บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการ

อุปกรณ์และเครื่องมือ

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัท	ประเทศ
1. Minolta chroma meter	CR 300	-	Japan
2. เครื่อง Gas chromatography	GC-14B	Shimadzu	Japan
3. คอลัมน์	DB-Wax	J&W	USA.
4. เครื่อง Spectrophotometer	DU 7500	Beckman	Germany
5. เครื่องกลั่นโปรตีน	-	Gerhardt	Germany
6. เครื่อง Instron	5565	-	-
7.เครื่อง centrifuge	Magafuge 1.0	Heraeus	Germany
8. เครื่อง vortex mixer	G-560	Scientific Industries, Inc	USA.
9. เครื่องสกัดไขมัน	-	Gerhardt	Germany
10. water bath	-	W. Krannich	Germany
11. ตู้อบ oven	DEV	Heraeus	Germany
12. เตาเผา	MR260E	Heraeus	Germany
13. เตาให้ความร้อน	-	Gehardt	Germany
14. เครื่องหาพลังงาน	-	IKA	USA.
15. โถดูดความชื้น	GL32	Glawerk wertheim	Germany
16. บีกเกอร์ 50 มล.	No. 1000	Pyrex	USA.
17. บีกเกอร์ 100 มล.	No. 1000	Pyrex	USA.
18. บีกเกอร์ 500 มล.	No. 1000	Pyrex	USA.
19. ขวดก้นกลม 250 มล.	-	Duran	-
20. Thimble	-	Whatman	England
21. Volumetric flask 50 มล.	-	SCHOTT	Germany

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

22. Volumetric flask 100 มล.	-	SCHOTT	Germany
23. Volumetric flask 1000 มล.	-	SCHOTT	Germany
24. Micropipet 50 ไมโครลิตร	-	Gilson	France
25. Micropipet 100 ไมโครลิตร	-	Gilson	France
26. Micropipet 200 ไมโครลิตร	-	Gilson	France
27. Micropipet 1000 ไมโครลิตร	-	Gilson	France
28. เครื่องไมโครเพต รีดเดอร์	MCC/340	ICN	USA.
29. ไมโครเพรท 96 หลุม	Nunc-Immuno Plate	Nalge Nunc Inc.	Denmark

สารเคมี

ชื่อสารเคมี	เกรด	ตรา
1. Dichloromethane	Analytical Reagent	Merck
2. Conc. Sulfuric acid	Analytical Reagent	Lab-Scan
3. Cholroform	Analytical Reagent	Merck
4. Methanol	Analytical Reagent	Lab-Scan
5. Sodium Hydroxide	Analytical Reagent	Merck
6. 20% Boron trifluoride in methanol	Analytical Reagent	Merck
7. 2,2,4 trimethyl pentane	Analytical Reagent	Lab-Scan
8. Sodium chloride	Analytical Reagent	Merck
9. Sodium sulfate anhydrous	Analytical Reagent	J.T. Baker
10. Ferric chloride	Analytical Reagent	Merck
11. Phosphotungstic acid	Analytical Reagent	-
12. n-Heptane	Analytical Reagent	Lab-Scan
13. Sodium methoxide	Analytical Reagent	Fluka
14. Propa-2-ol	Analytical Reagent	Lab-Scan
15. Sodium periodate	Analytical Reagent	-
16. Acetylacctone	Analytical Reagent	Fluka
17. Potassium Hydroxide	Analytical Reagent	Merck
18. Petroleum ether	Analytical Reagent	Merck

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

19. น้ำกลั่น	Analytical Reagent	-
20. Hydrochloric acid	Analytical Reagent	Merck
21. anti-foaming agent	Analytical Reagent	Fluka
22. Thiobarbituric acid	Analytical Reagent	BDS
23. Ammonium acetate	Analytical Reagent	BDS
24. Pure dry cholesterol	Analytical Reagent	Sigma
25. Potassium chloride	Analytical Reagent	Riedel-de Haen
26. Dihydrogen phosphate	Analytical Reagent	Merck
27. Sodium azide	Analytical Reagent	Fluka
28. O-phenylene-diamine-HCl	-	USA.
29. Sodium hydrogen carbonate	Analytical Reagent	Sigma
30. Gelatin	Analytical Reagent	Merck
31.Citric acid	Analytical Reagent	Sigma
32. Tween 80	-	Sigma
33. วัคซีนหลอดคลมอักเสบ, ฝีดาษ และ นิวคาสเซิล		

1. สัตว์ คอก และอาหารทดลอง

1.1 สัตว์ทดลอง ใช้ไก่เนื้อพันธุ์ Arbor Acre แบบคละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 680 ตัว โดยแบ่งกลุ่มทั้งหมด 5 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 34 ตัว ไก่ทุกตัวได้กินน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD; จรัล, 2540)

1.2 คอกทดลอง โรงเรือนคอกแบบปล่อยกับพื้น และแบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กัน โดยแต่ละคอกมีขนาด 3 X 6 เมตร พื้นคอกปูด้วยแกลบหนาประมาณ 5 เซนติเมตร และมีการกลับแกลบปูพื้นทุกอาทิตย์ ภายในคอกประกอบด้วย เครื่องกกไฟฟ้า ถังน้ำ 4 ถัง และถังอาหาร 4 ถัง (ภาพที่ 1)

1.3 อาหารทดลอง อาหารทดลองของไก่เนื้อทุกกลุ่ม แบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือระยะ 0-3 และ 3-6 สัปดาห์ ในแต่ละระยะมีโปรตีนระดับ 21 และ 19 % เท่ากันทุกกลุ่ม และมี ME 3,150 กิโลแคลอรี่/กก. เหมือนกันทุกระยะ (ตารางที่ 3-1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

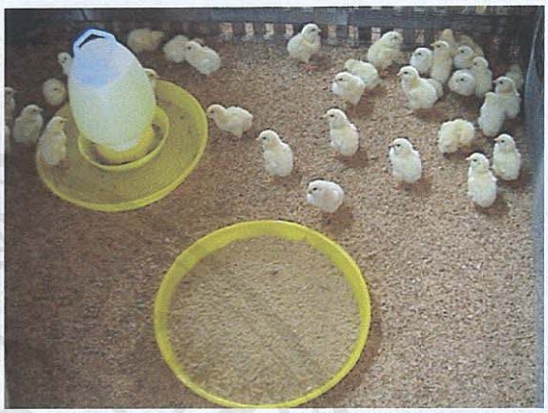

Figure 3-1. Housing for experiment.

Table 3-1: Ingredient and chemical composition of experimental diets at both periods

Feed Ingredients	First period					Second period				
	T1	T2	T3	T4	T5	T1	T2	T3	T4	T5
Corn	46.99	45.02	42.16	39.26	36.39	55.78	52.9	50.03	47.18	44.31
Rice bran	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Soybean meal	28.47	28.35	28.37	28.44	28.46	22.88	22.92	22.96	22.99	23.05
Fish meal	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Asiatic pennywort	0.00	2.00	4.00	6.00	8.00	0.00	2.00	4.00	6.00	8.00
Limestone	0.95	0.55	0.55	0.54	0.51	0.60	0.62	0.58	0.54	0.52
Dicalciumphosphate	0.86	0.89	0.89	0.91	0.95	0.55	.054	0.58	0.62	0.64
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
L-Lysine	0.05	0.05	0.06	0.06	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
DL-Methionine	0.25	0.26	0.27	0.27	0.28	0.08	0.09	0.10	0.11	0.11
Rice bran oil	5.93	6.38	7.20	8.02	8.84	3.61	4.43	5.25	6.06	6.87
Premix	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

สูตรที่ 1 (T1) ประกอบด้วยอาหารพื้นฐาน

สูตรที่ 2 (T2) ประกอบด้วยอาหารพื้นฐานที่มีบัวบกป่นแห้งทดแทนที่ระดับ 2 %

สูตรที่ 3 (T3) ประกอบด้วยอาหารพื้นฐานที่มีบัวบกป่นแห้งทดแทนที่ระดับ 4 %

สูตรที่ 4 (T4) ประกอบด้วยอาหารพื้นฐานที่มีบัวบกป่นแห้งทดแทนที่ระดับ 6 %

สูตรที่ 5 (T5) ประกอบด้วยอาหารพื้นฐานที่มีบัวบกป่นแห้งทดแทนที่ระดับ 8 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การบันทึกข้อมูล

2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของบัวบก และอาหารทดลอง

เก็บตัวอย่างของบัวบกป่นแห้ง และอาหารที่ใช้ในการทดลอง เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน) โดยวิธี proximate analysis (AOAC, 1995) พลังงานในอาหาร (gross energy) โดยเครื่อง Adiabatic Bomb Calorimeter (IKA USA.) .) และนำมาคำนวณค่า True Metabolizaable Energy (True ME) (พันทิพา, 2538)

True ME (kcal/kg.D.M.) = 3951+54.5 EE-88.7 CF-40.8 Ash

EE = Ether extract CF = Crude fibre

2.2 การศึกษาด้านสมรรถภาพการผลิต และระดับภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

ทำการบันทึกน้ำหนักตั้งแต่แรกเลี้ยง รวมถึงบันทึกน้ำหนักทุก ๆ สัปดาห์ ตั้งแต่น้ำหนักเริ่มต้นจนถึงน้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง 40 วัน และบันทึกปริมาณอาหารที่กิน และอาหารที่เหลือทุกสัปดาห์ เพื่อคำนวณปริมาณอาหารที่กินต่อวัน (daily feed intake) คำนวณอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (average daily gain, ADG) และอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ทำการเจาะเลือดที่อายุ 14, 28 และ 35 วัน ตามตารางการฉีดวัคซีนหลอดลม, นิวคาสเซิล และฝีดาษ เพื่อวิเคราะห์ระดับภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนด้วยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Catty, 1989)

2.3 การศึกษาด้านคุณภาพซาก (carcass quality)

เมื่อเลี้ยงไก่เนื้อครบ 40 วัน ทำการอดอาหารประมาณ 6 ชม. และทำการฆ่าตามวิธีของสัญชัย (2543) (ภาพที่ 2) แล้วบันทึกน้ำหนักซากอุ่น (hot carcass weight) ไม่รวมเครื่องใน จากนั้นแช่ซากในห้องเย็น 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักซากเย็น (chilled carcass weight) (ภาพที่ 3) ไม่รวมหัวและ คอ เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ซาก (dressing percentage) แนะนำโดยสัญชัย (2534) (ภาพที่ 4)

$$\text{Dressing percentage} = \frac{\text{น้ำหนักซากเย็น}}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}} \times 100\ \%$$

หมายเหตุ : น้ำหนักซากเย็น หมายถึง น้ำหนักซากที่ผ่านการแช่เย็นที่ 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

น้ำหนักมีชีวิต หมายถึง น้ำหนักตัวของสัตว์หลังจากอดอาหารเป็นเวลา 6-12 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Figure 3-2. Chilled carcass in cold storage room (3 ± 1^{0} C).

Figure 3-3. Broiler carcass and retail cuts.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4 การศึกษาด้านระบบภูมิคุ้มกัน (immumity system)

หลังจากการเก็บตัวอย่างเลือด ก่อนและหลังการให้วัคซีนหลอดลมอักเสบ, นิวคาสเซิล และฝีดาษ และนำมาเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี indirect ELISA (Catty, 1989) นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง ELISA-reader (multiscan, MCC/340P vertion 2.33 บริษัท ICN ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่ค่าดูดกลืนแสง 492 นาโนเมตร (ภาพที่ 3-4)

Figure 3-4. ELISA – reader.

การวิเคราะห์ระบบภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA (Catty, 1989)

เคลือบ plate ด้วยวัคซีนต่อโรคที่ทำการทดสอบปริมาณ 5 ไมโครกรัมในสารละลายที่ทำการเคลือบปริมาณ 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ช.ม สลัดสารละลายใน plate ที่ล้าง 5 ครั้งด้วยสารละลายสำหรับล้างปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อหลุมจากนั้นเติมเจลาตินที่ละลายในสารละลายสำหรับการเคลือบที่มีความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ปริมาณ 300 ไมโครลิตร ต่อหลุมบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ช.ม. สลัดสารละลายใน plate ล้างทิ้ง 3ครั้งด้วยสารละลายสำหรับการล้างปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อหลุม เติมแอนติบอดี (ซีรัมไก่) 50 ไมโครลิตรต่อหลุมบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ช.ม สลัดสารละลาย plate ทิ้งล้าง 3 ครั้งด้วยสารละลายสำหรับสำหรับการล้างปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อหลุมเติม HRP-Rabbit Antichicken IgG ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อหลุมเติม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ช.ม สลัดสารละลายใน plate ทิ้ง ล้าง 5 ครั้ง ด้วยสารละลายสำหรับการล้างปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อหลุมจากนั้นเติม O-phenylene-diamine-HCL (OPD)หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ทำการหยุดปฏิกิริยา 4 NH_2SO_4 ปริมาตร 50ไมโครลิตรนำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง ELISA-reader ที่ค่าการดูดกลืนแสง 492 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เคลือบไมโครเพลทด้วยวัคซีนปริมาณ 5 μg ในสารละลายสำหรับเคลือบปริมาตร 100 μl/well บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ช.ม.

↓

ล้าง 5ครั้งด้วยสารละลายสำหรับการล้างปริมาตร 150 μl/well เติม 2% เจลลาตินปริมาตร 300 μl/well บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ช.ม.

↓

ล้าง 3 ครั้ง ด้วยสารละลายสำหรับการล้างปริมาตร 150 μl/well บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ช.ม.

↓

ล้าง 3 ครั้ง ด้วยสารละลายสำหรับการล้างปริมาตร 150 μl/well เติมแอนติบอดี (ซีรัมไก่) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ช.ม.

↓

ล้าง 3 ครั้ง ด้วยสารละลายสำหรับการล้างปริมาตร 150 μl/well เติม HRP-Rabbit Antichicken IgG ปริมาตร 20 μl/well บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ช.ม.

↓

ล้าง 3 ครั้ง ด้วยสารละลายสำหรับการล้างปริมาตร 150 μl/well เติม เติม OPD 100 μl/well บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติม 4 NH_2SO_4 ปริมาตร 50ไมโครลิตร

↓

นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง ELISA-reader ที่ค่าการดูดกลืนแสง 492 นาโนเมตร แสดงการตรวจแอนติบอดีโดยวิธี indirect ELISA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Figure 3-5. A flow diagram for ELISA indirect method.

4.5 การศึกษาคุณภาพเนื้อ และไขมัน (meat and fat quality)

หลังจากการตัดแต่งซากไก่ทำการเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อออก และกล้ามเนื้อสะโพกด้านขวา เพื่อการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อ โดยวิธี proximate analysis (AOAC, 1995) วัดสี (L*, a*, b*) โดยเครื่อง Minolta chromameter (ภาพที่ 7) แนะนำโดย สัญชัย (2543) วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในเนื้อ โดยใช้เครื่อง Gas chromatography ตามวิธีของ Morrison and Smith (1964) วิเคราะห์โคเรสเตอรอลในเนื้อ ตามวิธีของ Jung *et al.* (1975)วิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid number ในเนื้อ โดยวิธีของ Rossell (1994)และค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ โดยใช้เครื่อง Instron (Model 5565)แนะนำโดย สัญชัย (2543) รวมถึงความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity, WHC) ซึ่งมีวิธีการวัดได้หลายแบบคือ

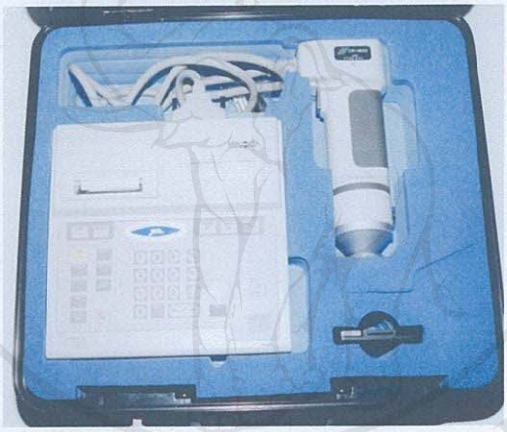

Figure 3-6. Minolta chromameter.

- **ค่าการสูญเสียน้ำ (drip loss)**

วิธีนี้ใช้ตัวอย่างกล้ามเนื้ออก และกล้ามเนื้อสะโพก กลุ่มละ 8 ชิ้น ทำการตัดแต่งเนื้อเยื่อไขมันออก ชั่งน้ำหนักก่อน (W_1) แล้วบรรจุในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้แน่นกันลมออก (sealed) จากนั้นใช้เชือกหรือตะขอเกี่ยวแขวนไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 ^{0} C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 3-7) จากนั้นจึงนำเนื้อออกจากถุง โดยซับของเหลวที่ติดมากับเนื้อด้วยกระดาษทิชชู แล้วชั่งน้ำหนักไว้ (W_2) การสูญเสียน้ำหาได้โดยน้ำหนักวิธีการของ (Honickel, 1987; อ้างโดยสัญชัย, 2543) คิดเป็นร้อยละจากการสูญเสียก่อน และหลังแช่เย็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\% \text{ drip loss} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100$$

Figure 3-7. Chilled broilers for drip loss measurement.

- **ค่าการสูญเสียน้ำในเนื้อภายหลังการแช่แข็ง (thawing loss)**

โดยการนำเนื้อตัวอย่างแช่แข็งที่ –20 ^{0}C ตั้งไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 ^{0}C นาน 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักก่อนแช่แข็ง (W_1) และภายหลังการแช่เย็น (W_2) คิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย เช่นกัน ดังสมการ

$$\% \text{ thawing loss} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- **ค่าการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการปรุงอาหาร (cooking loss)**

ใช้เนื้อตัวอย่างจากการทำ thawing loss ชั่งน้ำหนักก่อน (W_1) จากนั้นจะนำเนื้อดังกล่าวไปวัดอุณหภูมิของเนื้อ โดยใช้เข็มวัดอุณหภูมิเริ่มต้น แล้วบรรจุใส่ถุง vacuum ก่อนที่จะนำไปต้ม ใช้แท่งเหล็กที่ใช้วัดอุณหภูมิเนื้อเสียบคาไว้กับเนื้อตัวอย่าง แล้วจึงนำไปต้มในเครื่องอบไอน้ำความดันตั้งอุณหภูมิเครื่องไว้ที่ 95 ^{0}C และจับเวลาในการที่จะทำให้เนื้อมีอุณหภูมิใจกลาง 80 ^{0}C จากนั้นจึงเอาออกเมื่อถึงเวลาดังกล่าว ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงทำการชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W_2) คิดเทียบเป็นร้อยละเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย เช่นกัน ส่วนเนื้อตัวอย่างที่ได้จะบรรจุใส่ถุงพลาสติกอีกครั้ง เพื่อจะนำไปใช้ในการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่อไป

$$\% \text{ cooking loss} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100$$

- **ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear values)**

นำเนื้อตัวอย่างจากการทำ cooking loss มาแล้ว ใช้หัวเจาะ (core) เนื้อให้ได้ตัวอย่าง 2 ชิ้น ทำการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยเครื่อง Instron (Model 5565)ด้วยใบมีด หัววัดกำลัง 5 KN (Warner Bratzler Shear) แนะนำโดย สัญชัย (2543) (ภาพที่ 3-8)

Figure 3-8. Shear force measurement of broiler breast and thigh by Instron (Model 5565).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- **การตรวจชิม (panel test)**

โดยวิธีการนี้ใช้หลักการพิจารณาด้านประสาทสัมผัสทางกายภาพ และให้คะแนนลักษณะที่ใช้ในการพิจารณา

สีของเนื้อ

กลิ่นและรส (flavour)

ลักษณะเนื้อ

การยอมรับหรือความพอใจโดยรวม (acceptance)

ในการทดลองนั้นใช้กล้ามเนื้อออก และเนื้อสะโพก ทำการตัดแต่งเนื้อเยื่อไขมัน และเศษเนื้อออก ชั่งน้ำหนักก่อน (W_1) หลังจากนั้น นำเนื้อตัวอย่างแต่ละกลุ่มการทดลองอบด้วยเครื่องเตาอบไฟฟ้า (convection oven) ตั้งอุณหภูมิ กำลังไฟฟ้า 400 w วัดอุณหภูมิก่อนและหลังอบ เมื่ออุณหภูมิใจกลางเนื้อ 72 ^{0} C ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 12 นาที ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W_2) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียระหว่างการย่าง ดังสมการ

$$\% \text{ grilling loss} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100$$

จากนั้นนำเนื้อที่ได้มาตัดให้มีขนาดสม่ำเสมอกัน คือ 1.5 X 1.5 ซม. โดยใช้เขียงสำหรับตัดเนื้อที่เตรียมไว้ (ภาพที่ 3-9) ใส่ในจานพลาสติกแต่ละท่าน ในการศึกษานี้ จะใช้บุคคลที่ทำการคัดเลือกมาแล้ว จำนวน 6 คน สำหรับการทดสอบชิม (ภาพที่ 3-10) มีขั้นตอนดังนี้ แนะนำโดย ไพโรจน์ (2535)

1. ในการทดสอบชิมแต่ละครั้ง จะต้องเตรียมความพร้อมทั้ง พื้นที่ทำการชิม วางแผนการจัดห้องที่นั่งแต่ละท่าน แสงไฟในห้องตรวจชิม อุปกรณ์ในการทดสอบชิม น้ำดื่ม และช่วงเวลาในการตรวจชิม ควรจะเป็นช่วงเวลาเดียวกัน ซึ่งเป็นช่วงเวลา 14:30-15:30 น. เพื่อใช้ในการศึกษา
2. ผู้ทดสอบชิมจะได้รับแบบฟอร์มในการให้คะแนนสำหรับการตรวจชิมเนื้อซึ่งประกอบด้วย 4 ลักษณะ คือ ความนุ่ม ความชุ่มฉ่ำ รสชาติ และการยอมรับโดยรวม ซึ่งคะแนนมีตั้งแต่ 1-9 ขึ้นอยู่กับความพึงพอใจของผู้ทดสอบชิม (เช่น ความนุ่ม 1 = เหนียวที่สุด 9 = นุ่มที่สุด)
3. ก่อนทดสอบชิม ผู้ชิมจะต้องดื่มน้ำก่อน และกินส้ม 1 ชิ้น เพื่อเป็นการล้างปากทุกครั้ง ก่อนที่จะชิมตัวอย่างต่อไป จากนั้นจึงเริ่มให้คะแนนในแต่ละลักษณะ แต่การทดสอบแต่ละครั้งของการประเมินผล ไม่ควรเกิน 6 ตัวอย่าง เพื่อไม่ให้เกิดความสับสน และมีความผิดพลาดน้อยที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ภายหลังการตรวจชิม ควรที่จะเตรียมน้ำดื่ม และส้มเขียวหวานแก่ผู้ทดสอบชิม เพื่อเป็นการลดกลิ่น และล้างปากนั่นเอง

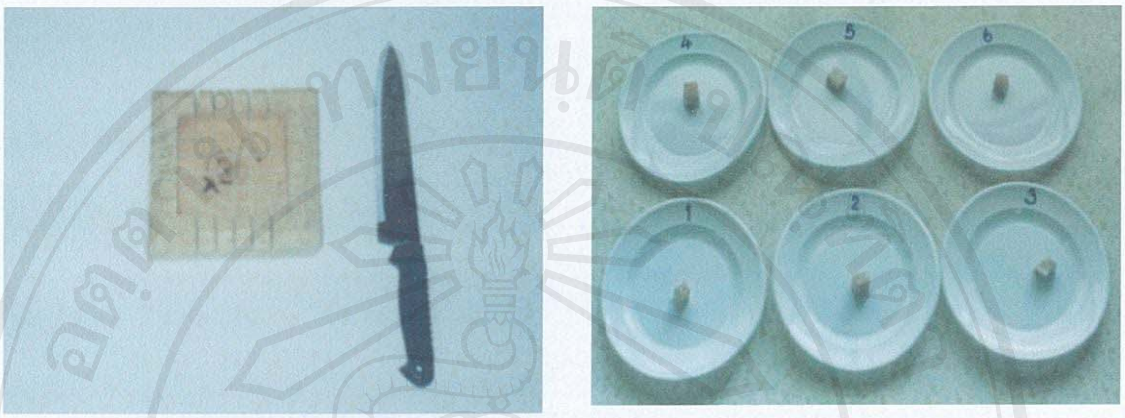

Figure 3-9. Chopping block for panel test.

Figure 3-10. Panelist for panel test.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในเนื้อ

ขั้นตอนที่ 1 การสกัดไขมันจากตัวอย่าง (Folch *et al.*, 1975)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อ 5 กรัมใส่ลงใน round bottom flask 100 ml
2. เติม chloroform : methanol (2:1) ลงใน 60 มล. เขย่าแรง ๆ เพื่อให้การสกัดเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์
3. กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman # 1 ลงใน flask
4. นำกากที่ได้มาสกัดต่อด้วย chloroform : methanol (2:1) อีกครั้งหนึ่ง แล้วรวมสารละลายที่กรองได้
5. เติมน้ำกลั่น 10 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น
6. เก็บชั้นล่างของสารละลายใน flask ที่ทราบน้ำหนัก แล้วนำไประเหยด้วย water bath 70 ^{0} C
7. ชั่งน้ำหนักไขมันหลังจากระเหยแห้ง และละลายด้วย chloroform ให้ความเข้มข้นประมาณ 30 มก./มล.

ขั้นตอนที่ 2 การเตรียม FAME (Morrison and Smith, 1964)

วิธีการ

1. ดูดสารละลายที่สกัดได้ 1 มล. ใส่ลงใน round bottom flask
2. เติม 0.5 M NaOH ใน methanol 4 มล. เขย่า 30 วินาที
3. Reflux จนได้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน 10 นาที ทิ้งให้เย็น
4. เติม 20 % boron-trifluoride ใน methanol 5 มล. เขย่า 30 นาที
5. Reflux ต่ออีก 5 นาที ทิ้งให้เย็น
6. เติมสารละลาย NaCl อิ่มตัว 3 มล. เขย่าให้เข้ากัน
7. เติม Iso-octane (2,2,4-trimethylpentane) 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน 30 วินาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน
8. เก็บส่วนที่ละลายในชั้น Iso-octane
9. เก็บ Iso-octane ที่เก็บได้ แล้วเติม sodium sulfate anhydrous ปริมาณเท่ากับปลายช้อนตักสาร
10. ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น
11. ดูดสารละลายส่วนใสใส่ใน vial แล้วปิดให้สนิท
12. ดูดสารละลายที่ได้ 2.0 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่อง GC (ภาพที่ 11)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณโคเลสเตอรอล และไตรกลีเซอร์ไรด์ในเนื้อ

การวิเคราะห์ปริมาณโคเลสเตอรอลในเนื้อ (Jung *et al.*, 1975)

วิธีการ

1. ทำการสกัดเนื้อ ตามวิธีของ Folch *et al.* (1975)
2. ดูดไขมันที่สกัดได้จากเนื้อ ที่มีความเข้มข้น 50 มก./มล. ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 2.5 มล.
3. เติม alcoholic KOH 10 มล.
4. นำไปต้มใน water bath 45 ^{0} C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. เติม petroleum ether 5 มล. เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixture
6. เติมน้ำกลั่น 5 มล. เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixture
7. เทสารละลายทั้งหมดลงในกรวยแยก ทิ้งไว้ให้เย็น
8. เก็บส่วนที่ละลายในชั้น petroleum ether แล้วนำไประเหยแห้งใน water bath
9. เติม ferric acetate/ uranyl acetate 5 มล. เขย่าอย่างแรงด้วย vortex mixture
10. นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 2,700 รอบ/นาที นาน 5 นาที
11. เตรียมหลอดอ่านขนาด 13 X 100 มม. ชุดใหม่แล้วเติม sufuric acid reagent หลอดละ 2 มล.
12. ดูด supernate จากหลอดเดิม 3 มล. มาใส่ในหลอดอ่านที่เติม sufuric acid reagent
13. ผสมให้เข้ากันทันทีด้วย vortex mixture อย่างน้อย 20 วินาทีแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที
14. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยใช้หลอด blank อ่านค่าเป็นศูนย์

<u>หมายเหตุ</u> หลอด blank จะเติมเฉพาะ ferric acetate /urany acetate 3 มล. sufuric acid reagent 2 มล.

สูตรการคำนวณ Total cholesterol $= \left[\frac{Au}{As}\right] \times 250$

เมื่อ Au คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

As คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโคเลสเตอรอลมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในเนื้อ (Bigg *et al.*, 1975)

วิธีการ

1. ทำการสกัดไขมันจากเนื้อ ตามวิธีของ Folch *et al.* (1975)
2. ดูดไขมันที่สกัดได้จากเนื้อ (ความเข้มข้น 50 มก/มล.) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร
3. เติม N-Heptane 2 มล.
4. เติม isopropanal 3.5 มล.
5. เติมสารละลายกรดกำมะถัน 40 mmol/ 1.0 มล.
6. ผสมแต่ละหลอดให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixture นาน 20 วินาทีแล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จนแยกชั้น
7. เตรียมหลอดชุดใหม่ และเติม sodium alkoxide 2 มล.
8. ดูดสารละลายในชั้นบนของชุดแรก 0.2 มล. ลงในหลอดที่เตรียมไว้
9. เขย่าให้เข้ากันดี แล้วใส่ตู้ร้อน 60 ^{0} C นาน 5 นาที
10. เติม sidium periodate 1 มล. แล้วผสมให้เข้ากัน
11. เติม acetylacetone 1 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วใส่ในตู้ร้อน 60 ^{0} C นาน 20 นาที
12. ทิ้งให้เย็นที่อุณภูมิห้อง แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยอ่าน blank เป็นศูนย์

หมายเหตุ หลอด blank จะเติมสารละลายทุกอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่างลงไป

การวิเคราะห์หาค่า Thiobarbituric acid number ในเนื้อ

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่น 70 มล.
2. นำไปปั่นใน Waring blender ประมาณ 15 วินาที
3. เทใส่ใน distillation flask แล้วล้าง blender ด้วยน้ำกลั่น 30 มล.
4. เติม 4 M HCl 2.5 มล. (ปรับ pH = 1.5)
5. เติม anti-foaming agent 1-2 หยด
6. ต่อเข้ากับชุดกลั่น แล้วกลั่นจนได้ของเหลวประมาณ 50 มล.
7. ปิเปตสารละลายที่กลั่นได้ 5 มล. แล้วเติม TBA solution 5 มล.
8. นำไปต้มในน้ำเดือด 35 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น 10 นาที
9. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร (ภาพที่ 12)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>หมายเหตุ</u> หลอด blank เติมน้ำกลั่น 5 มล. และ TBA solution 5 มล.

สูตรการคำนวณ TBA value = 7.8 X O.D. (mg malonaldehyde/kg)

Figure 3-11. Gas chromatography.

Figure 3-12. Spectrophotometer for rancidity measurement in meat.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองในการเลี้ยง ศึกษาระดับภูมิคุ้มกัน, ศึกษาคุณภาพซากรวมถึงด้านคุณภาพเนื้อแบบสุ่มตลอด (Completely Random Design, CRD; จรัล, 2540) โดยแบ่งกลุ่มการทดลองตามระดับเปอร์เซ็นต์ของบัวบกป่นแห้งที่ทดแทนในสูตรอาหาร ออกเป็น 5 กลุ่ม แต่ละกลุ่มแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มย่อย กลุ่มย่อยละ 34 ตัว คือ

กลุ่มที่ 1 อาหารพื้นฐาน
กลุ่มที่ 2 อาหารพื้นฐานที่มีบัวบกป่นแห้งทดแทนที่ระดับ 2 %
กลุ่มที่ 3 อาหารพื้นฐานที่มีบัวบกป่นแห้งทดแทนที่ระดับ 4 %
กลุ่มที่ 4 อาหารพื้นฐานที่มีบัวบกป่นแห้งทดแทนที่ระดับ 6 %
กลุ่มที่ 5 อาหารพื้นฐานที่มีบัวบกป่นแห้งทดแทนที่ระดับ 8 %

วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan New multiple ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS for window version 6.12 (SAS, 1990)

สถานที่ทำการวิจัย และรวบรวมข้อมูล

1. สถานที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงไก่ ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ หมวดสัตว์ปีก อ. สันป่าตอง จ.เชียงใหม่
2. วิเคราะห์โภชนะอาหารสัตว์ และโภชนะของบัวบกที่ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ทำการศึกษาคุณภาพซาก ที่ ศูนย์ฝึกอบรมเทคโนโลยีเนื้อสัตว์แห่งชาติ (National Meat Technology and Training) ถนนห้วยแก้ว ต.สุเทพ อ.เมือง จ. เชียงใหม่
4. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
5. ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย การศึกษาครั้งนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 18 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เลขหมู่..... 636.50855
สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ 112 ง
e.3