บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมเปลือกมันฝรั่ง เศษมันฝรั่ง หัวมันฝรั่งคัดทิ้ง และเปลือกมันฝรั่ง +เศษมันฝรั่ง +หัวมันฝรั่งคัดทิ้ง ในอาหารโคต่อ กระบวน การหมักในกระเพาะรูเมน

โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้คือ

Treatment 1 กลุ่มที่มีการเสริมเปลือกมันฝรั่ง 4 kg/day

Treatment 2 กลุ่มที่มีการเสริมเศษมันฝรั่ง 4 kg/day

Treatment 3 กลุ่มที่มีการเสริมหัวมันฝรั่งคัดทิ้ง 4 kg/day

Treatment 4 กลุ่มที่มีการเสริมเปลือกมันฝรั่ง+เศษมันฝรั่ง+หัวมันฝรั่งคัดทิ้ง 4 kg/day (ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เท่า ๆ กัน)

ให้อาหารปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (วัตถุแห้ง) อาหารหยาบที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ คือ ฟางข้าว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 06.00 น. และ 18.00 น.

3.1.1 สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือโคนมลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียน x พันธุ์พื้นเมือง อายุประมาณ 2-3 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 338.2 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว ได้รับการผ่าตัดใส่ท่อเก็บตัวอย่างอาหารที่กระเพาะรูเมน (rumen fistula) (ทัศนีย์ และเทอดชัย, 2530)

3.1.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Crossover Designs (Kuehl, 1994) โดยแบ่งโคออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 1 ตัว ตามชนิดของอาหารทดลองจำนวน 4 ช่วงการทดลอง แต่ละช่วงใช้ระยะเวลาในการทดลองช่วงละ 10 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แบ่งการทดลองออกเป็นช่วงต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ระยะปรับตัว (preliminary period) เป็นช่วงเวลาที่ปล่อยให้โคและจุลินทรีย์ปรับตัวเข้ากับอาหารทดลองและขับถ่ายอาหารเดิมออกจากทางเดินอาหารออกให้หมด โดยในระยะนี้ใช้เวลา 6 วัน

2. ระยะเก็บข้อมูล (collection period) ใช้เวลา 4 วัน ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างของเหลวจากกระเพาะรูเมน (rumen fluid) เพื่อทำการวัดแอมโมเนียไนโตรเจนที่เกิดขึ้นในกระเพาะรูเมนโดยวิธี Conway Method (Voigt and Steger, 1976) ทำการวัดก่อนที่โคจะกินอาหาร 1 ชั่วโมง และหลังจากโคกินอาหารแล้วในชั่วโมงที่ 1, 2, 3, และ 4 ชั่วโมง และทำการวัดค่าความเป็นกรด -ด่างในกระเพาะรูเมน(ruminal pH) โดยการสอดแท่ง electrode ลงไปวัดความเป็นกรด -ด่างที่บริเวณด้านล่างของกระเพาะรูเมนซึ่งทำการวัดก่อนที่โคจะกินอาหาร 1 ชั่วโมง และหลังจากโคกินอาหารแล้วในชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

3.1.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์วาเรียนซ์ (Analysis of variance) ใช้แผนการทดลองแบบ Crossover Designs (Kuehl, 1994) จำนวน 4 ช่วงการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie , 1980)

3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาการย่อยได้ในกระเพาะรูเมนโดยวิธี Nylon bag technique

ศึกษาการย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรียวัตถุของอาหารหยาบ เปลือกมันฝรั่ง เศษมันฝรั่ง และ ผลมันฝรั่งคัดทิ้งที่ใช้ในการทดลองโดยวิธี Nylon bag technique ตามวิธีการของ Ørskov and McDonald (1979)

3.2.1 สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือโคนมลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียน x พันธุ์พื้นเมือง อายุประมาณ 2-3 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 338.2 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว ได้รับการผ่าตัดใส่ท่อเก็บตัวอย่างอาหารที่กระเพาะรูเมน (rumen fistula) ตามวิธีการของ ทัศนีย์ และเทอดชัย (2530) ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.2 วิธีการทดลอง

นำตัวอย่างอาหารมาบดผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ใช้ถุงไนลอนขนาด 7 x 15 เซนติเมตร ที่มีขนาดถุงของรู 40 ไมโครเมตร ชั่งตัวอย่างอาหาร 3 กรัม ใส่ลงในถุงไนลอนที่ทราบน้ำหนักคงที่ และนำไปหมักย่อยในส่วนล่างของกระเพาะรูเมน โดยใช้เวลาในการหมักย่อย 8 ช่วงเวลาคือ 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง แต่ละระยะทำซ้ำ 2 ถุง เมื่อครบกำหนดเวลาเอาถุงออกจากกระเพาะรูเมน จากนั้นนำถุงทั้งหมดมาล้างทำความสะอาดด้วยเครื่องซักผ้านาน 15 นาที นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำถุงตัวอย่างไปชั่งน้ำหนักที่เหลือ

การคำนวณเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งที่หายไป (% Dry matter disappearance)

$$\% \text{ DM disappearance} = \frac{W_1 + W_2 + W_3}{W_2} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักถุง

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างอาหารเริ่มต้น

W_3 = น้ำหนักถุง+ตัวอย่างอาหารหลังอบ

นำค่า % DM disappearance ที่ชั่วโมงต่างๆ ไปคำนวณหาการย่อยสลาย และค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของการย่อยสลายของโภชนะ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป NEWAY (Chen, 1997) โดยใช้สมการ

$$P = a + b\,(1-e^{-ct})$$

เมื่อ P = โภชนะที่หายไปเวลา t (degradation at time t)

a = ส่วนที่ละลายได้ (immediately soluble material)

b = ส่วนที่ไม่ละลายแต่สามารถย่อยได้ (immediately soluble material)

a = ส่วนที่ละลายได้ (immediately soluble material)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์วาเรียนซ์ (Analysis of variance) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie , 1980)

3.3 การทดลองที่ 3 การประเมินค่าการย่อยได้และพลังงานโดยวิธีการวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น (Gas production techniques)

3.3.1 สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ โคนม ลูกผสม พันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียน x พันธุ์พื้นเมือง อายุประมาณ 2-3 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 338.2 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว ได้รับการผ่าตัดใส่ท่อเก็บตัวอย่างอาหารที่กระเพาะรูเมน (rumen fistula) ตามวิธีการของทัศนีย์ และเทอดชัย (2530) ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 กลุ่มการทดลองเป็นตัวให้น้ำจากกระเพาะหมัก

3.3.2 วิธีการทดลอง

ชั่งตัวอย่างอาหารที่บดผ่านตะแกรงขนาด 1 มม. ประมาณ 500 มก. ลงในหลอดแก้วขนาดใหญ่ ลักษณะคล้ายเข็มฉีดยา (syringe) ที่มีขีดบอกปริมาตรอยู่ข้างหลอด ปลายหลอดมีสายยางสั้นพร้อมคลิปเปิดปิด ใช้วาสลีนทาให้ทั่ว แล้วสอดเข้าในหลอดแก้ว อุ่นหลอดทดลองที่ได้ใส่ตัวอย่างไว้แล้วในตู้อบที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

- เตรียมหลอด syringe หลอดที่ 1-5 สำหรับทำ blank
- หลอด syringe หลอดที่ 6-10 สำหรับตัวอย่างอาหารหยาบมาตรฐาน
- หลอด syringe หลอดที่ 11-15 สำหรับตัวอย่างอาหารข้นมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียม rumen buffer medium ให้เติมสารละลายต่อไปนี้ตามลำดับ

	ปริมาตร (มล .) ต่อ 1 หลอด
1. น้ำ	10
2. Buffer solution	5
3. Macromineral solution	5
4. Resazurine solution	0.025
5. Micromineral solution	0.0025
6. Reduction solution	1
7. Rumen fluid	10

การเตรียมสารละลายให้เตรียมเผื่อปริมาณที่ต้องการไว้อีก 10 หลอด เพื่อให้สะดวกในการปิเปต ผสมสารละลาย 1-5 ก่อนที่จะเก็บน้ำจากรูเมน แช่สารละลายในอ่างน้ำอุ่น 39 องศาเซลเซียส ทำให้มีสภาพไร้ออกซิเจนโดยผ่านแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ไปตลอดเวลา คนด้วย magnetic stirrer

ก่อนเติม rumen fluid ให้ตรวจดูอุณหภูมิอีกครั้งว่าเป็น 39 องศาเซลเซียส แน่หรือไม่ จากนั้นเติม reduction solution ลงไปสีของสารละลายจะค่อยๆ เปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีชมพู และไม่มีสีตามลำดับ แสดงว่าเกิด reduction อย่างสมบูรณ์ แล้วจึงค่อยเติม rumen liquor มิฉะนั้นค่าที่ได้จะไม่ถูกต้อง เพราะแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในหลอดจะถูกนำไปใช้ในการ reduction

การเก็บน้ำจากรูเมนและการ incubate กับตัวอย่าง เก็บน้ำจากรูเมนก่อนให้สัตว์กินอาหารมื้อเช้า ขวดที่ใช้เก็บควรมีขนาด 1 ลิตร ทำขวดให้เป็นสภาพไร้ออกซิเจนโดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป่าลงไป และลวกขวดด้วยน้ำอุ่น ใช้วิธีบีบผ่านผ้ากรองตาห่างลง ไปในขวดก็ได้ เก็บให้เต็มขวดเพื่อไม่ให้มีออกซิเจน ปิดฝาอย่าให้ออกซิเจนเข้าได้ ใช้กระติกเพื่อรักษาอุณหภูมิ เมื่อนำมาถึงห้องปฏิบัติการให้แช่ในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ผ่านแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อไล่ออกซิเจนออก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตวงน้ำจากรูเมนตามปริมาณที่ต้องการผสมกับสารละลายหมายเลข 1-6 ในขวดที่วางในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส คนให้เข้ากันตลอดเวลาด้วย magnetic stirrer ขณะเดียวกันผ่านแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลงในสารละลายโดยจุ่มสายยางลงในขวด ใช้ปิเปตปั๊มสารละลาย rumen liquor buffer mixture ผ่านท่อสายยางเข้าในหลอดตัวอย่าง จับหลอดตัวอย่างชูด้านปลายขึ้นให้อยู่ในแนวดิ่งระดับสายตา ไล่ฟองแก๊สที่มีในหลอดออกให้หมดปิดท่อยางปลายหลอดหนีบด้วยคลิปหนีบ อ่านปริมาตรของส่วนผสมทั้งหมดในหลอดตัวอย่างด้วยทศนิยม 1 ตำแหน่ง บันทึกไว้ (V_0) โดยอ่านค่าที่แก๊สที่ 2 4 6 8 12 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง บันทึกปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นและนำไปคำนวณอัตราแก๊สที่เกิดขึ้น วิธีวัดปริมาณแก๊ส (gas production technique) ตามวิธีการของ Menke and Steingass (1998) ทำการคำนวณค่าแก๊สสุทธิที่ 24 ชั่วโมงจากสมการ

$$GP(ml/200\ mg\ DM, 24\ h) = \frac{(V_{24}-V_0-GP_0) \times 200 \times (Fh + Fc)/2}{W}$$

เมื่อ GP คือ ปริมาตรแก๊สสุทธิ (มิลลิลิตร) ที่เกิดจากการ incubate ตัวอย่างอาหาร 200 มิลลิกรัม(วัตถุแห้ง) เป็นเวลา t ชั่วโมง

V_0 คือ ปริมาตรส่วนผสมทั้งหมดที่อ่านได้ข้างหลอดก่อน incubate

V_{24} คือ ค่าที่อ่านได้ข้างหลอดเมื่อ incubate ได้ 24 ชั่วโมง

GP_0 คือ ค่าเฉลี่ยของแก๊สที่เกิดในหลอด blank อ่านได้ที่ 24 ชั่วโมง

Fh คือ 44.16/(GPh - GP0) ; roughage correction factor

Fc คือ 62.6/(GPc - GP0) ; concentrate correction factor

W คือ น้ำหนักตัวอย่างเป็นมิลลิกรัมวัตถุแห้ง

GPh คือ ปริมาตรที่เกิดจากการ incubate ตัวอย่างอาหารอยาบมาตรฐาน (มิลลิลิตร)

GPc คือ ปริมาตรที่เกิดจากการ incubate ตัวอย่างอาหารข้นมาตรฐาน (มิลลิลิตร)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำค่าที่ได้มาแทนในสมการเพื่อคำนวนหาค่าการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (organic matter digestibility, OMD) พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy, ME) และพลังงานสุทธิเพื่อการให้นม (net energy for lactation, NE_L) ดังนี้

$$OMD = 9.00 + 0.9991\ GP + 0.0595\ CP + 0.0181\ ash$$

ME = 1.06 + 0.157 GP + 0.0084 CP + 0.022 EE – 0.0081 ash

NE_L = - 0.36 + 0.1149 GP + 0.0054 CP + 0.0139 EE – 0.0054 ash

3.3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์วาเรียนซ์ (Analysis of variance) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie , 1980)

3.4 การทดลองที่ 4 การศึกษาการย่อยได้โดยวิธี Cellulase technique

ศึกษาการย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรียวัตถุของอาหารที่ใช้ทำการทดลอง โดยวิธี Cellulase technique ตามวิธีการของ De Boever *et al*. (1986)

3.4.1 วิธีการทดลอง

นำตัวอย่างอาหารมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 6 ชั่วโมง แล้วบดให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร ชั่งตัวอย่างอาหาร 300 มิลลิกรัม ใส่ใน glass filter-crucible เติม pepsin-hydrochloric acid solution ที่มีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 30 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขย่า crucible ทุก 5 ชั่วโมงเมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง นำ crucible ไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที แล้วทำการดูดสารละลายออกและกากอาหารด้วยน้ำกลั่นอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เติม cellulase-buffer solution ที่มีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 30 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขย่า crucible ทุก 5 ชั่วโมง เมื่อบ่มครบ 24 ชั่วโมง ดูดสารละลายออกและล้างกากอาหารด้วยน้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นำกากอาหารที่ไม่ย่อยไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เพื่อหาค่าวัตถุแห้งและนำกากไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เพื่อหาค่าอินทรียวัตถุ

การคำนวณหาการย่อยได้

คำนวณหาการย่อยได้ของวัตถุแห้งและอินทรียวัตถุ จากสมการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{digestibility (\%)} = \frac{Wo - Wt}{Wo} \times 100$$

เมื่อ Wo = ปริมาณโภชนะในอาหารก่อนการย่อย

Wt = ปริมาณโภชนะในการอาหารหลังการย่อย

การคำนวณหาค่าพลังงานเมทาบอไลซ์ (ME) และค่าพลังงานสุทธิเพื่อการให้นม (NE_L) นำค่าการย่อยได้อินทรียวัตถุ (organic matter digestibility, OMD) ที่ได้ไขมัน (EE)ไปคำนวณเป็นค่าพลังงานเมทาบอไลซ์ (matabilizable energy, ME) และค่าพลังงานสุทธิเพื่อใช้ในการให้นม (net energy for lactation, NE_L)โดยใช้สมการที่ De Boever *et al*. (1986) ได้เสนอไว้ดังนี้

ME (MJ/kgDM) = 0.150 x OMD + 0.241 x EE – 0.99 ($R^2 = 0.96$)

NE_L (MJ/kgDM) = 0.112 x OMD + 0.159 x EE – 2.37 ($R^2 = 0.96$)

3.4.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์วาเรียนซ์ (Analysis of variance) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1980)

3.5 การทดลองที่ 5 ศึกษาสมรรถภาพการผลิตของโคเนื้อ

3.5.1 สัตว์ทดลอง

ใช้โคเนื้อพันธุ์พื้นเมือง อายุประมาณ 4-6 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 145.31 กิโลกรัม จำนวน 16 ตัว เลี้ยงในค อกขังเดี่ยว ที่ มี รางอาหาร และ ที่ให้ น้ำ ในแต่ละคอก มีแร่ธาตุก้อนให้โคได้เลียกินตลอดเวลา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5.2 วิธีการทดลอง

แบ่งโคเป็น 4 กลุ่มโดยโคทุกกลุ่มได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหยาบอย่างเต็มที่โดยเทียบตามความต้องการที่ NRC ให้ได้รับอาหาร 4 สูตร ดังต่อไปนี้

Treatment 1 กลุ่มที่มีการเสริมเปลือกมันฝรั่ง 4 kg/day

Treatment 2 กลุ่มที่มีการเสริมเศษมันฝรั่ง 4 kg/day

Treatment 3 กลุ่มที่มีการเสริมหัวมันฝรั่งคัดทิ้ง 4 kg/day

Treatment 4 กลุ่ม ที่มีการเสริม เปลือกมันฝรั่ง +เศษมันฝรั่ง +หัวมันฝรั่งคัดทิ้ง 4 kg/day (ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 เท่า ๆ กัน)

ใช้ระยะเวลาในการทดลอง 60 วันบันทึกข้อมูลอาหารให้ อาหารเหลือ ทุกวัน ให้อาหารเช้าและเย็นในเวลา 8.00 น. และ 15.00 น. เก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่กินและ การเจริญเติบโต โดยทำการชั่งน้ำหนักโคก่อนเริ่มการทดลอง และหลังจากการทดลองแล้วเสร็จ

3.5.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์วาเรียนซ์ (Analysis of variance) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie , 1980)

3.6 สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. คอกโคทดลองภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำคณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการ อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.7 ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

ใช้ระยะเวลาในการทำวิจัยประมาณ 12 เดือน ระหว่างเดือน กันยายน 2551 – ตุลาคม 2552

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved