บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 การทดลองที่ 1 สำรวจพืชอาหารสัตว์และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบนพื้นที่สูง

ทำการเก็บข้อมูลแหล่งอาหารหยาบและวัสดุเศษเหลือในพื้นที่สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ และทำการเก็บตัวอย่างอาหารหยาบและวัสดุเศษเหลือเพื่อประเมินคุณค่าทางโภชนะของอาหารหยาบและวัสดุเศษเหลือ เพื่อทำปฏิทินผลพลอยได้/เศษเหลือทางการเกษตรในรอบ 1 ปี

1) สำรวจข้อมูลด้านศักยภาพเชิงปริมาณของแหล่งอาหารหยาบและวัสดุเศษเหลือในพื้นที่สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ เช่น หญ้าต่างๆ ในพื้นที่ ชนิดเศษผักจากโรงคัดบรรจุโครงการหลวงอินทนนท์

2) สำรวจข้อมูลด้านศักยภาพเชิงคุณภาพของแหล่งอาหารหยาบและวัสดุเศษเหลือในพื้นที่สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ ได้แก่ การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3) ศึกษาประเมินราคาต้นทุนของแหล่งอาหารหยาบและวัสดุเศษเหลือในพื้นที่สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์

3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาการเพิ่มคุณค่าทางอาหารและเก็บถนอมอาหารไว้ใช้ในช่วงที่ขาดแคลนพืชอาหารสัตว์

การเตรียมต้นเชื้อ

นำต้นเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก *L. plantarum* J39 ที่ได้คัดแยกมาจากอาหารผสมครบส่วนแบบหมัก (eTMR) โดยศูนย์พันธุวิศวกรรม และเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS media แล้วบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เพื่อให้ได้เชื้อที่มีความเข้มข้น 10^9 CFU/ml

การเตรียมอาหารหยาบ

ทำการตัดหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 ที่อายุ 45-60 วัน ให้มีขนาด 2-3 เซนติเมตร จากนั้นนำไปหมักใส่ถุง 2 ชั้น ชั้นในเป็นถุงพลาสติกใสขนาด 200 ไมครอนและชั้นนอกเป็นถุงกระสอบ บรรจุหญ้าถุงละ 20 กิโลกรัม กดอัดให้แน่น ทำการดูดอากาศออกให้หมด เพื่อให้มีสภาพไร้ออกซิเจน มัดถุงให้แน่นด้วยเชือกฟาง ส่วนในกลุ่มอาหารหมักเติมต้นเชื้อนั้น ทำการฉีดพ่นเชื้อ *L. plantalum* J39 ความเข้มข้น 10^6 CFU/g ในอัตราส่วนหญ้าหมัก 1 กิโลกรัมต่อเชื้อ 10 มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) แบ่งกลุ่มอาหารหยาบออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มที่ 1 อาหารหยาบสด (Fresh)

กลุ่มที่ 2 อาหารหยาบหมักไม่เติมต้นเชื้อ (Control)

กลุ่มที่ 3 อาหารหยาบหมักเติมต้นเชื้อ *L. plantalum* J39 (LAB)

ทำการหมักเป็นระยะเวลา 21 วัน หลังจากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารหยาบหมัก เพื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพการหมัก และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ภาพที่ 3.1 หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1

ภาพที่ 3.2 การฉีดพ่นเชื้อก่อนทำการหมัก

การวิเคราะห์คุณภาพการหมัก

นำตัวอย่างที่ได้จากการทดลองแบบสดตัวอย่างละ 1 กรัม นำไปวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยเครื่อง pH meter สำหรับการวิเคราะห์ Volatile fatty acid (VFA) จะนำตัวอย่างแบบสดตัวอย่างละ 60-250 กรัม นำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Gas chromatography (GC) รุ่น Shimadzu GC – 148 การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกจะนำตัวอย่างแบบสด 60-250 กรัม นำไปวิเคราะห์โดยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) รุ่น Serial 1110 และวิเคราะห์แอมโมเนียไนโตรเจน ด้วยวิธี Kjeldahl method (Chen *et al.*, 1994)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร ตามวิธี Proximate analysis (AOAC, 2000) ได้แก่

- วัตถุแห้ง (Dry matter, DM)
- อินทรียวัตถุ (Organic matter, OM)
- โปรตีนหยาบ (Crude protein, CP) (ภาพที่ 3)
- ไขมัน (Ether extract, EE) (ภาพที่ 4)
- เยื่อใย (Crude fiber, CF) (ภาพที่ 5)

วิเคราะห์ตัวอย่างอาหารตามวิธี Detergent method (Goering and Van Soet, 1970) ได้แก่

- เยื่อใยที่เป็นผนังเซลล์ (neutral detergent fiber, NDF) (ภาพที่ 6)
- ลิกโนเซลลูโลส (acid detergent fiber, ADF) (ภาพที่ 7)
- Acid detergent lignin (ADL) (ภาพที่ 8)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

ภาพที่ 3.3 การวิเคราะห์โปรตีนหยาบ

ภาพที่ 3.4 การวิเคราะห์ไขมัน

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ภาพที่ 3.5 การวิเคราะห์เยื่อใย

ภาพที่ 3.6 การวิเคราะห์เยื่อใยที่เป็นผนังเซลล์

ภาพที่ 3.7 การวิเคราะห์ลิกโนเซลลูโลส

ภาพที่ 3.8 การวิเคราะห์ลิกนิน

3.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับแกะพันธุ์ขนและแพะนมเพศผู้บนพื้นที่สูง

ศึกษาสูตรอาหารที่มีระดับโภชนะเหมาะสมต่อสมรรถภาพการผลิตของแกะพันธุ์ขนและแพะนมเพศผู้ โดยการผลิตอาหารผสมครบส่วนจากวัตถุดิบในท้องถิ่น วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยเลี้ยงแกะพันธุ์ขนและแพะนมเพศผู้ด้วยอาหารที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำ

กลุ่มที่ 1 (Control) ให้อาหารหยาบหมักอย่างเต็มที่ เสริมอาหารข้นที่ขายในท้องตลาด (โปรตีนไม่ต่ำกว่าร้อยละ 12) ร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักตัว

กลุ่มที่ 2 (TMR 1) ให้อาหารผสมครบส่วน ในสูตรอาหาร โปรตีนร้อยละ 14

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

กลุ่มที่ 3 (TMR 2) ให้อาหารผสมครบส่วน ในสูตรอาหาร โปรตีนร้อยละ 16

กลุ่มที่ 4 (TMR 3) ให้อาหารผสมครบส่วน ในสูตรอาหาร โปรตีนร้อยละ 18

บันทึกข้อมูล และนำไปคำนวณหาปริมาณการกินได้ (Feed Intake) อัตราการเจริญเติบโต (Average Daily Gain, ADG) น้ำหนักที่เพิ่ม (Weight Gain) การเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed Conversion Ratio, FCR) และต้นทุนค่าอาหาร (Feed cost)

3.4 การทดลองที่ 4 การศึกษาวิธีการขุนแพะนมเพศผู้ที่เหมาะสมบนพื้นที่สูง

ทำการเปรียบเทียบวิธีการขุนแพะนมเพศผู้ที่เหมาะสมบนพื้นที่สูง วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in a Completely Randomized Design โดยมีปัจจัยในการศึกษา 2 ปัจจัย ประกอบด้วย ปัจจัยที่ 1 คือ การตอนและไม่ตอน ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับของโปรตีนในอาหารผสมครบส่วน คือ โปรตีนร้อยละ 14, 16 และ 18 แบ่งเป็น 6 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ

กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ไม่ตอน และได้รับอาหารผสมครบส่วน ที่มีโปรตีนร้อยละ 14

กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ไม่ตอน และได้รับอาหารผสมครบส่วน ที่มีโปรตีนร้อยละ 16

กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ไม่ตอน และได้รับอาหารผสมครบส่วน ที่มีโปรตีนร้อยละ 18

กลุ่มที่ 4 กลุ่มที่ตอน และได้รับอาหารผสมครบส่วน ที่มีโปรตีนร้อยละ 14

กลุ่มที่ 5 กลุ่มที่ตอน และได้รับอาหารผสมครบส่วน ที่มีโปรตีนร้อยละ 16

กลุ่มที่ 6 กลุ่มที่ตอน และได้รับอาหารผสมครบส่วน ที่มีโปรตีนร้อยละ 18

บันทึกข้อมูล และนำไปคำนวณหาปริมาณการกินได้ (Feed Intake) อัตราการเจริญเติบโต (Average Daily Gain, ADG) น้ำหนักที่เพิ่ม (Weight Gain) การเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed Conversion Ratio, FCR) และต้นทุนค่าอาหาร (Feed cost)

3.5 สถานที่ดำเนินงานวิจัย

1. สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่
2. สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ.ฝาง จ. เชียงใหม่
3. ฟาร์มเกษตรกร ในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ อ.แม่ออน จ.เชียงใหม่
4. ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
5. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
6. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี