บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์ และเครื่องมือ

เครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
1. Kjeldahl distillation apparatus	K 26	Gerhardt	Germany
2. pH-meter	Knick	WTW	Germany
3. Muffle furnace	MR260E	Heraeus	Germany
4. Centrifuge	Megafuge 1.0	Heraeus	Germany
5. Vacuum sealer	C15-HL	-	Germany
6. Spectrophotometer	DU7500	Beckman	Germany
7. Condenser	WK1000	mgw LAUDA	Germany
8. Hot plate	EV1	Gerhardt	Germany
9. Fiber analysis apparatus	EV26	Gerhardt	Germany
10. Shaker	3017	GFL	Germany
11. Balance (4 decimal)	CP2245	Sartorius	Germany
12. Desiccator	GL32	Glaswerk Wertheim	Germany
13. Suction pump	VDE0530	W. Krannich	Germany
14. Micropipette 10-100µl	cp65602	Genex Beta	Germany
15. Micropipette 100-1000µl	704180	Brand	Germany
16. Pipette pump 25 ml	2500	Glasfirn	Germany
17. Cylinder, 25 ml.	In20C	Witeg	Germany
18. Oven	DEV	Heraeus	Germany
19. Polysealer	210E	Muster Mfg	Germany
20. Titration unit	NW 2.5 mm	Brand	Germany
21. Crucible	109-3	Haldenwanger	Germany
22. Porcelain crucible	101/50	HCT	Germany

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

23. Bucher Funnels	127-2a	Haldewanger	Germany
24. Weighing bottle	-	Brand	Germany
25. Soxhlet apparatus	-	Gerhardt	Germany
26. Reflux apparatus	-	W. Krannich	Germany
27. Round bottom 100 ml	-	Schott	Germany
28. Round bottom 250 ml	-	Schott	Germany
29. Volumetric flask 100 ml.	-	Schott	Germany
30. Volumetric flask 250 ml	-	Schott	Germany
31. Volumetric flask 500 ml	-	Schott	Germany
32. Volumetric flask 1,000 ml	-	Schott	Germany
33. Volumetric flask 2,000 ml	-	Schott	Germany
34. Water bath	-	W. Krannich	Germany
35. Distillation unit	K314	Buchi	Switzerland
36. Digestion unit	K424	Buchi	Switzerland
37. Analytical Balance (3 decimal)	P 163	Metter	Switzerland
38. Analytical Balance (4 decimal)	CP 224S	Sartorius GmBh	Germany
39. Column fatty acid	DB-WAX	J&W	USA
40. Spectrophotometer	Genesis20	Thermo Spectronic	USA
41. Vortex mixer	G-560E	Scientific Industries	USA
42. Hot plate	2300	Thermolyne	USA
43. Suction flask 1000 ml	-	Kimax	USA
44. Para film	PM-996	SFI	USA
45. Erlenmeyer flask 250 ml.	-	Pyrex	USA
46. Erlenmeyer flask 500 ml.	-	Kimax	USA
47. Cylinder 100 ml.	-	Pyrex	USA
48. Beaker 50 ml.	-	Pyrex	USA
49. Beaker 100 ml.	-	Pyrex	USA
50. Beaker 500 ml.	-	Pyrex	USA
51. Hammer mill	-	Thomas-Willey	USA
52. Test tube 10 ml.	-	Pyrex	USA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

53. Test tube 100 ml.	-	Pyrex	USA.
54. Texture Analyzer	TA.XT2	Stable Micro Systems	UK
55. Melting point apparatus	SMP10	Stuart	UK
56. Filtrate paper No.1	-	Whatman	UK
57. Thimble No. 2800258	-	Whatman	UK
58. Spectrophotometer	Gynesys 20	Excellent technology	UK
59. Gas chromatography	GC-14B	Shimadzu	Japan
60. Convection oven	720	MARA	Japan
61. Minolta chroma meter	CR-300	Konica Minolta	Japan
62. Freezer	FC-27	Sharp	Thailand
63. Digital thermometer	306	Tecpel	Taiwan

สารเคมี (ใช้เกรด Analytical Reagent)

ชื่อสารเคมี	**บริษัท**
1. Hydrochloric acid	Merck
2. Anti-foaming agent	Fluka
3. Thiobarbituric acid	BDH
4. Glacial acetic acid	J.T. Baker
5. Ammonium acetate	BDH
6. Acetone	BDH
7. Boric acid	Merck
8. Dichloromethane	Merck
9. Conc. Sulfuric acid	Lab-Scan
10. Selenium mixture	Merck
11. Chloroform	Merck
12. Methanol	Lab-Scan
13. Ethanol	Lab-Scan
14. Sodium Hydroxide	Merck
15. 20% Boron trifluoride in methanol	Merck
16. 2,2,4 trimethyl pentane	Lab-Scan
17. Sodium chloride	Merck

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

18.	Sodium sulfate anhydrous	J.T. Baker
19.	Ferric chloride	Merck
20.	Magnesium chloride	Merck
21.	Uranyl acetate	Merck
22.	n-Heptane	Lab-Scan
23.	Propa-2-ol	Lab-Scan
24.	Sodium methoxide	Fluka
25.	Sodium periodate	Merck
26.	Acetylacetone	Fluka
27.	Potassium Hydroxide	Merck
28.	Petroleum ether	Lan-Scan
29.	FAME standard 37 components	Supelco
30.	Diatomaceous earth	Merck
31.	Pumice stone	BDH
32.	Deionized water	-

แผนการทดลอง

ใช้สุกรลูกผสม 3 สายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ x ดูร็อค) จำนวน 480 ตัว (เพศผู้ตอน 240 ตัว และเพศเมีย 240 ตัว) น้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้น 60 กิโลกรัม แบ่งสุกรเป็น 12 กลุ่มๆ ละ 40 ตัว (คอกละ 10 ตัว) ตามแผนทดลองแบบ 2 x 2 x 3 factorial ใน Completely Randomized Design (CRD) (จรัญ, 2540) โดยมีปัจจัยดังนี้ อาหารสุกร 2 ชนิด ได้แก่ อาหารพื้นฐานที่มีน้ำมันปลาทูน่าระดับ 0% (ควบคุม; control) และอาหารที่มีน้ำมันปลาระดับ 2% (น้ำมันปลา; fish oil) เพศ 2 เพศ (เพศผู้ตอน และเพศเมีย) และน้ำหนักเข้าฆ่า 3 ระดับ (90, 100 และ 110 กก.) เลี้ยงด้วยอาหารและน้ำแบบเต็มที่ (ad libitum) โดยน้ำมันปลาที่ใช้เป็นเกรด crude oil จากบริษัท T.C. Union Agrotech จำกัด ทั้งนี้ทุกกลุ่มการทดลองมีการปรับระดับพลังงานให้ใกล้เคียงกัน

อาหารที่ใช้ในการทดลอง

อาหารที่ใช้ทดลองมีอยู่ 1 สูตรสำหรับใช้เลี้ยงสุกรขุนตั้งแต่น้ำหนักตัว 60 กิโลกรัม จนถึงน้ำหนักฆ่าที่ 90, 100 และ 110 กิโลกรัม โดยอาหารที่ใช้ทดลองมีส่วนประกอบหลัก ได้แก่ ข้าวโพด มันสำปะหลังอัดเม็ด รำสกัดน้ำมัน รำอ่อน กากถั่วบราซิล และกากปาล์ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ทางเคมี และการบันทึกข้อมูล

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการทดลองเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (พลังงาน วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และ เถ้า) โดยวิธี proximate analysis (AOAC, 1990) และองค์ประกอบของกรดไขมันตามวิธีของ Morrison and Smith (1964)

Table 4: Composition (as-fed basis) and nutrient content of experimental diets (%).

Chemical composition	**Feed**	
	control	**fish oil**
Crude protein and ME (%) by calculation		
Crude protein (N x 6.25)	16.00	
ME (Kcal/kg)	3100.00	
Chemical composition (%) by analysis		
Dry matter	89.19	89.22
Crude protein (N x 6.25)	17.04	16.20
GE (Kcal/kg)	3827.00	3909.00
Crude fat	5.02	6.33
Crude fiber	3.78	3.26
Ash	5.91	6.11

Table 5: Analysis report of crude tuna oil from T.C. Union Agrotech Co. Ltd.

Items	**Values**
Acid value, mg KOH/g oil	5.93
Moisture content, %	0.72
Insoluble impurities, %	0.029
Free fatty acids, %	2.97

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Table 6: Analysis of fatty acid profile of fish oil and experimental diets. (g/100g of total fatty acid)

Fatty acid profile	Fish oil	Feed	
		control	fish oil
C14:0	6.52	0.26	2.04
C14:1	0.07	ND	ND
C15:0	1.06	ND	0.30
C16:0	24.24	18.21	14.81
C16:1	6.83	0.33	2.19
C17:0	1.13	ND	0.55
C17:1	0.33	ND	ND
C18:0	6.24	3.00	3.68
C18:1n9c	15.51	28.62	25.12
C18:1n9t	ND	0.88	1.31
C18:2n6	1.83	45.29	72.89
C18:3n6	0.14	ND	ND
C18:3n3	0.68	2.59	2.64
C20:0	0.45	0.48	0.45
C20:1	1.15	0.37	0.89
C20:2	0.28	ND	ND
C20:3n6	0.22	ND	ND
C20:3n3	0.14	ND	ND
C20:4n6	2.20	ND	0.66
C20:5n3	8.05	ND	2.34
C22:0	ND	ND	ND
C22:1	1.32	ND	ND
C23:0	0.32	ND	ND
C24:0	1.42	ND	ND
C22:6n3	19.85	ND	5.40
SFA	41.38	21.95	21.83
MUFA	25.21	30.20	29.51
PUFA	33.40	47.88	83.93
PUFA:SFA	0.81	2.18	3.84
Total n6	4.40	45.29	73.55
Total n3	28.72	2.59	10.38
n6:n3 fatty acid	0.15	17.49	7.09

ND = none detected.

2. การศึกษาด้านสมรรถภาพการผลิต (productive performance)

บันทึกจำนวนวันที่เลี้ยง ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมดของสุกรแต่ละกลุ่มทุกวัน และชั่งน้ำหนักตัวสุกรทุกตัว ทุกๆ สองสัปดาห์ ในเวลาประมาณ 8.00 น. เพื่อคำนวณปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (average daily feed intake; ADFI) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (average daily gain; ADG) และอัตราการแลกน้ำหนัก (feed conversion ratio; FCR)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Figure 8: Experiment pens (left), weighing individual swine (right).

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

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม (กก.)}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง (วัน)}}$$

$$\text{อัตราแลกเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด (กก.)}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม (กก.)}}$$

3. การศึกษาด้านคุณภาพซาก (carcass quality)

การผลิตสัตว์เพื่อการค้ามีวัตถุประสงค์หลัก คือ ต้นทุนการผลิตต่ำสุดและขายให้ได้กำไรสูงสุด ซึ่งสินค้า (ตัวสัตว์) ที่ส่งตลาดต้องเป็นที่ต้องการและได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากที่สุด ดังนั้นการผลิตเพื่อให้ได้เป้าหมายตามวัตถุประสงค์ จึงจำเป็นต้องมีการบันทึกข้อมูลต่างๆ ของตัวสัตว์ที่มีชีวิตและซากสัตว์ เพื่อนำมาปรับปรุงการจัดการต่างๆ ให้บรรลุผลตามความต้องการ สำหรับข้อมูลสัตว์และซากสัตว์ที่ใช้บันทึกในการวิเคราะห์คุณภาพซากที่สำคัญ ได้แก่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1 เปอร์เซ็นต์ซาก ข้อมูลของเปอร์เซ็นต์ซากเป็นเพียงตัวเลขที่ใช้บ่งชี้ถึงผลผลิตอย่างหยาบๆ ของตัวสัตว์เท่านั้น เพราะคำนวณจากน้ำหนักซากที่เป็นน้ำหนักรวมของเนื้อแดง ไขมัน เอ็น พังผืด กระดูก หนัง และน้ำที่อยู่ในซาก ซึ่งการคำนวณเปอร์เซ็นต์ซากมีความจำเป็นต้องใช้น้ำหนักซากเย็น (ซากที่ผ่านการแช่เย็นที่ 3 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) เพื่อลดความแปรปรวนจากน้ำหนักของน้ำและเลือดในซากที่เกิดจากขั้นตอนการฆ่า อย่างไรก็ตาม หากไม่สามารถแช่เย็นซากได้ให้ถือว่าน้ำหนักของน้ำที่สูญเสียไประหว่างแช่เย็นซากมีประมาณ 3% ของน้ำหนักซาก ซึ่งการคำนวณเปอร์เซ็นต์ซากสามารถคำนวณได้จากสูตร (Cole *et al.*, 1968 อ้างโดย สัญชัย, 2547)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ซาก} = \frac{(\text{น้ำหนักซากอุ่น} - 3\% \text{ ของน้ำหนักซากอุ่น})}{\text{น้ำหนักตัวมีชีวิตเมื่อฆ่า}} \times 100$$

หรือ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ซาก} = \frac{\text{น้ำหนักซากเย็น}}{\text{น้ำหนักตัวมีชีวิตเมื่อฆ่า}} \times 100$$

หมายเหตุ : น้ำหนักซากเย็น หมายถึง น้ำหนักซากที่ผ่านการแช่เย็น ที่ 3 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน พื้นที่หน้าตัดเนื้อสันมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับความเป็นเนื้อ (cutability) น้ำหนักซาก และเปอร์เซ็นต์ซาก โดยพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันจะเพิ่มขึ้นตามน้ำหนักซากที่เพิ่มขึ้น ซึ่งวัดที่ตำแหน่งระหว่างซี่โครงซี่ที่ 10-11 เนื่องจากถือว่าเป็นจุดกึ่งกลางของกล้ามเนื้อสันนอก (Koger *et al.*, 1973 อ้างโดย สัญชัย, 2547)

3.3 ความหนาไขมันสันหลัง ไขมันเป็นส่วนประกอบของซากที่มีราคาต่ำ และยังมีผลต่อปริมาณของเนื้อแดง ซึ่งปริมาณไขมันและเนื้อแดงจะมีความสัมพันธ์กันในทางตรงกันข้าม ดังนั้นความหนาของไขมันสันหลังจึงเป็นตัวบ่งชี้คร่าวๆ ถึงปริมาณเนื้อแดงในซาก สำหรับในซากสุกรมีการวัดความหนาของไขมันสันหลัง 3 จุด คือบริเวณซี่โครงซี่แรก บริเวณซี่โครงซี่สุดท้าย และที่บริเวณกระดูกเอวข้อสุดท้าย (lumbar vertebrae) (การวัดนี้รวมทั้งหนังด้วย) (Figure 9) เมื่อได้ 3 ค่าแล้วหาค่าเฉลี่ย หรือเพื่อความสะดวกรวดเร็วสามารถวัดความหนาไขมันสันหลังที่ตำแหน่ง ระหว่าง ซี่โครงซี่ที่ 10-11 โดยวัดจากที่ตำแหน่งห่างจากกึ่งกลางกระดูกสันหลังค่อนไปทางลำตัว 6.5 ซม.เรียกตำแหน่งนี้ว่า P_2 (สัญชัย, 2547) (Figure 8)

สำหรับในการวิจัยครั้งนี้เมื่อถึงน้ำหนักฆ่า (90, 100 และ 110 กก.) สุ่มเลือกสุกรกลุ่มละ 8 ตัว เพื่อทำการฆ่าและศึกษาลักษณะซาก (รวมทั้งหมด 96 ตัว) สุกรไม่ได้รับอาหารแต่ได้รับน้ำสะอาดตลอดเวลาประมาณ 12 ชั่วโมงก่อนฆ่า จากนั้นบันทึกน้ำหนักตัวมีชีวิต และฆ่าสุกรตามกรรมวิธี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของสัญชัย (2547) บันทึกน้ำหนักซากอุ่นและน้ำหนักซากเย็นของสุกรแต่ละตัว เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ซาก (dressing percentage) วัดความยาวซากสุกรซีกซ้ายจากตำแหน่งซี่โครงแรกถึงหัวกระดูก Aitchbone วัดความหนาของไขมันสันหลัง 3 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งซี่โครงซี่แรก ซี่สุดท้าย และกระดูก Aitchbone วัดความหนาของไขมันสันหลังที่ตำแหน่ง P_2 วัดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันบริเวณตำแหน่งซี่โครงซี่ที่ 10-11 (Figure 10) และเทียบหาเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงจากตารางมาตรฐานการประเมินเปอร์เซ็นต์เนื้อแดง รวมทั้งหาสัดส่วนของหนัง ไขมัน เนื้อ และกระดูก จากส่วนตัดเนื้อสัน (loin chop composition) (สัญชัย, 2547)

หลังจากฆ่า ซากสุกรซีกซ้ายที่ถูกแช่เย็นที่ 3°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตัดแต่งและเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอกและไขมันสันหลังตั้งแต่ตำแหน่งซี่โครงซี่ที่ 10-17 สำหรับกล้ามเนื้อสันนอกตัดตามขวางให้ได้ความหนาประมาณ 2 นิ้ว ส่วนไขมันสันหลังตัดให้มีความกว้างชิ้นละประมาณ 5 ซม. บรรจุในถุงพลาสติกผนึกแบบสูญญากาศ (vacuum package) จากนั้นเก็บไว้ที่ -20 °C เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

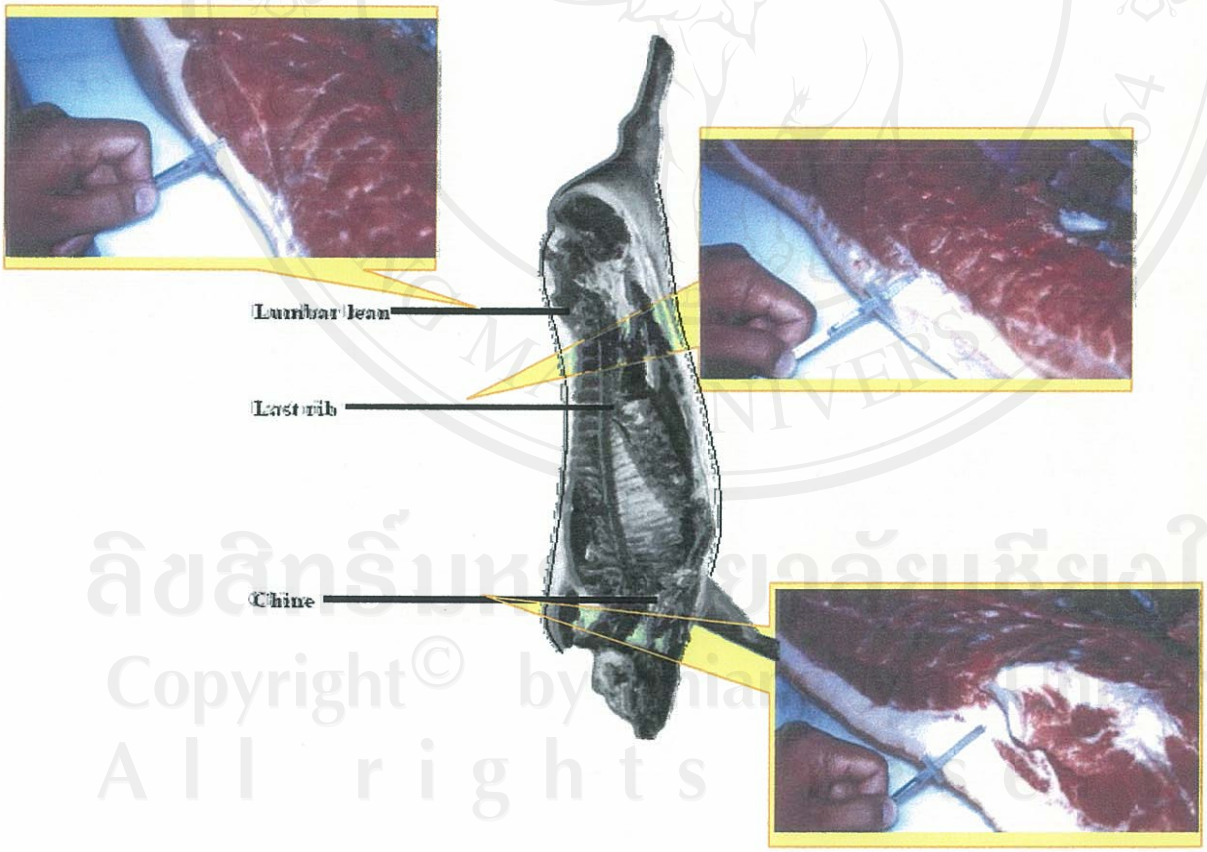

Figure 9: Backfat thickness measurement at three position. (modified from Meat Evaluation Handbook, 1987 อ้างโดย สัญชัย, 2547)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Figure 10: Backfat thickness measurement at P_2 position (left) and loin eye area measurement at 10-11th rib position (right).

4. การศึกษาด้านคุณภาพเนื้อ (meat quality)

4.1 ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อ (pH value)

หลักการ เมื่อสัตว์ถูกฆ่าทำให้การไหลเวียนโลหิตหยุดลง การทำงานของระบบชีวเคมีในร่างกายจึงเปลี่ยนจาก aerobic metabolism เป็น anaerobic metabolism ซึ่งมีการสลายไกลโคเจนที่สะสมในกล้ามเนื้อเป็นพลังงาน ทำให้เกิดการสะสมกรดแลคติคในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น ทำให้ค่า pH ในเนื้อลดลง ดังนั้นการวัดค่า pH ของเนื้อในชั่วโมงแรกที่สัตว์ตาย (ปกตินาทีที่ 45) สามารถใช้เป็นค่าดัชนีทางอ้อมของอัตราการเกิด glycolysis ในซากสุกร ค่า pH นี้มักเรียกโดยทั่วไปว่า pH_1 หรือ pH_{45} โดยที่ $pH_1 < 5.8$ ปกติจะใช้เป็นค่าวิกฤตที่ส่งผลให้เกิดเนื้อซีด เหลว และไม่คงรูป (pale soft and exudative; PSE) ส่วนค่า pH สุดท้าย (pH_u) โดยทั่วไปแล้ววัดที่ 24 ชั่วโมงหลังฆ่าในสุกร ซึ่งถ้าค่า pH_u ที่มากกว่า 6 จะทำให้เนื้อมีลักษณะคล้ำ แข็ง และแห้ง (dark firm dry, DFD) (Honikel, 1993 อ้างโดย สัญชัย, 2547)

วิธีการ ใช้เครื่อง pH-meter (913, Knick, Berlin, Germany) ทำการวัดที่ 45 นาทีหลังฆ่า (pH_1) และ 24 ชั่วโมงหลังฆ่า (pH_2) โดยใช้หัว probe แทงเข้าที่กล้ามเนื้อสันนอก (*longissimus dorsi*) ระหว่างซี่โครงซี่ที่ 10-11 และที่บริเวณเนื้อสะโพก (*semimembranosus*) ลึกประมาณ 4 ซม. (สัญชัย, 2547) (Figure 11)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

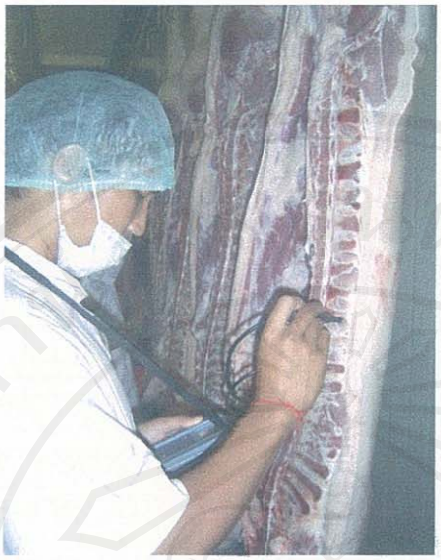

Figure 11: Measurement of pH-value on longissimus dorsi muscle.

4.2 **ค่าสีของเนื้อ** (color)

หลักการ สีของเนื้อมีความสำคัญทางด้านคุณลักษณะที่ประสาทสัมผัสได้ และเกี่ยวข้องกับสารสีในกล้ามเนื้อ (heam protein) ซึ่งประกอบไปด้วยไมโอโกลบิน (myoglobin) ประมาณ 80-90% และ haemoglobin 10-20% โดยกล้ามเนื้อตามธรรมชาติจะมีสีแดงม่วง (reduced myoglobin) แต่เมื่อสารสีในเนื้อทำปฏิกิริยากับออกซิเจนสามารถทำให้เนื้อมีสีแดงสดได้ (oxymyoglobin) สภาพเช่นนี้จะคงสภาพเป็นเวลา 30-45 นาที (สัญชัย, 2547) ซึ่งค่าสีของเนื้อสามารถตรวจวัดได้จากการสะท้อนแสงของเนื้อตามวิธีของ The International Commission on Illumination (Commission International de l'Éclairage; CIE) และอธิบายลักษณะของสีในรูปแบบของภาพสามมิติที่เรียกว่า CIELAB หรือ L* a* b* โดยที่ L* หมายถึง ความสว่างของสี a* หมายถึง แกนของสีเขียวไปถึงสีแดง และ b* หมายถึง แกนของสีน้ำเงินไปถึงสีเหลือง (Macdougall, 1999)

วิธีการ นำตัวอย่างเนื้อสันนอกที่ได้จากการตัดแต่งที่ 24 ชั่วโมงหลังฆ่าแล้วบรรจุในถุงพลาสติกผนึกปากถุงและเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อออกจากถุงวางในภาชนะผึ่งไว้ในตู้เย็นอีก 1 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดค่าของสีโดยใช้เครื่อง Minolta chroma meter (CR-300, Konica Minolta, Osaka, Japan) ได้ผลเป็นค่า L* คือค่าของความสว่าง (lightness) ค่า a* คือค่าความเป็นสีแดง (redness) และค่า b* คือค่าความเป็นสีเหลือง (yellowness) ทำการสุ่มวัด 5 จุดของแต่ละตัวอย่างเพื่อหาค่าเฉลี่ย (สัญชัย, 2547)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity)

ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสามารถวัดได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับว่าผู้ที่เกี่ยวข้องกับเนื้อสัตว์จะสนใจวิธีไหน เช่น ผู้ที่ทำงานในโรงฆ่าสัตว์มีความสนใจต่อค่า drip loss เพื่อประเมินน้ำหนักซากที่หายไป ขณะเดียวกันทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคเนื้อ มีความสนใจต่อค่า cooking loss เพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจในการซื้อขายเนื้อ เป็นต้น (Honikel and Hamm, 1999)

4.3.1 ค่าการสูญเสียน้ำของเนื้อ (drip loss)

หลักการ วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและเป็นที่นิยมใช้กันมากในยุโรป ใช้หลักการแขวนเนื้อไว้ที่อุณหภูมิ 0-4 °C เพื่อให้โมเลกุลของน้ำที่โปรตีนในเนื้อไม่สามารถอุ้มไว้ได้ หยดออกไปด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก หากโปรตีนในเนื้อเสียสภาพจากการที่เนื้อเป็นกรดหรือมีค่า pH ต่ำ ก็จะทำให้ค่า drip loss สูง (Honikel, 1987 อ้างโดย สัญชัย, 2547)

วิธีการ นำตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอกที่ได้จากการตัดแต่ง ที่ 24 ชั่วโมงหลังฆ่ามาซับให้แห้ง ชั่งน้ำหนักเนื้อ (W_1) จากนั้นห่อด้วยผ้าก๊อซ บรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วผนึกถุงพลาสติกโดยให้ตัวอย่างเนื้ออยู่สูงจากก้นถุงประมาณ 2-3 ซม. นำไปแขวนไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเนื้อตัวอย่างออกจากถุงแล้วซับให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนักเนื้อ (W_2) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำของเนื้อ

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

4.3.2 ค่าการสูญเสียน้ำของเนื้อจากการละลายน้ำแข็ง (thawing loss)

หลักการ การเก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิ -20 ° C ทำให้เกิดเกล็ดน้ำแข็งขนาดเล็กที่มีรูปร่างไม่แน่นอนอยู่ระหว่างเซลล์ของกล้ามเนื้อ (extracellular space) เมื่อมีการละลายน้ำแข็งอย่างช้าๆ โมเลกุลของน้ำจะไหลออกจากเนื้อ แต่โมเลกุลของน้ำบางส่วนสามารถถูกจับไว้ด้วยโปรตีนและเกลือที่อยู่ในเนื้อ ดังนั้นหากโปรตีนในเนื้อเสียสภาพก็จะทำให้การจับกับโมเลกุลของน้ำที่ละลายออกมาลดลง ค่า thawing loss จึงสูงขึ้น (James and James, 2002)

วิธีการ นำตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอกที่ได้จากการตัดแต่ง ที่ 24 ชั่วโมงหลังฆ่ามาซับให้แห้ง ชั่งน้ำหนักเนื้อ (W_1) จากนั้นบรรจุลงในถุงพลาสติกผนึกแบบสูญญากาศ (vacuum package) จากนั้นเก็บไว้ที่ -20 °C เพื่อรอการวิเคราะห์ เมื่อถึงเวลานำตัวอย่างเนื้อมาทำละลายในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 ° C นาน 24 ชั่วโมง ซับให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนักภายหลังการแช่เย็น (W_2) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำของเนื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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

4.3.3 ค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการต้ม (boiling loss)

หลักการ ค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการต้มถือว่าเป็นค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงอาหารวิธีหนึ่ง (cooking loss) ใช้หลักการในการทำให้โปรตีนในเนื้อเสียสภาพด้วยความร้อนจนไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ นอกจากนี้ยังทำให้เยื่อหุ้มเซลล์กล้ามเนื้อแยกออกจากกัน ซึ่งค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการต้มขึ้นอยู่กับอุณหภูมิสุดท้ายของเนื้อและอัตราเร็วในการให้ความร้อน (Honikel and Hamm, 1999)

วิธีการ ใช้ตัวอย่างเนื้อจากการทำ thawing loss ที่ทราบน้ำหนักก่อนแล้ว (W_1) นำเนื้อดังกล่าวบรรจุใส่ถุงพลาสติก สอด probe วัดอุณหภูมิของเครื่อง digital thermometer (306, Tecpel, Taiwan) เข้าที่ใจกลางเนื้อแล้วผนึกถุงก่อนนำไปต้มโดยใช้ไฟอ่อนๆ จนกระทั่งอุณหภูมิใจกลางเนื้อเท่ากับ 70 °C จึงนำตัวอย่างเนื้อออกมาปล่อยไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W_2) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อ

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

4.3.4 ค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการย่าง (grilling loss)

หลักการ ค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการย่างถือว่าเป็นค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการปรุงอาหารวิธีหนึ่ง (cooking loss) เช่นเดียวกับค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการต้ม ใช้หลักการในการทำให้โปรตีนในเนื้อเสียสภาพด้วยความร้อนจนไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ แต่เป็นการให้ความร้อนต่อเนื้อโดยตรง ทำให้มีการสูญเสียน้ำได้มากกว่าค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการต้ม (Honikel and Hamm, 1999)

วิธีการ นำตัวอย่างเนื้อสันนอกที่เก็บไว้ที่ -20 °C มาทำละลายในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนัก (W_1) สอด probe วัดอุณหภูมิของเครื่อง digital thermometer (306, Tecpel, Taiwan) เข้าที่ใจกลางเนื้อแล้วนำไปย่างด้วยหม้ออบไฟฟ้า (convector oven, 720, MARA, Japan) ที่อุณหภูมิ 200 °C จนกระทั่งอุณหภูมิใจกลางเนื้อเท่ากับ 70 °C นำตัวอย่างเนื้อออกมาผึ่งให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก (W_2) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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

4.4 ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear force values)

หลักการ ความเหนียวและความนุ่มของเนื้อเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคให้ความสำคัญอย่างมาก แต่การประเมินด้วยผู้ตรวจชิมแต่ละคนมีความแปรปรวนต่างกันไป จึงมีความจำเป็นที่ต้องใช้เครื่องมือในการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการประเมินความนุ่มของเนื้อ ซึ่งเครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อจะเลียนแบบการกัดเนื้อให้ขาดด้วยฟันหน้าของมนุษย์ และค่าที่ได้แสดงเป็นค่าแรงตัดผ่าน (N) และพลังงาน (mJ) (Chrystall, 1999)

วิธีการ นำตัวอย่างเนื้อที่ได้จากการวัดค่าการสูญเสียจากการต้ม (boiling loss) ใช้หัวเจาะกลวง (core) ขนาด 1 ซม. เจาะตามแนวยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อตัวอย่างละ 5 ชิ้น ตัดตัวอย่างเนื้อด้วยเครื่อง Texture Analyzer (TA.XT2, London, UK) โดยใช้หัวตัดแบบ Warner-Bratzler shear ใช้ความเร็วในการวัด 2 มม./วินาที ด้วยหัววัดกำลัง 5 kN ระยะทาง 2.5 ซม. บันทึกค่าแรงตัดผ่านที่ใช้เป็นนิวตัน (N) และพลังงานที่ใช้ในการตัด (mJ) (สัญชัย, 2547)

4.5 **การตรวจชิม** (panel test)

หลักการ การตรวจชิมเป็นวิธีการประเมินคุณภาพ โดยใช้ผู้ตรวจชิมตัดสินคุณภาพเนื้อสัตว์ (determine of meat quality) และให้คะแนนตามลักษณะที่พิจารณาได้ ซึ่งประกอบด้วย ความนุ่มของเนื้อ ความชุ่มฉ่ำของเนื้อ รสชาติของเนื้อ และการยอมรับโดยรวม (สัญชัย, 2547)

วิธีการ นำเนื้อที่ได้จากการหาค่า grilling loss มาตัดให้มีขนาด 1 x 1 ซม. และตรวจชิมโดยผู้ตรวจชิมที่ได้รับการฝึกฝนมาแล้ว จำนวน 6 คน โดยมีขั้นตอนดังนี้ (ไพโรจน์, 2535)

1. ในการทดสอบชิมแต่ละครั้ง ต้องเตรียมความพร้อมทั้ง พื้นที่ทำการชิม วางแผนการจัดห้องที่นั่งแต่ละท่าน แสงไฟในห้องตรวจชิม อุปกรณ์ในการทดสอบชิม น้ำดื่ม และช่วงเวลาในการตรวจชิม ควรจะเป็นช่วงเวลาเดียวกัน ซึ่งเป็นช่วงเวลา 10.00-10.30 น. เพื่อใช้ในการศึกษา
2. ผู้ทดสอบชิมจะได้รับแบบฟอร์มในการให้คะแนนสำหรับการตรวจชิมเนื้อซึ่งประกอบด้วย 4 ลักษณะ คือ ความนุ่ม ความชุ่มฉ่ำ รสชาติ และการยอมรับโดยรวม ซึ่งคะแนนมีตั้งแต่ 1-9 ขึ้นอยู่กับความพึงพอใจของผู้ทดสอบชิม เช่น ความนุ่ม (1 = เหนียวที่สุด... 9 = เปื่อยยุ่ยที่สุด)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ก่อนทดสอบชิม ผู้ชิมจะต้องดื่มน้ำก่อน และรับประทานส้ม 1 ชิ้น เพื่อเป็นการล้างปากทุกครั้ง ก่อนที่จะชิมตัวอย่างต่อไป จากนั้นจึงเริ่มให้คะแนนในแต่ละลักษณะ

4.6 คุณค่าทางโภชนะของเนื้อ

เตรียมตัวอย่างเนื้อสันนอกโดยการบดให้ละเอียดด้วย blender จากนั้นนำไปวิเคราะห์ทาง proximate analysis (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)

4.6.1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (moisture)

หลักการ วัดน้ำหนักที่หายไปจากการระเหยของน้ำที่ประกอบอยู่ในตัวอย่าง โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้นก่อนนำไปอบด้วยความร้อน และชั่งน้ำหนักที่เหลืออีกครั้งหลังผ่านการ อบ น้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของน้ำที่ระเหยออกไป น้ำหนักที่เหลือคือน้ำหนักของวัตถุแห้ง (dry matter) (พันทิพา, 2546)

วิธีการ

1. นำภาชนะ (ถ้วยกระเบื้อง) ไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) แล้วนำมาชั่งบันทึกน้ำหนักไว้
2. ใส่ตัวอย่างเนื้อลงในภาชนะ 15 กรัม โดยเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 4 ชั่วโมง นำออกมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้ง
3. คำนวณหาปริมาณความชื้นตามสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป (ก.)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (ก.)}} \times 100$$

4.6.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (crude fat)

หลักการ ในสภาพธรรมชาติไขมันที่ประกอบอยู่ในมวลสารชีวภาพ มักอยู่รวมกับสารอื่นที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกัน โดยเรียกรวมว่าไลปิด (lipids) นั่นคือไม่ละลายน้ำแต่ละลายในสารละลายอินทรีย์ (organic solvents) จึงสามารถใช้สารทำละลายหรือสกัดไขมันออกจากตัวอย่างโดยตรง ด้วยเครื่อง Soxhlet extractor โดยวิธีการ reflux และแยกสารสกัดไลปิดในแต่ละรอบด้วยวิธี siphoning (พันทิพา, 2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างบดละเอียดที่ได้จากการหา dry matter แล้วปริมาณ 1 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง ใส่ลงใน thimble บรรจุลงใน soxhlet
2. ชั่งน้ำหนักขวดก้นกลมที่มี pumice stone 2-3 เม็ด ที่ผ่านการอบที่ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. ต่อขวดก้นกลมเข้ากับ soxhlet แล้วเติม dichloromethane ผ่าน soxhlet ให้ล้นลงในขวดก้นกลม 2 รอบครึ่ง
4. ต่ออุปกรณ์เข้ากับเตาให้ความร้อนและคอนเดนเซอร์ สกัดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำขวดก้นกลมที่ได้ไปอบที่ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกมาปล่อยไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้ง น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคือน้ำหนักไขมัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน (ก.)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (ก.)}} \times 100$$

4.6.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (crude protein)

หลักการ เป็นวิเคราะห์หาโปรตีนอย่างหยาบตามวิธีของ Kjeldahl โดยวิเคราะห์หาค่าไนโตรเจนที่ประกอบอยู่ในตัวอย่างทั้งหมด ยกเว้น ไนเตรท (NO_3^-) และไนไตรท์ (NO_2^-) และทำการเปลี่ยนค่าไนโตรเจนให้เป็นโปรตีนด้วยการคูณด้วย factor (ปรับปรุงจาก AOAC, 1990 อ้างโดย พันทิพา, 2546) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

1. การย่อย (digestion) เป็นการย่อยสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดให้อยู่ในรูปแอมโมเนีย โดยการต้มด้วยกรดซัลฟุริคเข้มข้นที่อุณหภูมิสูง

$$\text{biological sample} + H_2SO_4 \rightarrow NH_3 + CO_2 + SO_2 + NO_2$$
$$2NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$$

2. การกลั่น (distillation) เป็นขั้นตอนในการปลดปล่อยแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ถูกจับไว้ในรูปแอมโมเนียมซัลเฟต ให้หลุดเป็นแกสแอมโมเนียและแอมโมเนียมไฮดร็อกไซด์ ในสภาวะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่เป็นด่างโดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป แกสเหล่านี้ถูกจับในรูปเกลือบอเรต (แอมโมเนียมบอเรต) โดยการต่อท่อแกสผ่านเครื่องควบแน่น โดยให้ปลายท่อจมอยู่ใต้กรดบอริค

$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \rightarrow Na_2SO_4 + 2NH_3 + 2H_2O$

$2NH_3 + 2H_2O \rightarrow 2NH_4OH$

$NH_4OH \rightarrow H_3BO_3 \rightarrow NH_4B(OH)_4$

3. การไตรเตรท (tiration) เป็นการวัดปริมาณไนโตรเจนที่อยู่ในรูปแอมโมเนียมบอเรต โดยนำมาแลกเปลี่ยนกับกรดมาตรฐาน ในอัตราส่วน กรดมาตรฐาน : แอมโมเนียมบอเรต 1:1 หรือ 1:2 ขึ้นอยู่กับชนิดของกรดมาตรฐานที่ใช้ ซึ่งปริมาณของกรดมาตรฐานที่ถูกใช้ในการไตเตรทจะบ่งบอกถึงปริมาณแอมโมเนียหรือไนโตรเจนที่กลั่นได้

$2NH_4B(OH)_4 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4 + 2H_3BO_3 + 2H_2O$

หรือ $NH_4B(OH)_4 + HCl \rightarrow NH_4Cl + H_3BO_3 + H_2O$

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อสดที่บดแล้ว 0.5 ก. ใส่ในหลอดย่อย (Kjeldahl flask) ใส่สารเร่งปฏิกิริยา selenium reagent mixture 2 ก.
2. เติม conc. Sulfuric acid 15 ml. นำไปตั้งบนเครื่องย่อย (K424, Buchi, Switzerland) ปิดฝาหลอดย่อยต่อเข้ากับเครื่องดูดไอกรด ย่อยที่อุณหภูมิ 420 °C จนกระทั่งได้สารละลายใสใช้เวลาประมาณ 4 ชม. จากนั้นปิดเครื่องย่อยทิ้งไว้ให้เย็น
3. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างสารละลายที่ติดขอบด้านบนในหลอดย่อย เติม Tashiro indicator 2-3 หยด นำหลอดย่อยต่อเข้ากับเครื่องกลั่น (K314, Buchi, Switzerland)
4. นำขวดรูปชมพู่บรรจุสารละลายของ boric acid 4% ปริมาณ 40 มล. ที่เติม Tashiro indicator 2-3 หยด ไว้แล้วมาต่อเข้ากับปลายคอนเดนเซอร์โดยให้ปลายท่อจุ่มในสารละลายของ boric acid จากนั้นเปิดเครื่องกลั่น
5. กดปุ่มเติมสารละลาย sodium hydroxide 40% ลงในหลอดย่อยประมาณ 70 มล. หรือจนกระทั่งสีของ indicator เปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีเขียว
6. กดปุ่มกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายในขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ประมาณ 200 มล.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. นำขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายที่ได้จากการกลั่นไปต่อเข้ากับชุดไตเตรท แล้วไตเตรทด้วยสารละลาย HCl ความเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีชมพู บันทึกปริมาณกรดที่ใช้ จากนั้นนำไปคำนวณตามสมการดังนี้

$$\% \text{ crude protein (CP)} = \frac{(A-B) \times C \times 0.014 \times 6.25}{D} \times 100$$

A = ปริมาณของสารละลาย HCl ที่ใช้ไตเตรทกับสารละลายตัวอย่าง (มล.)

B = ปริมาณของสารละลาย HCl ที่ใช้ไตเตรทกับสารละลาย blank (มล.)

C = ความเข้มข้นของสารละลาย HCl ที่ใช้ไตเตรท (N)

D = น้ำหนักตัวอย่างตัวอย่าง (ก.)

4.7 การวิเคราะห์หาค่า Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) **ในเนื้อ และไขมันสันหลัง** (Rossell, 1994)

หลักการ ไลปิดที่มีความไวต่อการออกซิเดชันคือ กรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งอัตราเร็วในการออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นตามพันธะคู่ที่เพิ่มขึ้น เมื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนหรืออนุมูลอิสระ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระตัวอื่นจะเกิดเป็นสารที่มีความเสถียรที่ทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติผิดปกติ เช่น hexanal pentanal และ malondialdehyde

โดย malondialdehyde สามารถทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid ได้ เกิดเป็นสารประกอบสีแดงที่เรียกว่า TBA chromogen ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร

วิธีการ

1. นำตัวอย่างเนื้อหรือไขมันมาทำให้ละลายในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นที่ 4 °C เป็นเวลา 0, 3, 6 และ 9 วัน จึงนำมาวิเคราะห์
2. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ใน Warring blender เติมน้ำกลั่น 70 มล. ปั่นประมาณ 15 วินาที
3. เทใส่ใน Kjeldahl flask แล้วล้าง blender ด้วยน้ำกลั่น 30 มล. ลงใน Kjeldahl flask อีกครั้ง
4. เติม 4 M HCl 2.5 มล.
5. เติม anti-foaming agent 1-2 หยด
6. ต่อ Kjeldahl flask เข้ากับชุดกลั่น กลั่นจนได้ของเหลวประมาณ 50 มล.
7. ปีเปตสารละลายที่กลั่นได้ 5 มล. ลงในหลอดทดลองขนาด 20 มล. แล้วเติม *TBA solution* 5 มล.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8. นำไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 100 °C 35 นาที แล้วปล่อยไว้ให้เย็น
9. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร

หมายเหตุ : หลอด blank เติมน้ำกลั่น 5 มล. แทนสารละลายที่กลั่นได้

TBARS (mg malondialdehyde/kg sample) = 7.8 x O.D.

4.8 การวิเคราะห์คอเลสเตอรอลในเนื้อและไขมันสันหลัง (ดัดแปลงจาก Jung *et al.*, 1975)

หลักการ การหาระดับคอเลสเตอรอลด้วยวิธี colorimetry มีหลายวิธีแต่มีหลักใหญ่คล้ายกันคือ การทำปฏิกิริยาของคอเลสเตอรอลจะเกิดที่ตำแหน่งพันธะคู่ (double bond) และหมู่แอลกอฮอล์ (hydroxyl group) ซึ่งคอเลสเตอรอลสามารถทำปฏิกิริยากับกรดเข้มข้นทำให้เกิดสารที่มีสี คือ กรด cholestadiene sulfonic โดยมีการใช้กรดอะซิติคและ acetic anhydride เป็นตัวทำละลายและ dehydrating agent (วีกูล และกนกนาถ, 2525 อ้างโดย ยุวฉัตร, 2543)

วิธีการ

1. ทำการสกัดไขมันจากตัวอย่างเนื้อหรือไขมันสันหลัง โดยวิธีการที่ดัดแปลงจาก AOAC (1990) แล้วบันทึกน้ำหนักตัวอย่างไขมันไว้
2. ละลายไขมันด้วย Isopropanol ให้มีความเข้มข้นเป็น 50 มก./มล. (ปริมาตร (มล.) ของ Isopropanol ที่เติม เท่ากับ น้ำหนักไขมัน (ก.) x 20)
3. ดูดสารละลายไขมันปริมาตร 50 ไมโครลิตร. ใส่ในหลอดทดลองขนาด 25 มล.
4. เติม *Alcoholic KOH* 10 มล.
5. นำไปอุ่นใน water bath 45 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งให้เย็น
6. เติม Petroleum ether 5 มล. เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixture
7. เติมน้ำกลั่น 5 มล. เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixture ตั้งปล่อยไว้ให้แยกชั้น
8. เก็บส่วนที่ละลายในชั้น Petroleum ether แล้วนำไประเหยแห้งใน water bath 65 °C
9. เติม *Ferric acetate / Uranyl acetate* 5 มล. เขย่าอย่างแรงด้วย vortex mixture
10. เตรียมหลอดอ่านขนาด 13 x 100 มม. ชุดใหม่ แล้วเติม *Sulfuric acid reagent* หลอดละ 2 มล.
11. ดูด supernatant จากหลอดเดิม 3 มล. มาใส่ในหลอดอ่านที่เติม *sulfuric acid reagent*
12. ผสมให้เข้ากันทันทีด้วย vortex mixture 20 วินาที แล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที
13. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยใช้หลอด blank อ่านค่าเป็นศูนย์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หมายเหตุ : หลอด blank จะเติมเฉพาะ ferric acetate / uranyl acetate 3 มล. และ sulfuric acid reagent 2 มล.

$$\text{Cholesterol level (mg/100g)} = \frac{I \times A \times C \times 100}{B \times W}$$

I = ปริมาตรของ isopropanal (มล.)

A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ cholesterol standard

C = ความเข้มข้นของ standard (มก./มล.)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (ก.)

4.9 การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในเนื้อ และไขมันสันหลัง (ดัดแปลงจาก Biggs *et al.*, 1975)

หลักการ ไตรกลีเซอไรด์ที่สกัดได้เมื่อผ่านการ saponify จะได้กลีเซอรอลและกรดไขมัน ซึ่งกลีเซอรอลสามารถถูกออกซิไดซ์ได้โดย periodate กลายเป็นฟอร์มาดีไฮด์ และเมื่อฟอร์มาดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับ acetylacetone โดยมีแอมโมเนียมไอออนอยู่ด้วยจะเกิดสารละลาย lutidine ที่มีสีเหลืองที่มีคุณสมบัติเรืองแสงได้ สามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

วิธีการ

1. ทำการสกัดไขมันจากเนื้อ หรือไขมันสันหลัง โดยวิธีการที่ดัดแปลงจาก AOAC (1990)
2. ดูดไขมันที่สกัดได้จากเนื้อ (ความเข้มข้น 50 มก./มล.) หรือไขมันสันหลัง (ความเข้มข้น 50 มก./มล. ที่เจือจาง 100 เท่า) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร
3. เติม N-Heptane 2 มล.
4. เติม Isopropanol 3.5 มล.
5. เติมสารละลาย *Sulfuric acid reagent* 40 mM 1.0 มล.
6. ผสมแต่ละหลอดให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer 20 วินาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จนสารละลายแยกชั้น
7. เตรียมหลอดชุดใหม่และเติม *Sodium alkoxide reagent* 2 มล.
8. ดูดสารละลายในชั้นบนของชุดแรก 200 มคล. ลงในหลอดที่เตรียมไว้
9. เขย่าให้เข้ากันดี แล้วบ่มในตู้อบ 60 °C นาน 5 นาที
10. เติม *Sodium metaperiodate reagent* 1 มล. แล้วผสมให้เข้ากัน
11. เติม *Acetylacetone reagent* 1 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วใส่ในตู้อบ 60 °C นาน 20 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

12. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยอ่าน blank เป็นศูนย์

$$\text{Triglyceride level (g/100g)} = \frac{I \times A \times C \times 100}{B \times W \times 1000}$$

I = ปริมาตรของ isopropanal (มล.)

A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ triglyceride standard

C = ความเข้มข้นของ standard (มก./มล.)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (ก.)

4.10 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในกล้ามเนื้อสันนอกและไขมันสันหลัง

หลักการ ไขมันที่สกัดได้จากตัวอย่าง จะถูกนำไปผ่านกระบวนการ saponification และ transferification โดยการ reflux ด้วย methanolic sodium hydroxide จากนั้นเข้าสู่กระบวนการ methylation ของกรดไขมันด้วยการ reflux ด้วย boron trifluoride และ methanol แล้วปรับความเข้มข้นด้วย iso-octane และ เติม sodium sulfate anhydrous เพื่อดูดความชื้น ซึ่ง fatty acid methyl esters ที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography เปรียบเทียบกับ standard

วิธีการ

ขั้นตอนที่ 1 การสกัดไขมันจากตัวอย่าง (Folch *et al.*, 1957)

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อหรือไขมัน 5 กรัม ใส่ใน round bottom flask ขนาด 100 มล.
2. เติมสารละลายผสมระหว่าง chloroform และ methanol (อัตราส่วน 2:1) 60 มล. ปิดฝาแล้วเขย่าอย่างแรง จนกระทั่งเกิดการสกัดอย่างสมบูรณ์
3. กรองด้วย Buchner funnel ผ่านกระดาษกรอง Whatman #1 ลงใน flask นำกากที่เหลือมาสกัดตามข้อ 2 อีกครั้งหนึ่ง
4. รวมสารละลายที่กรองได้ใส่ใน separate flask เติมน้ำกลั่น 12 มล. ตั้งปล่อยไว้ให้แยกชั้น
5. เก็บสารละลายชั้นล่างใส่ลง flask ที่ทราบน้ำหนัก แล้วนำไประเหยแห้งใน water bath อุณหภูมิ 70°C
6. ชั่งน้ำหนักไขมันที่ได้ ละลายด้วย chloroform เพื่อปรับความเข้มข้นให้เป็น 30 มก./มล. (น้ำหนักไขมัน x 33.33)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขั้นตอนที่ 2 การเตรียม fatty acid methyl ester (FAME) (Morrison and Smith, 1964)

1. ดูดสารละลายที่สกัดได้ 1 มล. ใส่ลงใน round bottom flask
2. เติมสารละลาย 0.5 M NaOH ใน methanol 4 มล. แล้ว reflux 5 นาที , ทิ้งให้เย็น
3. เติม 20% boron-trifluoride 5 มล. แล้ว reflux 2 นาที ,ทิ้งให้เย็น
4. เทสารละลายที่ได้ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 100 มล. เติมสารละลายเกลืออิ่มตัว (NaCl) 5 มล. และ iso-octane (2,2,4-trimethylpentane) 2 มล.
5. เขย่าด้วย vortex mixture 30 วินาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น
6. เก็บสารละลายชั้นบน 1 มล. ใส่ใน vial ที่มี sodium sulfate anhydrous (ปริมาณเท่าปลายช้อนตักสาร) ปิด vial ให้สนิทเก็บในตู้เย็นเพื่อรอการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography

ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC)

1. ดูดสารละลาย FAME ที่เตรียมได้ 1 ไมโครลิตร. ฉีดเข้าเครื่อง GC (GC-14B, Shimadzu, Kyoto, Japan) ควบคุมด้วยโปรแกรม GC-Solution

$$\text{fatty acid (mg/100g)} = \frac{A \times D \times I \times C \times 100}{B \times W}$$

A = พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง

B = พื้นที่ใต้กราฟของ fatty acid standard

C = ปริมาตรของ chloroform (มล.)

D = ความเข้มข้นของ fatty acid standard (มก./มล.)

I = ปริมาตรของ iso-octane (มล.)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (ก.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

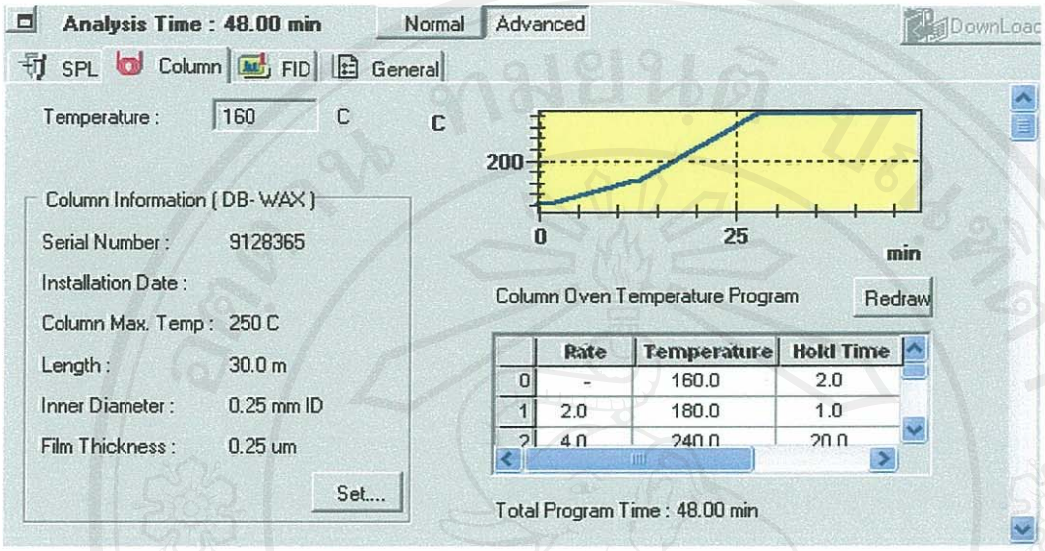

Figure 12: Condition control by computer program (GC solution).

5. การศึกษาด้านคุณภาพไขมัน (fat quality)

ทำการวัดค่าสี ความหืน ระดับของคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และองค์ประกอบของกรดไขมัน โดยใช้วิธีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ส่วนการวัดค่าความแข็ง และจุดหลอมเหลวของไขมันมีวิธีการดังต่อไปนี้

5.1 การวัดค่าความแข็งของไขมัน (fat firmness)

หลักการ ไขมันแข็งมีความเหมาะสมในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ดังนั้นค่าความแข็งของไขมันสันหลังสามารถบ่งบอกถึงความเหมาะสมดังกล่าวได้ โดยหลอมไขมันสันหลังด้วยคลื่นไมโครเวฟเพื่อให้ได้เฉพาะน้ำมันที่ไม่มีส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์และกล้ามเนื้อเกี่ยวพัน จากนั้นนำน้ำมันที่ได้แช่แข็งอีกครั้งเพื่อเปลี่ยนสถานเป็นของแข็ง วัดค่าความแข็งของไขมันด้วยเครื่อง texture analyzer โดยใช้หัววัดแบบแท่งเหล็กตันในการเจาะไขมัน (อ้างโดย สัญชัย, 2543)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการ

1. นำตัวอย่างไขมันสันหลังที่แช่แข็ง - 20 ºC มาละลายน้ำแข็ง (thawing) ที่อุณหภูมิ 4 ºC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. ทำการหลอมเหลวตัวอย่างไขมันสันหลังที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ในเตาอบไมโครเวฟที่กำลังไฟ 450 W เป็นเวลา 15 นาที
3. ดูดน้ำมันที่ได้ 10 มล. ใส่ในขวดแก้วขนาด 15 มล. แล้วนำไปแช่แข็งที่ -20 ºC เพื่อรอการตรวจวัด (ปล่อยไว้ข้ามคืน)
4. ก่อนทำการตรวจวัด นำขวดน้ำมันมาตั้งปล่อยไว้ที่อุณหภูมิห้อง 45 นาที จากนั้นนำไปแช่ใน ice bath อุณหภูมิ 4 ºC นาน 30 นาที
5. วัดความแข็งของไขมัน โดยใช้เครื่อง Texture Analyzer (TA.XT2, London, UK) โดยใช้หัววัดชนิดแท่งเหล็กตัน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. และกำหนดระยะทางของหัววัดจากผิวหน้าของไขมันถึงใจกลางประมาณ 15-20 มม.
6. บันทึกค่าแรงที่ได้ในหน่วยนิวตัน (N), พลังงานที่ใช้ในการแทงหัวเจาะ (energy of penetrative; mJ) และพลังงานที่ใช้ในการถอนหัวเจาะ (energy of adhesion; mJ)

5.2 การวิเคราะห์หาค่าจุดหลอมเหลวของไขมัน (melting point)

หลักการ สถานะของไขมันขึ้นอยู่กับจุดหลอมเหลว ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความแข็งของไขมัน ดังนั้นการวัดจุดหลอมเหลวของไขมันสามารถใช้บ่งชี้ความแข็งของไขมันที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ (สัญชัย, 2547)

วิธีการ ใช้หลอดคาปิลาลี่ (capillary) ดูดไขมันที่หลอมในขั้นตอนของการหา fat firmness ให้ได้ความสูงประมาณ 1 ซม. จากนั้นนำไปแช่ไว้ในตู้แช่ -20 ˚C รอการวิเคราะห์ต่อไป เมื่อถึงเวลานำหลอดคาปิลาลี่ออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20 ˚C) 10 นาที จากนั้นส่องดูด้วยเครื่อง melting point apparatus (SMP 10, Staffordshire, UK) บันทึกอุณหภูมิที่ไขมันเริ่มหลอม และหลอมหมด แล้วหาค่าเฉลี่ยของจุดหลอมเหลว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's W-Procedure ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS for Windows version 8.2 (SAS, 2001)

สถานที่ปฏิบัติงานวิจัย

1. ฟาร์มสุกร บริษัทเบทาโกรภาคเหนือเกษตรอุตสาหกรรม จำกัด อำเภอ สันทราย จังหวัดเชียงใหม่
2. โรงฆ่าและแปรรูปสุกรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ โครงการความร่วมมือระหว่างมหาวิทยาลัยแม่โจ้ กับ บริษัทเบทาโกรภาคเหนือเกษตรอุตสาหกรรม จำกัด อำเภอ สันทราย จังหวัดเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
4. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
5. ห้องปฏิบัติการคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

ประมาณ 18 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved