บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาระยะการตัดที่เหมาะสม และผลของการเสริมยูเรีย

- ศึกษาระยะการตัดข้าวโพด 3 ระยะ เพื่อนำมาหมัก คือ ระยะเมล็ดเป็นแป้ง 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยดูจากเส้นน้ำนม (milk line) ให้อยู่ที่ ¼ , ½ และ ¾ ของเมล็ด ตามลำดับ เมื่อวัดจากด้านบนของเมล็ด
- ศึกษาการใช้สารเสริม (additive) โดยเปรียบเทียบระหว่างการใช้และไม่ใช้ยูเรียชนิดเม็ดใส (46 เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน) ในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักข้าวโพดสด

โดยใช้แผนการทดลองแบบ 3 x 2 factorial in randomize block design

วัสดุและอุปกรณ์

1.ข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3 ทำการปลูกในปีพ.ศ. 2541 ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ เพื่อนำมาทำข้าวโพดหมักโดยเฉพาะ การทดลองนี้ใช้ข้าวโพดจำนวน 6 แปลง ซึ่งมีวันที่ปลูกและพื้นที่ ดังนี้ :-

แปลงที่	1	2	3	4	5	6
วันที่ปลูก	17 มิ.ย.	18 มิ.ย.	2 ก.ค.	3 ก.ค.	3 ก.ค.	23 ก.ค.
เนื้อที่ปลูก (ไร่)	48	57	35	11	9	64

2. เครื่องหั่นข้าวโพด ยี่ห้อสตาร์ ซึ่งมีลักษณะใช้สายพานดึงข้าวโพดเข้าไป ด้านในเป็นแบบใบพัดความเร็วรอบ 800 รอบ ต่อ นาที มี 2 ใบมีด ข้าวโพดที่ถูกหั่นแล้วจะถูกปล่อยออกมาทางด้านบนของตัวเครื่อง (ดังภาพที่ 4) เครื่องหั่นนี้ใช้ไฟ 3 เฟส และใช้มอเตอร์ขนาด 5.5 แรงม้า

3. ปั๊มสูญญากาศ (Vaccum pump)

4. เครื่องชั่ง พิกัด 35 กิโลกรัม อ่านทศนิยมได้ 1 ตำแหน่ง

5. ตู้แช่ แข็งอุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ ชาร์ป รุ่น Fc - 27

6. เครื่องชั่งจานเดี่ยว ระบบดิจิตอล 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius พิกัด 3600 กรัม

7. ตู้อบลมร้อน

กรรมวิธีการผลิตข้าวโพดหมัก

1. ตัดข้าวโพดตามระยะที่กำหนดไว้ในแผนการทดลอง ซึ่งแต่ละระยะจะตัดเป็นเวลาห่างกันประมาณ 5-7 วัน (แล้วแต่สภาพภูมิอากาศ)

2. นำข้าวโพดทั้งต้นมาเข้าเครื่องหั่นให้มีขนาดประมาณ 1-3 เซนติเมตร เลือกส่วนของข้าวโพดที่มีขนาดใหญ่เกินไป (ส่วนใหญ่จะเป็นซังและเปลือก) เข้าเครื่องตัดอีกครั้ง เพื่อให้มีขนาดเล็กลง

3. นำข้าวโพดที่ตัดเรียบร้อยแล้วเข้าเครื่องผสม คลุกเคล้าให้เข้ากัน (สุ่มตัวอย่างมาอบที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 24-36 ชั่วโมง เพื่อหาวัตถุแห้ง)

4. จากนั้นแบ่งข้าวโพดเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 นำมาใส่ถุงพลาสติกใสอย่างหนา ขนาด 50x87 เซนติเมตร ถุงละ 10-13 กิโลกรัม อัดให้แน่น ใช้ปั๊มดูดอากาศออก เพื่อให้สภาพการหมัก เป็นสภาพไร้ออกซิเจน มัดปากถุงให้แน่น ทำจำนวน 4 ถุง (4 ซ้ำ)

ส่วนที่ 2 นำมาผสมยูเรีย 1% น้ำหนักสด จากนั้นนำมาใส่ถุงจำนวน 4 ซ้ำด้วยวิธีเดียวกัน

5. นำไปหาปริมาตรของถุงหมัก (V) ด้วยการแทนที่น้ำ เพื่อนำไปคำนวณความหนาแน่นของข้าวโพดหมัก (ความหนาแน่น = น้ำหนัก/ปริมาตร)

ทำการทดลองโดยใช้ข้าวโพด 6 แปลง ๆ ละ 3 ระยะ ๆ ละ 2 ส่วน แต่ละหน่วยทดลองมี 4 ถุง รวมเป็นข้าวโพดที่หมักทั้งหมด 144 ถุง ใช้เวลาทั้งหมด 50 วัน

การเก็บตัวอย่างและประเมินคุณภาพข้าวโพดหมัก

เมื่อหมักข้าวโพดครบ 45 วัน แล้วชั่งน้ำหนักข้าวโพดหมักทั้งถุงก่อนเปิด จากนั้นสุ่มตัวอย่างจากทุกถุงที่หมัก โดยแต่ละถุงสุ่มตัวอย่าง 4 ตำแหน่ง คือ บริเวณด้านบน กลาง ล่าง และด้านข้าง ตำแหน่งละ 1 กำมือ นำมารวมกันแล้วคลุกเคล้ากับตัวอย่างที่ได้จากทั้ง 4 ซ้ำในทรีตเมนต์เดียวกัน คลุกให้เข้ากันในถุงพลาสติกโดยปิดปากถุงเขย่า แบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์หาความชื้น อีกส่วนหนึ่งเก็บไว้ในถุงพลาสติกแช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสทันที

ภาพที่ 4 หั่นข้าวโพดให้มีขนาด 1 – 3 เซนติเมตร

ภาพที่ 5 เครื่องผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน

ภาพที่ 6 ลักษณะถุงที่บรรจุข้าวโพดและการใช้ปั๊มดูดอากาศออก ให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน

ภาพที่ 7 ลักษณะของข้าวโพดหมักที่มีคุณภาพดี

การประเมินคุณภาพของข้าวโพดหมัก โดยใช้ประสาทสัมผัส

ทำการสุ่มตัวอย่างโดยวิธีที่กล่าวข้างต้นคลุกตัวอย่างให้เข้ากันในถังพลาสติกที่มีฝาปิด แล้วให้ผู้ประเมิน 4 คน สุ่มตัวอย่างคนละ 1 กำมือ นำมาดมกลิ่น ดูสี และสังเกตลักษณะโครงสร้างของข้าวโพดหมัก จากนั้นให้คะแนนตัดสิน ตามวิธีที่อ้างอิงโดย บุญเสริม (2539) ที่ได้แสดงรายละเอียดไว้ในหน้า 21 – 22 ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

การประเมินคุณภาพของข้าวโพดหมักในห้องปฏิบัติการ

1. วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

นำตัวอย่างข้าวโพดหมักที่เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง มาทิ้งให้ละลาย แล้ววัด pH ตามวิธีที่แนะนำโดย Bal *et al.* (1997) โดยชั่งตัวอย่างข้าวโพดหมัก 50 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง นำมาละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ปั่นโดยเครื่องปั่น (blender jar) 30 วินาที แล้วกรองผ่านผ้าฝ้ายบาง 2 ชั้น ทำการวัดค่า pH โดยใช้ glass electrode pH meter

2. วิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์

ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก กรดบิวทีริกและกรดแลคติก ตามวิธีของ Zimmer (1966) อ้างอิงโดยบุญล้อมและบุญเสริม (2525) โดยชั่งข้าวโพดหมัก 30 กรัม ใส่ในเครื่องปั่น (blender jar) เติมน้ำ 300 มิลลิลิตร ปั่นเป็นเวลานาน 30 วินาที จากนั้นกรองผ่านผ้าฝ้ายบาง 2 ชั้น นำน้ำที่ได้มาการสกัดเอาน้ำตาลออก โดยตวงน้ำที่กรองได้ 240 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีคเกอร์ เติมน้ำปูน 24 มิลลิลิตร และสารละลาย $CuSO_4$ 12 มิลลิลิตร ใช้ magnetic stirrer คนให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง

นำสารละลายที่กรองได้ 200 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถันเจือจาง (1:1) 5 มิลลิลิตร และกรวด 2-3 เม็ด เขย่าแล้วต่อเข้ากับ condenser ที่ปลายด้านหนึ่งมีขวดขนาด 100 มิลลิลิตร รองไว้ ทำการกลั่นให้ได้สารละลาย 100 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ขวดใบที่ 2 รอง กลั่นต่อไปอีกให้ได้อีก 50 มิลลิลิตร

นำสารละลายที่เหลืออยู่ในขวดกลั่น มาเติม chromic sulfuric solution ลงไป 55 มิลลิลิตร แล้วต่อเข้าเครื่อง reflux condenser ทำการ oxidize กรดแลคติกโดยต้มให้เดือดเป็นเวลา 5 นาทีพอดี แล้วรีบหยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำเย็นลงไป 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำขวดนี้ ไปต่อเข้ากับ condenser อีกครั้งหนึ่งทำการ กลั่นให้ได้สารละลาย 50 มิลลิลิตร

นำสารละลายที่กลั่นได้ทั้ง 3 มาไตเตรทกับ NaOH 0.05 N โดยมี phenolphthalein เป็น indicator ค่าที่ได้คูณด้วย 1.25 จะเป็นค่า D_1, D_2 และ D_3 ตามลำดับ

การคำนวณ

นำค่า D_1, D_2 และ D_3 ที่ได้ มาคำนวณตามสมการดังนี้ :-

Acetic (%) = $0.0962\ D_2 - 0.0213\ D_1$

Butyric (%) = $0.0431\ D_1 - 0.0680\ D_2$

Lactic (%) = $0.1230\ D_3 - (0.0086\ A + 0.0029\ B)$

โดย $A = 6.41\ D_2 - 1.42\ D_1$

$B = 1.96\ D_1 - 3.09\ D_2$

จากนั้นนำค่ากรดแต่ละชนิดที่ได้จากสมการดังกล่าวนี้ไปคำนวณเป็นร้อยละของกรดทั้งหมด แล้วเทียบในตารางหน้าถัดไปจะได้เป็นคะแนน (Quality score) ซึ่งเมื่อนำคะแนนของกรดทั้ง 3 ชนิดมารวมกันเทียบกับเกณฑ์ที่ระบุไว้ท้ายตารางจะสามารถประเมินคุณภาพของพืชหมักได้

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

การตัดสินคุณภาพหมักพืช

คุณภาพของพืชหมัก สามารถประเมินได้จากค่าที่ได้จากการกลั่นตามตาราง

กรดอะซิติก[1/]	คะแนน	กรดบิวทีริก[1/]	คะแนน	กรดแลคติก[1/]	คะแนน
0 – 15.0	20	0 – 1.5	50	0 – 20.0	-
15.1 – 20.0	18	1.6 – 3.0	30	20.1 –25.0	0
20.1 – 24.0	16	3.1 – 4.0	20	25.1 – 30.0	2
24.1 – 28.0	13	4.1 – 6.0	15	30.1 – 34.0	4
28.1 – 32.0	10	6.1 – 8.0	10	34.1 – 38.0	6
32.1 – 36.0	7	8.1 – 10.0	9	38.1 – 42.0	8
36.1 – 40.0	4	10.1 –12.0	8	42.1 – 46.0	10
40.1 – 45.0	2	12.1 – 14.0	7	46.1 – 50.0	12
45.1 – 50.0	0	14.1 – 16.0	6	50.1 – 54.0	14
50.1 – 55.0	0	16.1 – 18.0	4	54.1 – 58.0	16
55.1 –60.0	0	18.1 – 20.0	2	58.1 – 62.0	18
		20.1 – 25.0	0	62.1 – 66.0	20
		25.1 – 30.0	0	66.1 – 70.0	24
		30.1 – 40.0	-5	70.1 – 75.0	28
		มากกว่า 40	-	มากกว่า 75	30
		มากกว่า 50	-		
		มากกว่า 60			

[1/] ค่าความเป็นกรด คิดเป็นร้อยละของกรดทั้งหมด

คะแนนรวม 0 – 20 = เกรด 5 (ต่ำ), 21 – 40 = เกรด 4 (ค่อนข้างพอใช้), 41 - 60 = เกรด 3 (พอใช้), 61 – 80 = เกรด 2 (ดี) และ 81 – 100 = เกรด 1 (ดีมาก)

(Zimmer, 1966 อ้างโดย บุญล้อม และ บุญเสริม, 2525)

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.1วิเคราะห์ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน อินทรียวัตถุ และเถ้า โดยวิธี Proximate analysis (A.O.A.C., 1970,1984 อ้างโดยบุญล้อม และ บุญเสริม, 2525; บุญล้อม และสมคิด, 2539b)

3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย โดยวิธี Detergent method (Goering and Van Soest, 1970 อ้างโดยบุญล้อม และ บุญเสริม, 2525; บุญล้อม และสมคิด, 2539b)

4. การคำนวณหาการสูญเสียวัตถุแห้ง (DM loss)

ชั่งน้ำหนักข้าวโพดหมักทั้งถุง แล้วสุ่มตัวอย่างมาอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 36 ชั่วโมง ทั้งก่อนและหลังหมัก จากนั้นนำมาคำนวณ ดังนี้

$$\text{DM loss (\%)} = \frac{(\%\text{DMก่อนหมัก} \times \text{น.น.ก่อนหมัก}) - (\%\text{DM หลังหมัก} \times \text{น.น.หลังหมัก})}{(\%\text{DMก่อนหมัก} \times \text{น.น.ก่อนหมัก})} \times 100$$

ภาพที่ 8 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายโดยการกลั่น

การทดลองที่ 2 ศึกษาชนิดและปริมาณของสารเคมีเพื่อป้องกันการหมักระยะที่สอง

2.1 หมักข้าวโพดในไซโลความจุ 200 ตัน โดยตัดที่ระยะเมล็ดเป็นแป้ง 25 – 50 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักเป็นเวลา 45 วัน นำข้าวโพดหมักออกจากไซโลแล้วสุ่มแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 5 ซ้ำ กลุ่มแรกไม่เสริมสารใด ๆ ส่วนกลุ่มที่ 2-5 เสริมด้วยสารยับยั้งกระบวนการหมัก 2 ชนิด คือ ฟอร์มาลิน และกรดฟอร์มิกผสมกับฟอร์มาลิน ในอัตรา 1:3 โดยเสริม 2 ระดับ คือ 5 และ 10 กรัม ต่อกิโลกรัมน้ำหนักข้าวโพดหมักสด ตามลำดับ คลุกข้าวโพดหมักกับสารดังกล่าวแล้วใส่ในถุง ไขสังเคราะห์ชั้นเดียว ปิดปากถุงให้สนิทบรรจุถุงละ 15 กิโลกรัม รวม 25 ถุง
ทำการวัดค่าต่าง ๆ ดังนี้

1. วัดอุณหภูมิวันละ 3 เวลา คือ 8.30, 12.30 และ 16.30 น. โดยสอดเทอร์โมมิเตอร์เข้าในท่ออลูมิเนียมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ความยาว 40 เซนติเมตร ที่เสียบในลักษณะทะแยงมุมไว้ในถุงและมีจุดยางปิดไว้ (จับเวลา 5 นาทีแล้วจึงนำเทอร์โมมิเตอร์ออก) วัดเป็นเวลา 7 วัน เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นแสดงว่าเกิดการหมักระยะที่สอง
2. ชั่งน้ำหนักวันละครั้งเวลาประมาณ 9.00 น. ตลอดระยะเวลา 7 วัน เพื่อหาค่าน้ำหนักที่สูญเสียไปเนื่องจากการเกิด oxidation และ fermentation
3. วัดค่าความเป็นกรด- ด่าง (เช่นเดียวกับการทดลองที่1) ในวันที่ 0 และ 7
4. วิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ของตัวอย่างที่สุ่มเก็บในวันที่ 0 และ 7 ด้วยวิธีการกลั่น (เช่นเดียวกับการทดลองที่1)

2.2 นำผลการทดลองในข้อ 2.1 มาศึกษาการยอมรับข้าวโพดหมักนี้ในสัตว์ ซึ่งจะทำการทดลองโดยใช้แกะเป็นตัวแทนของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

1.**สัตว์ทดลอง** ใช้แกะลูกผสมพื้นเมือง x เมอริโน เพศผู้ จำนวน 6 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 22.87 $\pm$ 1.51 กิโลกรัม อาบน้ำ ตัดขน ถ่ายพยาธิโดยใช้ยาถ่ายพยาธิ Abendasole ชนิดกรอกปาก 3 มิลลิลิตรต่อตัว และฉีดวิตามินรวม ก่อนนำขึ้นกรง ชั่งน้ำหนักติดต่อกัน 3 วัน เมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลอง การชั่งน้ำหนักแกะทำก่อนให้อาหารเช้า โดยทำการอดน้ำและอาหารก่อนชั่งอย่างน้อย 6 ชั่วโมง

2.**คอกทดลอง** (metabolism cage) เป็นกรงขังเดี่ยวยกพื้น ขนาด 80x40x75 เซนติเมตร มีรางอาหารและมีที่ให้น้ำเป็นหัวจุ๊บอยู่ด้านหน้า ซึ่งแกะสามารถกินน้ำได้ตลอดเวลา มีที่รองรับมูลและปัสสาวะแยกกันโดยใช้ตะแกรงรองใต้กรง

3. **การทดลอง** แบ่งแกะเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้ได้รับข้าวโพดหมักที่ไม่เสริมสารยับยั้งการหมักระยะที่สอง

กลุ่มที่ 2 และ 3 เสริมสารยับยั้งการหมัก คือ ฟอร์มาลิน ในอัตราส่วน 10 กรัม ต่อ กิโลกรัมน้ำหนักข้าวโพดหมักสด เก็บไว้เป็นเวลา 3 และ 6 วัน ก่อนนำมาทดลอง ตามลำดับ

4.**อาหาร** ให้แกะทุกกลุ่มได้รับข้าวโพดหมักร่วมกับอาหารข้นในอัตราส่วน 72:28 (น้ำหนักแห้ง)

5. **ระยะเวลาทดลอง** ใช้เวลาทดลอง 7 วัน

การทดลองที่ 3 ศึกษากรรมวิธีบรรจุข้าวโพดหมัก เพื่อป้องกันการหมักระยะที่สอง

นำข้าวโพดหมักในหลุมใหญ่ มาสุ่มแบ่งเป็น 3 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 นำข้าวโพดหมักใส่ในถุงดำขนาด 28x36 นิ้ว โดยใช้ถุงใยสังเคราะห์สวมทับอัดข้าวโพดให้แน่น บรรจุถุงละ 15 กิโลกรัม ดูดอากาศออกโดยใช้ปั๊มสูญญากาศ

กลุ่มที่ 2 นำข้าวโพดหมักผสมกับฟอร์มาลินในอัตรา 3.3 กรัม ต่อกิโลกรัมน้ำหนักข้าวโพดหมัก (50 กรัม ต่อ 15 กิโลกรัม)ใส่ในถุงใยสังเคราะห์อัดให้แน่น โดยไม่ดูดอากาศออก

กลุ่มที่ 3 นำข้าวโพดหมักผสมฟอร์มาลินในอัตรา 1.7 กรัม ต่อ กิโลกรัมน้ำหนักข้าวโพดหมัก (25 กรัม ต่อ 15 กิโลกรัม) ใส่ในถุงดำที่มีถุงใยสังเคราะห์สวมทับ และดูดอากาศออกเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1

แต่ละกลุ่มทำ 5 ซ้ำ มัดปากถุงให้แน่น รวมทั้งหมด 15 ถุง ทำการวัดค่าต่าง ๆ ดังนี้

1. วัดอุณหภูมิวันละ 1 ครั้ง เวลา 15.00 น. โดยสอดเทอร์โมมิเตอร์เข้าในท่ออลูมิเนียมที่เสียบคาอยู่จากปากถุงลงมาตรงกลางถุง (ใช้ท่ออลูมิเนียมเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2) วัดจนกว่าจะถึงวันที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น
2. ชั่งน้ำหนักทุกวัน ๆ ละ 1 ครั้ง เวลาประมาณ 15.30 น. เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียวัตถุแห้ง
3. หาวิธีการที่เหมาะสมที่สุด 1 วิธีเพื่อนำไปศึกษากับสัตว์ทดลองต่อไป

การทดลองที่ 4 ศึกษาระยะเวลาเกิดการหมักระยะที่สอง (secondary fermentation) ในข้าวโพดหมัก

ข้าวโพดหมักในหลุมใหญ่ เมื่อนำมาบรรจุในถุงเล็กเพื่อการขนส่ง หรือจัดจำหน่าย อาจเกิดกระบวนการหมักระยะที่สอง ดังนั้นเพื่อศึกษาเรื่องนี้จึงได้ นำข้าวโพดที่หมักในหลุมใหญ่มาบรรจุในถุงดำที่มีถุงใยสังเคราะห์สวมทับมีความจุประมาณ 15 กิโลกรัม เก็บไว้เป็นเวลา 1 วัน 7 วัน และ 14 วัน ตามลำดับ โดยทำการศึกษาทั้งหมด 7 ชุด รวม 21 ตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดมาวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง และวัดปริมาณกรดอินทรีย์โดยวิธีการกลั่น (เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1)

การทดลองที่ 5 ศึกษาการยอมรับข้าวโพดหมักของสัตว์ การย่อยได้ และพลังงานในข้าวโพดหมัก

ใช้แกะลูกผสมพื้นเมือง x เมอริโน เพศผู้ จำนวน 6 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 22.87 $\pm$ 1.51 กิโลกรัม เลี้ยงในคอกทดลอง (metabolism cage) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.2 ชั่งน้ำหนักแกะเมื่อเริ่มและสิ้นสุด

การทดลองตามวิธีที่กล่าวไว้ในการทดลองที่ 2.2 ให้แกะได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ 8.00 น. และ 15.30 น

อาหารที่ใช้ทดลอง คือ ข้าวโพดหมักบรรจุถุง (วิธีการที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองที่ 3) โดยนำข้าวโพดออกจากหลุมหมักขนาดใหญ่ เพื่อบรรจุถุง สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ๆ ละ 10 ถุง ตลอดการทดลอง และเนื่องจากข้าวโพดหมักมีโปรตีนไม่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์ จึงให้ร่วมกับกากถั่วเหลือง คิดเป็นสัดส่วนของน้ำหนักแห้งดังนี้

T_1 ข้าวโพดหมัก :กากถั่วเหลือง = 91:9 มีโปรตีน11.5 %

T_2 ข้าวโพดหมัก :กากถั่วเหลือง = 82:18 มีโปรตีน 15.4 %

T_3 ข้าวโพดหมัก : กากถั่วเหลือง = 73:27 มีโปรตีน 19.3 %

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 Latin square design โดยทดลอง 2 square พร้อมกัน คือ มีอาหาร 3 สูตร ทำการทดลอง 3 ช่วง ใช้แกะ 6 ตัว (6 ซ้ำ) แกะแต่ละตัวใน 1 ระยะ นับเป็น 1 หน่วยทดลอง

	ตัวที่ 1	ตัวที่ 2	ตัวที่ 3	ตัวที่ 4	ตัวที่ 5	ตัวที่ 6
ระยะ 1	T_1	T_2	T_3	T_3	T_1	T_2
ระยะ 2	T_3	T_1	T_2	T_2	T_3	T_1
ระยะ 3	T_2	T_3	T_1	T_1	T_2	T_3

แต่ละช่วงการทดลอง แบ่งเป็น 2 ระยะ

1. ระยะก่อนการทดลองใช้เวลา 21 วัน โดย 14 วันแรกให้สัตว์กินอาหารอย่างเต็มที่ เพื่อวัดปริมาณอาหารที่สัตว์กินได้ หลังจากนั้นอีก 7 วัน ให้สัตว์กินอาหารลดลงเหลือ 90% ของปริมาณอาหารที่สัตว์กินได้

2. ระยะเก็บข้อมูล ใช้เวลา 5 วัน ทำการบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และเหลือ ทำการเก็บมูลและปัสสาวะวันละ 2 ครั้ง ก่อนให้อาหารเช้าและเย็น บันทึกปริมาณและสุ่มเก็บตัวอย่าง 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณทั้งหมด นำตัวอย่างมูลและปัสสาวะของสัตว์แต่ละตัวสะสมไว้ในตู้แช่แข็ง (freezer) ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ทุกวันจนสิ้นสุดการทดลอง

หลังจากนั้นนำตัวอย่างมูลที่เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง มาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ละลาย นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้ง แล้วบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร นำมาวิเคราะห์วัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ โปรตีน และเถ้า โดยวิธี Proximate analysis วิเคราะห์องค์ประกอบของเยื่อใย โดยวิธี Detergent method และวิเคราะห์พลังงานในอาหารและมูล โดยใช้ Bomb calorimeter

คำนวณค่าการย่อยได้ของโภชนะและพลังงาน

- คำนวณการย่อยได้ของโภชนะแต่ละชนิดจากสมการ

$$\text{การย่อยได้ของโภชนะ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณโภชนะที่กิน} - \text{ปริมาณโภชนะที่ขับออกในมูล}}{\text{ปริมาณโภชนะที่กิน}} \times 100$$

- ประเมินหาค่าการย่อยได้ของโภชนะและพลังงานย่อยได้ในข้าวโพดหมักโดยวิธี regression method ด้วยสมการ

$$Y = a + bX$$

เมื่อ Y = การย่อยได้ของโภชนะหรือพลังงานย่อยได้ของข้าวโพดหมัก

X = สัดส่วนของโภชนะนั้นที่มาจากข้าวโพดหมักในแต่ละสูตร

- คำนวณค่าโภชนะย่อยได้ทั้งหมด (total digestible nutrient, TDN) โดยใช้สูตร

$$TDN (\%) = DCP + DNDF + DNFC + (DEE \times 2.25)$$

เมื่อ DCP, DNDF, DNFC และDEE คือ ปริมาณโภชนะที่ย่อยได้ (crude protein, neutral detergent fibre, non fibre carbohydrate และ ether extract ตามลำดับ, กรัม/100 กิโลกรัม)

คำนวณหาค่า DE ME และ NEL จากค่า TDN โดยใช้สมการที่แนะนำโดย NRC (1988) คือ

$$DE (Mcal/kg) = 0.04409 \times TDN(\%)$$

$$ME (Mcal/kg) = -0.45 + (0.04453 \times TDN *)$$

$$NEL (Mcal/kg) = (0.0245 \times TDN(\%)) - 0.12 *$$

หรือคำนวณจาก DE โดยใช้สูตร

$$ME (Mcal/kg) = 0.82 \times DE$$

$$NEL (Mcal/kg) = (0.556 \times DE) - 0.12 *$$

หมายเหตุ : * คือสูตรที่ดัดแปลงจาก NRC (1988)

สถานที่ทำการวิจัย

1. ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อ. สันป่าตอง จ. เชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. คอกสัตว์ทดลอง ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาทำการทดลอง

ใช้เวลาทั้งสิ้น 14 เดือน

ภาพที่ 9 ลักษณะการบรรจุและการวัดอุณหภูมิของข้าวโพดหมักในการทดลองที่ 2

ภาพที่ 10 ลักษณะการบรรจุและการวัดอุณหภูมิของข้าวโพดหมักในการทดลองที่ 3

ภาพที่ 11 กรรมวิธีบรรจุข้าวโพดหมักที่เหมาะสม

ภาพที่ 12 แกะทดลองและกรงทดลองหาการย่อยได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University