บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์การทดลอง

1.1 อุปกรณ์ และเครื่องมือ

	ชื่อเครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
1.	เครื่องกลั่นโปรตีน	-	Gerhardt	เยอรมันนี
2.	เครื่องชั่งไฟฟ้า (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)	2842	Sarorius GmBH	เยอรมันนี
3.	เครื่องเหวี่ยง	Megafuge 1.0	Heraeus	เยอรมันนี
4.	เครื่องไตเตรท	NW 2.5 mm	Brand	เยอรมันนี
5.	เครื่องย่อยโปรตีน	1002 Distilling unit	Tecator	สวีเดน
6.	เครื่องย่อยเยื่อใย	EV26	Gerhardt	เยอรมันนี
7.	เครื่องวอร์เทกซ์ (Vortex mixer)	G-560E	Scientific Industries Inc.	อเมริกา
8.	เครื่องสกัดไขมัน	1043 Extraction unit	Tecator	สวีเดน
9.	เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	DU 7500	BECKMAN	เยอรมันนี
10.	ซัคชั่น ปั๊ม (Suction pump)	VDEO 530	W. Krannich	เยอรมันนี
11.	ตู้อบ (Oven)	DEV	Heraeus	เยอรมันนี
12.	เตาเผา (Muffle furnaces)	MR 260E	Heraeus	เยอรมันนี
13.	ถ้วยกระเบื้องเคลือบ	109	Haldenwanger	เยอรมันนี
14.	โถดูดความชื้น (Disicator)	GL 32	Glaswerk wertheim	เยอรมันนี
15.	ธิมเบิล (Fat extraction thimble)	No. 2800258	Whatman	อังกฤษ
16.	บีกเกอร์ ขนาด 50, 100 และ 150	No. 1000	Pyrex	อเมริกา
17.	บีกเกอร์ ขนาด 200 มล	No. 1005	Pyrex	อเมริกา
18.	บีกเกอร์ ขนาด 500 มล	No. 26500	Kimax	อเมริกา
19.	บีกเกอร์ ขนาด 1,000 มล	No. 27060	Kimax	อเมริกา
20.	ปิเปต (Pipett) ขนาด 1, 2 และ 5 มล	-	Volac	อเมริกา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

	ชื่อเครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
21.	วอลูเมทริก ฟลาสก์ ขนาด 100 มล	NS 12/12	SCHOTT	เยอรมันนี
22.	วอลูเมทริก ฟลาสก์ ขนาด 250 มล	NS 14/23	SCHOTT	เยอรมันนี
23.	หลอดทดลองขนาด 1.2 x 10 และ 1.5 x 1.5 ซม	No. 9820	Pyrex	เยอรมันนี
24.	เครื่องวัดพลังงาน	C400	IKA	เยอรมันนี
25.	วอเตอร์บาร์ท (Water bath)	-	W. Krannich	เยอรมันนี
26.	เครื่องอินสตรอน (Instron)	5565	-	เยอรมันนี
27.	เครื่องมินอลต้า (Minolta)	CR 300	-	ญี่ปุ่น
28.	เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter)	191	Knick	เยอรมันนี
29.	เครื่องเตาอบไฟฟ้า (Convection oven)	-	-	ญี่ปุ่น
30.	หลอดกลั่นโปรตีน (Kjeldahl flask)	-	Gerhardt	เยอรมันนี
31.	อุปกรณ์กรอง (Bucher Funnels)	-	Haldenwanger	เยอรมันนี
32.	กระดาษกรอง เบอร์ 41	-	Whatman	อังกฤษ
33.	เครื่อง HPLC apparatus	MPD-2L	Shimadzu	ญี่ปุ่น
34.	ไซริงค์แก้ว (Syringe perfection)	2x0788	Shimadzu	ญี่ปุ่น
35.	HPLC packed column	Inertsil C8	Shimadzu	ญี่ปุ่น
36.	Column HPLC	Lichrospher RP-18	STE Co. Ltd.	เยอรมันนี
37.	Milipore	MPXX3001200	GL Science Inc.	ญี่ปุ่น
38.	ตู้แช่แข็ง	FC-27	Shap	ไทย
39.	เครื่องวัดพื้นที่ (Area meter)	LI 3100	Li-*COR*	อเมริกา
40.	เครื่องชั่งน้ำหนัก	No. 161840	Berkel	ไทย
41.	Hot plate thermolyne	Cimarec 3	Northern chemical	ไทย
42.	เตาเผาเถ้า (Thermolyne)	1300 Furnace	Sybron	เยอรมันนี
43.	กระบอกตวง ขนาด 10 และ 25 มล	In 20 C	Witeg	เยอรมันนี
44.	กระบอกตวง ขนาด 50 และ 100 มล	No. 3022	Pyrex	อเมริกา
45.	หม้ออบความดันไอน้ำ (Korimat)	KA 120	-	เยอรมันนี
46.	เครื่องซีล (Polysealer)	210E	Muster Mfg Co. Ltd.	-
47.	เครื่องแพ็คสุญญากาศ (Webomatic)	C15-HL	Food equipment	เยอรมันนี
48.	เครื่องวัดรังสี (Radioimmuno assay)	1209 RACKBETA	LKB	ฟินแลนด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

1.2 สารเคมี

	ชื่อสารเคมี	เกรด	ยี่ห้อ
1.	กรดซัลฟุริกเข้มข้น (conc. Sulfuric acid)	Analytical reagent	Lab-scan
2.	กรดไฮโดรคลอริค (Hydrochloric acid)	Analytical reagent	Lab-scan
3.	น้ำกลั่น	Deionized water	-
4.	พูไมซ์ สโตน (Pumice stone)	Analytical reagent	BDH
5.	ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane)	Analytical reagent	Merck
6.	เมทธานอล (Methanol)	HPLC grade	Merck
7.	3-methylindole	Analytical reagent	Sigma
8.	2-methylindole	Analytical reagent	Fluka
9.	เอ็นเฮกเซ็น (n-hexane 99%)	HPLC grade	Lab-scan
10.	อะซิโตรไนไตร์ล (Acetonitrile)	HPLC grade	Merck
11.	Antifoaming agent	Analytical reagent	Fluka
12.	กรดอะซิติค (Acetic acid)	Analytical reagent	J.T.Baker
13.	โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)	Analytical reagent	Merck
14.	คลอโรฟอร์ม (Chloroform)	Analytical reagent	Merck
15.	2-thiobarbituric acid	Analytical reagent	Fluka
16.	กรดบอริก (Boric acid)	Analytical reagent	Merck
17.	โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	Analytical reagent	Merck
18.	กรดไนตริก (Nitric acid)	Analytical reagent	BDH
19.	โปแตสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride)	Analytical reagent	BDH
20.	เอธานอล (Ethanol)	Analytical reagent	BDH
21.	ไฮโดรเจนฟอสเฟต (Hydrogen phosphate)	Analytical reagent	BDH
22.	Chacoal suspension	Analytical reagent	-

1.3 สัตว์ทดลอง คัดเลือกสุกรลูกผสม 3 สายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนเรซ x ซีเกอร์) จำนวน 24 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 31 กิโลกรัมแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 สุกรเพศผู้ตอน (barrow) กลุ่มที่ 2 สุกรเพศผู้ไม่ตอน (boar) และกลุ่มที่ 3 สุกรเพศเมีย (gilt)

1.4 คอกทดลอง ภายโรงเรือนสุกรทดลอง มีคอกย่อย 24 คอก แต่ละคอกมีขนาด 2 x 3 เมตรเท่ากัน ภายในคอกประกอบด้วยถังอาหาร และมีจุ๊บน้ำด้านหลังคอกทดลอง 1 หัว (Fig. 14)

1.5 อาหารสุกรทดลอง สุกรทุกกลุ่มการทดลองได้รับอาหารสูตรเดียวกัน สูตรอาหารแบ่งออกเป็น 2 ระยะคือ

1.5.1 สูตรอาหารระยะสุกรรุ่น (30–60 กิโลกรัม) มีโปรตีน 18 เปอร์เซ็นต์

1.5.2 สูตรอาหารระยะสุกรขุน (60–110 กิโลกรัม) มีโปรตีน 15 เปอร์เซ็นต์

ส่วนระดับพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ทั้ง 2 ระยะเท่ากับ 3,265 kcal/kg (NRC, 1998) สุกรได้รับอาหารแบบเต็มที่ (*ad libitum*) และมีน้ำกินตลอดเวลา ส่วนประกอบของอาหารทั้ง 2 ระยะ แสดงใน Table 9 และส่วนประกอบทางเคมีของสูตรอาหารจากการวิเคราะห์แสดงใน Table 10

1.6 เครื่องผสมอาหารแบบตั้ง (single screw vertical mixer) ขนาดความจุ 1,000 กก

1.7 เครื่องชั่งน้ำหนักสุกร ขนาด 1,000 กก

1.8 เครื่องชั่งน้ำหนักอาหาร ขนาด 60 กก

2. วิธีการทดลอง

2.1 แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Random Design, CRD; จรัญ, 2540) แบ่งสุกรออกเป็น 3 กลุ่ม สุกรเพศผู้ไม่ตอน สุกรเพศผู้ตอน และสุกรเพศเมีย ตามลำดับ แต่ละกลุ่มมี 8 ซ้ำ ๆ ละ 1 ตัว

2.2 การศึกษาสมรรถภาพการผลิต

สุกรน้ำหนักเฉลี่ย 31 กก เลี้ยงในคอกเดี่ยว สุกรแต่ละตัวได้รับอาหารสูตรพื้นฐาน (basal diet) สูตรเดียวกัน โดยแบ่งออกเป็นระยะรุ่น-ขุน สุกรได้รับอาหารแบบเต็มที่ (*ad libitum*) และมีน้ำให้กินตลอดเวลา ให้อาหารทุกวัน เวลาประมาณ 15:00 – 16:00 น. ทำการบันทึกปริมาณอาหารที่ให้ และที่เหลือค้างราง ส่วนการปฏิบัติดูแลอื่นๆ กระทำตามหลักการเลี้ยงสุกรโดยทั่วไป (บุญลือ, 2536) ระยะเวลาการเลี้ยง สุกรทุกตัวจะถูกชั่งน้ำหนักและบันทึกลักษณะต่างๆ ทุก 2 สัปดาห์ และเมื่อใกล้ระยะที่จะเปลี่ยนอาหารสุกรจะถูกชั่งน้ำหนักบ่อยขึ้น เพื่อเปลี่ยนอาหารให้ได้ตามแผนการทดลองที่วางไว้

Table 9 Composition of experiment diets fed to growing (30–60 kg) and finishing (60-110 kg) pigs

Ingredients (%)	Diets	
	Growing stage	Finishing stage
Rice bran	7.00	11.00
Broken rice	28.00	32.00
Yellow corn	35.73	37.62
Soybean meal	23.59	14.45
Fish meal (62.3% CP)	2.50	2.50
Limestone	0.50	0.50
Dicalcium phosphate (DCP)	1.00	0.54
Tallow	0.93	0.64
Vitamin mineral premix	0.25	0.25
Salt	0.50	0.50
Total	100.00	100.00
Cost, baht/kg[1/]	7.10	6.77
Calculated composition		
ME, kcal/kg	3,265.00	3,265.00
Crude protein, %	18.00	15.00
Crude fat, %	4.00	4.30
Crude fiber, %	3.70	3.60
Phosphorus, total %	0.58	0.45
Calcium, %	0.65	0.51
Lysine, %	1.00	0.79
Methionine, %	0.32	0.28
Tryptophan, %	0.22	0.17
Threonine, %	0.68	0.56
Methionine + Cystine, %	0.61	0.53

[1/] Computation based on the prices (baht/kg) when the experiment was conducted during June – November, 1999

Table 10 Chemical analysis of experimental diets fed to growing and finishing pigs

Composition (%)	Diets	
	growing stage	Finishing stage
Dry matter	89.48	90.06
Crude protein	18.90	15.92
Ether extract	6.19	5.45
Crude fiber	2.32	2.47
Ash	5.04	5.76
NFE	56.29	60.46
Gross energy, kcal/kg	4,456.86	4,405.40

Fig. 14 Pigs pen

การบันทึกข้อมูล : ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักเริ่มต้นการทดลอง น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการแลกเนื้อ

การเจริญเติบโตต่อวัน (average daily gain; g/day)

$$= \frac{\text{น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)} - \text{น้ำหนักเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)}}{\text{จำนวนวันในการทดลอง}}$$

อัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio)

$$= \frac{\text{ปริมาณอาหารทั้งหมดที่สุกรกินต่อตัว (กก)}}{\text{น้ำหนักเพิ่ม (กก)}}$$

เมื่อน้ำหนักถึงประมาณ 110 กิโลกรัม/ตัว จะนำไปฆ่าที่ศูนย์ฝึกอบรมเทคโนโลยีเนื้อสัตว์แห่งชาติ ถ. ห้วยแก้ว อ. เมือง จ. เชียงใหม่ เพื่อศึกษาลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ คุณภาพไขมัน สุกรตามวิธีของสัญชัย (2543)

2.3 การศึกษาคุณภาพซาก

2.3.1 **น้ำหนักมีชีวิต** : น้ำหนักสัตว์ที่ชั่งก่อนฆ่าหลังจากกักไว้ โดยงดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีน้ำที่สะอาดให้กินตลอดเวลา

2.3.2 **น้ำหนักซากอุ่น** : น้ำหนักซากสัตว์ภายหลังจากถูกฆ่า โดยแยกเอาเลือด และอวัยวะภายใน ออกหมดแล้ว ยกเว้นไตที่ยังคงติดอยู่กับซาก

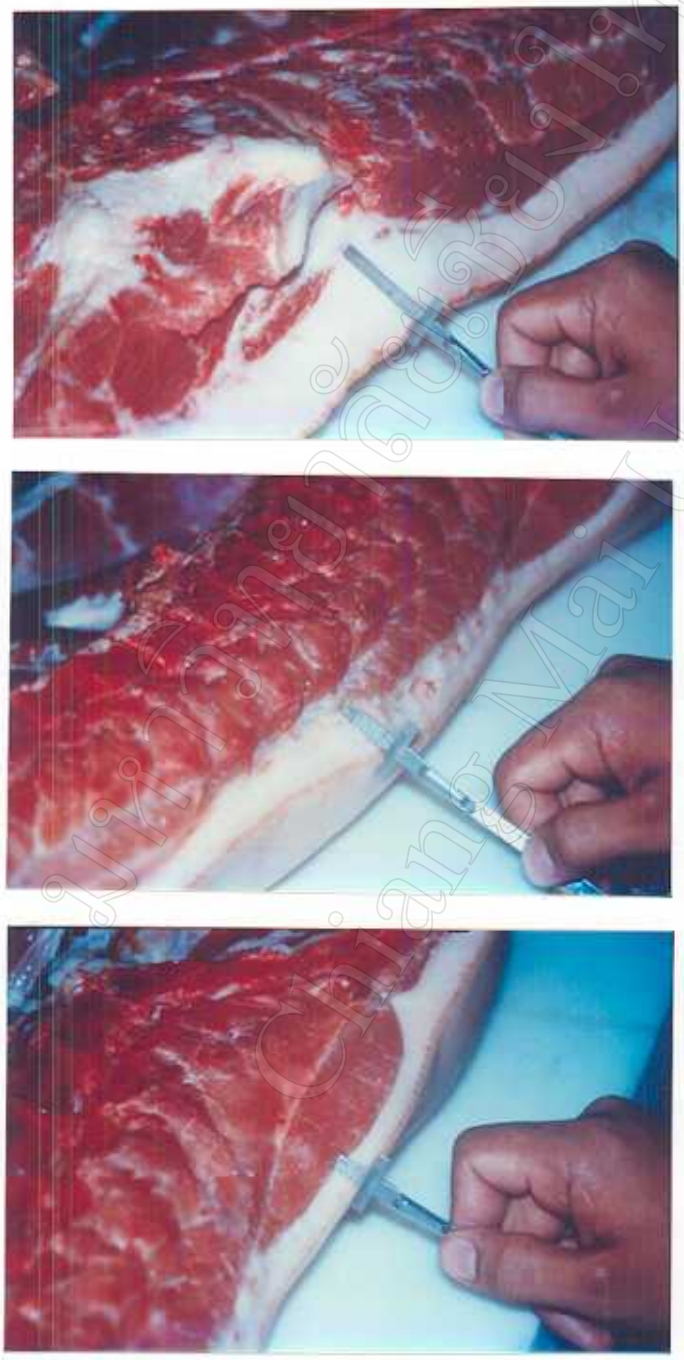
2.3.3 **น้ำหนักซากเย็น** : น้ำหนักซากสัตว์ที่ผ่านการแช่เย็นที่ 3 ^{0}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.3.4 **เปอร์เซ็นต์ซาก** : $\frac{\text{(น้ำหนักซากอุ่น - 3 \% ของน้ำซากอุ่น)}}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}}$

Fig. 15 Swine carcass

2.3.5 **ความยาวซาก :** วัดความยาวจากซี่โครงซี่แรกถึงหัวกระดูกเชิงกราน (pelvic)

2.3.6 **ความหนาไขมันสันหลัง :** วัด 3 จุด คือที่บริเวณซี่โครงซี่แรก บริเวณซี่โครงซี่สุดท้าย และบริเวณกระดูก lumbar ข้อสุดท้าย (Fig. 16) การวัดจะรวมทั้งหนังด้วย จากนั้นนำ 3 ค่าที่ได้มารวมกันเพื่อหาค่าเฉลี่ย



(a)

(b)

(c)

