



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

## การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน

### Sulfuric acid ความเข้มข้น 7 N

เติมน้ำกลั่นใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 2 ลิตร 750 มิลลิลิตร ค่อย ๆ เติม sulfuric acid เข้มข้นจำนวน 365 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ และเติมน้ำให้ครบ 2 ลิตร (เก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิห้อง)

### Buffer solution pH 6

เตรียมได้ดังนี้

- Citric acid monohydrate จำนวน 30 กรัม
- Sodium hydroxide จำนวน 15 กรัม
- Sodium acetate trihydrate จำนวน 90 กรัม

นำสารทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่นจำนวน 500 มิลลิลิตร แล้วเทสารละลายที่ได้ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติม 1-propanol ลงไป 290 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น (เก็บรักษาไว้ในขวดสีชาได้นาน 2 เดือน)

### Oxidant solution

ละลาย chloramines-T-reagent จำนวน 1.41 กรัม ลงใน buffer solution จำนวน 100 มิลลิลิตร (เก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขวดสีชาได้นาน 7 วัน)

### Color reagent

ละลาย 4-dimethylaminobenzaldehyde จำนวน 10 กรัม ใน perchloric acid (60% wt/wt) จำนวน 35 มิลลิลิตร (เติมช้า ๆ พร้อมเขย่าเบา ๆ) เติม 2-propanol ลงไป 65 มิลลิลิตร (เตรียมใช้วันต่อวัน)

### Hydroxyproline standard solution

- Stock solution ระดับความเข้มข้น 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลาย hydroxyproline จำนวน 30 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร (เก็บรักษาใน volumetric flask ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้นาน 2 เดือน)

- Intermediate solution ระดับความเข้มข้น 6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เปิด stock solution มาจำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (เตรียมวันต่อวัน)

- Working solution

เปิด intermediate solution ปริมาตร 10, 20, 30 และ 40 มิลลิลิตร ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ระดับความเข้มข้น hydroxyproline เท่ากับ 0.6, 1.2, 1.8 และ 2.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (เตรียมวันต่อวัน)

### การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน

#### Methanolic NaOH ความเข้มข้น 0.5 M

ชั่ง NaOH AR grade มาจำนวน 2 กรัม ละลายใน methanol 100 มิลลิลิตร โดยมีการให้ความร้อนเล็กน้อยเพื่อช่วยในการละลาย

#### Saturated Sodium Chloride

ละลาย NaCl จำนวน 36 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร โดยให้ความร้อนเล็กน้อยเพื่อช่วยในการละลาย

### การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์คอเลสเตอรอล

#### Alcoholic KOH 33%

Stock solution KOH 33% เตรียมจาก KOH จำนวน 20 กรัม ใสลงในน้ำจำนวน 40 มิลลิลิตร สารละลาย alcoholic KOH เตรียมจากการเติม stock solution KOH ปริมาตร 6 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วย absolute alcohol 94 มิลลิลิตร

#### Ferric acetate/uranyl acetate

ละลาย  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.5 กรัม ลงในน้ำ 10 มิลลิลิตร เติม  $\text{NH}_4\text{OH}$  เข้มข้นลงไป 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะเกิดตะกอนของ ferric hydroxide ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นจนหมดความเป็นด่าง นำตะกอนที่ได้มาละลายใน conc. acetic acid ให้ได้ปริมาตรสุทธิ 1 ลิตร แล้วเติม uranyl acetate ( $\text{UO}_2(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) จำนวน 0.1 กรัม ลงไป เขย่าจนเข้ากัน เก็บรักษาสารละลายในขวดสีชาคงตัวได้อย่างน้อย 6 เดือน

#### Sulfuric acid reagent

ละลาย ferrous sulfate ชนิดปราศจากน้ำ (anhydrous  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ ) 0.1 กรัม ในกรด acetic acid 100 มิลลิลิตร ค่อยๆเติม sulfuric acid เข้มข้นลงไปช้าๆจำนวน 100 ml. พร้อมเขย่าเบาๆ เมื่อสารละลายกรดมีอุณหภูมิลดลงแล้วจึงอาจให้ครบ 1 ลิตรด้วย sulfuric acid เข้มข้น

### การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์

#### Sulfuric acid 40 mM/liter

ปิเปต sulfuric acid เข้มข้นมา 2.2 มิลลิลิตร ใสลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

**Sodium metaperiodate 3 mM/litter**

ละลาย sodium metaperiodate จำนวน 650 มิลลิกรัม และ ammonia acetate 177 กรัม ใน น้ำกลั่นจำนวน 500 มิลลิกรัม ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติม acetic acid ลงไป 60 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร สารละลายนี้คงสภาพได้นานประมาณ 6 เดือน

**Acetyl acetone reagent**

ปิเปต acetyl acetone (2,4 Pentanedione) มา 0.75 มิลลิลิตร เติมลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย *iso*-propanol ให้ครบ 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้คงสภาพได้นานประมาณ 6 เดือน

**Sodium alkoxide 28 mM/litter**

ชั่ง sodium methoxide มา 150 มิลลิกรัม ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม *iso*-propanol เขย่าให้ละลายแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

**การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid number****TBA solution 0.2883% (w/v)**

ชั่ง thiobarbituric acid มา 0.2883 มิลลิกรัม เติม acetic acid ที่มีความเข้มข้น 90% ลงไป อุณหภูมิ ๖๐ องศาเซลเซียส แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

**Appendix 1** Meat color, chemical composition and water holding capacity of swamp buffalo fattened on 2 different pasture types and 4 different muscles.

Criteria	Grass				Grass+Legume				SEM <sup>1/</sup>	P-value		
	LD	IS	ST	BF	LD	IS	ST	BF		Pasture	Muscle	Inter <sup>2/</sup>
<b>Meat color<sup>3/</sup></b>												
L*	35.54	38.12	41.83	38.78	36.69	38.86	43.04	38.11	0.146	0.044	<0.001	0.097
a*	14.86	17.18	16.67	16.86	13.95	16.51	15.68	16.96	0.091	0.823	<0.001	0.002
b*	9.54	12.40	12.50	12.07	10.09	12.46	12.71	12.90	0.085	0.004	<0.001	0.415
<b>Chemical composition, %</b>												
Moisture	75.74	76.53	76.04	75.57	74.74	76.05	75.11	74.73	0.075	<0.001	<0.001	0.652
Protein	22.36	21.91	21.95	22.38	22.94	21.72	22.23	22.52	0.061	0.421	<0.001	0.183
Fat	1.08	1.12	0.94	0.96	1.44	1.13	1.00	1.02	0.016	<0.001	<0.001	<0.001
<b>Water holding capacity, %</b>												
Drip loss	5.99	5.56	6.00	5.87	5.32	5.11	5.58	5.74	0.190	0.705	0.815	0.971
Thawing	6.84	5.93	7.02	6.41	6.77	5.54	5.75	6.19	0.309	0.132	0.702	0.911
Boiling	31.43	35.93	33.59	37.64	29.77	32.96	32.50	33.45	0.633	0.064	0.069	0.840
Grilling	31.21	33.53	31.63	32.62	31.88	35.09	32.20	34.42	0.744	0.150	0.594	0.826

LD=Longissimus dorsi, IS=Infraspinatus, ST=Semitendinosus and BF= Biceps femoris.

<sup>1/</sup> = Standard error of mean square.

<sup>2/</sup> = Interaction between pasture and muscle.

<sup>3/</sup> L\* = Lightness; white=100, black=0, a\* =redness; green=-80, red=100, b\* =yellowness; blue=-50, yellow=70.

**Appendix 2** Panel score, shear value and collagen contents of swamp buffalo fattened on 2 different pasture types and 4 different muscles.

Criteria	Grass				Grass+Legume				SEM <sup>1/</sup>	P-value		
	LD	IS	ST	BF	LD	IS	ST	BF		Pasture	Muscle	Inter <sup>2/</sup>
<b>Panel score<sup>3/</sup></b>												
Tenderness	7.53	7.36	5.94	6.06	7.42	7.22	5.85	6.03	0.040	0.556	<0.001	0.960
Juiciness	7.36	7.27	5.86	6.03	7.30	7.20	5.78	5.85	0.035	0.289	<0.001	0.939
Flavor	6.75	6.64	6.28	6.53	6.92	6.70	6.40	6.50	0.031	0.134	<0.001	0.727
Acceptance	7.22	7.22	6.08	6.33	7.30	7.06	6.00	6.20	0.032	0.476	<0.001	0.596
<b>Shear value</b>												
Force, N	40.30	46.05	58.73	51.48	41.17	48.57	53.55	52.21	1.084	0.262	<0.001	0.043
Energy, mJ	155.76	168.37	258.99	211.71	169.88	169.41	279.88	208.76	4.861	0.132	<0.001	0.820
<b>Collagen contents, g/100g meat</b>												
Soluble	0.29	0.28	0.27	0.28	0.29	0.29	0.27	0.28	0.002	0.504	<0.001	0.911
Insoluble	1.03	1.40	1.74	1.42	1.00	1.50	1.71	1.56	0.020	0.264	<0.001	0.288
Total	1.32	1.68	2.01	1.70	1.27	1.78	1.99	1.84	0.020	0.247	<0.001	0.313

LD=Longissimus dorsi, IS=Infraspinatus, ST=Semitendinosus and BF= Biceps femoris.

<sup>1/</sup> = Standard error of mean square.

<sup>2/</sup> = Interaction between pasture and muscle.

<sup>3/</sup> 1= low, 5=moderate and 9= high.

**Appendix 3** TBARS, cholesterol (mg/100g meat) and triglyceride (g/100g meat) of swamp buffalo fattened on 2 different pasture types and 4 different muscles.

Criteria	Grass				Grass+Legume				SEM <sup>1/</sup>	P-value		
	LD	IS	ST	BF	LD	IS	ST	BF		Pasture	Muscle	Inter <sup>2/</sup>
<b>TBARS, mg malondialdehyde/ kg</b>												
Day 0	0.10	0.12	0.18	0.16	0.11	0.12	0.17	0.16	0.004	0.642	<0.001	0.137
Day 3	0.12	0.15	0.31	0.18	0.12	0.19	0.28	0.17	0.006	0.244	<0.001	0.209
Day 6	0.14	0.18	0.48	0.21	0.15	0.23	0.50	0.27	0.011	0.118	<0.001	0.856
Day 9	0.16	0.19	0.78	0.36	0.21	0.25	0.79	0.50	0.024	0.178	<0.001	0.812
<b>Cholesterol</b>	45.35	49.35	56.55	54.28	44.98	45.00	49.65	57.40	0.534	0.055	<0.001	0.008
<b>Triglyceride</b>	0.89	0.72	0.61	0.63	1.20	0.89	0.65	0.70	0.015	<0.001	<0.001	0.009

LD=Longissimus dorsi, IS=Infraspinatus, ST=Semitendinosus and BF= Biceps femoris.

<sup>1/</sup> = Standard error of mean square.

<sup>2/</sup> = Interaction between pasture and muscle.

**Appendix 4** Fatty acid profiles and total fatty acids (TFA, mg/100g meat) of swamp buffalo fattened on 2 different pasture types and 4 different muscles.

Criteria	Grass				Grass+Legume				SEM <sup>1/</sup>	P-value		
	LD	IS	ST	BF	LD	IS	ST	BF		Pasture	Muscle	Inter <sup>2/</sup>
Fatty acid, % of total fatty acids												
C14:0	2.36	2.21	2.22	2.20	2.24	2.13	2.10	2.03	0.042	0.172	0.470	0.988
C14:1	0.30	0.41	0.38	0.36	0.29	0.37	0.36	0.43	0.016	0.736	0.122	0.667
C15:0	0.47	0.46	0.44	0.43	0.45	0.45	0.43	0.44	0.006	0.454	0.331	0.874
C16:0	24.00	23.70	23.07	23.36	23.70	23.18	23.43	23.10	0.082	0.181	0.038	0.289
C16:1	2.56	2.38	2.43	2.20	2.11	2.50	2.68	2.53	0.043	0.232	0.321	0.011
C17:0	1.04	1.17	0.987	1.02	1.16	1.12	1.07	0.964	0.012	0.314	<0.001	0.018
C17:1	0.61	0.56	0.63	0.54	0.63	0.60	0.63	0.53	0.009	0.148	0.002	0.705
C18:0	21.27	19.40	17.89	17.81	21.41	19.67	17.71	17.15	0.156	0.361	<0.001	0.391
C18:1 n-9	37.23	34.39	35.11	34.82	36.96	34.14	34.14	35.74	0.201	0.592	<0.001	0.449
C18:2 n-6	3.88	6.24	6.30	6.76	4.38	7.00	6.92	7.08	0.092	<0.001	<0.001	0.863
C18:3 n-3	2.11	2.87	3.08	2.98	2.03	2.74	3.20	3.17	0.062	0.654	<0.001	0.781
CLA	0.69	0.68	0.72	0.70	0.62	0.69	0.66	0.66	0.015	0.258	0.869	0.807

LD=Longissimus dorsi, IS=Infraspinatus, ST=Semitendinosus and BF= Biceps femoris.

CLA = C18:2 cis-9, trans-11.

<sup>1/</sup> = Standard error of mean square.

<sup>2/</sup> = Interaction between pasture and muscle.



**Appendix 5** Fatty acid profiles and total fatty acids (TFA, mg/100g meat) of swamp buffalo fattened on 2 different pasture types and 4 different muscles

(Continue).

Criteria	Grass				Grass+Legume				SEM <sup>1/</sup>	P-value		
	LD	IS	ST	BF	LD	IS	ST	BF		Pasture	Muscle	Inter <sup>2/</sup>
Fatty acid, % of total fatty acids												
C20:3 n-6	0.15	0.26	0.24	0.25	0.21	0.27	0.31	0.29	0.005	<0.001	<0.001	0.155
C20:4 n-6	1.58	3.08	3.53	3.23	2.25	3.02	3.62	3.47	0.033	0.009	<0.001	0.293
C20:5 n-3	1.16	1.43	2.14	2.01	1.03	1.36	1.86	1.59	0.054	0.042	<0.001	0.118
C22:0	0.27	0.22	0.25	0.25	0.22	0.26	0.25	0.25	0.006	0.572	0.945	0.382
C22:6 n-3	0.33	0.52	0.60	0.58	0.29	0.48	0.62	0.57	0.012	0.706	<0.001	0.687
SFA	49.41	47.17	44.86	45.57	49.18	46.81	44.99	43.93	0.154	0.102	<0.001	0.224
MUFA	40.70	37.74	38.54	38.92	40.00	37.62	37.81	39.23	0.187	0.795	<0.001	0.211
PUFA	9.90	15.09	16.60	16.51	10.82	15.56	17.20	16.84	0.141	0.011	<0.001	0.906
PUFA:SFA	0.20	0.32	0.37	0.36	0.22	0.33	0.38	0.38	0.004	0.003	<0.001	0.978
Total n-6	5.61	9.58	10.06	10.24	6.84	10.29	10.86	10.84	0.107	<0.001	<0.001	0.763
Total n-3	3.60	4.83	5.82	5.57	3.36	4.58	5.69	5.34	0.080	0.418	<0.001	0.994
n-6:n-3	1.61	2.07	1.84	1.90	2.07	2.29	2.02	2.04	0.040	0.004	0.032	0.535
<b>TFA</b>	<b>1027.17</b>	<b>873.76</b>	<b>707.47</b>	<b>673.53</b>	<b>1173.21</b>	<b>1050.52</b>	<b>773.30</b>	<b>811.11</b>	<b>1.871</b>	<b>0.003</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.192</b>

LD=Longissimus dorsi, IS=Infraspinatus, ST=Semitendinosus and BF= Biceps femoris.

SFA = saturated fatty acid, MUFA = monounsaturated fatty acid, PUFA = polyunsaturated fatty acid, n3 = omega-3 fatty acids and n6 = omega-6 fatty acids.

<sup>1/</sup> = Standard error of mean square.

<sup>2/</sup> = Interaction between pasture and muscle.

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นาย รักเกียรติ หน่อแก้ว
วัน เดือน ปีเกิด	2 มีนาคม พ.ศ. 2527
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษา จากโรงเรียนบ้านพันตน อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ ปีการศึกษา 2539 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนบ้านกาดวิทยาคม อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ ปีการศึกษา 2542 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนบ้านกาดวิทยาคม อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ ปีการศึกษา 2545 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2548
ผลงานทางวิชาการ	ชวลิต แต่ภักดี นุชา สิมะสาธิตกุล รักเกียรติ หน่อแก้ว อำนวย เลี้ยวธารากุล และสัญญาชัย จตุรสีทรา. 2550. คุณภาพซากและเนื้อทางอ้อมของไก่โรดไอแลนด์เรด ไก่แม่ฮ่องสอน และไก่คอล่อน. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สาขา สัตว์และสัตวแพทย์ ครั้งที่ 4 วันที่ 6-7 ธันวาคม 2550. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. น. 881-890. รักเกียรติ หน่อแก้ว ชำรงศักดิ์ พลบำรุง จีรวีส เข้มสวัสดิ์ ชวลิต แต่ภักดี เทอดชัย เวียรศิลป์ มิชาเอล วิคเค และสัญญาชัย จตุรสีทรา. 2550. ผลของชนิดอาหารหยาบต่อคุณภาพซากของโคพื้นเมืองไทย. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สาขา สัตว์และสัตวแพทย์ ครั้งที่ 4 วันที่ 6-7 ธันวาคม 2550. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. น. 873-880.

รักเกียรติ หน่อแก้ว ชำรงศักดิ์ พลบำรุง จีรวัด เข็มสวัสดิ์ เทอดชัย เวียรศิลป์ มิชาเอล วิคเค และ สัตยชัย จตุรสิทธา. 2551. คุณภาพเนื้อและองค์ประกอบกรดไขมันในกล้ามเนื้อสันนอกของ โคพื้นเมืองไทยที่เลี้ยงปล่อยพืชอาหารหายาต่างกัน. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์สาขาสัตว/สัตวแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 46 วันที่ 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2551. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. น. 3-10.

รักเกียรติ หน่อแก้ว นุชา สิมะสาธิตกุล และสัตยชัย จตุรสิทธา. 2551. คุณภาพเนื้อและองค์ประกอบ กรดไขมันในกล้ามเนื้อสันนอกของกระบือปลักที่เลี้ยงปล่อยทุ่งหญ้าต่างกัน. (รอกการ ตีพิมพ์)

รักเกียรติ หน่อแก้ว นุชา สิมะสาธิตกุล และสัตยชัย จตุรสิทธา. 2551. ผลของชนิดทุ่งหญ้าต่อ คุณภาพเนื้อในกล้ามเนื้อสันนอกของกระบือปลัก. (รอกการตีพิมพ์)

รักเกียรติ หน่อแก้ว นุชา สิมะสาธิตกุล และสัตยชัย จตุรสิทธา. 2551. ผลของชนิดทุ่งหญ้าต่อ ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของกระบือปลัก. (รอกการตีพิมพ์)

Jaturasitha, S., **R. Norkeaw**, T. Vearasilp, F. Namu and M. Wicke. 2007. Effect of type of grazing on meat quality of Thai native cattle. Poster presentation in Tropentag: Utilization of diversity in land use systems: Sustainable and organic approaches to meet human needs. October 9-11, 2007, Witzenhausen, Germany.

Jaturasitha, S., **R. Norkeaw**, T. Vearasilp, M. Wicke and M. Kreuzer. 2008. Carcass and meat quality of Thai native cattle fattened on Guinea grass (*Panicum maxima*) or Guinea grass-legume (*Stylosanthes guianensis*) pastures. *Meat Sci.* (accepted)

Suppadit, T., S. Jaturasitha, W. Selasat, **R. Norkeaw**, P. Pongsuk and N. Pripwai. 2008. Utilization of dried milky sludge in layer coturnix quail diet on productive performance and egg quality. *J. Anim. Sci.* (in press)