บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการศึกษา

1. ตู้อบแห้งด้วยลมร้อน
2. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน
3. เครื่องบด
4. ตู้บ่มเพาะจุลินทรีย์
5. เตาเผา
6. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
7. เครื่องผสมสาร
8. ตู้แช่แข็ง
9. ถังพลาสติก
10. เครื่องชั่ง
11. เครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน
12. เครื่องวิเคราะห์พลังงาน
13. เครื่องดูดสูญญากาศ
14. เครื่องสับย่อยซากพืช
15. เครื่องดูดตวงสารเคมีอัตโนมัติ
16. ตู้ดูดควันพิษ
17. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
18. อุปกรณ์เครื่องแก้ว/สารเคมี
19. โคนมลูกผสมเพศผู้อายุ 3 ปี ที่ได้เจาะกระเพาะรูเมนแล้ว

โดยใช้เครื่องมือจากห้องปฏิบัติอาหารและโภชนศาสตร์สัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

วิธีการผลิตและเก็บตัวอย่างข้าวโพดหมักจากเกษตรกร

1. ศึกษากรรมวิธีการผลิตข้าวโพดหมักของเกษตรกร อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ซึ่งมีการผลิตเพื่อจำหน่ายให้เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ในพื้นที่ใกล้เคียง โดยเก็บข้อมูลลักษณะสภาพของต้นข้าวโพดก่อนหมัก วิธีการผลิต เช่น การบดสับต้นข้าวโพด การบรรจุถุง การดูดอากาศ การเก็บรักษา การจำหน่าย เป็นต้น

2. ประเมินคุณภาพของผลผลิตข้าวโพดหมักของเกษตรกร สุ่มเก็บตัวอย่างข้าวโพดหมักจากถุงบรรจุของเกษตรกรที่ผลิตแล้วพร้อมจำหน่าย โดยเก็บตัวอย่างจาก 4 ถุง (4 ซ้ำ) และนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ ในการทดลองต่อไป

วิธีผลิตข้าวโพดหมักโดยใช้ฝุ่นข้าวโพดและกากน้ำตาลเป็นสารเสริม

การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) (จรัญ, 2549) จำนวน 5 ทรีตเมนต์ 4 ซ้ำ โดย ทรีตเมนต์ ที่ศึกษามีดังนี้

ทรีตเมนต์ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่มีการใช้สารเสริม)

ทรีตเมนต์ 2 ต้นข้าวโพดฝักอ่อนหมักเสริมด้วยฝุ่นข้าวโพด 10 เปอร์เซ็นต์

ทรีตเมนต์ 3 ต้นข้าวโพดฝักอ่อนหมักเสริมด้วยกากน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์

ทรีตเมนต์ 4 ต้นข้าวโพดฝักอ่อนหมักเสริมด้วยฝุ่นข้าวโพด 10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับกากน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์

ทรีตเมนต์ 5 ต้นข้าวโพดฝักอ่อนหมักที่ผลิตโดยเกษตรกร

กรรมวิธีการผลิตข้าวโพดหมัก (ทรีตเมนต์ 1-4)

1. ตัดต้นข้าวโพดฝักอ่อนหลังจากการเก็บผลผลิตแล้วจากแปลงของเกษตรกร อายุประมาณ 55-60 วัน (ต้นข้าวโพดจะมีส่วนประกอบของต้น ใบ ฝักและไหมข้าวโพดบางส่วนที่ยังหลงเหลือบนต้นข้าวโพด) โดยตัดสูงจากพื้นประมาณ 10 เซนติเมตร

2. นำต้นข้าวโพดมาเข้าเครื่องหั่นให้มีขนาดประมาณ 1-3 เซนติเมตร

3. นำต้นข้าวโพดที่สับเรียบร้อยแล้วใส่ในกะละมัง ชั่งสารเสริมตามปริมาณที่ระบุไว้ในแต่ละทรีตเมนต์ (โดยน้ำหนักสด) ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน สุ่มตัวอย่างมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 36-48 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักแห้ง

4. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วบรรจุใส่ถุงพลาสติกใสอย่างหนา ขนาด 8x14 นิ้วปริมาณน้ำหนักสด 3 กิโลกรัมต่อถุง

