

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 คุณสมบัติของโซเดียมไบคาร์บอเนตและแมกนีเซียมออกไซด์  
อุปกรณ์และสารเคมี

- |  |                            |
|--|----------------------------|
| - โซเดียมไบคาร์บอเนต                                       | - magnetic stirrer         |
| - แมกนีเซียมออกไซด์  | - glass electrode pH meter |
| - น้ำกลั่นที่ไม่มีไอออน                                    | - shaking water bath       |
| - 0.1N HCl   | - Erlenmeyer flask         |
| - 0.2 N HCl  | - บิวเรต                   |
| - 0.2 N NaOH   | - กระจกตวง                 |
| - mixed indicator (methyl red 0.1% - methylene blue 0.05%) |                            |

#### วิธีการ

1.1 การหาค่า buffering capacity (BC) ของโซเดียมไบคาร์บอเนต (วิธีการของ Xu *et al.*, 1994)

นำโซเดียมไบคาร์บอเนตปริมาณ 0.5 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นที่ไม่มีไอออน (distilled deionized water) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และกวนให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer หลังจากตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีจึงทำการวัด pH เริ่มต้น โดยใช้ glass electrode pH meter จากนั้นไตเตรทด้วย 0.1 N HCl จนกระทั่ง pH เท่ากับ 4 บันทึกปริมาณกรดที่ใช้ไตเตรทแล้วนำมาคำนวณหาค่า BC โดยใช้สูตร ดังนี้

$$BC = \text{meq ของ pH เริ่มต้น} - \text{meq ของ pH 4}$$

โดย milliequivalent (meq) = ปริมาณ HCl (มิลลิลิตร) ที่ใช้ในการไตเตรท x normality ของ HCl

1.2 การหาค่า total acid consuming capacity (TACC) ของโซเดียมไบคาร์บอเนตและแมกนีเซียมออกไซด์ (วิธีการของ Xin *et al.*, 1989)

ชั่งโซเดียมไบคาร์บอเนตและแมกนีเซียมออกไซด์ อย่างละ 1.2 กรัม นำมาละลายด้วย 0.2 N HCl ปริมาณ 250 มิลลิลิตรใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปป่มใน shaking water bath ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้น เติม methyl red 0.1% – methylene blue 0.05% (mixed indicator) และทำการไตเตรทด้วย 0.2 N NaOH ค่า TACC ที่คำนวณได้จะเป็น meq ของ H<sup>+</sup> ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

### 1.3 การหาขนาดอนุภาคและพื้นที่ผิวจำเพาะของแมกนีเซียมออกไซด์

การหาขนาดอนุภาคและพื้นที่ผิวจำเพาะของแมกนีเซียมออกไซด์ทำได้โดยใช้เครื่อง Particle size analyzer, Laser diffraction รุ่น Mastersizer S Ver.2.19 ของบริษัท Malvern Instruments ประเทศสหรัฐอเมริกาโดยตั้งค่า refractive index ของแมกนีเซียมออกไซด์ในซอฟต์แวร์ Mastersizer S ซึ่งเท่ากับ 1.735 หลังจากนั้นตวงน้ำกลั่นที่ไม่มีไอออนปริมาตร 500 มิลลิลิตรใส่ลงในบีกเกอร์ กวนด้วยความเร็วรอบ 2,500 rpm ค่อยๆเติมแมกนีเซียมออกไซด์ลงไปให้อยู่ในช่วง 10 – 30% อ่านค่าที่ปรากฏบนจอคอมพิวเตอร์

### 1.4 การหาค่า pH ของโซเดียมไบคาร์บอเนตและแมกนีเซียมออกไซด์

ชั่งสารแต่ละชนิดจำนวน 10 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นที่ไม่มีไอออนในอัตราส่วน 1:10 (w/v) คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ทำการวัดค่า pH โดยใช้ glass electrode pH meter

**การทดลองที่ 2** ศึกษาผลการเสริมโซเดียมไบคาร์บอเนตร่วมกับแมกนีเซียมออกไซด์และหยั่งในสูตรอาหารโคนมต่อปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในระดับห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)