Fig. 16 Backfat measurement: (a) First rib; (b) Last rib and (c) Last lumbar

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

2.3.7 **พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน :** ตัดกล้ามเนื้อสันระหว่างซี่โครงที่ 10 กับ 11 ตามขวาง ใช้กระดาษลอกลายวัดขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน นำไปอ่านค่าพื้นที่ด้วยเครื่อง Area meter (Licor, Model 3100, Fig. 17)

2.3.8 **การตัดแต่งแบบไทย :** ซากสุกรซีกขวาตัดแต่งตามคำแนะนำของสัญชัย (2534) ชิ้นส่วนที่ได้นำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักซากเย็น (Fig. 18)

2.3.9 **การวัดสัดส่วนของส่วนตัดเนื้อสัน :** แยกส่วนตัดเนื้อสันซีกซ้ายระหว่างซี่โครงที่ 11 และ 12 หนาประมาณ 1 นิ้ว เลาะแยก หนัง ไขมัน กระดูก และเนื้อ ทำการชั่งน้ำหนัก และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของส่วนตัดเนื้อสัน

Fig. 17 Loin eye area

Fig. 18 Thai style cutting

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

2.4 การศึกษาคุณภาพเนื้อ

ซากสุกรจะถูกแช่เย็น (chilled) ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชม ซากซีกซ้ายของสุกรทุกตัวถูกเก็บไว้เพื่อทำการศึกษาคุณภาพเนื้อตามวิธีของสัญชัย (2543)

2.4.1 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อ (muscle pH measurement)

บันทึกค่า pH ที่ 45 นาทีหลังฆ่า (pH_1) และค่า pH สุดท้ายที่ 24 ชม หลังฆ่า (pH_u) ที่กล้ามเนื้อ *semimembranosus* (SM) และ *longissimus dorsi* (LD) ระหว่างซี่โครงที่ 13 และ 14 ใช้เครื่อง pH meter (Model 191, Knick, D-Berlin) (Fig. 19)

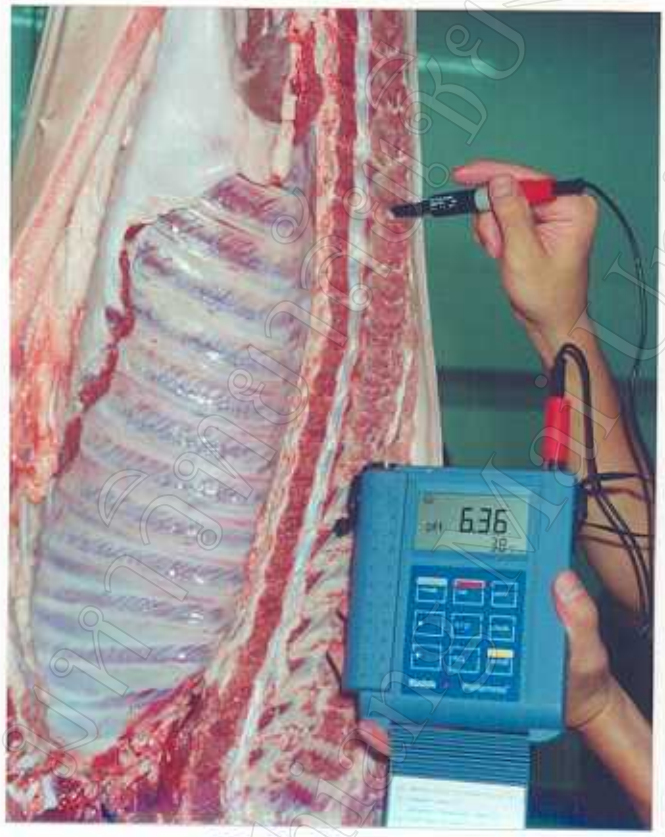


Fig. 19 pH measurement

2.4.2 การวัดค่าสีของเนื้อ (color measurement)

แยกส่วนกล้ามเนื้อ LD ซีกซ้ายระหว่างซี่โครงที่ 8 และ 9 หนาประมาณ 1 นิ้ว ใส่ถุงพลาสติกชนิดเย็นผนึกปากถุงให้สนิทเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชม จากนั้นนำเนื้อออกจากถุงวางในภาชนะเปิดเก็บไว้ในตู้เย็นประมาณ 1 ชม ทำการวัดสีด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter (CR-300, Osaka, Fig. 20) บันทึกค่าเฉลี่ย L* (ความสว่าง), a*(แดง-เขียว) และ b*(เหลือง-น้ำเงิน) วัด 5 ซ้ำต่อตัวอย่าง แล้วนำค่ามาเฉลี่ยมาใช้

Fig. 20 Color measurement

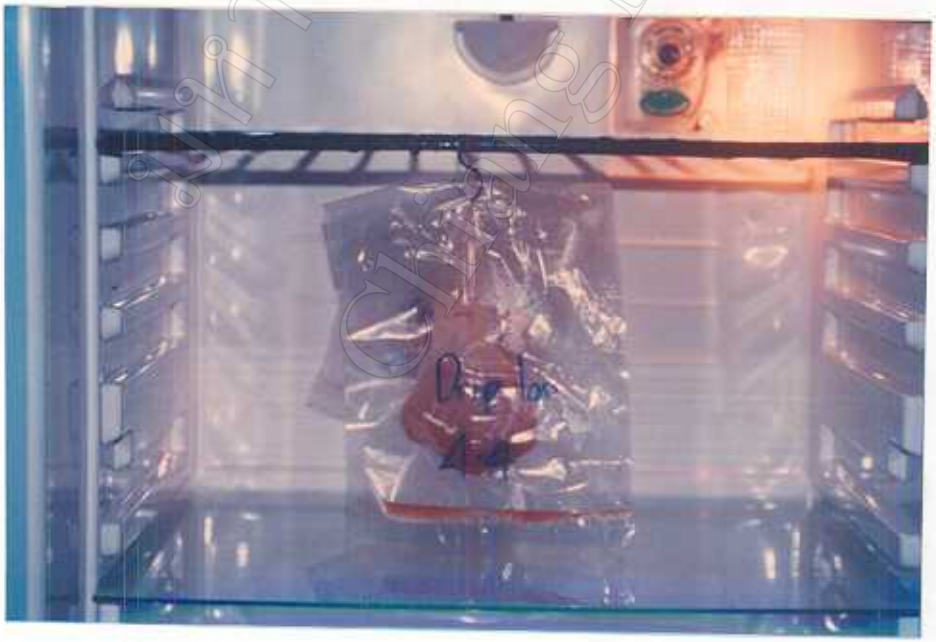


Fig. 21 Drip loss

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

2.4.3 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity)

การสูญเสียน้ำ (drip loss) โดยวิธีการของ Honickel (1987) อ้างโดยสัญชัย (2543) แยกส่วนกล้ามเนื้อ LD ซีกซ้ายระหว่างซี่โครงที่ 7 และ 8 หนาประมาณ 1 นิ้ว ทำการชั่งน้ำหนัก (Wd_1) ห่อชิ้นเนื้อด้วยผ้าก๊อสเก็บในถุงพลาสติกชนิดเย็นผนึกปากถุงให้สนิท โดยให้ผ้าก๊อสห่างจากก้นถุงประมาณ 2 ซม เก็บไว้ในตู้เย็นในลักษณะแขวนที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Fig. 21) นำชิ้นเนื้อออกจากถุงชั่งน้ำหนัก (Wd_2) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ (drip loss) จากสูตร

$$\text{Drip loss (\%)} = \left\{ \frac{Wd_1 - Wd_2}{Wd_1} \right\} \times 100$$

การสูญเสียน้ำจากการละลายน้ำแข็ง (thawing loss) และ การสูญเสียน้ำจากการต้มสุก (boiling loss) นำซากสุกรซีกซ้ายมาตัดแต่ง โดยแยกส่วนกล้ามเนื้อ LD ระหว่างซี่โครงที่ 13 และ 14 หนาประมาณ 1 นิ้ว ทำการชั่งน้ำหนัก (Wt_1) เก็บแบบสุญญากาศ (vacuum) ในถุงพลาสติกชนิดเย็นผนึกปากถุงให้สนิท เก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –20 ^{0}C รอการวิเคราะห์ต่อไป จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาละลายน้ำแข็ง (thawing) ที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำชิ้นเนื้อออกจากถุง ซับเนื้อให้แห้งชั่งน้ำหนัก (Wt_2) จากนั้นนำชิ้นเนื้อเก็บในถุงร้อนแบบสูญญากาศ นำไปต้มในหม้อต้มควบคุมอุณหภูมิ Korimat (Fig. 22) น้ำที่มีอุณหภูมิ 80 ^{0}C จนอุณหภูมิใจกลางเนื้อประมาณ 71-72 ^{0}C ใช้เวลาประมาณ 15-16 นาที จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาผึ่งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำชิ้นเนื้อออกจากถุง ซับน้ำที่ผิวเนื้อให้แห้งชั่งน้ำหนัก (Wt_3)

$$\text{Thawing loss (\%)} = \left\{ \frac{Wt_1 - Wt_2}{Wt_1} \right\} \times 100$$

$$\text{Boiling loss (\%)} = \left\{ \frac{Wt_2 - Wt_3}{Wt_2} \right\} \times 100$$

นำกล้ามเนื้อ LD ระหว่างซี่โครงที่ 14-15 มาทำการตัดแต่งส่วนของไขมันและพังผืดด้านข้างออกให้หมด ทำการชั่งน้ำหนัก (Wg_1) จากนั้นนำชิ้นเนื้อที่ได้ไปย่างในเครื่อง convection oven ที่กำลังไฟ 250 W เป็นเวลา 12 นาที อุณหภูมิใจกลางเนื้อประมาณ 71 ^{0}C นำออกจากเตาย่าง ทำการชั่งน้ำหนัก (Wg_2) คิดหาค่าการสูญเสียจากการปรุงด้วยวิธีการย่าง

$$\text{Grilling loss} = \left\{ \frac{Wg_1 - Wg_2}{Wg_1} \right\} \times 100$$

Fig. 22 Water bath (Korimat)

2.4.4 แรงตัดผ่านเนื้อ (shear force)

นำเนื้อที่ต้มสุกจากการหา cooking loss มาเจาะตามแนวเส้นใยกล้ามเนื้อ ด้วยเหล็กกลวงชนิดกลม (core) ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ซม เจาะเนื้อตัวอย่างให้ได้ 5 ชิ้น นำไปวัดค่าแรงตัดผ่านด้วยเครื่อง Instron 5565 หัววัดกำลัง 5 kN (Warner Bratzler Shear; Fig. 23 และ 24) ด้วยความเร็ว 200 มิลลิเมตร/นาที

Fig. 23 Instron 5565

Fig. 24 Probe of Instron 5565 for measuring shear force (Warner Bratzler Shear; 5 kN)

2.4.5 คุณค่าทางโภชนะ (nutritive value)

แยกส่วนกล้ามเนื้อ LD ซีกซ้ายระหว่างซี่โครงที่ 12 และ 13 หนาประมาณ 1 นิ้ว ตัดแต่งเอาเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและไขมันโดยรอบออกให้หมด จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่อง Blender แยกเนื้อวิเคราะห์หาค่าทางโภชนะตามวิธีของ Watson (1996)

2.4.6 การทดสอบชิม (Panel test)

นำชิ้นเนื้อที่ย่างสุกมาตัดให้มีขนาด 1.5 x 1.5 เซนติเมตร เท่าๆ กันด้วยเขียง (Fig. 25, 26 และ 27) จากนั้นเสริฟให้แก่ผู้ตรวจชิม ซึ่งได้ผ่านการฝึกฝนการตรวจชิมตามคำแนะนำของไพโรจน์ (2535) จำนวน 6 ท่าน ผู้ตรวจชิมจะได้รับแบบสอบถามการตรวจชิมเนื้อ (Appendix table 3) และฟังการบรรยายขั้นตอนการทดสอบชิมโดยละเอียด ซึ่งการให้คะแนนจะพิจารณาอยู่ 4 ลักษณะการบริโภค คือ ความนุ่ม (tenderness) กลิ่นรสชาติ (flavour) ความชุ่มฉ่ำ (juciness) และความพอใจโดยรวม (overall acceptability) โดยคะแนนที่ให้จะให้ค่าอยู่ในช่วง 1-5 คะแนน (1 = เหนียว, กลิ่นรสไม่ค่อยดี, แห้ง และไม่ชอบมาก; 5 = นุ่ม, กลิ่นรสน่ารับประทาน, ชุ่มฉ่ำ และชอบมาก) ผู้ทดสอบชิมจะได้รับน้ำ และทานผลไม้หลังจากทดสอบชิมเนื้อแต่ละชุดทดลอง

Fig. 25 Grilled loin cut at 1.5 x 1.5 cm size

Fig. 26 Chopping block for cut meat

Fig. 27 Panel test

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

2.5 การศึกษาคุณภาพไขมัน

แยกส่วนไขมันสันหลังตำแหน่งเนื้อสัน ตั้งแต่ซี่โครงซี่ที่ 6 ถึง 15 จากนั้นแยกบรรจุในถุงชนิดเย็นเก็บที่อุณหภูมิ -20 ^{0}C เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

2.5.1 การวัดค่าความแข็งของไขมัน (fat firmness)

นำชิ้นไขมันมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำชิ้นไขมันที่ได้มาหลอม (melting) ในเตาไมโครเวฟที่กำลังไฟ 180 W เป็นเวลา 10 นาที จะได้น้ำมันที่เหลว (molten fat) เทน้ำมันที่เหลว 10 มล ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 20 มล (1 ตัวอย่างทำ 2 ซ้ำ) เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C เป็นเวลา 45 นาที ตัวอย่างไขมันที่ได้จะมีลักษณะแข็ง ทำการวัดความแข็งของไขมันด้วยเครื่อง Instron 5565 หัววัดขนาด 100 N ต่อกับแท่งเหล็กทรงกระบอกตันเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม (Fig. 28) ความเร็ว 200 มม/นาที

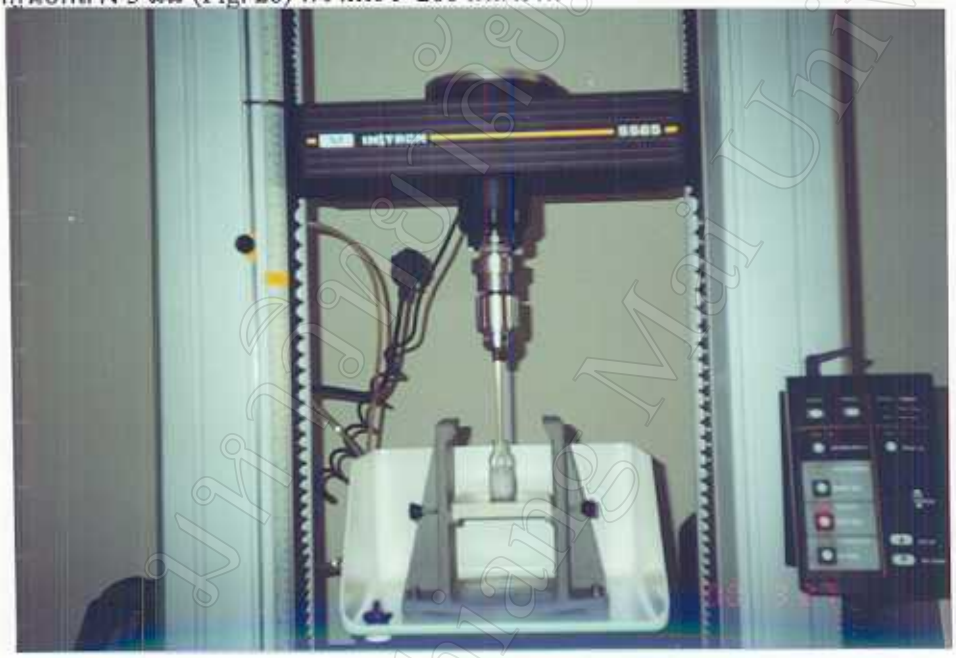


Fig. 28 Probe of Instron 5565 to measure fat firmness (100 N)

2.5.2 การหาความหืนของไขมัน โดยการวิเคราะห์หาปริมาณ Thiobarbituric acid number (TBA)

ชั่งน้ำหนักไขมันหรือเนื้อตัวอย่างมา 10 กรัม ปั่นกับน้ำกลั่น 50 มล ใน mechanical blender แล้วเทใส่ใน distillation flask ขนาด 500 มล ล้าง blender ด้วยน้ำกลั่นจำนวน 47.5 มล เติมสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 4 โมลาร์จำนวน 2.5 มล เพื่อให้ได้ pH 1.5 แล้วเติม anti-foaming ต่อเข้ากับเครื่องกลั่น (Fig. 29) และนำไปต้มโดยใช้ heating mantle กลั่นจนได้ของเหลว 50 มล (หลังเดือดเวลา 10 นาที) ปิเปตของเหลวที่กลั่นได้ 5 มล ใส่ในหลอดแก้วที่มีฝาปิด เติมสารละลาย

thiobarbituric acid reagent ลงไป 5 มล ปิดฝา เขย่าแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลานาน 35 นาที ทำ blank พร้อมไปด้วย โดยใช้น้ำกลั่น 5 มล และสารละลาย thiobarbituric acid reagent 5 มล ทิ้งไว้ให้เย็นภายใน 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Fig. 30) เปรียบเทียบกับ blank คำนวณหาค่า TBA

TBA = 7.8 x O.D. (มิลลิกรัม malonaldehyde ต่อกิโลกรัม)

Fig. 29 Condenser for analyzing TBA values

Fig. 30 Spectrophotometer

2.6 การวัดสารที่ทำให้เกิดกลิ่น (boar taint)

การหาปริมาณสกาโทล (skatole)

ใช้วิธีการวิเคราะห์โดยใช้ HPLC (high performance liquid chromatography) ตามวิธีของ Dehnhard *et al.* (1993)

การเตรียม Mobile phase : 0.02 M acetic acid-2-propanal

- เตรียม 0.02 M acetic acid : เตรียมใน Volumetric flask ปริมาตร 2,000 มล โดยผสม glacial acetic acid 2.29 มล กับน้ำกลั่น โดยปรับปริมาตรให้ได้ 2,000 มล
- นำสารละลาย acetic acid ที่เตรียมได้ 700 มล ผสมกับ 2-propanol 300 มล
- กรองสารละลายที่ได้ด้วยชุดกรองตัวทำละลาย (solvent clarification kit) โดยใช้แผ่นกรองความละเอียด 0.45 ไมครอน

การเตรียมสารมาตรฐาน

- **Internal standard: 2-methylindole**
  - เตรียม stock solution ความเข้มข้น 25 นาโนกรัม/มิลลิลิตร (นก/มล)
  - ชั่ง 2-metylindole มา 0.25 กรัม ผสมกับ methanol 10 มล จากนั้นทำการเจือจางให้ได้สารละลายความเข้มข้น 25 นก/มล
- **Standard: Skatole**
  - เตรียมสารละลายมาตรฐาน skatole ที่มีความเข้มข้น 10, 100, 200 และ 400 นก/มล โดยใช้ Volumetric flask ปริมาตร 100 มล
  - ชั่งสาร skatole 0.1 กรัม ใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย

การเตรียมสารตัวอย่าง

- ชั่งไขมันตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 10-20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มล อบในตู้ไมโครเวฟ ที่ 180 W 4 นาที
- ดูดน้ำมัน 100 µl ใส่ในหลอดทดลองที่มี n-hexane 1 มล
- เติม 2-methylindole 25 นาโนกรัม 1 มล เขย่า 30 วินาที ซึ่งเป็น internal standard มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับสาร skatole
- เติม acetonitril-water (75:25 v/v) 1 มล เขย่า 30 วินาที

- นำไป Centrifuge ที่ 3000 g นาน 15 นาที สารละลายแยกเป็น 2 ชั้น
- ปิเปตชั้น n-hexane ที่อยู่ด้านบนทิ้ง และปิเปต acetonitril-water ที่อยู่ชั้นล่างใส่ขวด autosample vials
- กรองสารละลายโดยชุดกรองสารตัวอย่าง (sample clarification kit) ใช้แผ่นกรองความละเอียด 0.45 ไมครอน ก่อนทำการฉีดเข้าเครื่อง HPLC (Fig. 31)

การวิเคราะห์สาร skatole โดยเครื่อง HPLC ใช้สภาวะการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

- column : LiChrospherRP-18 column (particle size 5 µm ; 4.6 x 150 mm)
- pre-column : 4.6 x 10 mm
- detector : fluorescence detector
- mobile phase : 0.02 M acetic acid – 2 propanol (70:30 v/v)
- flow-rate : 1.1 ml/min
- column oven temperature : 50 ^{0}C
- excitation : 275 nm
- Emission : 345 nm

Fig. 31 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจากพลาสมา

ตัวอย่างพลาสมาที่ผ่านการแช่แข็งที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส นำมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในตู้เย็นเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง นำพลาสมาที่ได้มาสกัดหาฮอร์โมนตามวิธีของศุภมิตร (2539) ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Wasser *et al.* (1993) ชั่งตัวอย่างพลาสมาที่ได้ 0.1 มล และเติมเอทานอล 3 มล ในหลอดทดลองขนาด 15 x 100 มม ปิดจุกยางเขย่าต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 40 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 นาที และตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน หรือนำไปปั่นแยกที่ความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารส่วนบนที่ได้มาทำเจือจางด้วยสารละลาย พี บี เอส อัตราส่วน 1 : 20 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ระดับฮอร์โมน โดยวิธีเรดิโออิมมูนโนแอสเซ (Radioimmuno assay, RIA)

ตัวอย่างพลาสมาที่สกัดได้ถูกนำมาวิเคราะห์โดยวิธีเรดิโออิมมูนโนแอสเซ (RIA) ตามวิธีที่รายงานโดยเพทายและทัศนีย์ (2533) ดังแผน Fig. 32 ดูดสารละลายเทสโทสเตอโรนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 25, 50, 100, 250, 500 และ 1,000 พิโคกรัม/50 ไมโครลิตร ผสมกับตัวอย่างพลาสมาที่สกัดได้ 50 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 10 x 75 มม เติมสารละลายแอนติ-ซีรัม (เตรียมจากกระต่ายที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ T-3-HAS ซึ่งมีไตเตอร์ 1 : 1408) 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 60 นาที และเติม H^3-Testosterone 100 ไมโครลิตร (มีค่าพลังงานรังสีประมาณ 6,000 count per minute; CPM) เขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน แยกเทสโทสเตอโรนที่อยู่ในรูปอิสระ (free form) ออกจากเทสโทสเตอโรนที่อยู่ในรูปที่ยึดจับกับแอนติบอดี้ (bound form) ด้วยการเติมสารละลายกัมมันตคาร์บอน 250 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นแยกที่ความเร็วรอบ 2,400 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แยกส่วนที่เป็นของเหลวใส ใส่ขวดสำหรับวัดพลังงานรังสี และเติมสารละลายซินติเลเตอร์ 1 มล ทิ้งไว้ข้ามคืนในที่มืด หลังจากนั้นนำเข้าเครื่องวัดพลังงานรังสี (Beta counter) CPM ที่ได้มาแปลงให้อยู่ในรูปของ % Binding [100 x (CPM/CPM ของสารละลายมาตรฐานเทสโทสเตอโรนที่ 0 พิโคกรัม)] นำค่า % Binding ของสารละลายมาตรฐานมาสร้างกราฟมาตรฐาน ให้แกนตั้ง (แกน Y) ในมาตราเลขคณิต (Arithmic scale) แทน % Binding และแกนนอนในมาตราลอกกาลิทึม (Logarithmic scale) แทนระดับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเทสโทสเตอโรน เพื่ออ่านค่าความเข้มข้นของสารละลายฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจากพลาสมา (หน่วยไมโครกรัม/กรัมของพลาสมา)

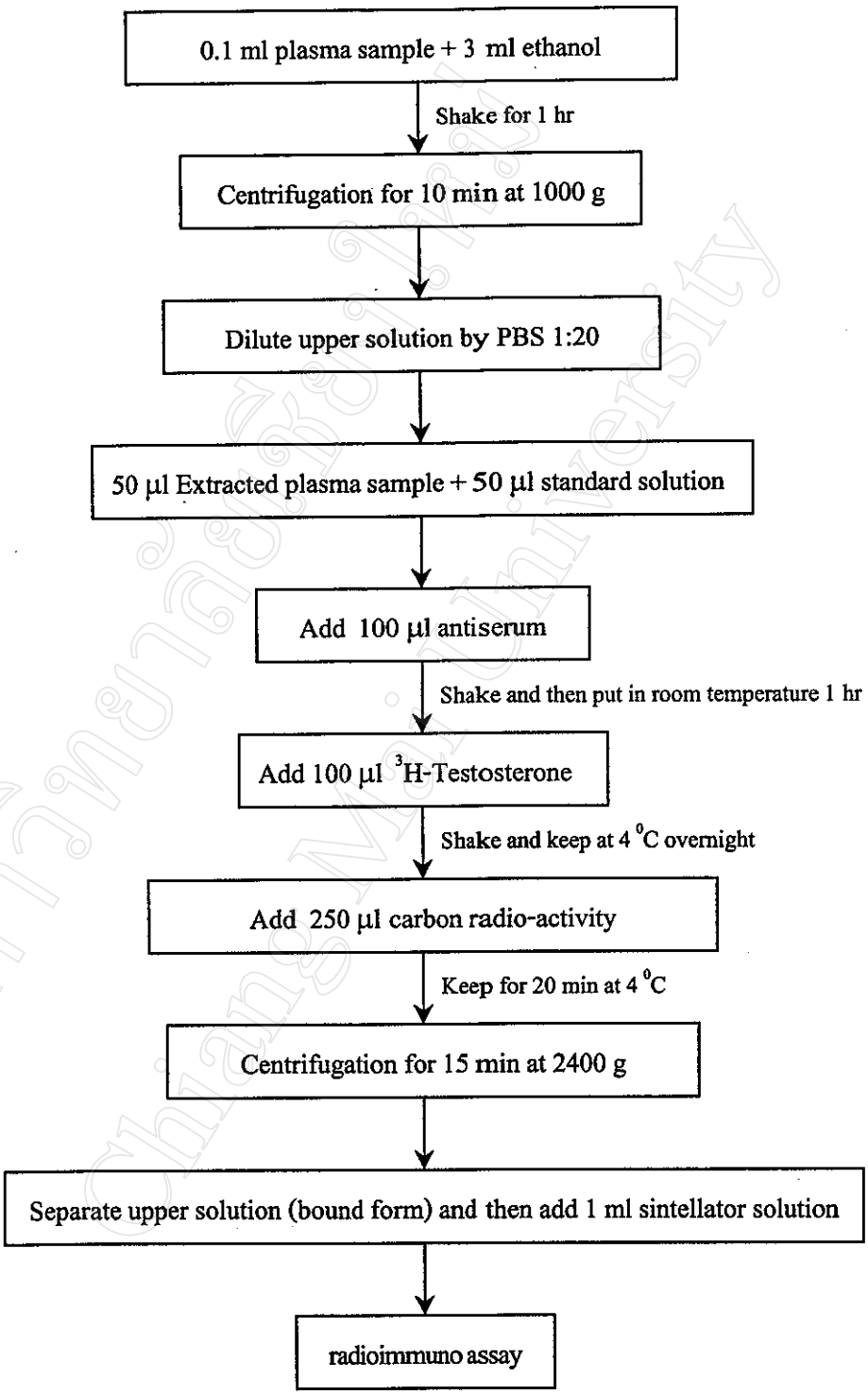


Fig. 32 Steps of testosterone extraction from plasma and testosterone analysis by radioimmuno assay (ศุภมิตร, 2539)

Fig. 33 Radioimmuno assay (RIA)

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

3.1 ทดสอบความแปรปรวนของประชากร โดยวิธี Levene test for Homogeneity of Variance

3.2 วิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถภาพการผลิต คุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ คุณภาพไขมัน และปริมาณ skatole โดยวิธี One-way Analysis of Variance (กรณีความแปรปรวนเท่ากัน) และโดยวิธี Kruskal-Wallis H. Test (กรณีความแปรปรวนไม่เท่ากัน และข้อมูลที่ต้องทดสอบด้วยสถิตินอนพาราเมตริกซ์)

3.3 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference Test

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Science for Window (SPSS/FW) (กัลยา, 2542 และ จรัญ, 2540)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

4. สถานที่ทำการวิจัย

4.1 ฟาร์มสุกร สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.2 ศูนย์ฝึกอบรมเทคโนโลยีเนื้อสัตว์แห่งชาติ (National Meat Technology and Training Center) ถนนห้วยแก้ว ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

4.3 ห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.4 ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.5 ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.6 ห้องปฏิบัติการกลาง คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

5. ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

เดือนมิถุนายน 2542 - มกราคม 2544

ช่วงเวลาที่ปฏิบัติงานวิจัย	การดำเนินงานวิจัย
เดือน มิ.ย. 2542 – ก.พ. 2443	ทำการเลี้ยงสัตว์ทดลอง และเก็บข้อมูลสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซาก
เดือน ก.พ. – มิ.ย. 2543	ทำการศึกษาคุณภาพเนื้อและคุณภาพไขมัน
เดือน มิ.ย. – ก.ย. 2543	วิเคราะห์หาปริมาณ skatole และ testosterone
เดือน ต.ค. 2543 – ม.ค. 2544	รวบรวมข้อมูลและเขียนวิทยานิพนธ์