5. อัดให้แน่น ดูดอากาศออกให้เป็นสูญญากาศโดยใช้เครื่องปั๊มดูด ปิดปากถุงให้สนิท เพื่อให้สภาพการหมักเป็นสภาพไร้ออกซิเจน ตรวจสอบไม่ให้มีรูรั่วป้องกันอากาศจากภายนอกผ่านเข้าในถุง

6. เก็บถุงข้าวโพดหมักที่ได้ในถังพลาสติกที่มีฝาปิด สามารถป้องกันการกัดแทะของหนู แมลง และสัตว์อื่น ๆ ตั้งไว้ในโรงเรือนเก็บระยะเวลา 30 วัน

การประเมินคุณภาพข้าวโพดหมักทางกายภาพ

1. หลังจากเก็บไว้เป็นระยะเวลาครบ 30 วัน (ทรีตเมนต์ 1-4) ชั่งน้ำหนักข้าวโพดหมักทั้งถุงก่อนเปิด เพื่อหาปริมาณการสูญเสียน้ำหนักสด และการสูญเสียน้ำหนักแห้ง

2. เปิดปากถุงสังเกตลักษณะทางกายภาพของข้าวโพดหมักที่ได้ทั้ง 5 ทรีตเมนต์ เช่น สี กลิ่น สังเกตลักษณะโครงสร้างโดยการใช้มือสัมผัส

การประเมินโภชนะของข้าวโพดหมัก

1. สุ่มเก็บตัวอย่างโดยคลุกเคล้าตัวอย่างอาหารหมักแต่ละถุงให้เข้ากันทั้งถุง แล้วเก็บตัวอย่าง ปริมาณ 50 กรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) (ภาคผนวก ก.5, ก.6)

2. สุ่มเก็บตัวอย่าง ปริมาณ 500 กรัม นำเข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง จนแห้งสนิท ชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักแห้ง (ภาคผนวก ก.1)

3. นำตัวอย่างที่อบแห้งแล้วไปบดผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร แบ่งเป็น 2 ส่วน เก็บตัวอย่างส่วนที่ 1 ใส่ขวดแก้วเก็บตัวอย่างปิดฝาให้สนิท บันทึกข้างขวดให้เรียบร้อย เพื่อนำไปวิเคราะห์หาการย่อยได้ของโภชนะ

4. นำตัวอย่างส่วนที่เหลือนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างใส่ขวดแก้วเก็บตัวอย่างปิดฝาให้สนิท บันทึกข้างขวดให้เรียบร้อย เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโภชนะ ดังนี้คือ โปรตีนรวม เถ้า และ พลังงาน (Gross energy) (ภาคผนวก ก.2, ก.3, ก.4)

วิธีประเมินการย่อยได้ของโปรตีน วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุ

การประเมินการย่อยได้ของโปรตีน วัตถุแห้งและอินทรียวัตถุโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบแบชคัลเจอร์ (Batch culture) ตามวิธีของ Srichana (2006) ดังนี้

การเตรียมสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองของ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ซึ่งเป็นโคนมเพศผู้พันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียน (Holstein friesian) ที่เจาะกระเพาะแล้ว สายเลือดประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ อายุประมาณ 36 เดือน น้ำหนักประมาณ 250 กิโลกรัม เลี้ยงแบบยืนโรง มีอาหารหยาบ อาหารข้นครบส่วนตามมาตรฐาน NRC (2001) และน้ำให้กินอย่างเพียงพอ โดยเลี้ยงปรับสภาพกระเพาะหมักเป็นเวลาอย่างน้อย 4 วันก่อนเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะรูเมน (Rumen fluid)