#### อุปกรณ์และสารเคมี

- อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน
- กระบอกตักขนาด 100 มิลลิลิตรและหลอดตักขนาด 40 มิลลิลิตร
- สารละลายแร่ธาตุและบัฟเฟอร์ชนิดเดียวกับที่ใช้ในการทำ gas production technique
- อ่างน้ำอุ่นขนาดใหญ่
- กรดฟอสฟอริก 10 N
- ขวดพลาสติกมีฝาปิดขนาด 240 มิลลิลิตร
- เครื่องปั่นเหวี่ยง
- ตัวกรองที่มี pore ขนาด 0.45 ไมครอน
- ปีเปตขนาด 0.1, 1.0, 10 และ 50 มิลลิลิตร
- ตู้แช่แข็งและตู้เย็น
- น้ำกลั่นที่ไม่มีไอออน
- หลอดพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร
- gas chromatography (Shimadzu GC-14B)
- internal standard (2- ethyl - butyrate)
- กระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร

## วิธีการ

นำตัวอย่างอาหารที่ใช้ศึกษามายบ่มกับของเหลวจากกระเพาะรูเมน เพื่อวัดปริมาณกรดไขมันระเหยได้ที่เกิดขึ้น 3 ชนิด คือ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก อาหารที่ใช้ศึกษามี 4 สูตร คือ

1. หญ้ารูชีหมัก + อาหารข้น (เสริม 1.5%  $\text{NaHCO}_3$  และ 0.8%  $\text{MgO}$ )
2. หญ้ารูชีหมัก + หญ้ารูชีแห้ง + อาหารข้น (เสริม 1.5%  $\text{NaHCO}_3$  และ 0.8%  $\text{MgO}$ )
3. หญ้ารูชีแห้ง + อาหารข้น (ไม่เสริมบัฟเฟอร์)
4. หญ้ารูชีหมัก + อาหารข้น (ไม่เสริมบัฟเฟอร์)

อาหารทั้ง 4 สูตรที่ใช้ เป็นสูตรอาหารที่จะใช้เลี้ยงโคนมในการทดลองที่ 3 การศึกษาทำโดยหึ่งตัวอย่างอาหารทั้ง 4 สูตรที่อบแห้งและบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ประมาณ 230 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดพิเศษคล้ายกระบอกฉีดยา (syringe) ขนาดใหญ่ ปลายหลอดมีสายซิลิโคนสั้นๆ และมีคลิปสำหรับเปิด - ปิดได้ ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนของโคลูกผสม ไฮลสไนด์ ฟรีเซียน จำนวน 2 ตัว มาผสมรวมกัน หลังจากกรองแล้วเติมสารละลายแร่ธาตุและบัฟเฟอร์ ชนิดเดียวกับที่แนะนำโดย Menke and Steingass (1988) ปริมาณหลอดละ 50 มิลลิลิตร นำหลอดดังกล่าวไปบ่มในอ่างน้ำอุ่นขนาดใหญ่ ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 39 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างหลังจากเริ่มบ่มไปแล้ว 2, 4, 8 และ 12 ชั่วโมงโดยนำมาเทใส่ในขวดพลาสติกที่ภายในบรรจุกรดฟอสฟอริก 10 N ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ซึ่งชั่งน้ำหนักขวดที่บรรจุกรดฟอสฟอริกพร้อมฝาปิดไว้ก่อนเพื่อนำไปหักลบกับน้ำหนักขวดที่มีตัวอย่างที่ผ่านการบ่มแล้ว ปิดฝาขวดและเขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 วัน โดยเขย่าวันละ 2 ครั้ง เมื่อครบ 2 วัน จึงเขย่าให้เข้ากันแล้วตวงสารละลาย 40 มิลลิลิตร ลงในหลอด centrifuge ปั่นที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้น ดูด supernatant มากรองผ่าน microfilter ที่มี pore ขนาด 0.45 ไมครอน นำสารละลายที่ได้ใส่ลงใน vial ขนาด 1 มิลลิลิตร เติม internal standard (2 ethyl - butyrate) 0.1 มิลลิลิตร เขย่าและนำไปแช่แข็งจนกว่าจะนำออกมาวิเคราะห์ ปริมาณกรดไขมันระเหยได้โดยใช้เครื่อง gas chromatography ของ Shimadzu GC-14B

**การทดลองที่ 3** ศึกษาสมรรถภาพการผลิตของโคนมที่ได้รับอาหารที่มีหญ้ารูชีหมักเป็นอาหาร  
หายาบหลักเสริมด้วยบัฟเฟอร์และหญ้าแห้งและที่มีหญ้าแห้งเป็นอาหารหายาบหลัก

