บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองจะดำเนินการเป็นไปตามที่วางแผนเอาไว้ดังนี้

3.1 สัตว์ทดลอง

1. กระบือปลักเพศผู้ จำนวน 6 ตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ย 300 $\pm$ 10 กิโลกรัม
2. ทำการฉีดวิตามินเอ ดี และอี พร้อมทั้งฉีดวัคซีนป้องกันโรคปากเท้าเปื่อยและโรคคอบวมให้สัตว์ทุกตัวก่อนเข้าการทดลอง

3.2 แผนการทดลองและกลุ่มการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการเปรียบเทียบประชากรสองกลุ่มที่อิสระต่อกัน โดยสุ่มสัตว์ทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม และมีจำนวน 3 ตัวต่อกลุ่มมีระยะเวลาในการทดสอบทรีทเมนต์ 60 วัน

ทรีตเมนต์ (Treatment) ที่ต้องการศึกษาจำนวน 2 ทรีตเมนต์ ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1: เสริมอาหารข้นโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์
+ ฉีดยาถ่ายพยาธิไอโวเม็กซ์

ทรีตเมนต์ที่ 2: เสริมมันเฮย์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

หมายเหตุ :

- Ivomex คือยาถ่ายพยาธิ
- สัตว์ทดลองได้รับการเสริมมันเฮย์วันละ 1 กิโลกรัม/ตัว/วัน
- สัตว์ทดลองได้รับการเสริมอาหารข้นวันละ 1 กิโลกรัม

3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง

สัปดาห์ที่ 1, 2 สัตว์ทดลองทั้ง 6 ตัวปล่อยแทะเล็มในแปลงหญ้าโดยไม่เสริมทรีทเมนต์ (Adjustment)

สัปดาห์ที่ 3, 4 (Period I)

กลุ่มที่ 1 ไม่ได้รับการเสริมทรีทเมนต์ (control)

กลุ่มที่ 2 ถ่ายพยาธิโดยฉีดไอโวเม็กซ์

สัปดาห์ที่ 5, 6, 7, 8 (Period II)

กลุ่มที่ 1 ได้รับการเสริมมันเฮย์

กลุ่มที่ 2 ถ่ายพยาธิโดยฉีดไอโวเม็กซ์อีกครั้ง

แผนผังการทดลอง

กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
C1	A1
C2	A2
C3	A3

C1 หมายถึง สัตว์ทดลองกลุ่มควบคุม

A1 หมายถึงสัตว์ทดลองกลุ่มได้รับทรีทเมนต์ทดสอบ

สูตรอาหารข้นที่ใช้ทดลอง

วัตถุดิบ (%)	สัดส่วนที่ใช้(%DM)
มันเส้น	80
รำอ่อน	6
กากเบียร์แห้ง	6
ยูเรีย	3
กากน้ำตาล	3
กำมะถัน	0.5
เกลือ	0.5
แร่ธาตุผสมหรือพรีมิกซ์	1
องค์ประกอบทางเคมี (%)	**(% DM)**
OM	91.2
CP	14.2
TDN	79.1
NDF	14.5
ADF	10.1
Fat	2.5

CP = crude protein, OM = organic matter, NDF = neutral detergent fiber,

ADF = acid detergent fiber, TDN = Total digestible nutrient.

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.4 อาหารและการจัดการ

1. สัตว์ทดลองทุกตัวปล่อยแทะเล็มในแปลงหญ้าโดยมีระยะปรับสัตว์ก่อนเข้าทดลองเป็นเวลา 14 วัน เพื่อเป็นการปรับสัตว์ให้คุ้นเคยกับอาหารและคอกทดลอง

2. สัตว์ทดลองทุกตัวได้รับการเสริมมันเฮย์ทุกวันในช่วงเย็นเฉลี่ยวันละ 1 กิโลกรัม โดยการให้สัตว์กินตามรางอาหารไปพร้อมๆกับการเสริมอาหารข้นวันละ 1 กิโลกรัม

3. สัตว์ทดลองในกลุ่มควบคุมได้รับการฉีดยาปฏิชีวนะหรือยาถ่ายพยาธิภายใน (ไอโวเม็กซ์) ขนาดตามร่างกายสัตว์ที่เหมาะสม

4. มีน้ำสะอาดให้สัตว์ได้กินตลอดเวลา

5. การเตรียมฟางหมักยูเรียโดยใช้ฟางข้าวที่ผ่านการนวดด้วยเครื่องนวดข้าวและอัดเป็นฟ่อนนำมาเรียงเป็นชั้นลงในบ่อซีเมนต์ที่ปูรองพื้นด้วยพลาสติกสีดำละลายยูเรีย(46 %N) ในน้ำในอัตราส่วน ยูเรีย 5 กิโลกรัมต่อน้ำ 100 กิโลกรัมต่อฟาง 100 กิโลกรัม หลังจากนั้นราดลงบนฟางให้ทั่ว ทำอย่างนี้เป็นชั้นๆตามปริมาณที่ต้องการหมักหลังจากนั้นใช้พลาสติกสีดำคลุมบนกองฟางอย่างมิดชิดใช้เวลาในการหมักอย่างน้อย 10 วัน จึงทำการเปิดเพื่อนำมาให้สัตว์กินและปิดให้สนิททุกครั้งเพื่อรักษาคุณภาพของฟางหมักยูเรีย (Wanapat, 2000)

