บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีการดำเนินการทดลองการทดลองจะดำเนินการเป็นไปตามแผนดังนี้

3.1 สัตว์ทดลอง

3.1.1 โคนมสาว พันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนสายเลือดระดับ 87.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักตัวเฉลี่ย 200±10 กิโลกรัม จำนวน 10 ตัว

3.1.2 สัตว์ทุกตัวได้รับการถ่ายพยาธิทั้งภายในและภายนอกก่อนเข้าการทดลอง

3.1.3 สัตว์ทุกตัวได้รับการฉีดวิตามินเอ, ดี และอี ก่อนเข้าการทดลอง

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

3.2.1 หัวมันสำปะหลังสด

3.2.2 เครื่องสับ

3.2.3 ถุงพลาสติก

3.2.4 pH- meter

3.2.5 เครื่องชั่ง

3.2.6 สายชั่งน้ำหนัก

3.2.7 เครื่อง air pump

3.2.8 กล้องจุลทัรรศน์

3.2.9 เครื่อง KJELTEC Auto 1030 Analyzer

3.2.10 สารละลายฟอร์มาลีน

3.2.11 สาร 1M H_2SO_4

3.2.12 เครื่องปั่นเหวี่ยง

3.2.13 Syring และเข็มเบอร์ 18 ขนาด 1 นิ้ว

3.2.14 ซองบังคับสัตว์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.3 กระบวนการผลิตมันสำปะหลังหมักสด

3.3.1 สับหัวมันสดเป็นชิ้นๆ อาจใช้มีดสับหรือใช้เครื่องสับมันตามลานมันทั่วไป

3.3.2 บรรจุถุงพลาสติก ที่หนาและเหนียว ถุงละประมาณ 15 กิโลกรัม

3.3.3 อัดให้แน่น ไล่อากาศออก ใช้เชือกมัดปากถุงสวมทับด้วยถุงพลาสติกสาน หรือถุงอาหารสัตว์อีกชั้นหนึ่ง กันถุงพลาสติกขาดเสียหาย

3.3.4 ทำการหมักเป็นเวลา 30 วัน นำไปเลี้ยงสัตว์ได้ เพื่อให้กรดไฮโดรไซยานิค ซึ่งมีความเป็นพิษต่อสัตว์ถูกทำลายหรือลดความเป็นพิษได้โดยความร้อนจากกระบวนการหมัก

3.4 แผนการทดลองและกลุ่มการทดลอง

ทำการเปรียบเทียบประชากรสองกลุ่มที่อิสระต่อกัน โดยสุ่มสัตว์ทดลองแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม แต่ละกลุ่มมีโคนมสาวจำนวน 5 ตัวต่อกลุ่ม ซึ่งมีทรีทเมนต์ (Treatment) ที่ทดสอบดังนี้

ทรีทเมนต์ที่ 1 : มันเส้นในสูตรอาหารข้น (T1)

ทรีทเมนต์ที่ 2 : มันสำปะหลังหมักสดในสูตรอาหารข้น (T2)

หมายเหตุ : สัตว์ทุกตัวทั้งสองกลุ่มจะได้รับการเสริมทรีทเมนต์ปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวร่วมกับอาหารหยาบฟางข้าว กินอย่างเต็มที่ (*ad libitum*)

ตารางที่ 3.1 แผนผังการทดลอง

กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
C1	A1
C2	A2
C3	A3
C4	A4
C5	A5

C หมายถึง สัตว์ทดลองกลุ่มควบคุมจะได้รับมันเส้นในสูตรอาหารข้นโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ และเสริมที่ระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก ต่อตัวต่อวัน

A หมายถึง สัตว์ทดลองกลุ่มได้รับทรีทเมนต์คือหัวมันมันสำปะหลังหมักสดในสูตรอาหารข้นโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์และเสริมที่ระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักต่อตัวต่อวัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ตารางที่ 3.2 แสดงสูตรอาหารข้นที่ใช้ทดลอง

วัตถุดิบ	วัตถุแห้ง (%DM) T1	As fed	ราคา	วัตถุแห้ง (%DM) T2	As fed	ราคา
มันเส้น	60	68	6	-		
มันหมักสด	-			60	150	1.50
รำอ่อน	4.5	4.9	8.8	4.5	4.9	8.8
กากปาล์ม	5	5.5	8	5	5.5	8
กากถั่วเขียว	10	11.1	9.3	10	11.1	9.3
กากมะพร้าว	5	5.4	8.8	5	5.4	8.8
กากเบียร์แห้ง	6	6.52	12.5	6	6.52	12.5
ยูเรีย	1.5	1.5	25	1.5	1.5	25
กากน้ำตาล	5	6.6	7	5	6.6	7
ซัลเฟอร์	1	1	40	1	1	40
เกลือ	1	1	3.5	1	1	3.5
พริมิกซ์	1	1	8	1	1	8
รวม	100	112.4	8.66	100	194.46	5.96