**สัตว์ทดลองและคอกทดลอง**

ทำการศึกษาในโครีดนมโดยใช้แม่โคลูกผสมระดับสายเลือดไฮลสไนด์ฟรีเซียนประมาณ 87.5% จำนวน 6 ตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ย 500 กิโลกรัม ซึ่งอยู่ในระยะรีดนมช่วงแรก-ช่วงกลางของการให้นม (หลังคลอดประมาณ 110 วัน) และให้น้ำนมเฉลี่ยประมาณ 20 กิโลกรัม/วัน นำมาเลี้ยงในของขังเดี่ยวผูกขึ้นโรงที่มีที่ให้น้ำอัตโนมัติและรางอาหารอยู่ด้านหน้าตัวโค ด้านบนติดตั้งพัดลมเพื่อระบายความร้อน

ให้แก่หลอดลง บริเวณที่โคยืนรองด้วยแผ่นยางสีดำหนาประมาณ 1 เซนติเมตร เพื่อป้องกันปัญหาเกี่ยวกับและการถลอกของขาที่อาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากการลุกยืนหรือนอนของโค

#### อาหารทดลอง

ใช้หญ้าที่หมักซึ่งเตรียมจากหญ้าสดอายุตัดประมาณ 50 วัน และพ่นสารละลายกากน้ำตาลที่ผสมน้ำในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร โดยใช้เครื่องสเปรย์ลงในแปลงหญ้า กัดเป็นอัตรากากน้ำตาลประมาณ 5% ของน้ำหนักหญ้าสด ใช้รถแทรกเตอร์ตัดหญ้าในแปลงให้มีขนาดประมาณ 10 – 15 เซนติเมตร นำมาหมักแบบกองบนพื้นซีเมนต์ที่รองด้วยพลาสติกใส ทำการไล่อากาศโดยการใช้อัตรารถแทรกเตอร์อัดทับจนแน่นเป็นชั้นๆ แล้วปิดกองให้มีฉนวนด้วยพลาสติกใสและพลาสติกหนาอีกชั้นหนึ่ง เก็บไว้นานประมาณ 3 เดือนก่อนที่จะเปิดนำมาใช้

หญ้าที่แห้งที่ใช้เป็นหญ้าแปลงเดียวกับหญ้าที่นำมาหมักซึ่งตัดที่อายุเท่ากันตากแดดในแปลงแล้วอัดเป็นฟ่อน ก่อนนำมาผสมในสูตรอาหาร หั่นให้มีขนาดชิ้นประมาณ 3 – 5 เซนติเมตร พร้อมทั้งคัดส่วนที่เป็นก้านแข็งออก สูตรอาหารคำนวณโดยใช้โปรแกรม XRATION (สมคิด, 2542) ให้มีโภชนาการเพียงพอสำหรับโคน้ำหนักตัว 500 กิโลกรัม อายุประมาณ 5 ปี ให้นมระยะที่ 3 วันละ 20 กิโลกรัม และมีไขมันนม 4% สูตรอาหารประกอบด้วย

T1 = หญ้าที่หมัก + อาหารข้น (เสริม 1.5% NaHCO<sub>3</sub> และ 0.8% MgO)

T2 = หญ้าที่หมัก + หญ้าที่แห้ง + อาหารข้น (เสริม 1.5% NaHCO<sub>3</sub> และ 0.8% MgO)

T3 = หญ้าที่แห้ง + อาหารข้น (ไม่เสริมบัฟเฟอร์)

T4 = หญ้าที่หมัก + อาหารข้น (ไม่เสริมบัฟเฟอร์)

อาหารทั้ง 4 สูตร มีสัดส่วนของอาหารข้น : อาหารหยาบ ประมาณ 70 : 30 ทั้งนี้การที่กำหนดสัดส่วนของอาหารข้นไว้ในปริมาณสูงนั้น เพื่อต้องการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะแอซิโดซิส สูตรอาหารทั้ง 4 สูตร แสดงในตาราง 3.1

ตาราง 3.1 ปริมาณอาหารผสมครบส่วน (TMR) ที่ให้โคกินในแต่ละวันและองค์ประกอบของอาหารข้นที่ใช้

Table 3.1 Amount of TMR offered (kg/day, as fed) and the composition of concentrate mixture.

TMR	1	2	3	4		1	2	3	4
Ruzi silage	23.01	10.99	-	22.62	<b>Concentrate (%)</b>				
Ruzi hay	-	3.00	5.64	-	<b>Ground corn</b>	57.42	58.25	60.59	59.03
Concentrate	12.86	12.93	13.08	12.93	<b>Soybean meal</b>	22.49	21.79	21.76	23.13
NaHCO <sub>3</sub>	0.20	0.20	-	-	<b>Rice bran</b>	10.00	10.00	10.00	10.00
MgO	0.11	0.11	-	-	<b>Fish meal</b>	5.00	5.00	5.00	5.00
Total weight (as fed)	36.18	27.23	18.72	35.55	<b>Limestone</b>	0.23	0.17	0.16	0.31
Total weight (DM)	16.96	17.18	16.75	16.64	<b>Mineral mixed</b>	2.56	2.49	2.49	2.54
					<b>Vit.AD<sub>3</sub>E (g)</b>	2.89	2.57	2.91	2.94
					<b>MgO</b>	0.80	0.80	-	-
					<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	1.50	1.50	-	-

#### แผนการทดลอง

เนื่องจากสัตว์ทดลองมีจำนวนน้อยและต้องการลดผลตกค้าง (residual effect) อันเกิดจากทรีทเมนต์ (จริญ, 2540) จึงได้ใช้แผนการทดลองแบบ Balanced design ใช้โค 6 ตัว ทำการทดลอง 4 ระยะ แต่เนื่องจากอาหารสูตรที่ 4 ซึ่งประกอบด้วยหญ้าหมักและอาหารข้นในระดับสูงอาจก่อให้เกิดแอสติโคซิสได้ ดังนั้นเพื่อขจัดปัญหา residual effect ของแอสติโคซิส ซึ่งจะทำให้การวัดผลของ 3 สูตรแรกคลาดเคลื่อน จึงจำเป็นต้องแบ่งการทดลองเป็น 2 trial โดย trial 1 ทำการทดลองกับอาหาร 3 สูตรแรกก่อน วางทรีทเมนต์สลับกันภายใน 2 สแควร์ แบ่งการทดลองเป็น 3 ระยะๆ ละ 17 วัน ส่วนใน trial 2 ให้โคทุกตัวได้รับอาหารสูตรที่ 3 ก่อนเป็นเวลา 14 วัน เพื่อปรับสภาพของโค และเพื่อลดผลกระทบจากทรีทเมนต์ที่ได้รับก่อนหน้านี้ หลังจากนั้นจึงให้อาหารสูตร 4 เป็นเวลา 16 วัน การจัดกลุ่มการทดลองแสดงในตาราง 3.2

### ตาราง 3.2 การจัดกลุ่มการทดลอง

Table 3.2 Treatment arrangement.

	Cow 1	Cow 2	Cow 3	Cow 4	Cow 5	Cow 6
<b>Trial 1</b> Period 1	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Period 2	T2	T3	T1	T3	T1	T2
Period 3	T3	T1	T2	T2	T3	T1
<b>Trial 2</b> Period 1	T3	T3	T3	T3	T3	T3
Period 2	T4	T4	T4	T4	T4	T4

#### Trial 1

ทำการทดลอง 3 ระยะๆละ 17 วัน โดย 7 วันแรกเป็นการปรับให้สัตว์คุ้นเคยกับอาหารใหม่ ส่วน 10 วันหลังทำการเก็บข้อมูลปริมาณน้ำนม

ตลอดการทดลองทั้ง 3 ระยะนี้ให้อาหารวันละ 2 เวลา คือ 8:30 น. และ 16:30 น. ในรูปอาหารผสมครบส่วน โดยผสมให้เป็นรายตัว ในแต่ละมือทำการเก็บอาหารเหลือออกวันละครั้งก่อนให้อาหารมือเช้า สุ่มเก็บตัวอย่างทั้งหญ้าหมัก หญ้าแห้งและ อาหารข้น รวมทั้งตัวอย่างอาหารให้และอาหารเหลือนำไปอบหาค่าวัตถุแห้งทุกวัน เพื่อนำไปคำนวณค่าวัตถุแห้งที่โคกินได้ และในช่วงเก็บข้อมูล (10 วันสุดท้ายของแต่ละคาบ) จะเก็บตัวอย่างเพิ่มอีก 1 ชุด เพื่อนำมาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยเก็บเป็นเวลา 3 วัน การรีดนมใช้เครื่องรีดแบบ bucket วันละ 2 เวลา คือ 5:30 น. และ 15:30 น. สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมใน 5 วันสุดท้ายของแต่ละคาบ นำตัวอย่างในช่วงเช้าและเย็นมาผสมกันในอัตราส่วน 60:40 นำมารวมกัน ใส่ sodium azide ในอัตรา 0.1% เพื่อรักษาสภาพนม และเก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป ทำการวัดค่า pH ในปีสภาวะ, pH ในนม, อัตราการหายใจและอัตราการเคี้ยวเอื้อง ในช่วง 3 วันสุดท้ายของแต่ละระยะ โดยเก็บข้อมูลวันละ 1 ครั้ง การประเมินค่าความคงตัวของมูลโคแต่ละตัวทำตามวิธีการของ Hutjens (2002) โดยประเมินวันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 11:30 น. และ 18:00 น. และทำการเก็บมูลบางส่วนเพื่อนำไปอบหาค่าวัตถุแห้งในมูลด้วย เกณฑ์การให้คะแนนความคงตัวของมูลทำโดยการวัดความสูงจากพื้นถึงผิวด้านบนตรงบริเวณจุดกึ่งกลางของกองมูล ดังนี้

- คะแนน 1 มูลมีลักษณะเหลวคล้ายซूप
- คะแนน 2 มูลมีความสูงน้อยกว่า 1 นิ้ว
- คะแนน 3 มูลมีความสูงประมาณ 1.5 – 2 นิ้ว
- คะแนน 4 มูลมีความสูงประมาณ 2 – 3 นิ้ว
- คะแนน 5 มูลมีความสูงมากกว่า 3 นิ้ว



ในส่วนของอัตราการหายใจและอัตราการเลี้ยงเอื้องจะทำการวัดในเวลา 11:00 น. พร้อมทั้งวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนควบคู่ไปด้วย

## Trial 2

ทำการทดลองและเก็บข้อมูลเช่นเดียวกับใน trial 1 แต่ระยะทดลองใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์ ในการเก็บข้อมูล ค่า pH ในปัสสาวะ, ค่า pH ในมูล, อัตราการหายใจ, อัตราการเลี้ยงเอื้อง, ค่าวัตถุแห้งและประเมินความคงตัวของมูล จะเก็บสัปดาห์ละ 2 วัน วันละ 1 ครั้ง ส่วนองค์ประกอบน้ำนมจะสุ่มเก็บใน 2 วันสุดท้ายของแต่ละสัปดาห์ในทั้ง 2 ระยะการทดลอง

การประเมินคุณภาพทางกายภาพและวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมี

1. หาค่าความเป็นกรด - ค่าของหญ้าหมัก โดยใช้ glass electrode pH meter ตามวิธีการของ Bal *et al.*(1997) โดยนำตัวอย่าง 30 กรัม ผสมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นในโถปั่น (blender jar) เป็นเวลา 30 วินาที กรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น และนำน้ำที่กรองได้ไปวัดค่าความเป็นกรด - ค่า หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์โดยวิธีการกลั่น ตามวิธีการของ Zimmer (1966 อ้างโดยบุญล้อมและบุญเสริม, 2525) (ภาคผนวก 1)

2. นำตัวอย่างอาหารให้ อาหารเหลือ หญ้าหมัก หญ้าแห้งและอาหารขี้ไปอบหาค่าวัตถุแห้ง หลังจากนั้นบดตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมีและเชื้อใยโดยวิธี Proximate analysis (AOAC, 1984) และวิธี Detergent method (Goering and Van Soest, 1970)

3. การวัดค่าความเป็นกรด - ค่าของอาหารที่ให้แต่ละสูตร โดยนำตัวอย่างอาหารที่อบและบดแล้ว 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ไม่มีไอออน 40 มิลลิลิตร ชุบน้ำใน water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที คนอย่างสม่ำเสมอ หลังจากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรอง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาวัดค่าความเป็นกรด-ค่า โดยใช้ glass electrode pH meter นำค่า pH ที่วัดได้มาแทนค่าในสมการของ Barnett (1957, อ้างโดยบุญล้อมและบุญเสริม, 2525) ดังนี้

$$\text{pH (พีชหมักแห้ง)} = -0.880 + 1.305 \text{ pH (พีชหมักสด)}$$

4. วัดค่าความเป็นกรด - ค่าในตัวอย่างปัสสาวะและมูลทันที โดยใช้ glass electrode pH meter สำหรับมูลบางส่วนที่เก็บไว้ นำมาอบที่ 100 องศาเซลเซียสเพื่อหาค่าวัตถุแห้งในมูล

5. ทำการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม โดยใช้เครื่อง Milkoscan 133 V.3.9 GB

**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

ทำการวิเคราะห์วาเรียนซ์ (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลอง Balanced design และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Scheffe (Scheffe's multiple contrasts) ใน trial 1 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี t-test สำหรับ trial 2



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved