

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. sulfuric acid 98%)	Analytical reagent	Merck
กรดบอริก (boric acid)	Analytical reagent	Merck
กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)	Analytical reagent	Merck
กรดไธโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid)	Analytical reagent	Fluka
กลาเซียล อะซิติก แอซิด (glacial acetic acid)	Analytical reagent	J.T. Beaker
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodiumhydroxide)	Analytical reagent	Merck
ซีลีเนียมมิกซ์เชอ (selenium mixture)	Analytical reagent	Merck
ไดคลอโลเมเทน (dichlorometane)	Commercial	-
ไดอะตอมมาเซียส เอิร์ท (diatomaceous earth)	-	Merck
เมธิลเรด (methyl red)	Analytical reagent	Merck
เมธิลีนบลู (methylene blue)	Analytical reagent	Merck
สารต้านการเกิดฟอง (anti-foaming agent)	Analytical reagent	Fluka
อะซีโตน (acetone)	Commercial	-
น้ำกลั่น	deionized water	-

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

ชื่อเครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)	DU 7500	BECKMAN	America
เครื่องกลั่นโปรตีน	-	Gerhardt	Germany
เครื่องย่อยโปรตีน	12	Buchi	Germany
เครื่องสกัดไขมัน	EV1	Gerhardt	Germany
เครื่องวิเคราะห์เชื้อย	EV26	Gerhardt	Germany

ชื่อเครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
เครื่องซัคชั่นปั๊ม (suction pump)	VDE0530	W.Krannich	Germany
เครื่องบดอาหาร	4	Thomas-Willey	America
เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง	P163	Mettler	Switzerland
ถ้วยกระเบื้องเคลือบ	109-3	Haldenwanger	Germany
ถ้วยกระเบื้องเคลือบทรงสูง (porcelain crucible)	101/50	HCT	Germany
ถ้วยชั่งน้ำหนัก (weighing bottle)	-	Brand	Germany
โถดูดความชื้น (desiccator)	GL32	Glaswerk wertheim	Germany
ทิมเบิล (thimble)	No.2800258	Whatman	England
กระดาษกรอง เบอร์ 4	-	Whatman	England
บุชเนอร์ฟีนเนล (buchner funnel)	127-2a	Haldenwanger	Germany
ขวดกรองรูปชมพู่ (suction flask) 1000 ml	No.27060	Kimax	America
ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) 250 ml	No.4990	Pyrex	America
ขวดก้นกลม (round bottom flask)	-	Schott Duran	Germany
ขวดกลั่นไปร์ดีน (kjeldahl flask) 500 ml	No.5420	Pyrex	America
หลอดย่อยไปร์ดีน (digestion tube)	-	Buchi	Switzerland
หลอดทดลองมีฝาปิดแบบเกลียว 10 ml	No.9825	Pyrex	America
บีกเกอร์ (beaker) 600 ml	No.1040	Pyrex	America
กระบอกตวง (cylinder) 100 ml	-	Witeg	Germany
ไมโครปิเปต (micropipette) 5000 ml	G23978E	Gilson	France
ดีสเพนเซอร์ปิเปต (dispenser pipette)	No.704650	Brand	Germany
พีเอสมิเตอร์ (ph meter)	EC-phScan3	Eutech	Germany
พลาเนมิเตอร์ (planimeter)	AERO A.OTT	Kemten	West Germany
ตู้อบโอเวน (oven)	DEV	Heraeus	Germany
เตาเผา (muffle furnace)	MR260E	Heraeus	Germany
หินพัมมิช (pumice stone)	No.33084	BDH	England

3.2 สัตว์ทดลอง อาหารทดลองและการจัดการ

3.2.1 สัตว์ทดลอง ใช้สุกรลูกผสม 2 สายพันธุ์ คือ ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ (Large White x Landrace) จำนวน 60 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ตอน (barrow) 30 ตัว และเพศเมีย (gilt) 30 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นการทดลอง 40 กิโลกรัม

3.2.2 ลักษณะคอกทดลอง

ก. คอกทดลองเป็นช่องขังเดี่ยวเรียงติดกันเป็นแถว มีทั้งหมด 3 แถว แต่ละแถวมีระยะห่างกัน 1.00 ม. (Figure 15)

ข. ในแต่ละแถวจะมีจำนวนช่อง แถวละ 20 ช่อง (Figure 15)

ค. ขนาดของช่องแต่ละช่อง กว้าง 0.50 ม. ยาว 1.20 ม. สูง 0.90 ม. และวัสดุรองพื้นคอกเป็นพื้นสแล็คคอนกรีต (Figure 16-17)

ง. มีที่ให้น้ำอัตโนมัติแบบหัวจ๊ับ (nipple) ด้านหน้าคอก โดยอยู่ในตำแหน่งอยู่เหนือรางอาหารสูงจากพื้นสแล็คคอนกรีต 0.60 ม. (Figure 16-17)

จ. มีที่ให้อาหารแบบรางติดตั้งด้านหน้าคอกวางบนพื้น ด้วงทำจากท่อ PVC ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว ฝาครึ่งเป็น 2 ซีก วางตลอดตามความยาวของแต่ละแถว และกันเป็นช่องๆ เฉพาะแต่ละช่องจำนวน 20 ช่อง เพื่อแยกอาหารแต่ละตัวออกจากกัน (Figure 16-17)

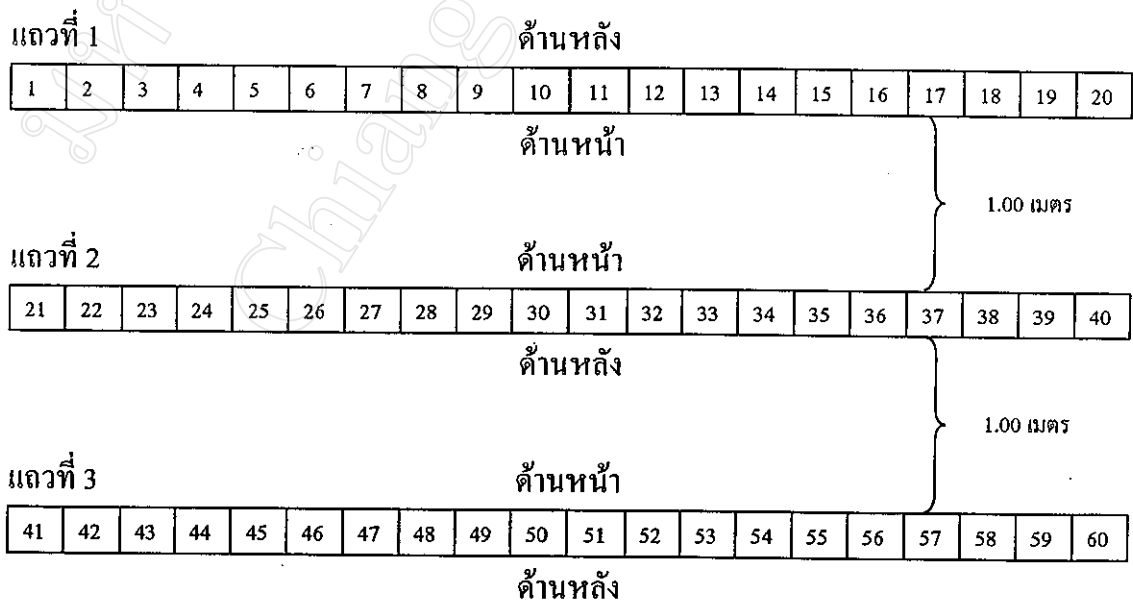


Figure 15 Plan of individual cage for experiment.



Figure 16 Side view of individual cage.



Figure 17 Front view of individual cage.

3.2.3 การวางแผนการทดลองและการจัดสัตว์เข้าคอกทดลอง

3.2.3.1 วางแผนการทดลองแบบ 2 x 3 Factorial Experiment in Completely Randomized Design (Snedecer and Coecharan, 1966) โดยกำหนดให้อาหารที่ใช้ทดลองเป็นปัจจัยที่หนึ่ง ซึ่งมี 3 สูตร คือ สูตรอาหารปกติ (T1) สูตรอาหารปกติเสริมวิตามินอี 200 มก./กก.อาหาร (T2) สูตรอาหารปกติเสริมวิตามินอี 100 และเสริมวิตามินซี 500 มก./กก.อาหาร (T3) และเพศเป็นปัจจัยที่สอง ซึ่งมี 2 เพศ คือ เพศผู้ตอและเพศเมีย

3.2.3.2 วิธีการจัดสัตว์เข้าคอกทดลอง ทำการสุ่มสุกรเข้าของขังเดี่ยว โดยให้สุกร 1 ตัว เป็น 1 ขัง และในแต่ละแถวจะมีสุกรเพศผู้และเพศเมีย เพศละ 10 ตัว หลังจากนั้นทำการสุ่มสูตรอาหารให้กับแถว ซึ่งมีทั้งหมด 3 แถว โดยให้แต่ละแถวคือ 1 สูตรอาหาร

3.2.4 การจัดการด้านอาหาร

อาหารที่ใช้ทดลองมีทั้งหมด 3 สูตร (Table 2, 3) แต่ละสูตรมีการผสมใหม่ 3 ครั้ง สุกรในแต่ละแถวจะได้รับอาหารเพียง 1 สูตรตลอดระยะเวลาการทดลอง สุกรทุกตัวจะได้กินอาหารและมีน้ำให้ดื่มเต็มที่ (*ad libitum*) ซึ่งอาหารบรรจุใส่ถุง ถุงละ 1 กก. ด้วยเครื่องชั่งแบบสปริง ขนาด 3 กก. ทศนิยม 1 ตำแหน่ง แต่ละสูตรอาหารจะใช้ถุงที่มีสีต่างกัน คือ สีฟ้าสูตร 1 สีขาวสูตร 2 สีเขียวสูตร 3 ทำการเขียนลำดับหมายเลขไว้ที่ถุงทุกถุง เพื่อเป็นการตรวจสอบกับปริมาณอาหารที่ใช้ไป อาหารจะถูกนำไปวางไว้หน้าของของสุกรแต่ละตัว วันละ 2 ถุง ในช่วง 2 สัปดาห์แรกของการทดลอง หลังจากนั้นเพิ่มเป็น 3-4 ถุง

วิธีการให้จะแบ่งอาหารในแต่ละถุงโดยเรียงลำดับตามหมายเลขของถุงอาหาร เทใส่รางอาหารให้สุกรกิน โดยให้มีอาหารกินตลอดเวลาในรางอาหาร อาหารที่เหลือในถุงของแต่ละวันจะนำมาชั่งน้ำหนัก แล้วจึงนำไปให้สุกรกินในวันต่อไป ใช้ระยะเวลาเลี้ยง 12 สัปดาห์ จนกระทั่งถึงน้ำหนักที่ส่งสุกรเข้าโรงฆ่า คือ 90-100 กก.

Table 2 Composition of experimental diets (as-fed basis).

Ingredients (%)	T1	T2	T3
Corn meal	48.95	48.95	48.95
Soy bean meal	12.80	12.80	12.80
Full fat soy bean	2.50	2.50	2.50
Rice polishing	20.30	20.30	20.30
Fish meal	4.00	4.00	4.00
Broken rice	7.85	7.80	7.75
Tallow	0.50	0.50	0.50
Limestone	0.40	0.40	0.40
Salt	0.40	0.40	0.40
D.C.P, P 18	1.50	1.50	1.50
Ethoxyquin	0.01	0.01	0.01
Microfix - plus	0.10	0.10	0.10
Drymold	0.05	0.05	0.05
Choline chloride	0.03	0.03	0.03
Lysine	0.27	0.27	0.27
Methionine	0.05	0.05	0.05
Threonine	0.01	0.01	0.01
Premix ^a	0.30	0.30	0.30
Add vitamin E ^b	0	0.04	0.02
Add vitamin C ^b	0	0	0.05
Cost, baht/kg	6.34	6.59	6.79

(4 July – 30 September 1999)

^a Premix contained vitamins and minerals; vitamin E 33 mg^b Form of vitamin E is tocopheryl acetate and vitamin C is adsorbyl phosphate which were obtained from Rovithai Ltd.

Table 3 Chemical composition of experimental diets from calculation.

Calculated composition (%)	T1	T2	T3
Crude protein	16.00	16.00	16.00
ME, kcal/kg	3063.18	3063.18	3063.18
Crude fat	5.86	5.86	5.86
Crude fiber	4.73	4.73	4.73
Calcium	0.97	0.97	0.97
Phosphorus	0.52	0.52	0.52
Lysine	1.03	1.03	1.03
Methionine + Cystine	0.66	0.66	0.66
Tryptophan	0.19	0.19	0.19
Threonine	0.64	0.64	0.64

3.3 การบันทึกข้อมูลและการเก็บตัวอย่าง

3.3.1 บันทึกปริมาณอาหารที่สุกรกิน โดยทำการบันทึกปริมาณอาหารที่สุกรแต่ละตัวกิน ทุกๆ วัน โดยจดหมายเลขของถุงอาหารที่นำไปวางไว้หน้าของของสุกรแต่ละตัว เพื่อเป็นการบันทึกปริมาณอาหารที่สุกรแต่ละตัวกินในแต่ละวัน ทำการชั่งน้ำหนักอาหารที่เหลือในรางอาหาร และในถัง เวลา 17.00 น. ของทุกวัน โดยใช้เครื่องชั่งแบบสปริง ขนาด 3 กก. ทศนิยม 1 ตำแหน่ง สำหรับการคำนวณปริมาณอาหารที่สุกรแต่ละตัวกินในแต่ละวัน ทำโดยนำปริมาณอาหารที่สุกรแต่ละตัวกินเหลือในแต่ละวันไปลบ ออกจากปริมาณอาหารที่ให้สุกรแต่ละตัวกินในแต่ละวัน ดังแสดงในสูตร

$$\text{ปริมาณอาหารที่สุกรกินแต่ละวัน} = \text{ปริมาณอาหารที่ให้แต่ละวัน} - \text{ปริมาณอาหารที่เหลือแต่ละวัน} \\ (\text{กก./วัน})$$

3.3.2 ชั่งน้ำหนักสุกรแต่ละตัว โดยทำการชั่งน้ำหนักทุกๆ 2 สัปดาห์ การชั่งน้ำหนักทุกครั้ง จะชั่งก่อนให้อาหาร และเริ่มชั่งเวลา 09.00 น. โดยใช้กรงและเครื่องชั่งแบบคาน ขนาด 200 กก. ทศนิยม 1 ตำแหน่ง

3.3.3 การเก็บตัวอย่างอาหารเพื่อการวิเคราะห์ ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทดลองทุกครั้งที่มีการผสมอาหารใหม่ การทดลองครั้งนี้สูตรอาหารแต่ละสูตรมีการผสมใหม่สูตรละ 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งที่มีการผสมอาหารใหม่จะสุ่มเก็บอาหารแต่ละสูตรจากถุงอาหารจำนวน 10 ถุงๆ ละ 1 ตำแหน่ง นำตัวอย่างอาหารที่สุ่มเก็บแต่ละครั้งมาผสมกัน นำไปบดด้วยเครื่องบดอาหาร ให้ผ่านตะแกรงขนาด 1 มม. เก็บตัวอย่างที่ผ่านตะแกรง และนำไปผสมกับส่วนที่ไม่ผ่านตะแกรง นำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ตาม AOAC (1990) ซึ่งจะวิเคราะห์หา วัตถุแห้ง โปรตีนโดยรวม ไขมันโดยรวม เยื่อใยโดยรวม และเถ้า

3.3.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณวัตถุแห้ง (dry matter), AOAC (1990)

หลักการ

เมื่อนำตัวอย่างมาทำการอบที่อุณหภูมิ 100-105 °C จนน้ำหนักคงที่ น้ำหนักที่หายไป คือ ความชื้น

วิธีการทำ

1. นำถ้วยชั่งน้ำหนัก (weighing bottle) ที่ล้างทำความสะอาดแล้วไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100-105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำไปไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_1)
2. ชั่งตัวอย่างอาหาร 3 กรัม (W_s) ใส่ในถ้วยชั่งน้ำหนัก
3. นำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยเปิดฝาถ้วย เมื่อครบกำหนด ปิดฝาถ้วยแล้วนำไปไว้ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

วิธีคำนวณ

$$\text{Dry matter (\%)} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_s} \right) \times 100$$

3.3.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยรวม (crude protein), AOAC (1990)

หลักการ

เนื่องจากโปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นการวิเคราะห์หาโปรตีนในอาหารสัตว์จึงทำการวิเคราะห์โดยวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร แล้วจึงเปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนที่วัดได้ให้เป็นโปรตีน การวิเคราะห์ด้วยวิธีเจล์ดาห์ล (kjeldahl method) ตัวอย่างจะถูกย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 98% (sulfuric acid) ที่อุณหภูมิสูงเพื่อสลายไนโตรเจนทั้งหมดออกมา ซึ่งจะได้เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate) เดิมสาร

ละลายต่างเข้มข้นลงไป แล้วนำไปกลั่น จะได้แอมโมเนีย (ammonia) ซึ่งจะถูกจับด้วยกรดบอริก (boric acid) หลังจากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายกรดมาตรฐาน จะทำให้ทราบปริมาณของ ไนโตรเจน นำปริมาณไนโตรเจน ไปคูณกับ 6.25 จะได้เป็นโปรตีนรวม

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น 98%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 38%
3. กรดบอริก 4%
4. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 N (hydrochloric acid)
5. ทาชิโร อินดิเคเตอร์ (Tashiro indicator)
6. ซีลีเนียมมิกซ์เชอร์ (selenium mixture)

วิธีการทำ

ขั้นตอนการย่อย

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 1 กรัม ใส่ในหลอดย่อย (digestion tube) ใส่ซีลีเนียมมิกซ์เชอร์ 1 เม็ด (ใช้ซีลีเนียมมิกซ์เชอร์ 1 ซ้อนตักสาร นำไปอัดเม็ด) เติมกรดซัลฟูริก 25 มล. ทั้งนี้จะต้องทำแบลนด์ (การไม่ใส่ตัวอย่าง) ควบคู่ไปด้วย
2. นำไปตั้งบนเตาของเครื่องย่อย ปิดฝาหลอดย่อย และต่อเข้ากับเครื่องดูดไอกรด เปิดเครื่องย่อยและเครื่องดูดไอกรด ย่อยให้ได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 2-3 ชม.
3. เมื่อครบเวลาที่กำหนดหรือได้สารละลายใสแล้ว ปิดเครื่องย่อยและเครื่องดูดไอกรด ทิ้งไว้ให้เย็น

ขั้นตอนการกลั่น

1. เทสารละลายใสที่ได้จากขั้นตอนการย่อยข้อ 3 ลงในหลอดเจล์ดาคท์ (kjeldahl flask) ใช้น้ำกลั่นล้างสารละลายที่เหลือในหลอดย่อย แล้วเทลงในหลอดเจล์ดาคท์ เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 200 มล. และใส่ทาชิโร อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด
2. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 38% ปริมาณ 70 มล. และใส่หินพัมมิช (pumice stone) 2-3 เม็ด
3. นำไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่น
4. ตวงกรดบอริก 4% ปริมาณ 40 มล. ใส่ในขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) เติมทาชิโร อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด
5. นำปลายคอนเดนเซอร์ (condenser) จุ่มลงในกรดบอริก

6. เปิดเครื่องกลั่น กลั่นจนได้สารละลายประมาณ 150 มล. หรือกลั่นจนแอมโมเนียหมด ตรวจสอบโดยใช้กระดาษลิตมัสสีแดงชุบน้ำ นำไปอังที่ปลายคอนเดนเซอร์ ถ้ากระดาษลิตมัสไม่เปลี่ยนสี แสดงว่าแอมโมเนียหมดแล้ว หยุดกลั่นได้

ขั้นตอนการไทเทรต

1. นำสารละลายของตัวอย่างและของแบลลงค์ที่กลั่นได้จากข้อ 6 ไปไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 N โดยไทเทรตจนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีชมพู จดบันทึกปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรต

2. นำปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรต ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ดังแสดงในสูตร และนำเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ดังแสดงในสูตร

การคำนวณ

$$N (\%) = \left[\frac{\text{ml HCl(s)} - \text{ml HCl(b)} \times \bar{N} \text{ HCl} \times 0.014}{W_s} \right] \times 100$$

$$CP (\%) = N (\%) \times 6.25$$

N	= ปริมาณไนโตรเจนคิดเป็นเปอร์เซ็นต์
HCl(s)	= ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตสารละลายของตัวอย่าง
HCl(b)	= ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตสารละลายของแบลลงค์
\bar{N} HCl	= ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้สำหรับไทเทรต
W_s	= น้ำหนักตัวอย่างมีหน่วยเป็นกรัม
CP	= โปรตีนรวมคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

3.3.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันโดยรวม (ether extract) โดยวิธี soxhlet, AOAC (1990)

หลักการ

ปริมาณ ไขมันที่มีอยู่ในอาหารสามารถสกัดออกมาได้โดยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น อีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เบนซีน ไดคลอโรมีเทน เป็นต้น ปัจจุบันนิยมใช้ไดคลอโรมีเทน เพราะไม่ติดไฟ ปริมาณไขมันที่สกัดได้จะเป็นปริมาณไขมันโดยรวม เพราะมีส่วนของวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน และสารสี รวมอยู่ด้วย

สารเคมี

ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane)

วิธีการทำ

1. ใส่หินพัมมิช 2-3 เม็ด ลงในขวดก้นกลม (round bottom flask) นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C จนน้ำหนักคงที่หรืออบเป็นเวลา 1 ชม.
2. นำไปใส่ในโถคู่ความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนัก (W_1)
3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3 กรัม (W_s) แล้วนำไปห่อด้วยกระดาษกรองหรือกระดาษที่ปราศจากไขมัน เสร็จแล้วนำไปใส่ในทิมเบิล (thimble)
4. นำทิมเบิลใส่ลงในซอกซ์เล็ท (soxhlet)
5. นำซอกซ์เล็ทต่อเข้าปลายคอนเดนเซอร์ (condenser) เสร็จแล้วนำขวดก้นกลมมาต่อเข้ากับปลายของซอกซ์เล็ท โดยให้ขวดตั้งอยู่บนเตาให้ความร้อน
6. เติมไดคลอโรมีเทนลงในขวดก้นกลมจำนวน 2 ลิฟอน (siphon) โดยผ่านทางปลายคอนเดนเซอร์
7. เปิดเครื่องทำความเย็นของน้ำและเตาให้ความร้อน
8. ปรับตั้งความร้อนของเตา โดยให้จำนวนหยดของสารละลายที่กลั่นได้จากปลายคอนเดนเซอร์เท่ากับ 5-6 หยด/วินาที ใช้เวลากลับประมาณ 16 ชั่วโมง
9. เมื่อครบกำหนด นำทิมเบิลออกจากซอกซ์เล็ท กลั่นต่อเพื่อเก็บไดคลอโรมีเทนไว้ใช้ต่อไป โดยเมื่อกลั่นได้สารละลายประมาณ $\frac{1}{2}$ ของซอกซ์เล็ท เทสารละลายที่กลั่นได้ออก กลั่นต่อจนเหลือไดคลอโรมีเทนในขวดก้นกลมเพียงเล็กน้อย (อย่าให้แห้ง) ปิดเครื่องทำความเย็นและเตาให้ความร้อน
10. นำขวดก้นกลมไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
11. นำขวดก้นกลมไปใส่ในโถคู่ความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

การคำนวณ

$$\text{Ether extract (\%)} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_s} \right) \times 100$$

3.3.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยโดยรวม (crude fiber), AOAC (1990)

หลักการ

ต้มตัวอย่างอาหารด้วยกรดและด่างเจือจาง เสร็จแล้วกรองและนำส่วนที่กรองได้ไปเผาที่อุณหภูมิ 600 °C ส่วนที่เหลือหลังจากเผา คือเยื่อใยโดยรวม

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก 3.125%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 3.125%
3. อะซีโตน (acetone)
4. ไดอะตอมมาเซียส เอิร์ท (diatomaceous earth)

วิธีการทำ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 3 กรัม (W_0) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มล.
2. เติมกรดซัลฟูริก 3.125% ปริมาณ 200 มล. นำไปต้มแบบรีฟลักซ์ (reflux) ต้มเป็นเวลา 10 นาที โดยเริ่มจับเวลาเมื่อสารละลายเดือด
3. นำมากรองด้วยบุชเนอร์ฟันเนล (buchner funnel) ซึ่งต่ออยู่กับขวดซัคชัน (suction flask) โดยใช้กระดาษกรองและใส่ไดอะตอมมาเซียส เอิร์ท 1 ซ้อนดักสาร ลงบนกระดาษกรอง เทน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือดลงในบุชเนอร์ฟันเนล แล้วเปิดเครื่องซัคชัน
4. นำสารละลายที่ต้มจนเดือดเทลงในบุชเนอร์ฟันเนล ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเดือดจำนวน 500 มล. กรองจนได้ตะกอนที่แห้ง
5. ถ่ายตะกอนทั้งหมดลงในบีกเกอร์ใบเดิม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3.125% ปริมาณ 200 มล. นำไปต้มแบบรีฟลักซ์ (reflux) ให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที โดยเริ่มจับเวลาเมื่อสารละลายเดือด
6. ทำตามขั้นตอนในข้อ 3 และ 4
7. ล้างตะกอนที่กรองได้ด้วยอะซีโตน เสร็จแล้วถ่ายตะกอนทั้งหมดใส่ถ้วยกระเบื้องนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง
8. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_1)
9. นำไปเผาบนแผ่นให้ความร้อนในตู้ดูดควันจนหมดควัน แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 600 °C ในเตาเผาเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
10. รอให้อุณหภูมิเตาเผาตกลงเหลือประมาณ 200 °C จึงนำถ้วยออกมา ใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นใน แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

การคำนวณ

$$\text{Crude fiber (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_s} \right) \times 100$$

3.2.3.5 หาปริมาณเถ้า (ash), AOAC (1990)

การวิเคราะห์ หลักการ

พวกอินทรีย์สารที่เหลือหลังจากการเผาตัวอย่างอาหาร คือ เถ้า ส่วนพวกอินทรีย์สารจะถูกเผาไหม้หมด ดังนั้นเมื่อนำตัวอย่างอาหารไปเผาที่อุณหภูมิ 600 °C ส่วนที่เหลือหลังจากจากการเผาจะเป็นปริมาณเถ้าทั้งหมด

วิธีการทำ

1. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible) เพล้าที่ล้างทำความสะอาดแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C หรือเผาที่อุณหภูมิ 600 °C ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นใน โถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักด้วยเปล้า (W_1)
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหาร 2 กรัม (W_s) ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ
3. นำไปเผาบนแผ่นให้ความร้อน (hot plate) หรือ ตะเกียงเบนเซน ในตู้ดูดควันจนหมดควัน
4. นำไปเผาต่อในเตาเผา (muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 600 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
5. ปิดไฟ รอให้อุณหภูมิเตาเผาตกลงเหลือประมาณ 200 °C จึงนำถ้วยออกมา และทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

วิธีคำนวณ

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

3.4 การศึกษาสมรรถนะการผลิต

3.4.1 วัดปริมาณอาหารทั้งหมดที่สุกรแต่ละตัวกิน (total feed intake, TFI) โดยวัดตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง หาได้โดยนำปริมาณอาหารที่สุกรแต่ละตัวกินในแต่ละวันตั้งแต่เริ่มการทดลองมารวมกันจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง วิธีการคำนวณหาปริมาณอาหารที่สุกรแต่ละตัวกินในแต่ละวันแสดงไว้แล้วในข้อ 3.3.1

3.4.2 วัดปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (average daily feed intake, ADFI) โดยนำปริมาณอาหารทั้งหมดที่สุกรแต่ละตัวกิน ตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองหารด้วยจำนวนวันที่เลี้ยง เพื่อหาค่าเฉลี่ย ดังแสดงในสูตร

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (กก./วัน)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด (กก.)}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง (วัน)}}$$

3.4.3 วัดน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นทั้งหมด (total weight gain, TWG) โดยการนำน้ำหนักตัวที่ซั้ครั้งแรก เมื่อเริ่มเข้าสู่การทดลองของสุกรแต่ละตัวไปลบออกจากรน้ำหนักตัวที่ซั้ครั้งสุดท้ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จะได้น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของแต่ละตัว ดังแสดงในสูตร

$$\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กก.)} = \text{น้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักตัวเริ่มต้นการทดลอง}$$

3.4.4 วัดอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG) โดยการนำน้ำหนักตัวที่ซั้ครั้งแรก เมื่อเริ่มเข้าสู่การทดลองของสุกรแต่ละตัวไปลบออกจากรน้ำหนักตัวที่ซั้ครั้งสุดท้าย จะได้น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของแต่ละตัวตั้งแต่เริ่มทดลอง นำจำนวนวันที่เลี้ยงมาหาร เพื่อหาค่าเฉลี่ย ดังแสดงในสูตร (หรือ ผลจากข้อ 3.4.3 หารจำนวนวันที่เลี้ยงของแต่ละตัว)

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กก./วัน)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น(กก.)}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง (วัน)}}$$

3.4.5 วัดอัตราการเปลี่ยนอาหาร หรืออัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) โดยนำปริมาณอาหารที่กินทั้งหมดของสุกรแต่ละตัว ตั้งแต่เริ่มการทดลองจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองหารด้วยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ซึ่งหาได้จากการนำน้ำหนักตัวที่ซั้ครั้งแรก เมื่อเริ่มเข้าสู่การทดลอง

ของสุกรแต่ละตัวไปลบออกจากน้ำหนักตัวที่ซั้่งครั้งสุดท้ายของการทดลอง เมื่อหารแล้วจะได้อัตราการเปลี่ยนอาหาร ดังแสดงในสูตร

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหาร} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน (กก.)}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กก.)}} \quad \text{หรือ} \quad \left(\frac{\text{Feed}}{\text{Gain}} \right)$$

3.5 การศึกษาคุณภาพซาก

สุกรที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 90-100 กิโลกรัม จะถูกนำไปศึกษาคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อ โดยจะต้องอดอาหารเป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมงก่อนฆ่า แต่มีน้ำให้ดื่มตลอดเวลา เพื่อซั้่งน้ำหนักสุดท้ายที่อยู่ในสภาพไม่มีอาหารตกค้างอยู่ในทางเดินอาหาร ก่อนถูกนำไปส่งโรงฆ่า

3.5.1 การขนส่งสุกร สุกรจะถูกขนส่งไปโรงฆ่าสัตว์ช่วงเวลา 7.00-8.00 น. โดยรถบรรทุก เป็นระยะทาง 10 กม. สุกรจะถูกซั้่งไว้ในคอกพักประมาณ 22 ชั่วโมง และไม่ได้กินอาหารและดื่มน้ำ และทั้งหมดจะถูกฆ่าในตอนเช้าของวันต่อมา (สรุปสุกรจะอดอาหาร 34 ชั่วโมง และอดน้ำ 22 ชั่วโมง)

3.5.2 การฆ่าสุกร จะเริ่มตั้งแต่เวลาประมาณ 6.00 น. ซึ่งใช้วิธีการฆ่าแบบไทย โดยสุกรจะถูกต้อนให้ติดด้านข้างของคอก และแทงด้วยเหล็กปลายแหลมและคม ยาวประมาณ 6 นิ้ว ที่บริเวณด้านข้างของลำตัว เพื่อให้ทะลุปอด หลังจากสุกรถูกแทงประมาณ 1-2 นาที สุกรก็จะล้มลงและเสียชีวิต

3.5.3 การชำสุกร นำสุกรมาแช่ในกะทะใบบัวที่มีน้ำร้อนต้มอยู่ และดักน้ำร้อนในกะทะราดบนตัวสุกรส่วนที่โผล่เหนือน้ำร้อน ใช้มีดลองถอนขนบริเวณขา ถ้าถอนออกได้ง่ายแสดงว่าใช้ได้ แล้ว ดังนั้นจึงเริ่มชำสุกรในส่วนที่โผล่เหนือน้ำร้อน โดยใช้มีดสำหรับชำสุกร ยาวประมาณ 6 นิ้ว และใช้มีดตัดแต่งซาก ยาวประมาณ 6 นิ้ว ชำสุกรซ้ำอีกครั้งเพื่อตกแต่ง เสร็จแล้วล้างตัวสุกรด้วยน้ำ ขั้นตอนการชำสุกรใช้เวลาประมาณ 15 นาที เมื่อชำสุกรเสร็จก็จะนำไปผ่าเปิดซากเพื่อเอาอวัยวะภายในออก

3.5.4 การเอาอวัยวะภายในออก โดยเริ่มจากพลิกสุกรให้อยู่ในลักษณะหงายท้องแล้วใช้มีดกรีดตลอดแนวกึ่งกลางลำตัวตั้งแต่คอจนถึงสะโพก แล้วจึงใช้มีดผ่าเปิดช่องท้อง ระวังอย่าให้ถูกลำไส้ ต่อจากนั้นใช้มีดปั้งต่อผ่ากลางระหว่างขาหลังทั้ง 2 ข้าง และขาหน้าทั้ง 2 ข้าง และใช้มีดดึงเพื่อแยกกระดูกสะโพกออกเป็น 2 ซีก และกระดูกอกออกเป็น 2 ซีก ตามลำดับ จากนั้นใช้มีดคว้านรอบช่องขับถ่ายหนัก เพื่อตัดกล้ามเนื้อที่ยึดบริเวณรอบๆ ช่องขับถ่ายให้ขาด แล้วจึงใช้มีดดึงช่องขับ

ถ่ายขึ้นมาวางลงบนพื้นทั้งหมด ใช้มีดตัดหลอดเลือดอาหารที่อยู่เหนือกระเพาะอาหาร เพื่อแยกอวัยวะของระบบทางเดินอาหารออกจากอวัยวะของระบบทางเดินหายใจ เสร็จแล้วนำไปล้างน้ำเพื่อทำความสะอาด และนำไปต้มให้สุก ส่วนอวัยวะภายในที่เหลือจะนำออกมาโดยใช้มีดตัดหลอดเลือดและหลอดเลือดอาหารแล้วดึงหลอดเลือดและหลอดเลือดอาหารขึ้นมา และใช้มีดช่วยตัดเนื้อเยื่อที่ยึดกับอวัยวะภายในให้ขาด เสร็จแล้วนำไปแช่น้ำในอ่าง

3.5.5 การเอาเลือดออก หลังจากนำอวัยวะภายในออกหมดแล้ว จะใช้มีดค่อยๆ ตักเลือดที่ค้างอยู่ในช่องท้องและช่องอกออกให้หมดใส่ในภาชนะ เสร็จแล้วใช้น้ำล้างซาก 2-3 ครั้ง

3.5.6 การตัดหัว ใช้มีดควั่นรอบคอในตำแหน่งใต้กกหูหรือบริเวณขากรรไกรจนครบรอบแล้วใช้มีดค่อยๆ ตัดลงไปตามรอย เมื่อพบรอยต่อของกระดูกกะโหลกศีรษะกับกระดูกคอใช้มีดเลาะตามรอยต่อ จะได้ส่วนหัวหลุดออกมา

3.5.7 การตัดขา เริ่มจากตัดแยกขาหน้าออกจากลำตัวโดยใช้มีดปิ้งตอควั่นรอบระหว่างรอยต่อของกระดูก radius ulna กับกระดูก humerus แล้วใช้สันมีดปิ้งตอสับลงบนกระดูก humerus เหนือรอยต่อของกระดูกทั้งสอง ก็จะได้ขาหน้าออกมา นำไปแช่น้ำหนัก ต่อจากนั้นตัดแยกขาหลังออกจากสะโพก โดยใช้มีดปิ้งตอควั่นรอบรอยต่อของกระดูก femur และกระดูก tibia แล้วใช้สันมีดปิ้งตอสับ ก็จะได้ขาหลังออกมา นำไปแช่น้ำหนัก

3.5.7 การผ่าซากออกเป็น 2 ซีก ขึ้นตอนนี้ทำบนพื้นปูน โดยเริ่มจากจับซากสุกรให้อยู่ในลักษณะหงายท้อง หลังจากนั้นใช้มีดปิ้งตอสับตามแนวกระดูกสันหลังให้ขาดออกจากกัน แต่ไขมันสันหลังและหนังยังไม่ขาดออกจากกัน ต่อจากนั้นใช้มีดดึงไขมันหุ้มไตออกและใช้มีดค่อยๆ เลาะกล้ามเนื้อสันในออกมาด้วย นำไปแช่น้ำหนัก

3.5.8 การแบ่งซาก แบ่งซากออกเป็น 5 ส่วน คือ ขา ใหญ่ สามชั้น หน้าตั้ง และสะโพก (Figure 18) เนื่องจากขาถูกตัดออกไปแล้ว ดังนั้นจึงเริ่มจากใช้มีดปิ้งตอสับระหว่างกระดูกซี่โครงคู่ที่ 6 กับ 7 ในแนวตั้งฉากกับกระดูกสันหลัง เพื่อแยกส่วนของไหล่ และสับที่บริเวณกระดูก lumbar vertebrae ข้อที่ 3 และ 4 ในแนวตั้งฉากกับกระดูกสันหลัง เพื่อแยกส่วนของสะโพก หลังจากนั้นใช้มีดปิ้งตอสับกระดูกซี่โครงเป็นแนวยาวขนานกับแนวกระดูกสันหลัง ตั้งแต่กระดูกซี่โครงคู่ที่ 1 จนถึงรอยที่ตัดส่วนของสะโพก โดยมีระยะห่างจากแนวกระดูกสันหลังประมาณ 3 นิ้ว จะได้ส่วนของสามชั้นและหน้าตั้ง ตัดแยกชิ้นส่วนทั้งหมดให้ขาดออกจากกัน โดยใช้มีดตัดไขมันสันหลังและหนังตามรอยที่แบ่งซากไว้ตอนแรก

3.5.9 การห่าน้ำหนักซากสด นำชิ้นส่วนที่แยกได้ทั้งหมดมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งแบบสปริง ขนาด 60 กก. ทศนิยม 1 ตำแหน่ง ก็จะได้เป็นน้ำหนักซากสด (hot carcass weight) ดังแสดงในสูตร

น้ำหนักซากสด (กก.) = ผลรวมของน้ำหนัก (ขา + หัวไหล่ + สามชั้น + หน้าตั้ง + สันใน + สะโพก)



Figure 18 Wholesale cuts of carcass.

3.5.10 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH-values) สำหรับหน้าตั้ง (T-bone) ชักซ้ายตั้งแต่ซี่โครงคู่ที่ 7 ถึงคู่ที่ 14 (Figure 19) จะนำไปวัดค่า pH โดยจะวัดที่เวลา 45 นาที หลังจากสุกรถูกฆ่า (pH₁) เสร็จแล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนจะนำไปศึกษาคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อต่อไป

3.5.11 การหาเปอร์เซ็นต์ซาก เนื่องจากไม่สามารถนำซากทั้งหมดมาแช่เย็นได้ ดังนั้นการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ซาก (dressing percentage) จึงใช้น้ำหนักซากสดที่ซั่งได้ มาใช้สำหรับคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ซากแทนการใช้น้ำหนักซากเย็น (chilled carcass weight) สำหรับการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ซาก จากน้ำหนักซากสด สามารถหาได้โดย นำน้ำหนักซากสดที่ซั่งได้ลบด้วย 3% ของน้ำหนักซากสด หลังจากนั้นน้ำหนักมีชีวิตก่อนฆ่ามาหาร เสร็จแล้วทำเป็นเปอร์เซ็นต์โดยคูณด้วย 100 ดังแสดงในสูตร

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



Figure 19 T-bone (left rib 7th-14th) for evaluated carcass and meat quality.

3.5.12 ความหนาของไขมันสันหลัง (backfat thickness) นำซากซีกซ้ายที่เป็นส่วนของหน้าตั้ง ซึ่งมีกล้ามเนื้อสันนอกติดอยู่กับกระดูกสันหลังและกระดูกซี่โครง โดยผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงมาแล้ว มาวัดไขมันบนกล้ามเนื้อสันนอก (*longissimus dorsi*) เริ่มจากการนำหน้าตั้งมาตัดระหว่างซี่โครงคู่ที่ 10 กับ 11 รวมทั้งกระดูกสันหลังด้วย หลังจากนั้นใช้ Backfat Probe วัดความหนาของไขมันสันหลังที่ตำแหน่ง 3/4 ของความยาวของกล้ามเนื้อสันนอกก่อนไปทางลำตัว ดังแสดงใน Figure 20 (อ้างโดย สัตยูชัย, 2534)

3.5.13 พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (loin eye area) โดยการวัดบนกล้ามเนื้อสันนอก เริ่มจากการนำหน้าตั้งมาตัดระหว่างซี่โครงคู่ที่ 10 กับ 11 รวมทั้งกระดูกสันหลังด้วย หลังจากนั้นใช้กระดาษลอกลายมาวางทาบ แล้วลากเส้นตามเส้นของพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (Figure 21) นำกระดาษที่ลากเส้นเสร็จแล้ว มาวัดพื้นที่ด้วยเครื่องพลาณีมิเตอร์ (planimeter) ดังแสดงใน Figure 22 ซึ่งจะได้พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร (อ้างโดย สัตยูชัย, 2534)



Figure 20 Using Backfat Probe to measure backfat thickness.

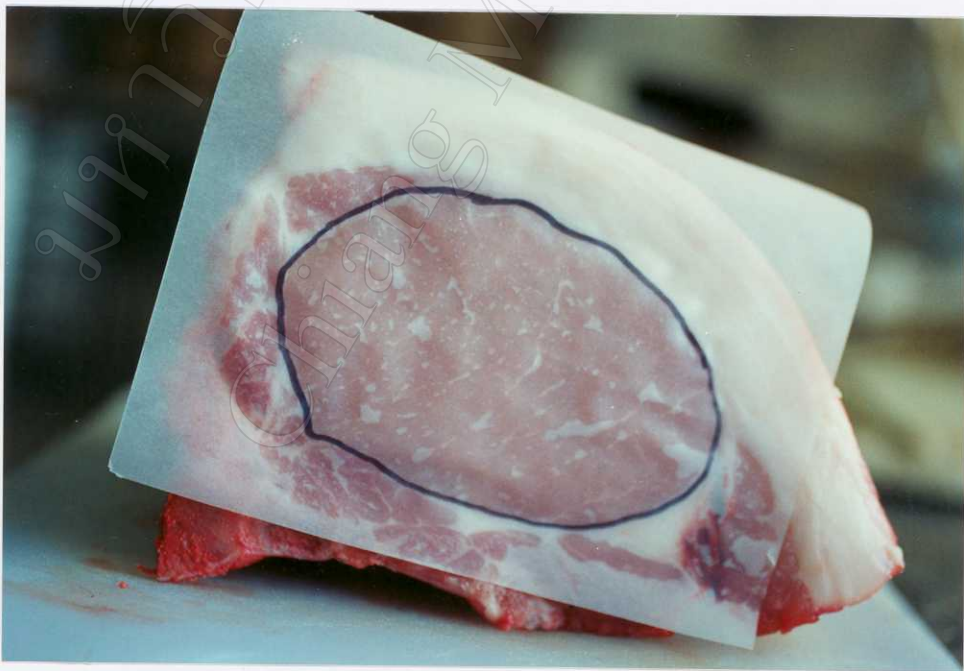


Figure 21 Using transparency paper to measure loin eye area.



Figure 22 Using Planimeter to measure loin eye area.

3.5.14 การประเมินเปอร์เซ็นต์เนื้อแดง (lean meat percentage) ได้จากการนำข้อมูลแต่ละส่วนของ น้ำหนักซากสด ความหนาของไขมันสันหลัง และพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน ไปเทียบกับตารางการประเมินเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของซากสุกร (ภาคผนวก ข) ซึ่งจะได้ค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของแต่ละส่วน แล้วนำเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงทั้ง 3 ส่วนมารวมกัน จะได้เปอร์เซ็นต์เนื้อแดงทั้งหมด (อ้างโดย สัตยชัย, 2534)

3.6 การศึกษาคุณภาพเนื้อ

การศึกษาคูณภาพเนื้อ ทำการศึกษาเกี่ยวกับกล้ามเนื้อสันนอกซี่กซ้ายของซาก โดยนำส่วนของกล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกับหน้าตั้ง มาทำการศึกษาดังนี้

3.6.1 ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ (pH-values) ทำการวัดที่กล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกับส่วนของหน้าตั้ง โดยใช้ pH-meter สอดเข้าไปในกล้ามเนื้อระหว่างซี่โครงคู่ที่ 13 กับ 14 ลึกประมาณ 4 เซนติเมตร วัด 2 ครั้งที่ระยะเวลาต่างกัันดังนี้

ครั้งที่ 1 วัดที่เวลา 45 นาที หลังจากสุกรถูกฆ่า (pH_1) โดยนำส่วนของหน้าตั้งที่ได้จากการตัดแต่งซากมาวัด pH ครั้งที่ 1 เสร็จแล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อรอการวัด pH ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2 วัดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากสุกรถูกฆ่า (pH_u) โดยนำส่วนของหน้าตั้งที่ได้จากการตัดแต่งและวัด pH ครั้งที่ 1 แล้ว มาแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วก็นำมาวัด pH ครั้งที่ 2 (อ้างโดย สัตยชัย, 2543)

เมื่อเสร็จขั้นตอนของการวัด pH ครั้งที่ 2 แล้ว ส่วนของหน้าตั้งจะถูกนำไปศึกษาคุณภาพเนื้อด้านอื่นต่อไป (Table 4)

Table 4 Position of *longissimus dorsi* for evaluated meat quality.

Position of <i>longissimus dorsi</i>	Evaluation of meat quality
Rib 8 th – 9 th	Rancidity
Rib 9 th – 10 th	Colour
Rib 10 th – 11 th	Drip loss
Rib 11 th – 12 th	Thawing loss and Cooking loss
Rib 13 th – 14 th	pH -values

3.6.2 วัดการสูญเสียน้ำ (drip loss) โดยวิธีของ Honikel (1987) ทำเป็นลำดับดังแสดงด้านล่าง โดยนำกล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกับส่วนของหน้าตั้งที่ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาตัดให้เป็นชิ้นหนา 2.5 เซนติเมตร และตัดแต่งเนื้อเยื่อไขมันออก แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก (W_1) เสร็จแล้วนำผ้าขาวบางมาห่อ และนำไปแขวนในถุงพลาสติกโดยอย่าให้ชิ้นเนื้อสัมผัสกับด้านล่างของถุงพลาสติก เสร็จแล้วปิดปากถุงให้สนิท แล้วนำไปแขวนในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Figure 23) เมื่อครบกำหนด นำชิ้นเนื้อออกมาจากถุง แล้วใช้กระดาษทิชชูซับของเหลวที่ติดอยู่ที่ชิ้นเนื้อ หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก (W_2) แล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ

นำกลัมนเนื้อสันนอกที่ติดกับส่วนของหน้าตั้งที่ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชม. มาตัดให้เป็นชิ้นหนา 2.5 ซม.



ตัดแต่งเนื้อเยื่อไขมันออก นำเนื้อไปชั่งน้ำหนัก (W_1)



ห่อด้วยผ้าขาวบาง นำไปแขวนในถุงพลาสติกแล้วปิดปากถุงให้สนิท



นำไปแขวนในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชม.



นำเนื้อออกจากถุง ใช้กระดาษทิชชูซับของเหลวที่ติดอยู่ที่เนื้อ นำไปชั่งน้ำหนัก (W_2)



คำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ โดยนำน้ำหนักของเนื้อที่ชั่งหลังจากแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (W_2) ไปลบออกจากรน้ำหนักของเนื้อก่อนแช่เย็น (W_1) นำผลลัพธ์ที่ได้หารด้วยน้ำหนักของเนื้อก่อนแช่เย็น (W_1) แล้วทำให้เป็นเปอร์เซ็นต์โดยคูณด้วย 100 ดังแสดงในสูตร

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



Figure 23 Drip loss measurement of fresh pork.

3.6.3 การสูญเสียน้ำระหว่างการละลายน้ำแข็ง (thawing loss) การวัดทำเป็นลำดับตั้ง แสดงด้านล่าง โดยนำกล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกับส่วนของหน้าตั้งที่ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาตัดเป็นชิ้นหนา 2.5 เซนติเมตร ตัดแต่งเนื้อเยื่อไขมันออกให้เรียบร้อย นำมา ชั่งน้ำหนัก (W_1) แล้วนำไปบรรจุใส่ถุงพลาสติก ด้วยระบบสุญญากาศ และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C นำชิ้นเนื้อที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าว มาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำชิ้นเนื้อออกจากถุง แล้วใช้กระดาษทิชชูซับของเหลวที่ติดอยู่กับชิ้นเนื้อ เสร็จแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2) นำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการละลายน้ำแข็ง (อ้างโดย สัตยชัย, 2543)

นำกล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกับส่วนของหน้าตั้งที่ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชม. มาตัดให้เป็นชิ้นหนา 2.5 ซม.



ตัดแต่งเนื้อเยื่อไขมันออก นำชิ้นเนื้อไปชั่งน้ำหนัก (W_1)



บรรจุใส่ถุงพลาสติกด้วยระบบสุญญากาศ นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 5 เดือน



นำออกมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชม.



นำชิ้นเนื้อออกจากถุง ใช้กระดาษทิชชูซับของเหลวที่ติดอยู่ที่ชิ้นเนื้อ นำไปชั่งน้ำหนัก (W_2)



คำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียระหว่างการละลายน้ำแข็ง โดยนำน้ำหนักของเนื้อที่ชั่งได้หลังจากที่ผ่านการละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (W_2) ไปลบออกจากน้ำหนักของเนื้อก่อนแช่แข็ง (W_1) นำผลลัพธ์ที่ได้หารด้วยน้ำหนักของเนื้อก่อนแช่แข็ง (W_1) แล้วทำให้เป็นเปอร์เซ็นต์โดยคูณด้วย 100 ดังแสดงในสูตร

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

3.6.4 การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงอาหาร (cooking loss) ทำเป็นลำดับดังแสดงด้านล่าง โดยใช้ชิ้นเนื้อในข้อ 3.5.3 หลังจากละลายน้ำแข็งแล้ว มาชั่งน้ำหนัก (W_1) และวัดอุณหภูมิ โดยใช้เข็มวัดอุณหภูมิ เพื่อกำหนดระยะเวลาในการต้ม เสร็จแล้วบรรจุชิ้นเนื้อใส่ถุงพลาสติก ก่อนนำไปต้ม เติบเข็มวัดอุณหภูมิไว้ที่ชิ้นเนื้อด้วย เพื่อใช้วัดอุณหภูมิใจกลางของชิ้นเนื้อ ซึ่งต้องต้มให้ชิ้นเนื้อมีอุณหภูมิใจกลางเท่ากับ 72°C หลังจากนั้นนำชิ้นเนื้อไปต้มในเครื่องอบไอน้ำความดัน โดยตั้งอุณหภูมิของน้ำไว้ที่ 80°C เมื่อครบกำหนดในการต้ม นำชิ้นเนื้อออกมาทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำออกจากถุง และใช้กระดาษทิชชูซับของเหลวที่ติดอยู่ที่ชิ้นเนื้อให้หมด นำไปชั่งน้ำหนัก (W_2) เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงอาหาร

นำชิ้นเนื้อในข้อ 3.5.3 หลังจากละลายน้ำแข็งแล้วมาชั่งน้ำหนัก (W_1)



วัดอุณหภูมิชิ้นเนื้อ เสร็จแล้วบรรจุใส่ถุงพลาสติก เติบเข็มวัดอุณหภูมิไว้ที่ชิ้นเนื้อ



นำไปต้มในเครื่องอบไอน้ำความดัน อุณหภูมิน้ำเท่ากับ 80°C
ต้มให้เนื้อมีอุณหภูมิใจกลางเท่ากับ 72°C



นำชิ้นเนื้อออกมาทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงนำออกจากถุง
ใช้กระดาษทิชชูซับของเหลวที่ติดอยู่ที่ชิ้นเนื้อให้หมด นำไปชั่งน้ำหนัก (W_2)



คำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ

คำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงอาหาร โดยนำน้ำหนักของเนื้อที่ชั่งได้ หลังจากที่ผ่านมาการต้ม (W_2) ไปลบออกจากน้ำหนักของเนื้อที่ชั่งได้หลังจากที่ผ่านมาการละลายน้ำแข็ง ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (W_3) นำผลลัพธ์ที่ได้หารด้วยน้ำหนักของเนื้อหลังจากละลายน้ำแข็ง (W_1) แล้วทำให้เป็นเปอร์เซ็นต์โดยคูณด้วย 100 ดังแสดงในสูตร

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

3.6.5 สีเนื้อ (colour of meat) วัดบนกล้ามเนื้อสันนอกนอก โดยวิธีของ Gerdemann (1996) ด้วยเครื่อง Chroma Meter (CR-300, MINOLTA, Japan) ทำเป็นลำดับดังแสดงด้านล่าง โดยนำกล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกับส่วนของหน้าตั้งที่ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาตัดเป็นชิ้น ให้มีความหนา 2.5 เซนติเมตร นำไปใส่ถุงพลาสติก แล้วปิดปากถุงให้สนิท เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำชิ้นเนื้อออกจากถุง วางใส่ถาดไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปวัดสี (Figure 24) ซึ่งจะวัด 5 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

นำกล้ามเนื้อสันนอกที่ติดกับส่วนของหน้าตั้งที่ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาตัดเป็นชิ้นหนา 2.5 เซนติเมตร

นำไปใส่ถุงพลาสติก แล้วปิดปากถุงให้สนิท เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

นำชิ้นเนื้อออกจากถุง วางใส่ถาดไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 30 นาที

นำไปวัดสีด้วยเครื่อง Chroma Meter



Figure 24 Using Chroma Meter to measure a^* values.

3.6.6 การหืนของเนื้อและไขมันสันหลัง (rancidity of meat and back fat) ตรวจสอบโดยวิธีไซโอบาร์บิทรูริก (thiobarbituric, TBA test), Rosscell (1994)

3.6.6.1 หลักการ

เมื่อกรดไซโอบาร์บิทรูริก (thiobarbituric acid) ทำปฏิกิริยากับมาโลนาลดีไฮด์ (malonaldehyde, MDA) ซึ่งเป็นสารประกอบที่เกิดจากการสลายตัวของลิพิดในขบวนการออกซิเดชัน จะทำให้เกิดสีที่เรียกว่า ทีบีเอ โครมาเจน (TBA chromagen) ซึ่งมีสีแดง (Figure 25) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 538 นาโนเมตร

3.6.6.2 ขั้นตอนการเตรียมสาร

น้ำยาทีบีเอ (TBA reagent) เตรียมโดยละลายกรดไซโอบาร์บิทรูริก 0.2883 กรัม ใน 100 มล. ของ 90% กลลาเซียล อะซีติก แอซิก (glacial acetic acid)

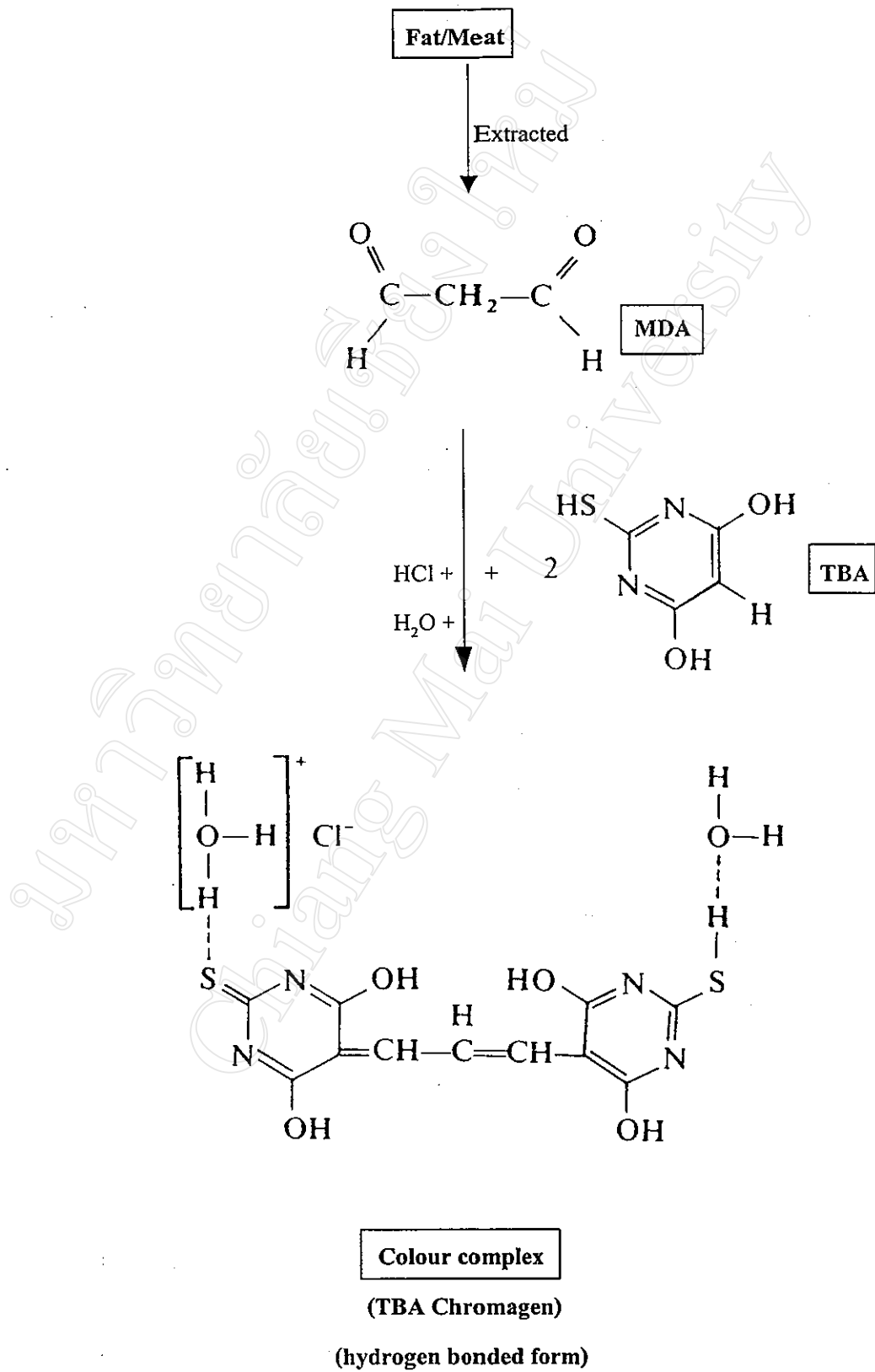


Figure 25 Reaction of thiobarbituric acid with malonaldehyde
(adapted from Akoh and Min, 1998; Rosscell, 1994).

3.6.6.3 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เป็นระยะเวลา 7 เดือน มาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อละลายน้ำแข็งอย่างช้าๆ เมื่อครบกำหนดแล้ว นำตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ในขั้นตอนการวิเคราะห์ต่อไป และเริ่มนับเป็นวันที่ 0 ของการวิเคราะห์ความหืน ตัวอย่างที่เหลือจะนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C โดยบรรจุใส่ถุงพลาสติกด้วยระบบสูญญากาศ เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์ครั้งต่อไป โดยจะแบ่งช่วงเวลาของการวิเคราะห์เป็น วันที่ 0, 3, 6 และ 9 ของการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C

3.6.6.4 ขั้นตอนการวิเคราะห์

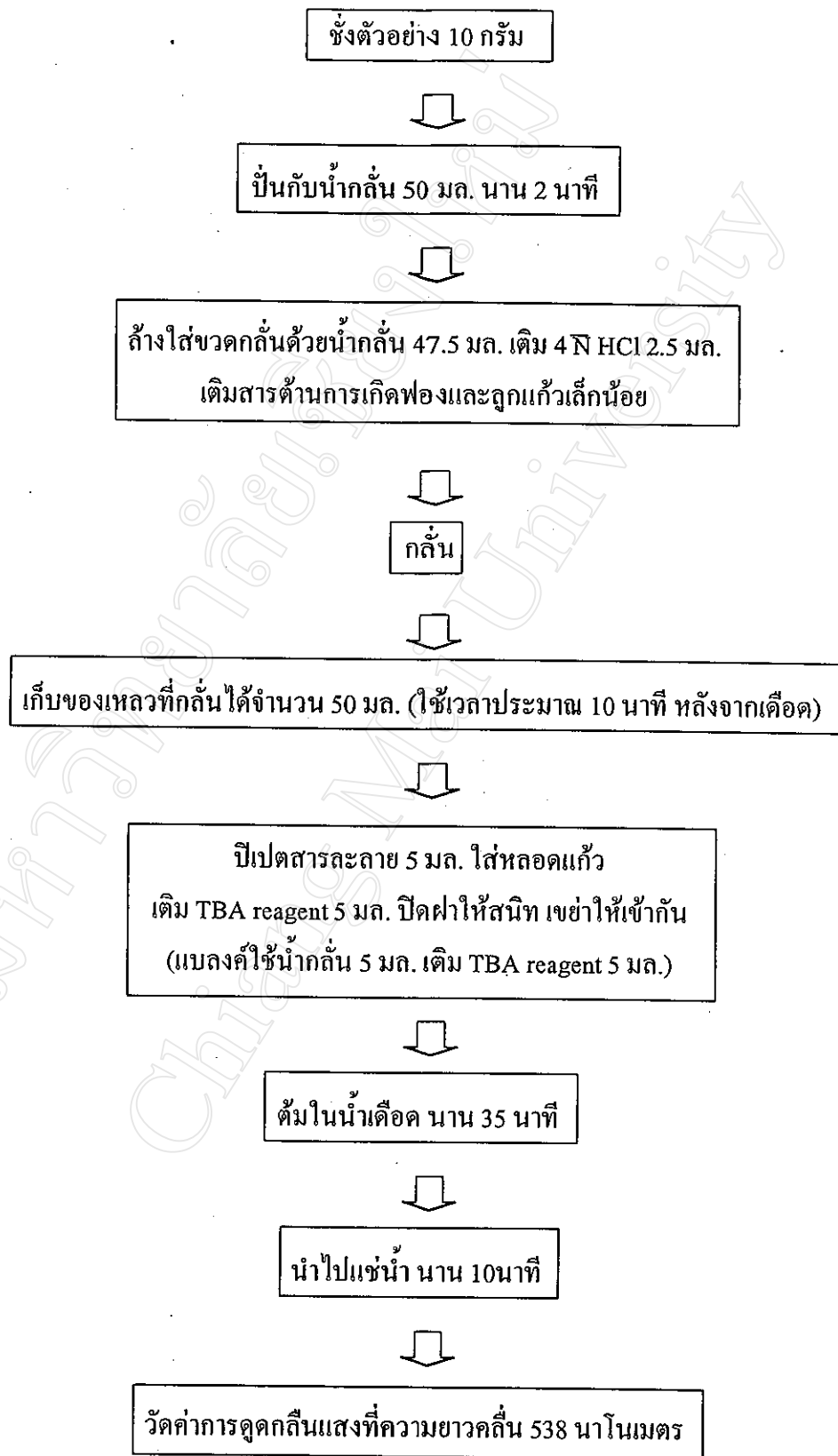
ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม นำมาปั่นกับน้ำกลั่น 50 มล. เป็นเวลา 2 นาที ใส่ลงในขวดกลั่น (distillation flask) ด้วยน้ำกลั่น 47.5 มล. และเติม 2.5 มล. ของ 4 N (hydrochloric acid) หลังจากนั้นเติมสารต้านการเกิดฟอง (anti-foaming agent) และลูกแก้ว (glass beads) เล็กน้อย นำไปกลั่นและเก็บสารละลายที่กลั่นได้จำนวน 50 มล. (ใช้เวลาประมาณ 10 นาที หลังจากเดือด)

เปิดสารละลายที่กลั่นได้ 5 มล. ใส่ในหลอดที่มีจุกทำด้วยแก้ว (glass-stoppered tube) เติม TBA reagent 5 มล. ปิดฝาให้สนิท เขย่าให้เข้ากัน สำหรับเบลนค์ (blank) ใช้ น้ำกลั่น 5 มล. เติม TBA reagent 5 มล. ปิดฝาให้สนิท เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มพร้อมกันในน้ำเดือดเป็นเวลา 35 นาที ทำให้เย็นโดยนำไปแช่น้ำ เป็นเวลา 10 นาที (Figure 29)

3.6.6.5 ขั้นตอนการวัด

นำสารละลายที่เย็นแล้ว ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร โดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer, DU[®] 7500 BECKMAN, USA) บันทึกค่าดูดกลืนแสงที่อ่านได้และนำไปคูณกับ 7.8 จะได้ TBA-values มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของ มาโลนาลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (mg MDA/kg of sample) ดังแสดงในสูตร

$$\text{TBA-values (mg MDA/kg of sample)} = 7.8 \times \text{OD}$$



3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) การทดลองแบบแฟคทอเรียล และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Least Significant Difference (Snedecer and Coecharan, 1966)

3.8 สถานที่ทำการวิจัย

1. กิตติวัฒน์ฟาร์ม อ. สันทราย จ. เชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.9 ระยะเวลาทำการวิจัย

ใช้ระยะเวลาทั้งหมด 10 เดือน