บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

ก. สารเคมี

ชื่อสารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
1. Dichlolometane	Analytical reagent	Merck
2. 98% sulfuric acid	Analytical reagent	Lab- Scan
3. Selenium mixture	Analytical reagent	Merck
4. Chlololform	Analytical reagent	Merck
5. Methanol	Analytical reagent	Lab- Scan
6. Sodium Hydroxide	Analytical reagent	Merck
7. 20% Boron trifluoride in methanol	Analytical reagent	Merck
8. 2,2,4 trimethyl pentane	Analytical reagent	Lab- Scan
9. Sodium chloride	Analytical reagent	Merck
10. Sodium sulfate anhydrous	Analytical reagent	JT Baker
11. Ferric chloride	Analytical reagent	Merck
12. Magnesium chloride	Analytical reagent	Merck
13. Uranyl acetate	Analytical reagent	-
14. Phosphotungstic acid	Analytical reagent	-
15. n- Haptane	Analytical reagent	Lab- Scan
16. Propa-2-ol	Analytical reagent	Lab- Scan
17. Sodium methoxide	Analytical reagent	-
18. Sodium periodate	Analytical reagent	-
19. Acetylacetone	Analytical reagent	-
20. Potassium hydroxide	Analytical reagent	Merck

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

21. Petroleum ether	Analytical reagent	Lab- Scan
22. Hydrochloride acid	Analytical reagent	Merck
23. Anti-foaming agent	Analytical reagent	Fluka
24. Thiobarbituric acid	Analytical reagent	Fluka
25. Glacial acetic acid	Analytical reagent	JT Baker
26. น้ำกลั่น	-	-
27. Ammonium acetate	Analytical reagent	BHD
28. Pure dry cholesterol	Analytical reagent	Sigma
29. Boric acid	Analytical reagent	Merck
30. Nitric acid	Analytical reagent	BHD
31. Acetic acid	Analytical reagent	JT baker

ข. อุปกรณ์และเครื่องมือ

ชื่อเครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
1. Area meter	LI 3100	Li-*COR*	America
2. Minolta chroma meter	CR 300	-	Japan
3. pH meter	191	Knick	Germany
4. Conductivity meter	LF 196	-	Germany
5. Convection oven	-	-	Japan
6. Gas chromatography	GC-14B	Shimadzu	Japan
7. Column	DB-wax	J&W	America
8. Spectrophotometer	DU 7500	Beckman	Germany
9. Instron	5565	-	Germany
10. Centrifuge	Magafuge1.0	Heraeus	Germany
11. Water bath	-	W.Krannich	Germany
12. ตู้อบ Oven	DEV	Heraeus	Germany
13. เครื่องกลั่นโปรตีน	-	Gerhardt	Germany
14. เครื่องสกัดไขมัน	-	Gerhardt	Germany
15. หลอดกลั่นโปรตีน	-	Gerhardt	Germany
16. Vortex mixer	G-560E	Scientific Industries, Inc.	America

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

17. โถดูดความชื้น	GL32	Glaswerk wertheim	Germany
18. หม้อต้มความดันไอน้ำ	KA120	-	Germany
19. เครื่องแพ็คสูญญากาศ	C15-HL	Food equipment	Germany
20. Polysealer	210E	Mater M.f.g. Co.Ltd.	-
21. เครื่องชั่ง (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)	205A	Precisa	Switzerland
22. เครื่องชั่งน้ำหนัก	-	Berkel	Thailand
23. ตราชั่ง 500 กรัม	-	Tanita	Japan
24. เครื่องสกัดไขมัน	1043	Tecator	Sweden
25. เครื่องกลั่นโปรตีน	1002	Tecator	Sweden
26. บีกเกอร์ 50 มล.	No.1000	Pyrex	America
27. บีกเกอร์ 100 มล.	No.1000	Pyrex	America
28. บีกเกอร์ 500 มล.	No.1005	Pyrex	America
29. ขวดก้นกลม 100 มล.	-	Gladwerk wertheim	Germany
30. ขวดก้นกลม 250 มล.	-	Duran	-
31. กระบอกตวง 10 มล.	-	-	Germany
32. กระบอกตวง 25 มล.	-	-	Germany
33. กระบอกตวง 50 มล.	No.3022	Pyrex	America
34. กระบอกตวง 50 มล.	No.3022	Pyrex	America
35. Volumetric flask 50 มล.	-	SCHOTT	Germany
36. Volumetric flask 100 มล.	-	SCHOTT	Germany
37. Volumetric flask 1000 มล.	-	SCHOTT	Germany
38. หลอดทดลอง (ขนาด 1.2x10 และ 1.5x1.5 ซม.)	-	Pyrex	America
39. Thimble	-	Whatman	England
40. Micropipet 1000 ไมโครลิตร	-	Gilson	France
41. Micropipet 200 ไมโครลิตร	-	Gilson	France
42. ปิเปต ขนาด 1, 2 และ 5 ไมโครลิตร		Volac	America
42. กระดาษกรอง เบอร์ 41	-	Whatman	England
43. ตู้แช่แข็ง	FC-27	Sharp	Thailand

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

วิธีการทดลอง

3.1 ระยะก่อนการทดลองจริง (preliminary period)

3.1.1 เก็บและวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานอาหารสัตว์จากบริษัทและฟาร์มเอกชน จำนวนทั้งหมด 12 ตัวอย่าง โดยวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า – 6 และ โอเมก้า – 3 ในอาหาร (Table 8) เพื่อทดสอบดูว่ามีสัดส่วน $\omega_6 : \omega_3$ เท่าไร

3.1.2 ผสมสูตรอาหารเสริมน้ำมันปลา 2.00, 0.92, 0.53, 0.35, 0.24, 0.17, 0.08, 0.05 % ให้มีอัตราส่วน $\omega_6 : \omega_3$ เป็น 1:1, 2:1 ถึง 9:1 และอาหารพื้นฐานไม่เสริมน้ำมันปลาเป็นกลุ่มควบคุม แสดงใน Table 9

หมายเหตุ:ปริมาณน้ำมันปลาที่เสริมลงในสูตรอาหารคำนวณจากสัดส่วนของกรดไขมันชนิดต่างๆใน น้ำมันปลาที่บริษัทผู้จำหน่ายทำการวิเคราะห์ปริมาณ โดยคำนวณให้อัตราส่วน ω6 : ω3 ในสูตรอาหารเป็น 1: 1, 2:1... 9:1 ตามลำดับ

3.1.3 เลี้ยงสุกรลูกผสม 3 สายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ x ดูร็อค) จำนวน 20 ตัว (เพศผู้ 10 ตัว และเพศเมีย 10 ตัว) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 10 กลุ่ม ๆ ละ 2 ซ้ำ ซึ่งแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารทดลองที่แตกต่างกัน เริ่มต้นเลี้ยงสุกรที่น้ำหนัก 60 กิโลกรัม และทำการฆ่าสุกรที่น้ำหนัก 90 กิโลกรัม

3.1.4 ศึกษาด้านสมรรถภาพการผลิตของสุกร แสดงใน Table 10

- ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน
- ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด
- น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น
- อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน
- อัตราแลกเนื้อ

3.1.5 วิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า–6 และ โอเมก้า–3 ในไขมันสันหลัง (ซี่โครงที่ 10– 11) แสดงใน Table 11 โดยใช้เครื่อง Gas Chromatography (Shimadzu GC14 B)

ผลการทดลองก่อนระยะทดลองจริง พบว่า กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันปลาที่ระดับ 0.92 และ 2% มีแนวโน้มของสมรรถภาพการผลิตโดยรวมดีกว่ากลุ่มควบคุม และมีการสะสมกรดไขมันชนิดโอเมก้า – 3 ในไขมันสันหลัง ส่งผลให้สัดส่วนของกรดไขมันโอเมก้า – 6 ต่อโอเมก้า – 3 ลดลง

Table 8 Fatty acid profiles and ω_6: ω_3 ratio in swine diets from commercial feed and private farms (mg/100gfeed)

Farms	Fatty acids (mg / 100 g of feed)					
	Linoleic acid	Linolenic acid	Arachidonic acid	Eicosapentaenoic acid	Docosahexaenoic acid	Ratio of ω_6: ω_3
Sinkaset Co. (growing period)	696.27	31.44	ND	ND	ND	22.14
Sinkaset Co. (Finishing period)	695.02	61.05	ND	ND	ND	11.38
Betagro Co.	785.30	76.10	ND	ND	ND	10.31
CP Co.	1,015.08	49.86	ND	ND	ND	20.35
Lee Patthana Co.	954.39	77.14	ND	ND	ND	13.37
Kittiwat farm	998.83	113.91	ND	ND	ND	8.76
Vorapong farm	1,234.22	146.63	ND	ND	ND	8.41
Mae Hea farm	982.81	72.59	ND	ND	ND	13.53
Sermkasikit	625.32	65.25	ND	ND	ND	9.58
Sompong farm	830.64	83.51	ND	ND	ND	9.94
Phadang farm	660.25	99.03	ND	ND	ND	6.66
Mae Jo U. farm	952.49	82.12	ND	ND	ND	11.59
Average	**845.26**	**79.88**				**10.58**

ND = non detectable

ω_3 : Linolenic acid , Eicosapentaenoic acid and Docosahexaenoic acid

ω_6 : Linoleic acid and Arachidonic acid

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Table 9 Composition of preliminary experimental diets in finishing period (60-90 kg)

Ingredients	Tuna oil (%)									
	0.00	**0.05**	**0.08**	**0.12**	**0.17**	**0.24**	**0.35**	**0.53**	**0.92**	**2.00**
Feed concentrate[1], kg	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Rice bran, kg	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22
Corn, kg	54	54	54	54	54	54	54	54	54	54
Fish oils, g	0	50	80	120	170	240	350	530	920	2000
Antioxidant, g	-	1.212	1.218	1.2266	1.236	1.250	1.272	1.308	1.386	1.602
Vitamin E, g	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Bone meal, kg	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

[1] Sinkaset Industrial Pokphand Co., LTD.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Table 10 Effect of multi-level tuna oil supplymentation on performance of finishing pigs in preliminary period

Tuna oil,	Total feed intake, kg		Daily feed intake, kg		Weight gain, kg		Average daily gain, kg		Feed conversion ratio	
%	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
0	78.00^{b}	5.20	1.62^{a}	0.11	24.25^{b}	3.53	0.49^{b}	0.07	3.25^{a}	0.26
0.05	99.35^{ab}	8.15	2.06^{ab}	0.16	35.69^{ab}	5.80	0.72^{ab}	0.11	2.82^{ab}	0.23
0.08	94.10^{ab}	11.90	1.95^{ab}	0.24	32.16^{ab}	6.44	0.65^{ab}	0.13	2.96^{ab}	0.22
0.12	109.11^{ab}	0.81	02.27^{ab}	0.02	32.17^{ab}	1.73	0.82^{a}	0.11	2.79^{ab}	0.35
0.17	107.95^{ab}	21.15	2.24^{ab}	0.44	34.44^{ab}	7.05	0.70^{ab}	0.14	3.13^{ab}	0.02
0.24	108.15^{ab}	3.55	2.24^{ab}	0.07	44.88^{a}	1.57	0.91^{a}	0.03	2.46^{b}	0.05
0.35	94.70^{ab}	11.10	2.05^{ab}	0.15	29.90^{b}	4.92	0.73^{ab}	0.02	2.77^{ab}	0.26
0.53	103.50^{ab}	14.65	2.14^{ab}	0.30	33.80^{ab}	4.36	0.69^{ab}	0.08	3.04^{ab}	0.04
0.92	121.25^{a}	15.75	2.52^{b}	0.33	38.41^{ab}	0.24	0.78^{ab}	0.05	3.15^{ab}	0.43
2.00	117.30^{ab}	18.50	2.43^{ab}	0.38	35.81^{ab}	3.94	0.73^{ab}	0.08	3.24^{a}	0.15
Average	**103.29**	**3.99**	**2.15**	**0.08**	**34.21**	**1.56**	**0.72**	**0.03**	**2.96**	**0.07**

$^{a-b}$ Values with different superscripts within each column differ significantly ($p<0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Table 11 Fatty acid profiles of fat thickness in preliminary experimental diet calculated from fatty acid profile of tuna oil (g/ 100kg feed)

Fatty acids	Tuna oil (%)									
	0.00	**0.05**	**0.08**	**0.12**	**0.17**	**0.24**	**0.35**	**0.53**	**0.92**	**2.00**
Linoleic acid	695.22	695.47	695.62	695.82	696.08	696.45	696.98	697.88	699.85	705.22
Linolenic acid	61.05	62.12	62.77	63.63	64.76	66.33	68.63	72.50	80.95	104.05
Arachidonic acid	ND	0.55	0.88	1.32	1.90	2.70	3.88	5.86	10.18	22.00
Eicosapentaenoic acid	ND	2.58	4.56	6.84	9.86	14.00	20.12	30.38	52.78	114.00
Docosahexaenoic acid	ND	12.02	19.24	28.86	41.60	59.16	84.89	128.18	222.18	481.00
Total ω_6	695.22	696.02	696.50	697.14	697.98	699.15	700.86	703.74	710.03	727.22
Total ω_3	61.05	76.99	86.57	99.33	116.22	139.49	173.64	231.06	356.43	699.05
Ratio of ω_6: ω_3	11.38	9.04	8.04	7.01	6.00	5.01	4.03	3.04	1.99	1.04

ND = non detectable

ω_3 : Linolenic acid , Eicosapentaenoic acid and Docosahexaenoic acid

ω_6 : Linoleic acid and Arachidonic acid

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

3.2 ระยะทดลองจริง (experiment period)

3.2.1 ใช้สุกรพันธุ์ลูกผสม 3 สายพันธุ์ คละเพศ (แลนด์เรซ x ลาจ์ทไวท์ x ดูร็อค) จำนวน 40 ตัว น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 30 กิโลกรัม ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 10 ซ้ำ ซึ่งได้รับการเสริมน้ำมันปลา 0, 1, 2 และ 3 % ในสูตรอาหารซึ่งในแต่ละสูตรอาหารมีโปรตีนรวม 17 % (ระยะรุ่น) 16 % (ระยะขุน) และพลังงาน 4.0 Kcal/g เติมวิตามินอี 70 มก./ กก. และสารกันหืน (BHT) 0.02 % ของไขมันในอาหารเพื่อป้องกันการหืน

- คอกทดลอง เป็นคอกขังเดี่ยว แสดงใน Figure 9
- อาหารสัตว์ทดลอง ประกอบด้วย สูตรอาหารสุกรรุ่น (30-60 กก.) และสุกรขุน (60-90 กก.) แสดงใน Table 12 ให้สุกรได้รับอาหารแบบเต็มที่ การให้อาหารจะให้แบบทุกวันๆ ละ 2 เวลา (เช้า-เย็น) และให้น้ำสะอาดกินตลอดเวลา

Figure 9 pig pens (Individual) in this preliminary and experiment period

3.3.2 การบันทึกข้อมูลและวิเคราะห์ผล

- น้ำหนักเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง รวมทั้งในแต่ละช่วงระยะรุ่นและขุน
- การคำนวณหาปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน
- น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น
- จำนวนวันที่เลี้ยงเฉลี่ย
- อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน} = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวันที่ใช้เลี้ยง}}$$

- อัตราแลกเนื้อ

$$\text{อัตราแลกเนื้อ} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$$

- ต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักที่เพิ่ม 1 กก.

3.2.3 สุ่มเก็บอาหารตัวอย่างมาวิเคราะห์ทางโภชนศาสตร์ แสดงใน Table 13 (ปริมาณความชื้น วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน) โดยวิธี proximate analysis และหาค่าพลังงานในอาหาร (Gross energy) โดยเครื่อง Adiabatic Bomb Calorimeter

Figure 10 Tuna oil

Table 12 Composition of experimental diets fed to pigs in 2 periods, growing (30–60 kg) and finishing (60-90 kg.).

Ingredients	Growing period (30 -60 kg.)				Finishing period (60 -90 kg.)			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Feed concentrate[1], kg	27	27	27	27	24	24	24	24
Rice bran, kg	20	20	20	20	22	22	22	22
Corn, kg	53	53	53	53	54	54	54	54
Tuna oils, g	0	1,000	2,000	3,000	0	1,000	2,000	3,000
Antioxidant, g	1.218	1.418	1.618	1.818	1.218	1.418	1.618	1.818
Vitamin E, g	7	7	7	7	7	7	7	7
Bone meal, kg	3	3	3	3	3	3	3	3

[1] Sinkaset Industrial Pokphand Co., LTD.

Table 13 Chemical analysis of experimental diets fed to growing (30–60 kg.) and finishing (60–90 kg.) pigs

Chemical composition	Growing period (30–60 kg.)				Finishing period (60–90 kg.)			
	T_1	T_2	T_3	T_4	T_1	T_2	T_3	T_4
GE, Mcal/kg	4.01	4.08	4.10	4.11	4.00	4.12	4.15	4.18
ME, Mcal/kg	3.09	3.12	3.12	3.13	3.07	3.14	3.17	3.18
Crude protein, %	17.06	17.00	16.75	16.54	16.47	16.26	16.11	15.95
Crude fat, %	7.66	7.80	9.50	10.42	7.06	8.55	9.16	10.12
DM,%	89.42	90.3	90.59	90.58	89.81	89.37	91.30	90.92

3.2.4 วิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า – 6 และ โอเมก้า – 3 ในอาหารทดลอง แสดงใน Table 14 โดยใช้เครื่อง Gas Chromatography (Shimadzu GC 14 B)

3.2.5 ฆ่าสุกรที่น้ำหนัก 90 กิโลกรัม ที่ศูนย์ฝึกอบรมเทคโนโลยีเนื้อสัตว์แห่งชาติ (National Meat Technology and Training Center) เก็บข้อมูลทางด้านคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อ

Table 14 Analysis of fatty acid profiles and ω_6: ω_3 ratio in swine diets (growing period and finishing period)

Ingredients	Growing period (mg/100 g feed)				Finishing period (mg/100 g feed)			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
16:0	1256.09	1103.34	1231.35	1377.35	502.62	656.42	680.31	715.90
18:0	67.72	77.35	90.62	86.00	72.65	113.39	113.78	132.60
18:1	968.05	735.63	857.66	1254.43	718.55	957.84	871.81	994.28
18: 2 (ω-6)	258.47	235.26	277.48	244.08	227.73	293.76	284.38	286.77
18: 3 (ω-3)	31.75	32.40	35.32	39.58	30.25	34.84	35.48	36.68
20:0	19.07	12.72	13.36	13.28	15.67	21.55	21.07	22.73
20:4 (ω-6)	14.61	15.52	17.20	19.94	15.60	17.24	16.87	15.68
20:5 (ω-3)	ND	10.03	15.42	12.89	ND	16.04	17.26	23.39
22:6 (ω-3)	ND	0.37	0.34	0.83	ND	0.57	0.61	1.04
Total (ω-6)	273.08	250.78	294.68	264.02	243.33	311.00	301.25	302.45
Total (ω-3)	31.75	42.80	51.08	53.30	30.25	51.45	53.35	61.11
ω-6/ ω-3	8.60	5.85	5.76	4.95	8.04	6.04	5.64	4.94

ND = non detectable

ω_3 : Linolenic acid , Eicosapentaenoic acid and Docosahexaenoic acid

ω_6 : Linoleic acid and Arachidonic acid

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Figure 11 Electrical stuning

Figure 12 Chillng carcass in cold storage room

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การศึกษาด้านคุณภาพซากสุกร (carcass quality)

- เพื่อศึกษาลักษณะซากสุกรตามวิธีของสัญชัย (2534)
- ชั่งน้ำหนักสุกรที่ผ่านการอดอาหารมาแล้วอย่างน้อย 8-12 ชม. (live weight)
- ทำการตัดแต่งซากสุกรแบบไทย (Thai style cutting) แสดงใน Figure 13

Figure 13 Thai style cutting

เก็บข้อมูลดังต่อไปนี้

1. เก็บข้อมูลน้ำหนักมีชีวิต น้ำหนักซากสด และน้ำหนักซากเย็น
2. การคำนวณเปอร์เซ็นต์ซาก (dressing percentage) ของซากสุกร แนะนำโดย สัญชัย, 2534

$$\text{เปอร์เซ็นต์ซาก} = \frac{(\text{น้ำหนักซากสด} - 3\% \text{ ของน้ำหนักซากสด}) \times 100\%}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}}$$

$$\text{หรือ เปอร์เซ็นต์ซาก} = \frac{\text{น้ำหนักซากเย็น} \times 100\%}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}}$$

โดย น้ำหนักซากเย็น หมายถึง น้ำหนักซากที่ผ่านการแช่เย็นที่ 3 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

น้ำหนักมีชีวิต หมายถึง น้ำหนักตัวของสัตว์หลังจากอดอาหารเป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง

3. ใช้ซากสุกรซีกซ้าย เพื่อวัดความยาวซาก (carcass length) โดยวัดจากตำแหน่งซี่โครงแรกถึงหัวกระดูก lumbar แสดงใน Figure 14

Figure 14 Length measurement

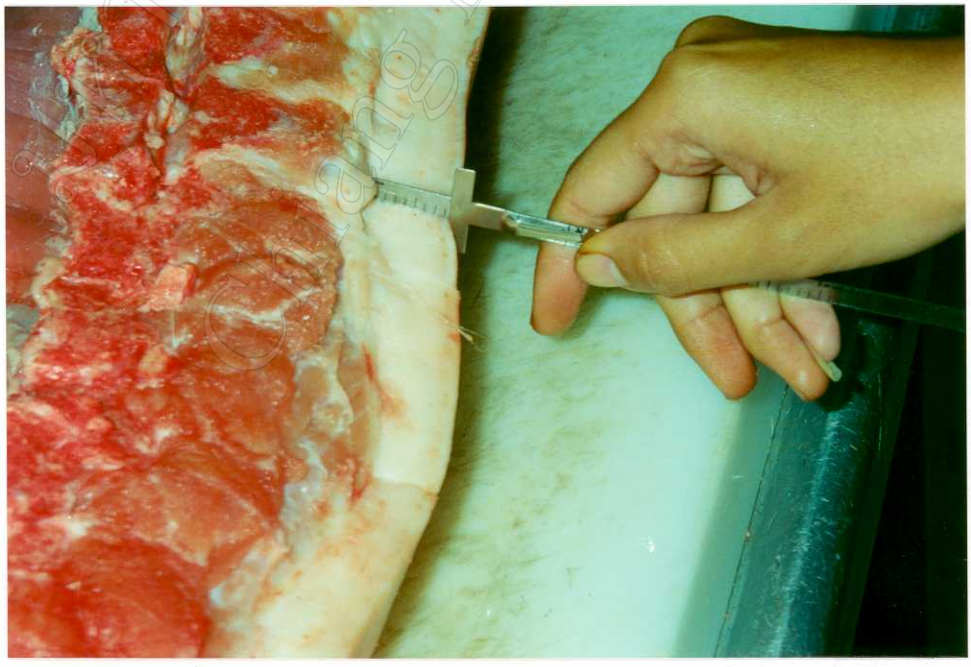

Figure 15 Backfat thickness measurement

4. ความหนาไขมันสันหลัง วัด 3 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งซี่โครงซี่แรก ซี่สุดท้าย และกระดูกสะโพก (lumbar)โดยใช้ backfat probe คำนวณหาค่าเฉลี่ย 3 จุดที่ได้ แสดงใน Figure 15

5. ส่วนเนื้อแดงที่ได้ (lean meat) พิจารณาจาก การประเมินเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของซากสุกรจากน้ำหนักซากสด ความหนาของไขมันสันหลัง (ซี่โครงที่ตำแหน่ง 10 และ 11) และพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน เปรียบเทียบจากตารางมาตรฐานการประเมินเปอร์เซ็นต์เนื้อแดง

6. พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (loin eye area) จากเนื้อสันนอกบริเวณตำแหน่งซี่โครงที่ 10 และ 11 โดยใช้กระดาษลอกลาย จากนั้นนำไปวัดค่าโดยเครื่องวัดพื้นที่ผิว (planimeter) แสดงใน Figure 16-17

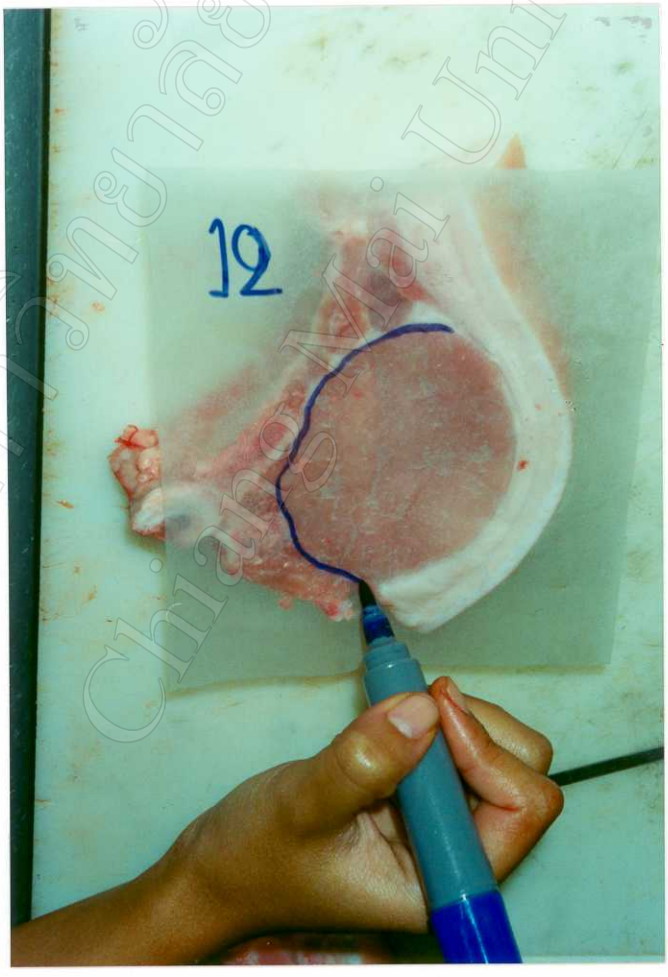

Figure 16 Loin eye area measurement

Figure 17 Planimeter

การศึกษาด้านคุณภาพเนื้อ (meat quality)

ใช้ซากสุกรซีกซ้ายที่ถูกแช่เย็น ที่ 3°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตัดแต่งบริเวณกล้ามเนื้อสันนอก (*longissimus dorsi*) เพื่อทำการเก็บเนื้อตัวอย่าง

Table 15 Study of meat quality from loin (*longissimus dorsi*)

Position of rib	Meat quality
6	Cholesterol
7	Color
8	Drip loss
9	Free fatty acid
10	Proportion
11	Chemical composition
12	Rancidity
13	Grilling loss, Panel test
14	Thawing loss, Boiling loss

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

เก็บตัวอย่างเนื้อสันตั้งแต่ซี่โครงที่ 6-14 เพื่อตรวจวิเคราะห์ต่างๆ ดังนี้

6^{th}–rib : ตรวจวิเคราะห์หาระดับโคเลสเตอรอล, ไตรกลีเซอร์ไรด์

7^{th}–rib : วัดสีของเนื้อ

8^{th}–rib : วัดเปอร์เซ็นต์ drip loss

9^{th}–rib : วิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดต่างๆ

10^{th}–rib : ชั่งน้ำหนักเนื้อหาสัดส่วนของเนื้อแดง กระดูก ไขมัน และหนัง

: วัดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน

11^{th}–rib : ตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อ

12^{th}–rib : ตรวจวัดค่าการหืนในช่วง 0, 5 และ 10 วัน

13^{th}–rib : วัดเปอร์เซ็นต์ grilling loss และตรวจชิมเนื้อ

14^{th}–rib : วัดเปอร์เซ็นต์ thawing loss, boiling loss และวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

เก็บตัวอย่างเนื้อ เพื่อทำการหาดังนี้

1. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH value)

การวัดค่า pH จะวัดในชั่วโมงแรกที่สัตว์ตายในนาทีที่ 45 (pH_1) โดยใช้เป็นดัชนีทางอ้อมของอัตราการเกิด glycolysis ในซากสุกร โดยที่ pH_1 < 5.8 ปกติจะใช้เป็นค่าวิกฤตที่ส่งผลให้เกิด PSE ได้ ส่วนค่า pH สุดท้ายวัดที่ 24 ชั่วโมงหลังฆ่า (pH_u)

วิธีการ : การวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) จะใช้เครื่อง pH meter (Knick, Potamess D-Berlin) โดยใช้ pH electrode แทงเข้าไปในกล้ามเนื้อระหว่างซี่โครงที่ 13 - 14 แทงลึกประมาณ 4 เซนติเมตร ส่วนสะโพกจะแทงเข้าบริเวณกล้ามเนื้อ *semimembranosus* ลึกประมาณ 4-6 เซนติเมตร ซึ่งอุณหภูมิที่วัดมีค่าประมาณ 38°C เมื่อวัดที่ pH_1 และ 7 °C เมื่อวัดที่ pH สุดท้าย (สัญชัย, 2543) แสดงใน Figure 18

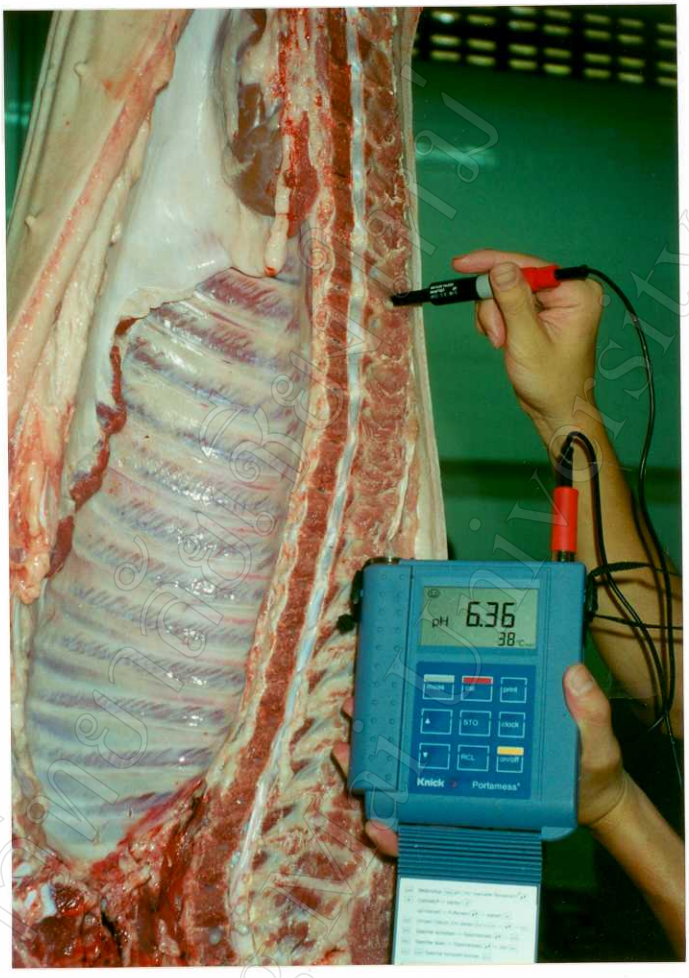

Figure 18 pH meter and pH measurement at *Longissimus dorsi*

2. ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity)

วิธีการ : การวัดค่าการนำไฟฟ้า จะวัดด้วยเครื่อง Conductivity Meter LF 196 โดยใช้ probe แทงเข้าไปในกล้ามเนื้อระหว่างซี่โครงที่ 13 - 14 แทงลึกประมาณ 4 เซนติเมตร ส่วนสะโพกจะแทงเข้าบริเวณกล้ามเนื้อ *semimembranosus* ลึกประมาณ 4 - 6 เซนติเมตร แสดงใน Figure 19-20 เช่นเดียวกับการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (สัญชัย, 2543)

Figure 19 Electrical conductivitymeter

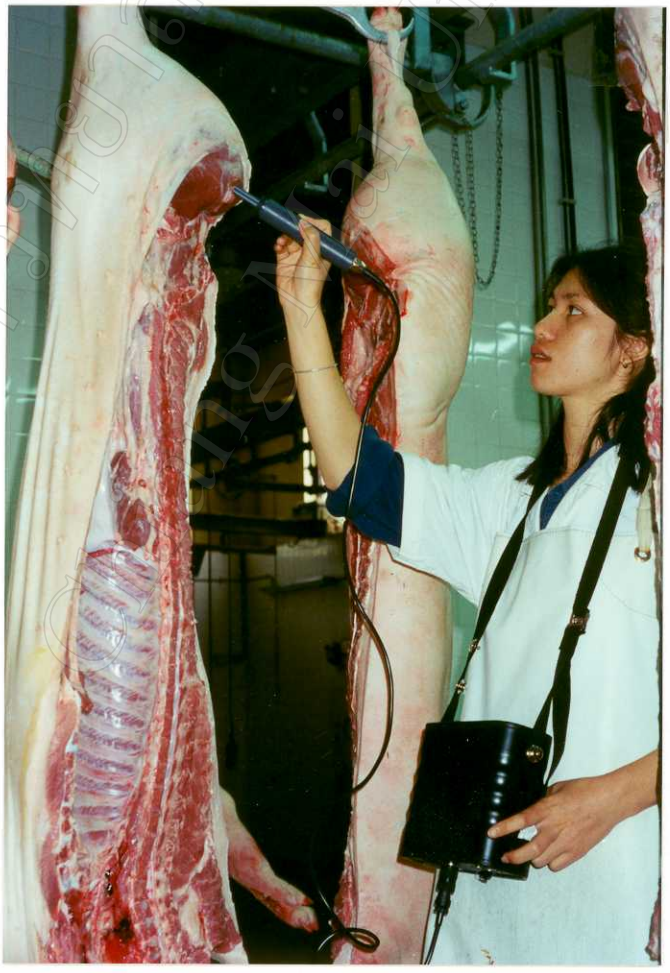

Figure 20 Electrical conductivity measurement at *semimembranosus*

3. ค่าสีของเนื้อ (color)

วิธีการ : การวัดสี จะวัดด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter CR – 300 โดยนำเนื้อตัวอย่างที่ตัดแล้วใส่ถุงพลาสติกชนิดเย็น ผนึกปากถุงให้สนิทเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเนื้อออกจากถุงวางในภาชนะเปิดทิ้งไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาวัดสี โดยวัด 5 ตำแหน่ง แสดงใน Figure 21 แล้วหาค่าเฉลี่ย

- บันทึกค่าเฉลี่ย L * (ความสว่างของสี, lightness) ระหว่าง 0 - 100
- บันทึกค่าเฉลี่ย a * (แกนของสีเขียวไปถึงสีแดง, red – green index)
- บันทึกค่าเฉลี่ย b * (แกนของสีน้ำเงินไปถึงสีเหลือง, yellow – blue index)

Figure 21 Color measurement of loin

4. ค่าการสูญเสียน้ำ (drip loss) ของเนื้อ

วิธีการ วัดค่าการสูญเสียน้ำ (drip loss) ของเนื้อ โดยวิธีการของ (Honickel, 1987; อ้างโดย สัญชัย, 2543) ดังนี้

- นำเนื้อตัวอย่างมาซับให้แห้ง ชั่งน้ำหนักเนื้อ จากนั้นห่อเนื้อด้วยผ้าก๊อส แล้วใส่ถุงพลาสติกชนิดเย็น ผนึกปากถุงให้สนิท โดยให้ผ้าก๊อสห่างจากก้นถุงประมาณ 2–3 เซนติเมตร จากนั้นใช้ตะขอเกี่ยวแขวนทิ้งไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง
- จากนั้นนำเนื้อตัวอย่างออกจากถุงซับของเหลวที่ติดมากับเนื้อให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู แล้วชั่งน้ำหนักเนื้อไว้ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์จากการสูญเสียก่อนและหลังแช่เย็น

การคำนวณ

$$\% \text{ การสูญเสียน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อก่อนแช่เย็น} - \text{น้ำหนักเนื้อหลังแช่เย็น} \times 100}{\text{น้ำหนักเนื้อก่อนแช่เย็น}}$$

5. ค่าการสูญเสียน้ำในเนื้อภายหลังการแช่แข็ง (thawing loss)

วิธีการโดยการนำเนื้อตัวอย่างชั่งน้ำหนักเนื้อก่อนแช่แข็งแล้วเก็บแบบสูญญากาศ (vacuum) ในถุงพลาสติกชนิดเย็นผนึกปากถุงให้สนิท แล้วเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ – 20 °C จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาละลายน้ำแข็ง โดยทิ้งไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C นาน 24 ชั่วโมง นำชิ้นเนื้อออกจากถุงซับเนื้อให้แห้ง ชั่งน้ำหนักเนื้อภายหลังการแช่แข็งคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย

การคำนวณ

$$\% \text{ การสูญเสียน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อก่อนแช่แข็ง} - \text{น้ำหนักเนื้อหลังแช่แข็ง} \times 100}{\text{น้ำหนักเนื้อก่อนแช่แข็ง}}$$

6. ค่าการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการปรุงอาหาร (cooking loss)

6.1 ค่าการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการต้ม (boiling loss)

วิธีการ โดยนำเนื้อตัวอย่างที่ได้จากการละลายน้ำแข็ง (thawing) เก็บในถุงชนิดร้อนแบบสุญญากาศ (vacuum) จากนั้นนำไปต้มในน้ำที่มีอุณหภูมิ 80° C จนอุณหภูมิใจกลางเนื้อประมาณ 71 - 72 °C ใช้เวลาประมาณ 15 – 16 นาที นำชิ้นเนื้อมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักชิ้นเนื้อคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย

การคำนวณ

$$\% \text{ การสูญเสียน้ำเนื่องจากการต้ม} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อก่อนต้ม} - \text{น้ำหนักเนื้อหลังต้ม} \times 100}{\text{น้ำหนักเนื้อก่อนต้ม}}$$

6.2 ค่าการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการย่าง (grilling loss)

วิธีการ โดยนำเนื้อตัวอย่างที่ได้จากการละลายน้ำแข็ง (thawing) นำไปย่างในหม้ออบที่มีอุณหภูมิ 200° C ใช้เวลาประมาณ 10 - 12 นาที จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาชั่งน้ำหนักชิ้นเนื้อ โดยคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย

การคำนวณ

$$\% \text{ การสูญเสียน้ำเนื่องจากการย่าง} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อก่อนย่าง} - \text{น้ำหนักเนื้อหลังย่าง} \times 100}{\text{น้ำหนักเนื้อก่อนย่าง}}$$

7. ค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ (Shear force values)

วิธีการ : โดยนำเนื้อตัวอย่างที่ผ่านการวัดค่าการสูญเสียจากการต้ม (boiling loss) มาแล้ว ใช้หัวเจาะ (core) เนื้อให้ได้ตัวอย่างประมาณ 5 ชิ้น ทำการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยเครื่อง Instron (Model 5565) ด้วยใบมีด หัววัดกำลัง 5 KN (Warner Bratzler Shear) แนะนำโดยสัญชัย (2543) บันทึกค่าแรงที่ได้หน่วย นิวตัน (N) พลังงาน (Joule) ระยะทาง (mm) แสดงใน Figure 22

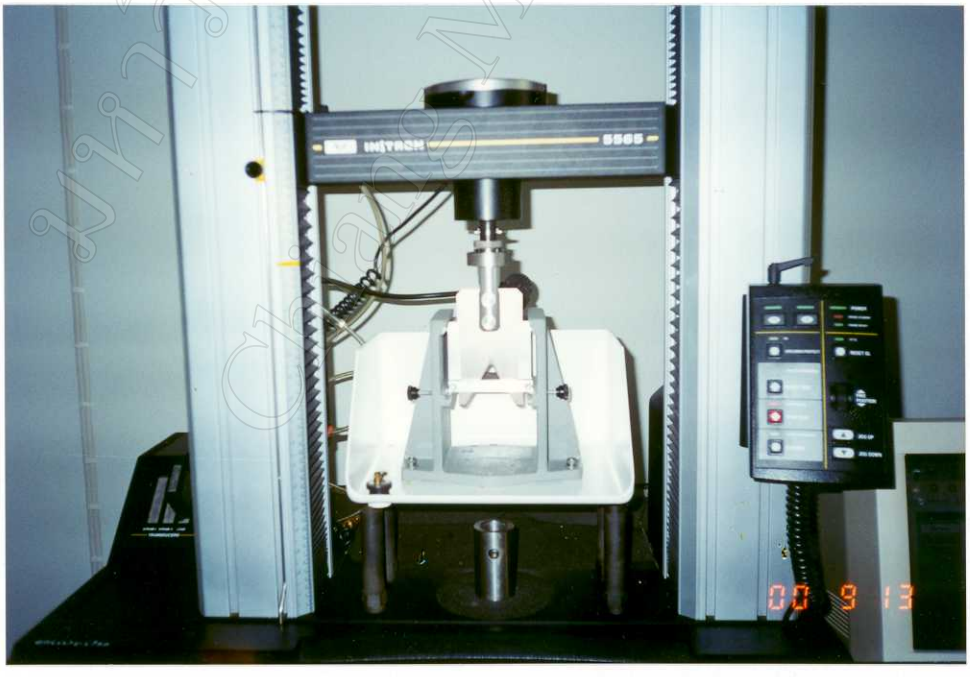

Figure 22 Shear force measurement of loin by Instron (Model 5565)

8. การวัดคุณค่าทางโภชนะของเนื้อ

วิธีการ : ตัวอย่างเนื้อสันนอกจะผ่านการบดละเอียดมาแล้ว จากนั้นหาเปอร์เซ็นต์โปรตีน ความชื้น ไขมัน โดยวิธี proximate analysis (AOAC,1990)

8.1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นหรือวัตถุแห้ง (Dry matter)

หลักการ : เมื่อนำตัวอย่างมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 °C จนน้ำหนักคงที่ น้ำหนักที่หายไป คือ ความชื้น

วิธีการ :

1. นำภาชนะ (กระเบื้อง) ไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) แล้วนำมาชั่ง
2. ใส่ตัวอย่างลงในภาชนะ 1 กรัม เขี่ยตัวอย่างให้กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในภาชนะ นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
3. เมื่ออบเสร็จแล้ว ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งอีกครั้ง

การคำนวณ :

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

$$\% \text{ วัตถุแห้ง} = 100 - \% \text{ ความชื้น}$$

8.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (ether extract)

หลักการ : นำตัวอย่างมาสกัดไขมันด้วยสารละลายอินทรีย์ (organic sovent) เช่น ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) ด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า ซอกเลทแอพพาราตัส (soxhlet apparatus) ซึ่งสารที่สกัดได้จะเรียกว่า "Ether extract"

สารเคมี : Dichoromethane

อุปกรณ์ :
- เครื่องสกัดไขมัน
- เตาอบ
- โถดูดความชื้น
- กระดาษกรองไขมัน
- ตัวอย่างเนื้อ
- เครื่องชั่ง
- thimble

วิธีการ :

1. ตัวอย่างผ่านการอบมาแล้ว (ใส่ตัวอย่าง 1 กรัม ในกระดาษกรองไขมัน เขี่ยตัวอย่างให้กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง)
2. ห่อตัวอย่างที่อยู่ในกระดาษกรองไขมันใส่ลงใน thimble ต่อเข้ากับ sample container
3. ชั่งน้ำหนัก can ซึ่งได้อบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงไว้แล้ว
4. เติม Dichoromethane ลงใน can แล้วต่อเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน สกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
5. เมื่อสกัดเสร็จแล้ว นำเอา can ไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง
6. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก can ที่ได้ (น้ำหนักของ can ที่เพิ่มขึ้นหลังการสกัดแล้ว คือ น้ำหนักของไขมัน)

การคำนวณ

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{(\text{น้ำหนัก can} + \text{น้ำหนักไขมันที่สกัดได้}) - \text{น้ำหนัก can} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

8.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนรวม (crude protien)

หลักการ ปริมาณโปรตีนรวมของตัวอย่าง คำนวณได้จากปริมาณไนโตรเจน คือ ตัวอย่างจะถูกย่อยด้วยกรดกำมะถันเข้มข้นในสภาพที่มีความร้อนโดยมีสารเร่งปฏิกิริยา จนกระทั่งได้สารละลายใส หลังจากทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไปทำการกลั่นแอมโมเนียจะถูกปลดปล่อยออกมา ทำการจับไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ammonium hydroxide) ด้วยกรดบอริค (boric acid) ที่มีความเข้มข้น 4% แล้วนำไปไตเตรตด้วยด่างมาตรฐาน จะทำให้ทราบจำนวนกรดและด่างที่ทำปฏิกิริยาก็จะคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนได้ โดยคูณด้วย 6.25 จะได้ค่าโปรตีนรวม

สารเคมี :

1. กรดซัลฟุริกเข้มข้น (H_2SO_4) 96-98 %
2. สารเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ประกอบไปด้วย
   - โปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)

- คอปเปอร์ซัลเฟต ($Cu_2SO_4 . 5H_2O$)

3. methyl red indicator
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 40%
5. กรดบอริค (boric acid) 4%

วิธีการ:

1. ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัมใส่ลงใน Kjeldahl flask เติมสารเร่งปฏิกิริยาประมาณ 2 กรัม และกรดซัลฟุริกเข้มข้น 15 มล. แล้วเขย่าหรือหมุนหลอดให้กรดซัลฟุริกทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง
2. นำไปตั้งบนเครื่องย่อย ต่อสายยางเชื่อมกับหลอดนำไอกรดเข้ากับเครื่องดูดไอกรด ทำการย่อยสารละลายในหลอดจนใส ประมาณ 2 ชั่งโมง หลังจากนั้นปิดเครื่อง ตั้งทิ้งไว้จนเย็นและหมดไอกรด แล้วเติมน้ำกลั่น 50 มล. กันการสะเทินอย่างรุนแรง
3. นำไปกลั่นโดยใส่ฟลาสก์เข้ากับเครื่องกลั่น ที่ปลายคอนเดนเซอร์ (condenser) จุ่มใน erlenmeyer flask ที่มีกรดมาตรฐาน boric acid 4%
4. กดคันโยกให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ไหลลงในหลอดปริมาณ 50 มล. จะทำให้สารละลายเกิดการเปลี่ยนเป็นด่าง ดำเนินการกลั่นทันที ประมาณ 5 นาที จนกระทั่งสารละลายใน erlenmeyer flask มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 175 มล. ปิดเครื่องกลั่น
5. นำสารละลายใน erlenmeyer flask มาไตเตรตด้วย H_2SO_4 0.1 N จนเป็นกลาง (จุด end point คือ สีม่วงอ่อน)

หมายเหตุ : หลอด blank จะเติมเหมือนกันทุกอย่าง แต่ไม่ได้ใส่ตัวอย่างลงไป

การคำนวณ

$$\% \text{ โปรตีน} = \frac{\{(\text{มล.}H_2SO_4\text{ของตัวอย่าง} - \text{มล. } H_2SO_4 \text{ ของ black}) \times 6.25 \times 0.014 \times 100 \times \text{N } H_2SO_4\}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

9. การวิเคราะห์หาค่า thiobarbituric acid number (TBA) ของตัวอย่างเนื้อ

หลักการ ตัวอย่างเนื้อ เมื่อทำให้มีสภาวะเป็นกรด แล้วนำไปกลั่นของเหลวที่ได้ เมื่อนำไปต้มกับกรด thiobarbituric acid reagent จะมีสีแดงเกิดขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาของกรดไขมันที่ถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะแปรโดยตรงกับความหืน (rancidity) ของไขมันที่เกิดขึ้น ซึ่งเกิดเป็นสารประกอบที่เรียกว่า malonaldehyde

วิธีการ : เก็บตัวอย่างเนื้อที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 0, 5, 10 วัน นำมาหาค่า TBA number ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Pearson (อ้างโดย Rossell, 1994)

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อ 10 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่น 70 มล.
2. นำไปปั่นใน mechanical blender ประมาณ 15 วินาที
3. เทใส่ใน distillation flask ขนาด 250 มล. แล้วล้าง blender ด้วยน้ำกลั่น 30 มล.
4. เติมสารละลายกรดเกลือ (4M HCl) 2.5 มล. (ปรับ pH = 1.5)
5. เติม anti-foaming agent 2-3 หยด
6. ต่อเข้ากับชุดกลั่น แล้วกลั่นจนได้ของเหลวประมาณ 50 มล. ภายในเวลา 10 นาทีหลังเดือด
7. ปิเปตสารละลายที่กลั่นได้ 5 มล. ใส่ในหลอดแก้วที่มีฝาปิด เติมสารละลาย thiobarbituric acid reagent ลงไป 5 มล. ปิดฝาเขย่า
8. นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลานาน 35 นาที ทำ blank พร้อมไปด้วย เมื่อต้มเสร็จแล้วทิ้งไว้ให้เย็น 10 นาที
9. วัดค่าดูดกลืนแสง O.D. (optical density) ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรเมตร ด้วยเครื่อง spectophotometer (Table 23) เปรียบเทียบกับ blank คำนวณหาค่า TBA number

หมายเหตุ : หลอด blank เติมน้ำกลั่น 5 มล. และ TBA solution 5 มล.

การคำนวณ

TBA number = 7.8 x O.D. มิลลิกรัม malonaldehyde ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง

Figure 23 Spectrophotometer for measurement of rancidity in meat

10. วิเคราะห์ปริมาณโคเลสเตอรอลในเนื้อ โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ตามวิธีของ Jung *et al.* (1975)

ขั้นตอนที่ 1. Saponification

วิธีการ Saponification

หลักการ : การต้มตัวอย่างไขมันที่สกัดได้กับด่าง (Saponification) จะทำให้โคเลสเตอรอลเอสเทอร์เปลี่ยนเป็นรูปอิสระ จากนั้นใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์สกัดเอาโคเลสเตอรอลออกจากสารตัวอย่าง หลังจากทำให้แห้งแล้ว นำไปทำให้เกิดสีตามวิธีของ Jung *et al.*(1975)

น้ำยาที่ใช้

1. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 33% เตรียมจาก โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 20 กรัม ในน้ำ 40 มล.
2. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ใช้งาน เตรียมแล้วใช้ทันที โดยผสมน้ำยาโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 มล.กับเอทิลแอลกอฮอล์ 94 มล.

วิธีการทำ

1. ดูดน้ำยาโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ใช้งาน 5 มล. ใส่ลงในหลอดทุกหลอด
2. ใส่ไขมันตัวอย่างที่สกัดได้และโคเลสเตอรอลมาตรฐานในหลอดทดลองที่เตรียมไว้
3. ปิดจุกเขย่าให้เข้ากัน นำไปอุ่นใน water bath อุณหภูมิ 60 °C นาน 1 ชั่วโมง โดยทำการเขย่าบ่อยๆ เมื่อครบเวลา ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น
4. ดูดปิโตรเลียมอีเทอร์ 5 มล. และน้ำกลั่น 2.5 มล. ใส่ลงในทุกหลอด
5. เขย่าอย่างแรงๆ อย่างน้อย 1 นาที ตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้น
6. ดูดส่วนที่เป็นน้ำชั้นล่างทิ้งไปให้ได้มากที่สุดเก็บส่วนชั้นบนที่เป็นปิโตรเลียมอีเทอร์ไว้
7. นำไประเหยให้แห้งสนิทในน้ำอุ่นประมาณ 50-60 °C
8. เมื่อปิโตรเลียมอีเทอร์ระเหยจนหมดแล้วจะได้ส่วนที่จะนำไปวิเคราะห์โคเลสเตอรอลต่อไป

ขั้นตอนที่ 2. วิเคราะห์ปริมาณโคเลสเตอรอล

หลักการ นำตัวอย่างที่ Saponification แล้วทำปฏิกิริยากับน้ำยาที่ประกอบด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นที่มี ferric acetate และ uranyl acetate อยู่จำนวนเล็กน้อย กรดอะซิติกจะทำให้โปรตีนตกตะกอน โดย uranyl acetate จะช่วยให้การตกตะกอนสมบูรณ์ขึ้นรวมทั้งบิลิรูบิน เหลือแต่โคเลสเตอรอลละลายอยู่ นำส่วนใส่นี้ไปเติมกรดกำมะถันเข้มข้นที่มีเฟอรัสซัลเฟตอยู่ด้วยจะให้สีม่วงแดง วัด

การดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร วิธีนี้ไม่มีการรบกวนจากบิลิรูบิน และสีที่ได้เกิดจากปฏิกิริยาของโคเลสเตอรอลอิสระและเอสเทอร์เท่า ๆกัน

วิธีการวิเคราะห์โคเลสเตอรอล

1. นำตัวอย่างไขมันที่สกัดได้ 50 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 มล.
2. เติม ferric acetate/uranyl acetate 5.0 มล.
3. กลับหลอดไปมา เพื่อให้สารละลายผสมกัน 2-3 ครั้ง แล้วเขย่าอย่างแรงให้เข้ากัน ด้วย Vortex mixer นาน 5 นาที
4. แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที
5. เตรียมหลอดอ่านขนาด 13 x 100 มล.อีกชุดหนึ่ง แล้วเติม sulfuric acid reagent 2 มล.
6. ดูดส่วนใส (supernatant) จากหลอดเดิม 3 มล. มาใส่ในหลอดอ่านที่เติม sulfuric acid reagent
7. ผสมให้เข้ากันทันทีด้วย Vortex mixer อย่างน้อย 20 วินาทีแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที
8. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร (BECKMAN DU 750 Spectrophotometer) โดยใช้หลอด blank อ่านค่าเป็นศูนย์

หมายเหตุ : หลอด blank จะเติมเฉพาะ ferric acetate/uranyl acetate 2.0 มล. และ sulfuric acid reagent 2 มล.

11.วิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอร์ไรด์ในเนื้อ โดยใช้เครื่อง spectrophotometer โดยวิธีของ Biggs *et al.*(1975)

หลักการ : ไตรกลีเซอไรด์ถูกสกัดด้วยสารละลายผสมของ isopropanol กับ N-heptane โดยมีกรดกำมะถันอยู่ด้วย ไตรกลีเซอไรด์จะออกมากับอยู่ในชั้นของ N-heptane เมื่อนำมา saponify ให้เป็นกลีเซอรอล แล้วออกซิไดซ์ต่อให้เป็นฟอร์มาดีฮายด์

วิธีการวิเคราะห์ไตรกลีเซอร์ไรด์

1. ดูดไขมันที่สกัดได้ 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. เติม N-heptane 2.0 มล.
3. เติม isopropanol 3.5 มล.
4. เติมสารละลายกรดกำมะถัน 40 mmol/l 1.0 มล.

5. ผสมแต่ละหลอดให้เข้ากันโดยใช้ Vortex mixer นาน 20 วินาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จนน้ำยาแยกชั้น
6. เตรียมหลอดชุดใหม่ และเติม sodium alkoxide 2.0 มล.
7. ดูดสารละลายในชั้นบนของชุดแรก 0.2 มล. ลงในหลอดที่เตรียมไว้
8. เขย่าให้เข้ากันดี แล้วใส่ตู้ร้อน 60°ซ นาน 5 นาที
9. เติม sodium periodate 1.0 มล. แล้วผสมให้เข้ากัน
10. เติม acetylacetone 1.0 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วใส่ในตู้ร้อน 60°ซ นาน 20 นาที
11. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410-420 นาโนเมตร โดยอ่าน blank เป็นศูนย์

หมายเหตุ : หลอด blank จะเติมสารละลายทุกอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่างลงไป

12. การวิเคราะห์หาสัดส่วนของกรดไขมันชนิดโอเมก้า-3 ต่อโอเมก้า-6 ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เบคอนของสุกร

วิเคราะห์หากรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิดโอเมก้า-6 และโอเมก้า –3 ของตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง Gas Chromatography (ด้วยเครื่องรุ่น Shimadzu GC 14 B)

วิธีสกัดไขมันจากตัวอย่าง (adapted from Folch *et al.*, 1957)

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเนื้อ 10 กรัม หรือเบคอน 5 กรัมใส่ลงใน erlenmeyer flask
2. เติม chloroform : methanol (2:1) ลงไป 80 มล. เขย่าแรงๆ เพื่อให้การสกัดเกิดขึ้นได้สมบูรณ์
3. กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman # 1 ลงใน flask ที่เตรียมไว้
4. นำกากที่ได้มาสกัดต่อด้วย chloroform : methanol (2:1) อีกครั้ง แล้วรวมสารละลายที่กรองได้
5. เติมน้ำกลั่น 10 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดการแยกชั้นกัน
6. จากนั้นเก็บชั้นล่างของสารละลายในหลอดที่ทราบน้ำหนัก (Figure 24) แล้วนำไประเหยแห้งใน water bath
7. ชั่งน้ำหนักไขมันที่ได้หลังจากระเหยแห้ง แล้วละลายไขมันด้วย chloroform ให้ได้ความเข้มข้นประมาณ 30 มก./มล.

Figure 24 total lipid extractable by separating funnel

วิธีการเตรียม fatty acid methyl ester (adapted from Morrison and Smith, 1964)

1. ดูดสารละลายที่สกัดได้ความเข้มข้น 30 มก./มล. ใส่ลงในหลอดทดลอง
2. เติม 0.5 M NaOH ใน methanol 2 มล.
3. นำไปอุ่นในน้ำร้อน 70^{0}c นาน 30 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น
4. เติม 20% boron-trifluoride ใน methanol 2 มล. เขย่าให้เข้ากัน
5. เติม Iso-octane 2 มล. เขย่าให้เข้ากัน
6. เติมสารละลาย NaCl อิ่มตัว 15 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการตกตะกอน
7. เก็บส่วนที่ละลายในชั้น Iso-octane แล้วเติมสารละลาย NaCl อิ่มตัว 15 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน
8. เก็บส่วนที่ละลายในชั้น Iso-octane ใส่ใน vial 1.5 มล.
9. ดูดสารละลายที่ได้ 1.0 ไมโครลิตรฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography (Figure 26)

Column :

- DB – Wax capillary column
- ID = 0.25 mm.
- length 30 m.
- film thickness 0.25 μm.

Detector : FID (Flame Ionized Detector)

Injector : split – split

Temperature program มีดังนี้ (Figure 25):

- column initial temperature 220°C
- initial time 10 minute
- column final temperature 230°C
- final time 13 minute
- program rate 5 °C/minute
- injector temperature 250°C
- detecter temperature 280°C

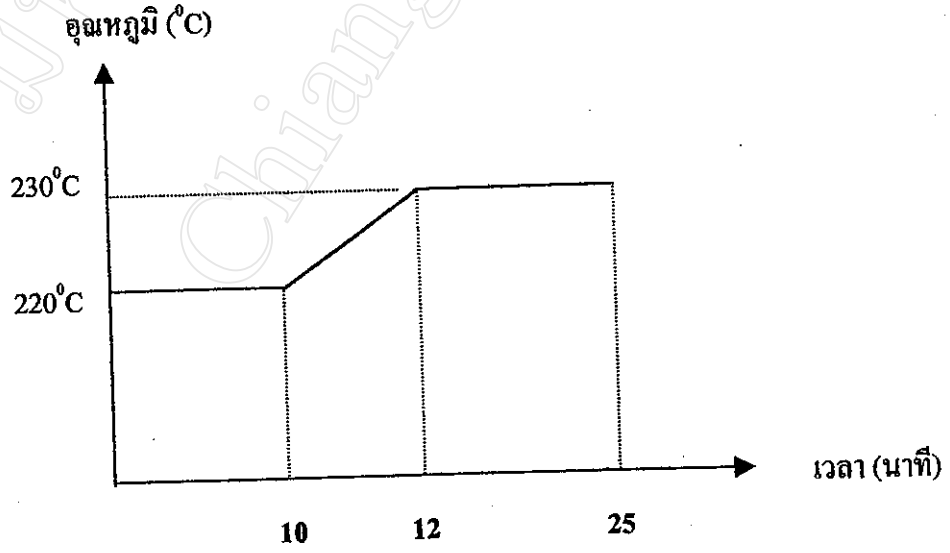

Figure 25 Temperature program

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Figure 26 Gas chromatography (shimadzu GC 14B)

ประเมินการตรวจชิมเนื้อสุกร

หลักการ : การตรวจชิมเนื้อตัวอย่าง โดยให้คะแนนตามลักษณะที่ใช้ในการพิจารณา (เช่น 5 = นุ่ม 1 = เหนียว) ได้แก่

* กลิ่นรส (flavour)
* ความชุ่มฉ่ำ (juiciness)
* ความนุ่มของเนื้อ (tenderness)
* การยอมรับหรือความพอใจโดยรวม (acceptance)

ซึ่งการตรวจชิม (Figure 31) เป็นคุณภาพโดยรวมของความนุ่ม ความชุ่มฉ่ำ กลิ่น และการยอมรับโดยรวม ผู้ตรวจชิมเป็นผู้ที่ผ่านการฝึกฝนการตรวจชิมมาเป็นอย่างดี เป็นกลุ่มที่ประสาทรับกลิ่นและรสใกล้เคียงกัน การตรวจชิมมีหลักว่าต้องใช้กลุ่มคนกลุ่มเดียวกัน เวลาที่ตรวจชิมเดียวกัน (ช่วง 9.30-10.30 น. หรือ 14.30-15.30 น.) ไม่เป็นผู้สูบบุหรี่หรือดื่มสุรา (สัญชัย, 2543)

วิธีการ :

1. นำเนื้อตัวอย่างที่เตรียมไว้เข้าอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 200 ^{0}c เป็นเวลา 10 นาที ไม่ต้องปรุงรสด้วยเครื่องปรุงรสใดๆ ทั้งสิ้น
2. ตัดเนื้อตัวอย่างขนาด 1.25 x 1.25 เซนติเมตร ใน Chopping block (Figure 27-28)

3. จัดสถานที่ให้ผู้เข้าชิม ต้องเป็นสถานที่ที่อากาศถ่ายเทได้สะดวก และ ไม่มีกลิ่นหรือเสียงรบกวน
4. เตรียมน้ำและ ผลไม้ ได้แก่ ส้ม สำหรับให้ผู้เข้าชิมล้างปาก
5. จัดเวลาชิมให้เหมาะสม (14.30 – 15.30 น.)
6. เมื่อผู้เข้าชิมชิมเสร็จ ทำการจดบันทึกข้อมูล

Figure 27 Chopping block for panel test

Figure 28 LD sample for panel test

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Figure 29 Sensory evaluation of meat by panelists

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. ทดสอบความแปรปรวนของประชากรโดยวิธี Levene Test for Homogeneity of Variances
2. วิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถภาพการผลิต คุณภาพซากและเนื้อ โดยวิธี One - way Analysis of Variances (กรณีความแปรปรวนเท่ากัน) และ โดยวิธี Kruskal – Wallis H. Test (กรณีความแปรปรวนไม่เท่ากันและข้อมูลที่ต้องทดสอบด้วยสถิตินอนพาราเมตริกซ์)
3. เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference Test (LSD) โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows (จรัญ, 2540; กัลยา, 2542)

สถานที่ปฏิบัติงานวิจัย

1. สถานที่เลี้ยงสุกรทดลองคือฟาร์มสุกร สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

2. วิเคราะห์โภชนะในอาหารทดลองและเนื้อสุกร ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ศึกษาลักษณะซากและเนื้อสุกรที่ศูนย์ฝึกอบรมเทคโนโลยีเนื้อสัตว์แห่งชาติ (National Meat Technology and Training Center) ถ.ห้วยแก้ว ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่
4. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
5. ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
6. โครงการหลวง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

ระยะเวลาในการดำเนินงานประมาณ 18 เดือน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

การตรวจชิมเนื้อ

ชื่อ..... เพศ.....อายุ.....

วันที่.....

ขั้นตอนการตรวจชิมเนื้อ

1. บ้วนปากด้วยน้ำที่สะอาด
2. ชิมตัวอย่างเนื้อชิ้นแรก พร้อมกับประเมินผลของการตรวจชิมลงในแบบฟอร์ม
3. รับประทานผลไม้สลับ 1 ชิ้น
4. บ้วนปากด้วยน้ำสะอาด
5. ชิมตัวอย่างเนื้อชิ้นต่อไป และปฏิบัติตามข้อ 3, 4 และ 5 วนเวียนไปจนครบทุกตัวอย่าง

แบบประเมินผลการตัวชิมเนื้อ

ตัวอย่างเนื้อเบอร์	ความนุ่ม	รสชาติ	ความชุ่มฉ่ำ	ความพอใจโดยรวม
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				

หมายเหตุ : ความนุ่มมี 5 ระดับ คือ 1 = เหนียวที่สุด 5 = นุ่มที่สุด

รสชาติมี 5 ระดับ คือ 1 = ไม่ดีเลย 5 = ดีที่สุด

ความชุ่มฉ่ำมี 5 ระดับ คือ 1 = แห้งที่สุด 5 = ชุ่มฉ่ำที่สุด

ความพึงพอใจโดยรวมมี 5 ระดับ คือ 1 = ไม่ชอบเลย 5 = ชอบที่สุด