

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

**การทดลองที่ 1** ศึกษาคุณค่าทางโภชนาและการย่อยได้ของฟางข้าวเปรียบเทียบกับหญ้าแพงโกล่าแห้งและหญ้ารูซี่แห้ง

**สัตว์ทดลองและอาหารทดลอง**

ใช้โคเนื้อพื้นเมืองพันธุ์แท้ชาวลำพูน เพศผู้ จำนวน 5 ตัว น้ำหนัก  $162.6 \pm 22.1$  กก. เป็นโคซึ่งปลอดโรค และผ่านการถ่ายพยาธิทั้งภายในและภายนอกก่อนเริ่มการทดลอง นำโคมาปรับให้ชินกับสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงแบบยืนโรง โดยก่อนการทดลองโคได้รับอาหารหยาบได้แก่หญ้าสดพืชหมัก และหญ้าแห้ง แบบเต็มทีและอาหารข้นโปรตีน 14 % วันละ 2 ครั้งๆละ 500 ก.

ใช้ฟางข้าวจากเกษตรกรในอำเภอสันกำแพง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นฟางข้าวนาปีที่เก็บเกี่ยวด้วยมือในช่วงสิ้นเดือนมกราคม 2550 ซึ่งตากแดดจนแห้งและมัดเป็นฟ่อน โดยฟางข้าวจะถูกสับให้มีขนาดประมาณ 20 ซม. ก่อนให้โค สำหรับหญ้ารูซี่เป็นหญ้ารูซี่แห้งอายุประมาณ 60 วันของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ ส่วนหญ้าแพงโกล่าแห้งอายุประมาณ 50 วัน นำมาจากศูนย์วิจัยอาหารสัตว์ลำปาง

**อุปกรณ์และคอกทดลอง**

1. ตาซึ่งคิติดอลขนาดใหญ่แบบเคลื่อนที่ ซึ่งชั่งได้สูงสุด 1,000 กก. ความละเอียด 100 ก. เพื่อใช้ชั่งน้ำหนักโค
2. ตาซึ่งแบบจานชั่งได้สูงสุด 7 กก. ความละเอียด 20 ก. ใช้ชั่งมูล
3. ตาซึ่งแบบจานชั่งได้สูงสุด 15 กก. ความละเอียด 100 ก. ชั่งอาหารโดยใช้ตะกร้าขนาดใหญ่เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 50 ซม.

4. ซองทดลองเป็นแบบขังเดี่ยวมีขนาด 120×150 ตร.ม.พร้อมรางอาหารขนาด 90 × 100 ตร.ม. กั้นรางมีลักษณะโค้งทำให้โคกินสะดวก มีถ้วยให้น้ำอัตโนมัติสำหรับทุกตัว และมีแรชคูก้อนให้โคได้เลียกินตลอดเวลา

5. กระสอบอาหารใยสังเคราะห์ขนาดประมาณ 90 x 50 ซม. ใช้ในการเก็บมูลขณะถ่าย โดยสวมไว้ที่ก้นของโคและยึดติดกับตัวโคโดยใช้สายผูกมัด ในส่วนพื้นคอกได้มีการตัดแปลงพื้นให้สูงขึ้นทแยงออกข้างซอง เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของมูลกับปัสสาวะ

#### วิธีการทดลอง

ทำการชั่งน้ำหนักโคติดต่อกันเป็นเวลา 3 วันก่อนให้อาหารเช้าแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย ให้โคได้รับฟางข้าวเป็นอาหารเดี่ยว วันละ 2 เวลา คือ 8.00 น. และ 16.30 น. มีแรชคูก้อนและน้ำให้กินแบบอิสระ ทำการทดลองครั้งละประมาณ 20 วัน โดยแต่ละการทดลองแบ่งเป็น 2 ช่วงคือ

- Preliminary period ใช้เวลาประมาณ 10 – 14 วัน เป็นระยะปรับตัวให้สัตว์คุ้นเคยกับสภาพคอกและอาหาร โดยค่อยๆเพิ่มอาหารหยาบขึ้นเป็น 50, 75 และ 100% ของอาหารทั้งหมด จากนั้นให้อาหารหยาบเป็นอาหารเดี่ยวอย่างเต็มที่ในปริมาณที่สัตว์สามารถเลือกกินได้โดยเพื่อไว้ประมาณ 10% เพื่อให้อาหารที่เหลือเป็นส่วนที่สัตว์ไม่เลือกกิน เช่น ก้านแข็ง ราก หรือสิ่งปลอมปนในอาหาร ทำการบันทึกปริมาณที่กินได้ในแต่ละวัน (voluntary feed intake)

- Collection period ช่วงนี้ลดอาหารลงเหลือประมาณ 90 % ของปริมาณที่สัตว์กินได้ ทั้งนี้เพื่อให้โคกินหญ้าได้หมดพอดีหรือมีเหลือน้อยที่สุดในแต่ละวัน เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและการวิเคราะห์ผล หลังจากลดอาหารแล้ว 2 วัน ทำการเก็บข้อมูลเป็นเวลา 5 วัน โดยเก็บใส่ถังขนาด 18 ลิตร ซึ่งเป็นรายตัวในเวลา 10.00 น. แล้วสุ่มตัวอย่าง 5% ของน้ำหนักมูลทั้งหมด นำมาแช่แข็งที่ -20 °ซ เพื่อนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

#### การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

นำอาหารและมูลมาวิเคราะห์ วัตถุแห้ง อินทรีย์วัตถุ โปรตีน ไขมัน และเถ้าด้วยวิธี Proximate analysis (AOAC, 1986) ส่วนของโปรตีนในมูลทำการวิเคราะห์ในสภาพสดเพื่อลดการสูญเสียไนโตรเจน หาปริมาณเยื่อใย คือ Neutral Detergent Fiber (NDF) และ Acid Detergent Fiber (ADF) ด้วยวิธี Forage fiber analysis (Van Soest, 1967) และหาปริมาณพลังงานด้วยเครื่อง Ballistic bomb calorimeter

การคำนวณค่าการย่อยได้และค่าพลังงาน

ทำการคำนวณหาการย่อยได้ของโภชนะแบบปรากฏ (Apparent digestibility) และปริมาณโภชนะที่ย่อยได้ (Digestible nutrient) โดยใช้สูตรคือ

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้} = \frac{\text{โภชนะที่กิน (กรัม/วัน)} - \text{โภชนะที่ขับออกในมูล (กรัม/วัน)}}{\text{โภชนะที่กิน (กรัม/วัน)}} \times 100$$

ปรากฏของโภชนะ(%)

$$\text{โภชนะที่ย่อยได้ (กรัม/100 ก.อาหาร)} = \frac{\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ปรากฏ (\%)} \times \% \text{ โภชนะในอาหาร}}{100}$$

การคำนวณค่าพลังงาน

ทำการคำนวณค่าโภชนะย่อยได้รวม (Total Digestible Nutrient, TDN) โดยใช้สมการ

$$\text{TDN (\%)} = \text{DCP} + \text{DNFC} + \text{DNDF}_a + (\text{DEE} \times 2.25)$$

เมื่อ DCP = โปรตีนที่ย่อยได้

DNFC = Non-fibrous carbohydrate ที่ย่อยได้

DNDF<sub>a</sub> = Neutral detergent fiber ที่ย่อยได้ (ash free)

DEE = ไขมันที่ย่อยได้

โดย NFC % = 100 - %CP - %ash - %EE - %NDF<sub>a</sub>

แปลงค่า TDN ให้เป็น DE โดยใช้สมการที่แนะนำโดย NRC (1996) คือ

$$\text{TDN (\%)} = 0.044 \text{ DE (Mcal/kg)}$$

นอกจากนี้คำนวณค่าพลังงานย่อยได้ (Digestible energy, DE) ที่วัดจากอาหารและมูลด้วยเครื่อง Ballistic bomb calorimeter โดยใช้สูตร

$$\text{DE (Mcal/kgDM)} = \frac{\text{GEi (Mcal/d)} - \text{GEf (Mcal/d)}}{\text{DMI (kg/d)}}$$

- GEi = พลังงานรวมที่โคได้รับจากอาหารในแต่ละวัน (เมกะแคลลอรี่/วัน)  
 GEF = พลังงานรวมที่โคขับออกทางมูลในแต่ละวัน (เมกะแคลลอรี่/วัน)  
 DMI = ปริมาณวัตถุดิบที่กินได้ (กก./วัน)

คำนวณค่า ME, NEm และ NEg จาก DE ตามสมการของ NRC (1996) ดังนี้

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

$$NEm \text{ (Mcal/kg)} = 1.37ME - 0.138ME^2 + 0.0105ME^3 - 1.12$$

$$NEg \text{ (Mcal/kg)} = 1.42ME - 0.174ME^2 + 0.0122ME^3 - 1.65$$

## การทดลองที่ 2 วัดค่าพลังงานของฟางข้าวและวัตถุดิบอาหารชั้นด้วยวิธี Gas production

### สัตว์ทดลองและอาหารทดลอง

ใช้โคเนื้อพื้นเมืองเจาะกระเพาะจากภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จำนวน 1 ตัว ที่ทำการปรับสภาพโดยให้กินอาหารอย่างเต็มที่ 2 เวลา คือ 08.30 และ 16.30 น. ภายในคอกมีน้ำ และแร่ธาตุก้อนให้กินตลอดเวลา น้ำหนักประมาณ 200 กก. เป็นตัวให้น้ำจากรูเมน โดยในช่วงก่อนการเก็บน้ำรูเมน โคได้รับอาหารเป็นหญ้าสดแบบเต็มที่ และได้รับอาหารชั้นวันละ 1 กก. สำหรับอาหารทดลองได้แก่

1. ฟางข้าวจากบริษัทเชียงใหม่เฟรมซิลค์ ซึ่งซื้อจากเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย ในช่วงเดือนกันยายน-พฤศจิกายน 2550
2. กากซีอิ๊วจากโรงงานผลิตซีอิ๊วในจังหวัดเชียงใหม่ซึ่งมีสภาพเหลว แต่ผ่านการอบจนแห้งด้วยเครื่องอบลำไยของเกษตรกร แล้วจึงนำมาบด
3. ข้าวโพดบดจากบริษัทอาร์พีเอ็มเชียงใหม่

### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. เครื่องชั่งดิจิทัลความละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. หลอดฉีดยา (syringe) ขนาด 100 มล. ที่ส่วนปลายไม่มีเข็มแต่มีสายยางซิลิโคนยาวประมาณ 2 นิ้วพร้อมคลิปสำหรับปิดเปิดติดอยู่
3. อุปกรณ์หมუნและอ่างน้ำพร้อมเครื่องควบคุมอุณหภูมิ
4. ฐานหมุนและแม่เหล็กสำหรับคน
5. อุปกรณ์ดูดน้ำรูเมนจากขวดแบบปรับปริมาตรที่ดูดได้

6. กระจกน้ำเก็บความร้อน
7. ผ้าขาวบาง

#### วิธีการทดลอง

หาค่า วัตถุแห้ง อินทรีย์วัตถุ โปรตีน ไขมัน และเถ้าในอาหารด้วยวิธี Proximate analysis (AOAC, 1986) หาค่าเยื่อใย NDF (ตามวิธีของ Van Soest, 1970)

ประเมินค่าการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (OMD) และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (ME) โดยวิธีการวัดปริมาณแก๊ส ตามวิธีของ Menke และ Steingass (1988) โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างอาหารที่ใช้ทดสอบประมาณ 200 มก. น้ำหนักแห้งใส่ในหลอด syringe แก้ว ขนาด 100 มล. ทาวาสลินที่แกนต้นเพื่อมิให้แกนต้นฝืด ปิดคลิป์ที่สายยางแล้วนำหลอดแก้วไปใส่ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 39° ซ เพื่อปรับสภาพตัวอย่างให้มีอุณหภูมิเท่ากับในกระเพาะรูเมน

2. เตรียมสารละลายรูเมน (rumen fluid solution) ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย buffer, macromineral, micromineral, rezasurin solution, reduction solution, น้ำกลั่น และ rumen fluid การเตรียมสารละลายนี้เตรียมในขวดที่แช่ในอ่างน้ำอุ่น (water bath) อุณหภูมิ 39° ซ โดยขวดได้เจาะรูสำหรับใส่สายยางพ่นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลงในขวดเพื่อทำให้สารละลายมีสภาพไร้ออกซิเจนตลอดเวลา พร้อมทั้งคนสารละลายให้เข้ากันโดยใช้เครื่องกวนสารละลาย (magnetic stirrer) หลังจากเตรียมสารละลายแล้วจะต้องนำไปใช้ทันที นอกจากนี้ที่ปากขวดยังมีอุปกรณ์ดูดน้ำรูเมนจากขวดแบบปรับปริมาตรที่ดูได้ด้วย

3. ป้อนสารละลายรูเมนที่เตรียมเสร็จแล้วลงในหลอดที่ใส่ตัวอย่างอาหารไว้ ผ่านทางสายยางที่ปลายหลอด หลอดละ 30 มล. โดยใช้ปิเปตอัตโนมัติ ดันแกนต้นไล่อากาศจากหลอดออกให้หมด ปิดคลิป์ หลังจากนั้นนำหลอดใส่ rotator ที่หมุนอย่างช้าๆ ในอ่างน้ำบ่มที่อุณหภูมิ 39° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และทุกครั้งต้องทำ blank (ไม่ใส่ตัวอย่างอาหาร) พร้อมกับตัวอย่างมาตรฐานที่ทราบค่าปริมาณแก๊สแน่นอนจำนวน 2 ตัวอย่าง คือ หญ้าแห้ง และอาหารข้น เพื่อเป็นการตรวจสอบคุณภาพของสารละลายของเหลวจากกระเพาะรูเมน และใช้สำหรับคำนวณค่า correction factor

4. วัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นในหลอด หลังจากบ่มนาน 24 ชั่วโมง แล้วคำนวณเป็นปริมาณแก๊ส (มล.) ต่อน้ำหนักอาหารแห้ง 200 มก. โดยมีการหักปริมาณแก๊สจากหลอด blank และปรับตัวเลขโดยใช้ค่า correction factor ที่คำนวณจากตัวอย่างมาตรฐานดังสมการ

5. นำค่าแก๊สที่เกิดขึ้นที่ 24 ชั่วโมงมาประเมินค่าการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (organic matter digestibility, OMD) และพลังงาน ME ตามสมการของ Close และ Menke (1986)

$$GP_t(\text{ml./200mg.DM}) = \frac{(V_t - V_0 - GP_0) \times 200 \times (F_h + F_c)/2}{W}$$

โดย  $GP_t$  = ปริมาตรแก๊สสุทธิที่เกิดจากการบ่มอาหาร 200 มก. (วัตถุแห้ง) เป็นเวลา  $t$  ชั่วโมง

$V_t$  = ปริมาตรแก๊สที่อ่านได้จากข้างหลอดที่เวลา  $t$  ชั่วโมง

$V_0$  = ปริมาตรที่อ่านได้เริ่มต้น

$GP_0$  = ค่าเฉลี่ยของหลอด blank ที่เกิดขึ้นที่เวลา  $t$  ชั่วโมง

$W$  = น้ำหนักของตัวอย่างอาหารทดลอง (มก. น้ำหนักแห้ง)

$GPH$  = ปริมาตรแก๊สสุทธิที่เกิดจากการ incubate อาหารหยาบมาตรฐาน

$GPC$  = ปริมาตรแก๊สสุทธิที่เกิดจากการ incubate อาหารข้นมาตรฐาน

$FH$  =  $44.16/(GPH - GP_0)$  = roughage correction factor

$FC$  =  $62.2/(GPC - GP_0)$  = concentrate correction factor

$$\text{OMD} (\%) = 14.88 + 0.889GP + 0.45\%CP + 0.65\%ash$$

$$\text{MEอาหารหยาบ (MJ/kgDM)} = 2.20 + 0.136Gb + 0.0057\%CP + 0.00029\%EE^2$$

$$\text{MEอาหารข้น (MJ/kgDM)} = 1.06 + 0.157GP + 0.0084\%CP + 0.022\%EE - 0.0081\%ash$$

เมื่อ  $G_b$  = ค่าแก๊สของตัวอย่างอาหารที่เกิดขึ้น ณ เวลา 24 ชั่วโมง

การทดลองที่ 3 ศึกษาระดับโปรตีนและพลังงานต่อสมรรถภาพการผลิตของโคนเนื้อ

สัตว์ทดลอง

ใช้โคลูกผสมเพศผู้ที่มีเลือดชาโรเลส์ 40 – 60 % จากบริษัทเชียงใหม่เฟรมิลค์ จำนวน 20 ตัว ทำการถ่ายพยาธิทั้งภายในและภายนอกก่อนเริ่มการทดลอง เลี้ยงโคในคอกขังเดี่ยวที่มีรางอาหารและที่ให้น้ำในแต่ละคอกโดยมีแร่ธาตุก้อนให้โคได้เลียกินตลอดเวลา

อุปกรณ์ และคอกทดลอง

1. ตรางังดิจิทัลขนาดใหญ่แบบเคลื่อนที่ ซึ่งชั่งได้สูงสุด 1000 กก. ความละเอียด 100 ก.  
ใช้ชั่งน้ำหนักโค

2. ทรายขี้เถ้าแบบงานขี้เถ้าได้สูงสุด 15 กก. ความละเอียด 100 ก. ใช้ขี้เถ้าฟางข้าวใส่ถูงอาหารขนาดประมาณ 100 x 180 ซม. เก็บไว้เป็นมือต่อตัวเพื่อสะดวกในการให้

3. ทรายขี้เถ้าแบบงานขี้เถ้าได้สูงสุด 7 กก. ความละเอียด 20 กก. ใช้ขี้เถ้าอาหารและวัตถุดิบในสัดส่วนต่างๆใส่ถูงพลาสติก 20 x 30 ซม. เก็บไว้เป็นมือต่อตัวต่อวันเพื่อสะดวกในการให้

4. คอกทดลองเป็นแบบขี้เถ้ามีขนาด 180x250 ตร.ม.พร้อมรางอาหารขนาด 45 x 90 ตร.ม. เป็นถึงขนาดใหญ่ผ่าครึ่ง กั้นรางมีลักษณะโค้งทำให้โคได้กินสะดวก มีการต่อรางอาหารชั้นไว้ข้างรางอาหารหยาบ เพื่อไม่ให้อาหารชั้นและหยาบปนกัน มีถังซีเมนต์ให้น้ำสองตัวต่อหนึ่งถึง เต็มน้ำทุกวันและเปลี่ยนน้ำทุก 3-5 วันขึ้นอยู่กับความสกปรก มีแร่ธาตุก้อนให้โคได้เลียกินตลอดเวลา

#### วิธีและแผนการทดลอง

ทำการชั่งน้ำหนักโคติดต่อกันเป็นเวลา 3 วัน ก่อนให้อาหารเช้าแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย ให้โคได้รับฟางข้าววันละ 3 เวลา คือ 8.00 น., 11.00 น. และ 16.30 น. โดยก่อนให้ทำการคลี่ฟางออกเพื่อไม่ให้โคคาบสะบัด ส่วนอาหารชั้นให้วันละ 2 เวลา คือ 7.30 น. และ 15.30 น. มีแร่ธาตุก้อนและน้ำให้กินแบบอิสระ ทำการบันทึกข้อมูลการกินทั้งอาหารหยาบและอาหารชั้นทุกวัน ทำการชั่งน้ำหนักโคทุกๆ 2 สัปดาห์ รวมระยะเวลาการทดลองทั้งหมด 30 วัน

นำค่าโปรตีนและพลังงานที่หาได้จากการทดลองที่ 1 และ 2 มาคำนวณสูตรอาหารและปริมาณการให้ด้วยโปรแกรม BRATION49 (สมคิด, 2549) โดยวัตถุดิบที่ใช้ผสมอาหารชั้นได้แก่ ข้าวโพดบด 48 %, กากซีอิ๊ว 49 %, แร่ธาตุผสมเอง 2 %, และหินปูนบด 1 % โดยแร่ธาตุผสมเอง 100 กก.ประกอบด้วย  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  49.6,  $\text{CaCO}_3$  18.4,  $\text{NaCl}$  23.6, S 1.6,  $\text{MgO}$ , 3.0,  $\text{MgSO}_4$  3.0 กก.,  $\text{ZnSO}_4$  473.1,  $\text{CuSO}_4$  183.9,  $\text{MnSO}_4$  101.5,  $\text{CoSO}_4$  2.7,  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  2.0 และ  $\text{KIO}_3$  9.4 ก. ตามลำดับ

วางแผนการทดลองแบบ 2x2 Factorial in CRD วิเคราะห์ตัวแปรร่วมคือน้ำหนักโคเริ่มต้น โดยมี 2 ปัจจัยที่ต้องการศึกษาคือระดับพลังงานเพื่อการเจริญเติบโต (NEg) และระดับโปรตีน (CP) ซึ่งแต่ละปัจจัยมี 2 ระดับ คือ ระดับที่มีโภชนะเท่ากับที่ NRC (1996) แนะนำ (1.0 เท่าของ NRC) เพื่อให้โคมีการเจริญเติบโตได้ 0.5 กก./ตัว/วัน และอีกระดับหนึ่งที่มีโภชนะมากกว่าที่ NRC แนะนำ 20% (1.2 เท่าของ NRC)

จากแผนดังกล่าวนี้ทำให้ได้ 4 treatment combination คือ กลุ่ม 1 = โปรตีน 1.0 พลังงาน 1.0, กลุ่ม 2 = โปรตีน 1.0 พลังงาน 1.2, กลุ่ม 3 = โปรตีน 1.2 พลังงาน 1.0 และ กลุ่ม 4 = โปรตีน 1.2 พลังงาน 1.2

ทำการคำนวณสัดส่วนอาหารเป็นรายตัว โดยใช้น้ำหนักตัวเป็นหลัก และทำการปรับสูตรอาหารทุก 2 สัปดาห์หลังการชั่งน้ำหนัก ให้โคทุกตัวได้รับอาหารชั้น 1.0% ของน้ำหนักตัว กลุ่มที่ให้โปรตีน 1.2 เท่า ทำโดยเสริมกากซีอิ๊ว 0.2% ของน้ำหนักตัว กลุ่มที่ให้พลังงาน 1.2 เท่า ทำโดย

เสริมข้าวโพดบด 0.3% ของน้ำหนักตัว ส่วนกลุ่มที่ให้ทั้งโปรตีนและพลังงาน 1.2 เท่าทำโดยเสริมทั้งกากซีอิ๊วและข้าวโพดบดเช่นเดียวกับสองกลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น โคทุกตัวได้รับฟางข้าวแบบเต็มที่ใช้ค่าที่ประมาณจากโปรแกรมคือวันละ 7 กก.

#### การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ด้วยโปรแกรม SAS 8.1 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วย Turkey HSD

#### สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. คอกทดลองคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
4. ฟาร์มบริษัทเชียงใหม่เฟรชมิลค์ ต.บุหว่า อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่

#### ระยะเวลาในการทดลอง

ธันวาคม 2550 ถึง ธันวาคม 2551 ใช้เวลาในการวิจัยทั้งสิ้นประมาณ 12 เดือน