6. การปลูกมันสำปะหลังสำหรับการทำมันเฮย์ โดยการปลูกมันสำปะหลังที่ระยะ 60 x 40 ซม. ระหว่างแถวและเริ่มต้นเก็บเกี่ยวที่อายุ 3 เดือน และเก็บหลังจากนั้นในทุก 2 เดือน โดยทำการหักส่วนต้นเหนือจากพื้นดินประมาณ 10 ซม. และนำไปทำการตากแดดหรือทำการสับก่อนตากแดดเพื่อให้มีระดับวัตถุแห้งที่ 75 – 85% โดยใช้ระยะเวลาตากอาจจะเป็น 2 – 3 วัน แต่เมื่อทำการสับจะช่วยลดระยะเวลาของการตากแดดลง ที่สำคัญคือตากให้ใบแห้งกรอบและส่วนของก้านและลำต้นเริ่มเหี่ยว (wilted) ในการตากแดดจะสามารถลดปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิก (HCN) ได้ถึง 90% และจะเพิ่มความน่ากินและอายุการเก็บได้มากขึ้น (Wanapat, 2003) หลังจากนั้นนำไปเสริมให้สัตว์กินในแต่ละวัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.5 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสัตว์โดยทำการชั่งน้ำหนักก่อนเข้าช่วงการทดลอง (period)และหลังการทดลองเพื่อใช้ในการคำนวณการเจริญเติบโต ปริมาณการกินได้อิสระ, ความสามารถของการย่อยได้ และการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก (weight change) ของสัตว์ในแต่ละช่วงการทดลอง

2. บันทึกปริมาณการให้อาหารข้น และมันเฮย์ เพื่อหาปริมาณการกินได้ในแต่ละวันโดยทำการจดบันทึกปริมาณอาหารที่กินแต่ละวัน

3. สุ่มเก็บตัวอย่างอาหาร อาหารที่เหลือ และหญ้าในแปลง โดยเก็บในปริมาณอย่างละ 500 กรัม ในแต่ละทรีตเมนต์ ทุกๆ 2 สัปดาห์ ของแต่ละช่วงการทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (DM), เถ้า (ash) และโปรตีนหยาบ (crude protein) ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1985) วิเคราะห์หา acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF) และ acid detergent lignin (ADL) ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970) วิเคราะห์หา acid insoluble ash (AIA) ตามวิธีของ Van Keulen and Young (1977)

4. การสุ่มเก็บตัวอย่างมูลโดยทำการสุ่มเก็บทุกๆ 7 วันนับตั้งแต่เริ่มงานทดลองโดยวิธีการล้วงสุ่มเก็บทางทวาร(rectal sampling) และนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและสุ่มมาทำการวัดปริมาณของไข่พยาธิในมูลที่ถูกขับออกมาตามวิธีการของ Zajac (1994)

คำนวณหาการย่อยได้ตามวิธีของ Schnieder and Flatt (1975) ดังสมการดังนี้

การย่อยได้ของโภชนะ(%) = 100-(100 x %indicator in feed x %nutrient in feces)
/(% indicator in feces x % nutrients in feed)

5. เก็บตัวอย่างเลือด ที่เวลา 0, 1, 2 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร ในทุก 2 สัปดาห์ของแต่ละช่วงการทดลอง โดยเก็บจากเส้นเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (jugular vein) นำมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) และเก็บส่วน plasma เพื่อนำมาวิเคราะห์หายูเรียในเลือด (blood urea nitrogen, BUN)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

6. เก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะหมัก (rumen fluid) ของสัตว์ทดลองทุกตัว ที่เวลา 0 และ 4 ชั่วโมงของการให้อาหาร ในทุก 2 สัปดาห์ โดยวิธีการใช้ stomach tube ร่วมกับ vacuum pump แล้วแบ่ง rumen fluid เป็น 2 ส่วน

นำของเหลวในกระเพาะหมักประมาณ 100 มิลลิลิตร นำมาวัดความเป็นกรด–ด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง pH meter (Orion Research Model SA 230) จากนั้นนำมาประมาณ 30 มิลลิลิตร แล้วปรับให้มีค่า pH ประมาณ 2 ด้วยการเติม 1M H_2SO_4 ในสัดส่วน 1M H_2SO_4 ต่อของเหลวจากกระเพาะหมัก คือ 1:20 เพื่อหยุดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บเอาส่วนใส แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ –5 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์หาแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) โดยใช้เครื่อง KJELTEC Auto 1030 Analyzer ตามวิธีของ Bromner and Keeney (1965)

3.6 วิเคราะห์ผลข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดย analysis of variance โดยใช้ Proc. GLM (SAS, 1998) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ด้วยวิธี T - Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

3.7 สถานที่ดำเนินการ

1. ฟาร์มสาธิตคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
2. ฟาร์มเกษตรกรผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย อำเภอเมืองปทุมวาปี จังหวัดมหาสารคาม
3. ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์คณะเทคโนโลยีการเกษตร
   มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
4. ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรอาหารสัตว์เขตร้อน
   ภาควิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.7 ระยะเวลาที่ทำการวิจัย สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

- โครงการวิจัยนี้จะทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 1 ปี ตั้งแต่ ปี 2550-2551 ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

กิจกรรมต่างๆ ที่ปฏิบัติ	เดือนที่											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.เตรียมวัตถุดิบอาหาร และอุปกรณ์เครื่องมือ	←	→										
2. ระยะเวลาปรับสัตว์ทดลอง			←	→								
3. ระยะเวลาทดลอง					←	→						
4. วิเคราะห์ตัวอย่าง							←	→	→	→		
5.สรุปผลและเขียนรายงานผล											←	→

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY