บทที่ 3
วิธีการวิจัย

3.1 การศึกษารวบรวมข้อมูลเพื่อการคัดเลือกวัตถุดิบสำหรับใช้ในการผลิตสารผสมล่วงหน้าสำหรับอาหารสัตว์อินทรีย์

3.1.1 รวบรวมข้อมูลวัตถุดิบที่มีคุณสมบัติโดดเด่นเหมาะสมในการผลิตสารผสมล่วงหน้า

ทำการศึกษาข้อมูลการผลิตสารผสมล่วงหน้าสำหรับอาหารสัตว์จากงานวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศ คุณสมบัติที่โดดเด่นในการเป็นแหล่งโภชนะทั้ง วิตามิน แร่ธาตุ และกรดอะมิโนของวัตถุดิบต่าง ๆ ทำการจัดจำแนกออกเป็นกลุ่มตามคุณสมบัติทางเคมีและประเมินความเป็นไปได้ในการใช้วัตถุดิบนั้น ๆ ในการผลิตสารผสมล่วงหน้าอินทรีย์ในอาหารสัตว์ ทำการศึกษาลักษณะวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีคุณสมบัติทางเคมีเด่นชัด เช่น คุณสมบัติการเป็นแหล่งของวิตามิน เช่น มะขามป้อม มะเขือเทศ ฟักทอง เป็นต้น การเป็นแหล่งของแร่ธาตุ เช่น งาดำ งาขี้ม้อน เป็นต้น หรือการเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฝรั่ง พริกไทย เป็นต้น โดยศึกษาข้อมูลจากงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศไม่น้อยกว่า 20 ชนิด โดยวัตถุดิบเหล่านี้จะต้องเป็นวัตถุดิบที่มาจากแหล่งการผลิตที่เป็นอินทรีย์ เมื่อทำการจำแนกกลุ่มของวัตถุดิบตามคุณสมบัติทางเคมีเบื้องต้นจากการศึกษาจากงานวิจัยก่อนหน้าแล้ว ทำการสำรวจพื้นที่ที่มีการเพาะปลูกหรือผลิตวัตถุดิบเหล่านั้นซึ่งทั้งหมดจะต้องอยู่ในระบบอินทรีย์

3.1.2 คัดเลือกพืชที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการผลิตสารผสมล่วงหน้า

เมื่อทำการรวบรวมข้อมูลวัตถุดิบในการผลิตสารผสมล่วงหน้าแล้ว ทำการจำแนกประเภทและคุณสมบัติของวัตถุดิบเหล่านั้น และทำการคัดเลือกพืชหรือวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตสารผสมล่วงหน้าอย่างน้อย 20 ชนิด โดยอาศัยหลักการเป็นวัตถุดิบที่มีการผลิตขึ้นในระบบอินทรีย์ และปริมาณของวัตถุสามารถหาได้ง่าย

3.2 การรวบรวมข้อมูลความต้องการวิตามิน แร่ธาตุ และสารประกอบอื่นของสัตว์ปีกและสุกร

3.2.1 รวบรวมข้อมูลความต้องการวิตามินและแร่ธาตุของสัตว์ปีก

ทำการรวบรวมข้อมูลความต้องการโภชนะโดยเฉพาะแร่ธาตุและวิตามินของสัตว์ปีกจากงานวิจัยก่อนหน้าทั้งในและต่างประเทศ โดยเฉพาะงานวิจัยภายในประเทศ ซึ่งจะมีความใกล้เคียงกับสภาพจริงของการเลี้ยงสัตว์ปีกในประเทศ โดยข้อมูลความต้องการแร่ธาตุและวิตามินนี้จะต้องอ้างอิงตามคำแนะนำของ NRC

3.2.2 รวบรวมข้อมูลความต้องการวิตามินและแร่ธาตุของสุกร

ทำการรวบรวมข้อมูลความต้องการโภชนะโดยเฉพาะแร่ธาตุและวิตามินของสุกรจากงานวิจัยก่อนหน้าทั้งในและต่างประเทศ โดยเฉพาะงานวิจัยภายในประเทศ ซึ่งจะมีความใกล้เคียงกับสภาพจริงของการเลี้ยงสุกรในประเทศ โดยข้อมูลความต้องการแร่ธาตุและวิตามินนี้จะต้องอ้างอิงตามคำแนะนำของ NRC

3.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนะของวัตถุดิบบนพื้นที่สูงที่ผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการ จำนวน 20 ชนิด เพื่อเป็นแนวทางในการวางแผนพัฒนาสูตรสารผสมล่วงหน้า จำนวน 2 สูตร

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และกลุ่มสารสำคัญที่มีคุณค่าทางอาหารจากพืช รวมไม่น้อยกว่า 20 ชนิดที่ผ่านการคัดเลือกและมีความเหมาะสมสำหรับการใช้ผลิตสารผสมล่วงหน้า โดยทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) โดยวิธี AOAC (2005)

3.3.1 ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารและโภชนาการของพืชตัวอย่าง ประกอบด้วย การวิเคราะห์โปรตีนโดยรวม ไขมันโดยรวม เยื่อใยโดยรวม เถ้า แร่ธาตุ พลังงาน

3.3.1.1 การวิเคราะห์โปรตีนโดยรวม โดยวิธีเจลดาล์ (ISO 5983)

ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.1 กรัม (ถ้าตัวอย่างมีโปรตีนน้อยให้ใช้ตัวอย่างปริมาณมากขึ้น) โดยชั่งด้วยกระดาษกรองที่ไม่มีสารไนโตรเจน ห่อให้มิดชิดแล้วใส่ในหลอดย่อยโปรตีน

หาปริมาณไนโตรเจน ตามขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนการย่อย (digestion)

1. เติมสารเร่งรวม 5 กรัม เพื่อเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อย (ตามปกติเมื่อเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงไปแล้ว จุดเดือด (boiling point) ของสารละลายจะเป็น 330 องศาเซลเซียส แต่เมื่อเติมสารเร่ง จะทำให้จุดเดือด ของสารละลายเพิ่มเป็น 400 องศาเซลเซียส

2. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มล. (ถ้าใช้ตัวอย่างมากกว่า 2 กรัมขึ้นไป ให้เพิ่มกรดซัลฟูริกเข้มข้นอีก โดยเพิ่ม 10 มล. ต่อ กรัมของตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น)

3. นำไปต้มบนเครื่องย่อย โดยในครั้งแรกให้ใช้ความร้อนต่ำ (350 องศาเซลเซียส) จนกระทั่งเดือด แล้วจึงเพิ่มความร้อนให้สูงขึ้น (370 องศาเซลเซียส) ถ้าสารละลายเดือดเร็วเกินไป ให้ปิดไฟสัก 5 นาทีแล้วค่อยเปิดใหม่ จนกระทั่งสารละลายในหลอดย่อยโปรตีน มีสีเขียวใส ปิดไฟเอาหลอดย่อยออกจากเครื่องย่อย แล้วทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมน้ำกลั่นอีกเล็กน้อย ต้มต่อไปอีก 2 นาทีเพื่อทำลายกรดซัลฟูริกที่อาจเกิดขึ้น

ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

1. เตรียมกรดบอริค โดยใส่กรดบอริคในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. จำนวน 40 มล. แล้วหยดอินดิเคเตอร์ลงในกรดบอริค 2 – 3 หยด ต่อจากนั้นนำไปวางที่เครื่องกลั่นโปรตีน โดยให้ปลายของหลอดแก้วที่ต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นของเครื่องกลั่นโปรตีน จุ่มอยู่ในกรดบอริค

2. ต่อหลอดย่อยโปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่น

ขั้นตอนการไตเตรท (titration)

1. นำขวดรูปชมพู่ (จากขั้นตอนการกลั่น) ไปไตเตรทด้วยกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น (0.1 นอร์มอล) จนถึงจุดยุติ (end point) หากใช้เมทธิลเรดเป็นอินดิเคเตอร์สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน แต่หากใช้อินดิเคเตอร์รวมสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอ่อน หรือใช้ด่างมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น (0.1 นอร์มอล) ไตเตรทแต่ควรใช้อินดิเคเตอร์รวมดูจุดยุติจะสังเกตสีได้ชัดเจน

2. จดปริมาตรกรดหรือด่างไว้เพื่อคำนวนต่อไป หมายเหตุ ในการวิเคราะห์โปรตีนแต่ละครั้งควรทำตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ (blank) ด้วย โดยไม่ตัวอย่าง ส่วนสารเคมีใส่เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง

การคำนวณโปรตีนโดยรวม

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน} = \frac{1.4\,(V1-V2)\,N \times 6.25}{W}$$

โดยที่ V1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานในการไตเตรทตัวอย่าง

V2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานในการไตเตรทตัวอย่างตรวจสอบ

N = ความเข้มข้นกรดเกลือนอลมอล

W = น้ำหนักตัวอย่าง

3.3.1.2 การวิเคราะห์ไขมันโดยรวม โดยวิธี soxhlet (AOAC, 1990)

1. อบขวดก้นกลมสำหรับหาปริมาณไขมันขนาดความจุ 250 มิลลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก

2. ชั่งตัวอย่าง 1-2 กรัม บนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ห่อให้มิดชิด

3. นำตัวอย่างใส่ในหลอด soxlet

4. เติมตัวทำละลาย dichloromethane ปริมาตร 150 มิลลิตรในขวดก้นกลม ประกอบชุดสกัดไขมัน พร้อมอุปกรณ์ควบแน่น ตั้งบนเตา

5. ใช้เวลาสกัด 16 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

6. เมื่อครบระยะเวลานำตัวอย่างออกจาก soxlet ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจาก soxlet ลงในขวดก้นกลมจนหมด ระเหยตัวทำละลายที่เหลือออก

7. อบขวดก้นกลมในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซียลเซียสจนแห้ง ประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

8. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง

การคำนวณไขมันโดยรวม

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักที่ไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \text{ X } 100$$

3.3.1.3 การวิเคราะห์เยื่อใยโดยรวม (AOAC, 1990)

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมใส่ในขวดก้นกลม เติม H_2SO_4 1.25% ปริมาตร 200 มิลลิตร

2. นำขวดก้นกลมต่อกับเครื่องวิเคราะห์เยื่อใย ที่มีการควบคุมความเข้มข้นของสารละลายเป็นเวลา 30 นาที

3. นำตัวอย่างที่ต้มแล้วกรองตะกอนผ่านกระดาษกรอง

4. ขูดตะกอนที่เหลือใส่ในขวดก้นกลมเดิมและเติม NaOH 1.25% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นทำเช่นเดียวกับการเติม H_2SO_4 1.25%

5. นำสารละลายที่ได้กรองผ่านกระดาษกรองอีกครั้ง ล้างด่างที่ติดกับตัวอย่างจนหมดด้วยน้ำกลั่นที่ต้มร้อน จากนั้นล้างด้วย acetone ประมาณ 20-30 มิลลิตร

6. เมื่อตัวอย่างแห้งขูดตะกอนตัวอย่างที่เหลือใส่ใน crucible โดยพยายามขูดออกให้หมด

7. อบ crucible ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

8. นำ crucible ออกจากตู้อบและทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ทำการชั่งน้ำหนัก

9. นำ crucible พร้อมตะกอนเผาที่ 550 องศาเซียลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

10. นำcrucible พักให้เย็นในโถดูดความชื้น เมื่อเย็นแล้วทำการชั่งน้ำหนัก

การคำนวนเยื่อใยโดยรวม

X 100

$$\text{เปอร์เซ็นต์เยื่อใย} = \frac{(\text{น้ำหนักถ้วยก่อนเผา} - \text{น้ำหนักถ้วยหลังเผา})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

3.3.1.4 การวิเคราะห์เถ้า (AOAC, 1990)

1) อบถ้วยกระเบื้องเคลือบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาใส่โถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนัก

2) ชั่งตัวอย่าง 2 กรัมใส่ถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน

3) นำตัวอย่างที่เผาจนหมดควันแล้วเข้าเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

4) เมื่อตัวอย่างเย็นแล้ว นำออกมาใส่โถดูดความชื้น จากนั้นชั่งน้ำหนักและบันทึกผล

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{(\text{น้ำหนักถ้วยก่อนเผา} - \text{น้ำหนักถ้วยหลังเผา})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3.3.1.5 การวิเคราะห์พลังงาน (Gross Energy) โดยเครื่อง Bomb Calorimeter

ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม จากนั้นอัดให้เป็นก้อน ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง bomb calorimeter

3.3.1.6 การหาปริมาณกรดอะมิโน (amino acid profile) ด้วยเทคนิค Capillary electrophoesis

ทำการย่อยตัวอย่างโดยทำการสกัดไขมันจากตัวอย่าง จากนั้นชั่งตัวอย่าง 0.1 กรัม เติม 6 M HCl 10 ml การย่อยที่อุณหภูมิ 110-120 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองตะกอนออกแล้วนำของเหลวที่ได้ไประเหยแห้ง จากนั้นละลายด้วย borate buffer 20 ml ปรับ pH 8.5 จากนั้นนำไป derivertization จากนั้นกรองตัวอย่างและฉีดวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Capillary electrophoesis

3.3.1.7 การวิเคราะห์แร่ธาตุ ด้วยเครื่อง Atomic Absorption (AA)

8.3.1.7.1 ปริมาณโพแตสเซียมทั้งหมด (total-K)

1. เตรียมสารละลาย 5% Lanthanum chloride โดยชั่ง Lanthanum oxide จำนวน58.65 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 250มล. เติม 37% HCl ลงไปปริมาตร 250 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่น
2. เตรียม standard-K 1,000 ppm ใช้ KCl บริสุทธิ์ (อบแห้งที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2 ชม.ก่อนชั่ง)
3. เตรียม stand-K 100 ppm.
4. การเตรียม standard curve ให้มีความเข้มข้นของ K เป็น 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 และ 2.0 ppm ใช้ volumetric flask ขนาด 250 มล. เติม HNO_3 ความเข้มข้นจำนวน 10 มล. และเติม5% Lanthanum chloride 10 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไป

อ่านด้วยเครื่อง Atomic Adsorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 nm. ที่ slit width เท่ากับ 0.7 nm. และที่ energy อยู่ ในช่วง 66-70

5. ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยจำนวน 0.5 มล. ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนำไปอ่านด้วยเครื่อง Flame photometer เหมือนกับ standard cruve แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ K

3.3.1.7.2 ปริมาณ Ca และ Mg

1. เตรียมสารละลาย 5% Lanthanum chloride

2. เตรียมสารละลาย 0.2% Lanthanum chloride

3. เตรียมสารละลาย standard-Ca ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm. และสารละลาย standard-Ca ที่มีความเข้มข้น 100 ppm. ชั่ง $CaCO_3$ จำนวน 2.52 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มล. เติม conc. HCl จำนวน 5 มล. แล้วปรับ ปริมาตรให้เป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask จะได้ standard-Ca 1,000 ppm. สำหรับ standard-Ca ที่มีความเข้มข้น 100 ppm. เตรียมได้จากการดูดสารละลาย standard-Ca 1,000 ppm. จำนวน 10 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4. เตรียมสารละลาย standard-Mg ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm. และสารละลาย standard-Mg ที่มีความเข้มข้น 100 ppm. โดยชั่ง $MgSO_4.7H20$ จำนวน 1.027 กรัม ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นสำหรับ standard-Mg. ที่มีความเข้มข้น 100 ppm. เตรียมได้จากการดูดสารละลาย standard-Mg 1,000 ppm. จำนวน 10 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

6. เตรียม standard curve ของ Ca และ Mg โดยเตรียม standard curve ของ Ca ที่มีความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm. จากการดูดสารละลาย standard-Ca 250 ppm. มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 มล. เติม HNO_3 ความเข้มข้นจำนวน 10 มล. และ เติม5% Lanthanum chloride 10 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นและสำหรับ standard curve ของ Mg ที่มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 ppm. จากการดูดสารละลาย standard-Mg 25 ppm. มาจำนวน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. ตามลำดับใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 มล. เติม HNO_3 ความเข้มข้นจำนวน 10มล. และเติม 5% Lanthanum chloride 10 มล. เช่นเดียวกัน เขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ซึ่งตั้ง Lamp ที่ 30 โดย Ca จะอ่านที่ความยาวคลื่น 422.7 nm. ที่ slit width เท่ากับ 0.7 nm. และที่ energy เท่ากับ 73 ส่วน Mg จะอ่านที่ความยาวคลื่น 285.2 nm. ที่ slit width เท่ากับ 0.7 nm. และที่ energy อยู่ ในช่วง 69-74.

7. การหาปริมาณ Ca และ Mg ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยมาจำนวน 0.5 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มล.ปรับปริมาตรด้วย 0.2% Lanthanum chloride หรือ เติม 5% Lanthanum chloride 1 มล.ปรับด้วยน้ำกลั่นเขย่าแล้วนำไปอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer เช่นเดียวกับ standard curve ใน ข้อที่ 5 แล้วนำมาคำนวนหาค่า Ca และ Mg

3.3.1.7.2 ปริมาณ Fe Mn Cu และ Zn

3.5 การศึกษาต้นทุนการผลิตสารผสมล่วงหน้า (premix) เบื้องต้นเพื่อประเมินความคุ้มค่าในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ทำการรวบรวมข้อมูลต้นทุนการผลิตในระหว่างการวิจัยเพื่อประเมินต้นทุนการผลิต และคาดการต้นทุนการผลิตในกรณีผลิตในทางการค้า

3.6 พื้นที่ดำเนินการวิจัย/เก็บข้อมูล

- พื้นที่ของมูลนิธิโครงการหลวงหรือโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง
- ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.7 ระยะเวลาการดำเนินงาน

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 300 วัน นับแต่วันลงนามในสัญญา

3.8 งบประมาณตลอดโครงการ

900,000 บาท (เก้าแสนบาทถ้วน)

3.9 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการปี 2562

กิจกรรม	ระยะเวลาดำเนินกิจกรรม (วัน)									
	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
กิจกรรมที่ 1: การศึกษาและรวบรวมข้อมูลเพื่อคัดเลือกวัตถุดิบบนพื้นที่สูงที่มีองค์ประกอบเหมาะสมในการผลิตสารผสมล่วงหน้า (premix) โดยศึกษาคัดเลือกจากรายงานการวิจัยทั้งในและต่างประเทศ										
- รวบรวมข้อมูลวัตถุดิบที่มีคุณสมบัติโดดเด่นเหมาะสมในการผลิตสารผสมล่วงหน้า	←									
- คัดเลือกพืชที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการผลิตสารผสมล่วงหน้า	←									
กิจกรรมที่ 2: การรวบรวมข้อมูลความต้องการวิตามิน แร่ธาตุ และสารประกอบอื่น เช่น กรดอะมิโนของสัตว์ปีกและสุกร										
-รวบรวมข้อมูลความต้องการวิตามิน แร่ธาตุและสารประกอบอื่น ของสัตว์ปีกและสุกร		←		→						
กิจกรรมที่ 3: การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนะของวัตถุดิบบนพื้นที่สูงที่ผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการ จำนวน 20 ชนิด เพื่อเป็นแนวทางในการวางแผนพัฒนาสูตรสารผสมล่วงหน้า จำนวน 2 สูตร										
ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารและโภชนาการของพืชตัวอย่าง ประกอบด้วย การวิเคราะห์โปรตีนโดยรวม ไขมันโดยรวม เยื่อใยโดยรวม เถ้า แร่ธาตุ พลังงาน		←					→			
กิจกรรมที่ 4: การทดสอบและวิเคราะห์การประกอบสูตรสารผสมล่วงหน้าเพื่อผลิตสารผสมล่วงหน้าโดยใช้วัตถุดิบตามมาตรฐานสัตว์อินทรีย์										

กิจกรรม	ระยะเวลาดำเนินกิจกรรม (วัน)									
	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
- การทดสอบและวิเคราะห์วัตถุดิบที่มีคุณค่าทางโภชนะสูงเพื่อผลิตสารผสมล่วงหน้า						◄	—	►		
- การสกัดสารสำคัญจากพืชที่มีสารสำคัญอยู่สูงอย่างน้อย 2 ชนิดเพื่อผลิตสารผสมล่วงหน้า								◄	—	►
กิจกรรมที่ 5: การศึกษาต้นทุนการผลิตสารผสมล่วงหน้า (premix) เบื้องต้นเพื่อประเมินความคุ้มค่าในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป										
- การศึกษาต้นทุนการผลิตสารผสมล่วงหน้า (premix) เบื้องต้นเพื่อประเมินความคุ้มค่าในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป									◄	►
เสนอรายงานการศึกษาเบื้องต้น (Inception Report)	●									
เสนอรายงานความก้าวหน้า (Progress Report)					●					
เสนอร่างรายงานฉบับสมบูรณ์(Draft Final Report)								●		
เสนอรายผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ (Final Report)										●

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