข้นวันละ 3 เวลาคือ 7.00, 11.00 และ 16.00 น. ส่วนอาหาร ทยาบผสมให้กินเต็มที่ ทริตเมนต์ประกอบด้วยอาหารผสม 3 สูตรดังตาราง 3.1 ซึ่งคำนวณให้มี ส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ใช้ทำอาหารทยาบผสมคุณภาพดีในแต่ละทริตเมนต์โดยใช้โปรแกรม Xration (สมคิด, 2542) เพื่อให้มีโภชนะเพียงพอกับการให้ผลผลิตของโคตามที่แนะนำโดย NRC (1988) โดยใช้ค่าเฉลี่ยการให้ผลผลิตและน้ำหนักตัวก่อนการทดลองเป็นเกณฑ์ในการคำนวณ

แผนการทดลอง

เนื่องจากมีข้อจำกัดในเรื่องของจำนวนสัตว์ทดลองซึ่งมีน้อย (6 ตัว) ในการทดลองครั้งนี้จึง ใช้แผนการทดลองแบบสลับ (Change-over balanced design) และเนื่องจากไม่สามารถจัดระยะพัก ระหว่างแต่ละทริตเมนต์ได้เพราะ โคต้องรีดนมต่อเนื่อง จึงได้วางแผนสำรวจผลตกค้าง (residual effect) โดยวางทริตเมนต์สลับกันภายใน 2 สแควร์ (Balanced design) (จริญ, 2540) แต่ละสแควร์ใช้ โคนม 3 ตัว รวม 6 ตัว ทำการทดลอง 3 ระยะ ดังผังการทดลองในตาราง 3.2

ตาราง 3.2 การจัดกลุ่มโคทดลอง

Table 3.2 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

ให้โคทดลองได้รับอาหารทยาบผสมกินเต็มที่ และให้อาหารข้นก่อนให้โคกินอาหารทยาบ โดยผสมอาหารทยาบเป็นรายตัว ทำการเก็บอาหารเหลือออกวันละครั้งในช่วงเช้าก่อนให้อาหาร ทำ การรีดนมโดยใช้เครื่องรีดแบบรายตัว (bucket) วันละ 2 เวลาคือ 6.00 และ 15.00 น. และทดลอง 3 ระยะๆ ละ 15 วันโดยการทดลองแต่ละระยะให้สัตว์ได้ปรับตัวเป็นเวลา 7 วันแรกเพื่อให้คุ้นเคยกับ อาหารใหม่ ส่วน 8 วันหลังเป็นช่วงเก็บข้อมูลปริมาณน้ำนม และปริมาณอาหารที่กินได้ สุ่มเก็บ ตัวอย่างมันสำปะหลังหมัก อาหารที่ให้ อาหารเหลือ ไปอบหาค่าวัตถุแห้งทุกวันเพื่อนำไปคำนวณ ค่าวัตถุแห้งที่โคกินได้ บันทึกน้ำหนักตัว ผลผลิตน้ำนม เพื่อนำไปคำนวณต้นทุนการผลิต อาหาร ทดลองที่สุ่มมานำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เพื่อบริการวิเคราะห์

องค์ประกอบทางเคมี สำหรับวัตถุดิบอื่น เช่น ข้าวโพดบด กากถั่วเหลือง รำละเอียด และไขมัน
 สำปะหลังแห้ง ทำการสุ่มก่อนที่จะนำมาผสมอาหารในแต่ละระยะ รวมทั้งหญ้าแห้งจะนำมาบดผ่าน
 ตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อรอการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี นอกจากนี้ทำการสุ่มเก็บ
 ตัวอย่างน้ำนมระยะละ 3 วัน โดยสุ่มเก็บช่วงเช้าและเย็นในอัตรา 1% ของปริมาณน้ำนม แล้วนำมา
 รวมกัน ใส่ sodium azide ในอัตรา 0.1% เพื่อรักษาสภาพนม เก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 8 องศา
 เซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ทำโดยนำไขมันสำปะหลังหมักที่เก็บไว้ในตู้แช่แข็งมาทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง
 รวมทั้งตัวอย่างหญ้าแห้ง อาหารเสริม และอาหารข้นด้วย แล้วนำไปหาค่าวัตถุแห้ง หลังจากนั้นบด
 ตัวอย่างต่างๆ ผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไป วิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารที่ให้และ
 เหลือโดยวิธี Proximate analysis (AOAC., 1984), Detergent method (Goering and Van Soest,
 1970)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลอง Balanced design
 (จรัญ, 2546) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Scheffe's multiple contrast (SMC)

สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ ต.ยุหว่า อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. คอกทดลองของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่
4. คอกสัตว์ทดลองแม่เหียะ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาในการทดลอง

พฤศจิกายน 2546 ถึง กุมภาพันธ์ 2548 ระยะเวลาในการวิจัยทั้งสิ้นประมาณ 16 เดือน



ภาพ 3.1 การตัด หั่นด้วยเครื่อง และตากใบมันสำปะหลัง เพื่อทำใบมันแห้ง



ภาพ 3.2 การผสมใบมันร่วมกับรำละเอียด แล้วใช้คนเหยียบให้แน่นเพื่อทำใบมันหมัก