การเก็บตัวอย่างของเหลวกระเพาะรูเมน

เตรียมกระติกน้ำร้อนทึบแสงที่สามารถรักษาอุณหภูมิได้ ล้างทำความสะอาด เติมน้ำอุ่น 39 องศาเซลเซียส เก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนโดยใช้สายยางสอดเข้าไปในกระเพาะรูเมน ปลายสายอีกด้านต่อเข้ากับขวดรูปชมพู่ขนาด 2,000 มิลลิลิตร ที่มีจุกยางเจาะรู 2 รู ส่วนรูที่เหลือต่อกับสายยางอีกเส้นและปลายอีกด้านต่อเข้ากับเครื่องปั๊มดูดอากาศ เปิดปั๊มดูดอากาศจะทำให้เกิดสภาพสูญญากาศในขวดและเกิดแรงดูดในสายยางที่จุ่มอยู่ในกระเพาะรูเมน ดูดของเหลวจากกระเพาะรูเมนไหลเข้าในขวดจนได้ปริมาณเพียงพอตามต้องการ เทน้ำอุ่นในกระติกน้ำร้อนทิ้งแล้วถ่ายของเหลวกระเพาะรูเมนจากขวดรูปชมพู่ลงในกระติกน้ำร้อน ปิดฝาให้สนิท พร้อมนำไปทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนวิธีแบชคัลเจอร์

ชั่งตัวอย่างแห้งที่บดผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จำนวน 3 กรัม ใส่ลงถุงไนล่อนที่มีขนาดรูพรุน 40-50 ไมครอน ผูกปากถุงด้วยด้ายให้แน่น นำถุงใส่ในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร นำของเหลวจากกระเพาะรูเมนที่ผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบางแล้วเติมลงในขวดรูปชมพู่ 30 มิลลิลิตร และเติมน้ำลายเทียม (McDougall's artificial saliva) ปริมาณ 90 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:3) ในสภาพไร้ออกซิเจน โดยนำส่วนผสมที่ได้ไปผ่านแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ปิดจุกที่มีวาล์วที่อากาศสามารถผ่านออกทางเดียว เสียบอยู่ เพื่อให้แก๊สที่เกิดขึ้นช่วงระหว่างเพาะบ่มสามารถผ่านออกได้ นำใส่ลงในตู้บ่มแบบเขย่าแนวราบ (Orbital incubator) ที่ตั้งอุณหภูมิและความเร็วรอบไว้แล้ว โดยตั้งที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที บ่มต่อเนื่องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำถุงออกมาล้างด้วยน้ำประปาจนน้ำที่ล้างใส บีบน้ำออกจากถุงเบา ๆ แล้วนำเข้าอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท (48 ชั่วโมง) ชั่งน้ำหนักของถุงและอาหารที่เหลือ และคำนวณค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (Dry matter digestibility, DMD) โดยใช้สูตร

% การย่อยได้ของวัตถุแห้ง = (น้ำหนักแห้งตัวอย่างก่อนบ่ม-น้ำหนักแห้งตัวอย่างหลังบ่ม) x100
น้ำหนักแห้งตัวอย่างก่อนบ่ม

หลังจากนั้นนำตัวอย่างแห้งที่ได้ใส่ในขวดเก็บตัวอย่างปิดฝาให้สนิท บันทึกข้างขวดให้เรียบร้อย นำไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีนรวม (Crude Protein; CP) เพื่อนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าการย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (Organic matter digestibility, OMD) และค่าการย่อยได้ของโปรตีน (Crude protein digestibility, CPD) โดยใช้สูตร

น้ำหนักอินทรียวัตถุ = น้ำหนักแห้ง - น้ำหนักเถ้า

% การย่อยได้ของอินทรียวัตถุ = (น้ำหนักอินทรียวัตถุก่อนบ่ม - น้ำหนักอินทรียวัตถุหลังบ่ม) x100
น้ำหนักอินทรียวัตถุก่อนบ่ม

% การย่อยได้ของโปรตีน = (โปรตีนก่อนบ่ม - โปรตีนหลังบ่ม) x100
น้ำหนักอินทรียวัตถุก่อนบ่ม

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้ Proc GLM และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์โดยใช้ Duncan new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2006)

สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองที่ฟาร์มสัตว์ทดลองและห้องปฏิบัติการอาหารและโภชนศาสตร์สัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง 20 ตุลาคม 2552 สิ้นสุดการทดลอง 20 กุมภาพันธ์ 2553