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ต้นทุนวัตถุดิบอาหารสัตว์ (T1) เฉลี่ย 8.66 บาท/กิโลกรัม

ต้นทุนวัตถุดิบอาหารสัตว์ (T2) เฉลี่ย 5.59 บาท/กิโลกรัม

3.5 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.5.1 ก่อนเข้าการทดลอง โคทุกตัวจะได้รับการถ่ายพยาธิทั้งภายในและภายนอก และทำ การฉีดวิตามินเอ ดี3 และอี

3.5.2 ระยะปรับสัตว์ก่อนเข้าทดลอง ให้สัตว์ทดลองทุกตัวได้รับฟางเป็นอาหารหยาบแบบเต็มที่ และให้อาหารข้นตาม ทรีทเมนต์ที่สัตว์ได้รับในคอกทดลอง มีน้ำสะอาดให้สัตว์ได้กินตลอดเวลาเป็นเวลา 14 วัน เพื่อเป็นการปรับสัตว์ให้คุ้นเคยกับอาหารและคอกทดลอง

3.5.3 สุ่มสัตว์ทดลองตามแผนการทดลองแบบ T-Test โดยสัตว์แต่ละตัวจะได้รับทรีทเมนต์ตามที่กำหนด โดยแต่ละช่วงการทดลองมีระยะเวลา 30 วัน

3.6 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

3.6.1 บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสัตว์โดยใช้สายวัดน้ำหนักก่อนเข้าช่วงการทดลอง (period) และในวันที่ 14 ก่อนสัตว์ทดลองอยู่ในคอกทดลองและในวันที่ 30 หลังจากอยู่ในคอกทดลองของทุกระยะการทดลองเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณการกินได้ อิสระ, ความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะและการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก (weight change) ของสัตว์ทดลองในแต่ละช่วงการทดลอง

3.6.2 บันทึกปริมาณการให้อาหารการหาปริมาณการกินได้ในแต่ละวันโดยทำการจดบันทึกปริมาณอาหารที่กินให้และอาหารที่เหลือทั้งเช้าและเย็นทุกวัน

การกินได้ต่อวัน(วัตถุแห้ง) = [อาหารให้ตอนเช้า (วัตถุแห้ง)-อาหารเหลือตอนเช้า (วัตถุแห้ง)]
+ [อาหารให้ตอนเย็น (วัตถุแห้ง)-อาหารเหลือตอนเย็น (วัตถุแห้ง)]

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.6.3 เริ่มทำการเก็บตัวอย่างเลือดในช่วงท้ายของการทดลองโดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดหลังการให้อาหาร 2 ชั่วโมงของแต่ละช่วงการทดลอง โดยเก็บจากเส้นเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (jugular vein) นำมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge)และเก็บส่วน plasma เพื่อนำมาวิเคราะห์หายูเรียในเลือด (blood urea nitrogen, BUN)

3.6.4 สุ่มวัดความเป็นกรด–ด่างของของเหลวในกระเพาะหมักโดยใช้ pH meter (HANNA instruments HI 8424 microcomputer) และปรับให้มีค่า pH ประมาณ < 3 ด้วยการเติม 1M H_2SO_4 ในสัดส่วน 1M H_2SO_4 ต่อของเหลวในกระเพาะหมัก ในสัดส่วน 1 : 10 เพื่อหยุดการเจริญของจุลินทรีย์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา

10 นาที เก็บเอาส่วนใส แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์หาแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) โดยใช้เครื่อง KJELTEC Auto 1030 Analyzer ตามวิธีของ Bremner and Keeney (1965)

3.6.5 สุ่มของเหลวในกระเพาะหมักและผสมในสารละลายฟอร์มาลีนในสัดส่วน rumen fluid : formalin = 1 : 9 แล้วนำไปนับจุลินทรีย์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้แก่ แบคทีเรีย โปรโตซัวและเชื้อรา

3.7 การวิเคราะห์ผลข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจากการทดลองมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางสถิติโดย analysis of variance (ANOVA) ตามแผนการทดลอง T-Test โดยใช้ Proc.TTEST (SAS, 1998) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีทเมนต์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.8 แผนงานดำเนินการวิจัย

- โครงการวิจัยนี้จะทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 1 ปี ตั้งแต่ ปี 2552-2553 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											←	→

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY