บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

ชื่ออุปกรณ์และเครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
1. Beaker 50 ml	No. 1000	Pyrex	USA
2. Beaker 100 ml	No. 1000	Pyrex	USA
3. Beaker 500 ml	No. 1000	Pyrex	USA
4. Centrifuge	Magafuge 1.0	Heraeus	Germany
5. Column	DB-Wax	J&W	USA
6. Desiccator	GL 32	Glaswerk Wertheim	Germany
7. Distillation flask	-	Durun	Germany
8. Fat extraction thimble	No. 2800258	Whatman	England
9. Freezer	FC-27	Sharp	Thailand
10. Hot plate thermolyne	Cimaree 3	Northern chemical	Thailand
11. Texture analyzer	TA-XT2i/50	Stable Micro Systems	England
12. Kjeldahl extraction	-	Gerhardt	Germany
13. Kjeldahl flask	-	Gerhardt	Germany
14. Minolta chroma meter	CR-300	Minolta camera CO.,Ltd.	Japan
15. Oven	DEV	Heraeus	Germany
16. pH meter	191	Knick	Germany
17. Round bottom 100 ml	-	Glaswerk Wertheim	Germany
18. Round bottom 250 ml	-	Durun	Germany
19. Soxhlet extraction	-	Gerhardt	Germany
20. Spectrophotometer	4001/4	Thermo Specronic	USA
21. Titration	NW 2.5 mm	Brand	Germany
22. Tube No.13 x 100 mm	-	Pyrex	Germany
23. Volumetric flask 50 ml	-	SCHOTT	Germany

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่ออุปกรณ์และเครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
24. Volumetric flask 100 ml	-	SCHOTT	Germany
25. Volumetric flask 1000 ml	-	SCHOTT	Germany
26. Vortex mixer	G-560 E	Scientific industries,Inc	USA
27. Water bath	-	W. krannich	Germany
28. Whatman No. 1,14	-	Whatman	England
29. Refrigerator	SJ-N72U	Sharp	Thailand

3.2 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	เกรด	บริษัท
1. 1-propanol	Analytical reagent	Fisher
2. 2-propanol	Analytical reagent	Lab-scan
3. 4-dimethylaminobenzaldehyde	Analytical reagent	Merck
4. Absolute alcohol	Analytical reagent	Liquoe Distillery organization
5. Acetic acid	Analytical reagent	Merck
6. Acetylacetone	Analytical reagent	Laboratory Rasayan
7. Ammonium acetate	Analytical reagent	Fisher
8. Ammonium hydroxide	Analytical reagent	J.T.Baker
9. Anhydrous sulfate	Analytical reagent	Merck
10. Anti-foaming agent	Analytical reagent	Fluka
11. Boric acid	Analytical reagent	Merck
12. Chloramine-T-reagent	Analytical reagent	Merck
13. conc. sulfuric acid	Analytical reagent	Merck
14. Copper sulfate	Analytical reagent	Merck
15. Dicholormethane	Commercial grade	BSB General group
16. Distilled water	-	-
17. Ferric chloride hydrate	Analytical reagent	Fisher
18. Formaldehyde 20%	Analytical reagent	Lab-scan
19. Glacial acetic acid	Analytical reagent	Merck

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

20. ชื่อสารเคมี	เกรด	บริษัท
21. Hydrochloric acid	Analytical reagent	Merck
22. Magnesium carbonate	Analytical reagent	HimediaLaboratories Put. Ltd.
23. n-heptane 95 %	Analytical reagent	Lab-scan
24. Perchloric acid	Analytical reagent	Merck
25. Petroleum ether	Analytical reagent	Lab-scan
26. Potassium hydroxide	Analytical reagent	Merck
27. Potassium sulfate	Analytical reagent	Merck
28. Selenium reagent mixture	Analytical reagent	Merck
29. Sodium chloride	Analytical reagent	Merck
30. Sodium hydroxide	Analytical reagent	Merck
31. Sodium metaperiodate	Analytical reagent	Merck
32. Sodium methylate	Analytical reagent	Fluka
33. Sodium sulfate anhydrous	Analytical reagent	Fisher
34. Sulfuric acid	Analytical reagent	Fisher
35. Thiobarbituric acid	Analytical reagent	Fluka

3.3 การทดลอง

3.3.1 สัตว์ทดลอง

สัตว์ที่ใช้ทดลองมี 3 สายพันธุ์ คือไก่พันธุ์ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 จำนวน 80 ตัว เพศผู้ 40 ตัว เพศเมีย 40 ตัว ไก่ลูกผสม (ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 × ไก่โรดไอส์แลนด์เรด) จำนวน 80 ตัว เพศผู้ 40 ตัว เพศเมีย 40 ตัว และไก่กระทงจำนวน 80 ตัว เพศผู้ 40 ตัว เพศเมีย 40 ตัว รวมทั้งหมด 240 ตัว ไก่ที่ใช้ทำการทดลองมีน้ำหนัก 1.2-1.3 กิโลกรัม ไก่ทั้ง 3 สายพันธุ์เลี้ยงโดยอาหารสำเร็จรูปทางการค้า ไก่ประดู่หางดำและไก่ลูกผสมเลี้ยงด้วยอาหารไก่ไข่ และไก่กระทงเลี้ยงด้วยอาหารไก่เนื้อ นำเข้าฆ่าและชำแหละ ทำการเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้ออก (*Pectoralis major*) และกล้ามเนื้อสะโพก (*Bicep femoris*) เพื่อวิเคราะห์คุณภาพเนื้อต่อไป

3.3.2 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

วางแผนการทดลองในการศึกษาแบบ 3x2 factorial in CRD โดยมีปัจจัยในการทดลอง คือ สายพันธุ์ (ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ไก่ลูกผสม และไก่กระทง) และเพศ (เพศผู้และเพศเมีย)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทำการศึกษาในกล้ามเนื้ออกและสะโพก ข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรม SAS version 6.12 (SAS, 1997)

3.4 การศึกษาคุณภาพซาก

นำไก่ทดลองทั้ง 3 พันธุ์ มาแบ่งฆ่า 2 ครั้ง ในแต่ละครั้งมีจำนวนไก่ทดลองและเพศเท่ากัน โดยจะมีการอดอาหาร 6 ชั่วโมง แล้วฆ่าตามกรรมวิธี ของสัญชัย (2550) และตัดแต่งชิ้นส่วนต่างๆ บันทึกน้ำหนักแต่ละชิ้นส่วนทุกขั้นตอน นำข้อมูลที่ได้มาทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของแต่ละชิ้นส่วนต่อน้ำหนักมีชีวิต หรือต่อน้ำหนักซากเย็น

ขั้นตอนการฆ่าชำแหละ ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1. อดอาหารก่อนฆ่า 6 ชม.
2. ชั่งน้ำหนักมีชีวิต
3. ปาดคอเอาเลือดออก แขวนซากไว้ระยะหนึ่งก่อน แล้วจึงชั่งน้ำหนักตัวไก่หลังเอาเลือดออก
4. ลวกน้ำร้อนอุณหภูมิ 70 °C ประมาณ 1 นาที
5. ถอนขนแล้วชั่งน้ำหนักตัวไก่หลังถอนขน
6. เอาเครื่องในออก
7. แช่ตัวไก่ในอ่างน้ำแข็ง จนอุณหภูมิซากลดลงมาที่ 8 °C
8. แขวนซากไว้ในห้องเย็น 3 °C ประมาณ 30 นาทีแล้วชั่งน้ำหนักซาก
9. แขวนซากในห้องเย็นต่อจนครบ 24 ชม. แล้วชั่งน้ำหนักซากเย็น
10. ตัดหัวและชั่งน้ำหนักซากที่เหลือ
11. ตัดคอแล้วชั่งน้ำหนักซากที่เหลือ
12. ตัดแข็งแล้วชั่งน้ำหนักซากที่เหลือ
13. คำนวณเปอร์เซ็นต์ซากจากน้ำหนักซากเย็นต่อน้ำหนักมีชีวิต

การตัดแต่งซากไก่

การตัดแต่งซากไก่ มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ขาและสะโพก (drumstick and thigh) ทำได้โดยใช้มีดคมๆ ตัดแยกส่วนของขาสะโพกออกจากลำตัวไก่ตามแนวกระดูกจากนั้นแบ่งส่วนของขาและสะโพกออกจากกันตามแนวข้อต่อของกระดูก
2. ปีก (wing) ใช้มีดเซาะรอยต่อกระดูก เพื่อเอาปีกออกจากลำตัว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ลำตัว (body) แบ่งส่วนของลำตัวเป็น 2 ส่วนตามแนวขวาง ได้ลำตัวส่วนบน (upper body) และ ลำตัวส่วนล่าง (lower body)

4. อก (breast) แบ่งลำตัวส่วนบน (upper body) ได้อกเป็น 2 ส่วน ตามกึ่งกลางของอก

การตัดแต่งตามหลักสากลจะได้ชิ้นส่วน ขา (leg or drum stick) 2 ชิ้น สะโพก (thigh) 2 ชิ้น ปีก (wing) 2 ชิ้น อก (breast) 2 ชิ้น และลำตัวส่วนท้าย (lower body) 1 ชิ้น

สูตรการคำนวณเปอร์เซ็นต์ต่างๆ ดังนี้

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

$$\text{เปอร์เซ็นต์อวัยวะ} = \frac{\text{น้ำหนักอวัยวะ}}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}} \times 100\ \%$$

หมายเหตุ : น้ำหนักมีชีวิต คือ น้ำหนักตัวของไก่หลังจากอดอาหารเป็นเวลา 6 ชม.

น้ำหนักซากเย็น (chilled carcass weight) คือน้ำหนักซากที่วัดหลังจากแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชม.

3.5 การศึกษาคุณภาพเนื้อ

เนื้อไก่ที่ตัดแต่งแล้วจะถูกเก็บในถุงพลาสติกผนึกแบบสุญญากาศ (vacuum package) โดยเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้ออกและสะโพกเพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพเนื้อ ซึ่งประกอบด้วย

3.5.1 วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ (pH measurement)

วัดค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อที่ 45 นาที และ 24 ชม. หลังฆ่าที่บริเวณกล้ามเนื้ออกและสะโพกด้วยเครื่อง pH – meter (Model 191, Knick, D – Berlin, Germany) โดยใช้ pH electrode แทงเข้าไปในเนื้อลึกประมาณ 0.5 ซม. (สัญชัย, 2555)

3.5.2 วัดค่าสีของเนื้อ (meat color measurement)

วัดค่าสีของเนื้อด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter (Model CR-400, Minolta Camera Co., Ltd., Osaka, Japan) โดยแยกกล้ามเนื้ออกและสะโพกใส่ถุงพลาสติกผนึกปากถุงเก็บที่ 4 °C เป็นเวลา 48 ชม. นำเนื้อออกจากถุงวางในภาชนะเปิดเก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 1 ชม. เพื่อให้เนื้อได้ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน และเกิดสี จะทำการประเมินค่าสีของเนื้อเป็นค่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

L* ค่าความสว่าง (lightness)

a* ค่าความเป็นสีแดง (redness)

b* ค่าความเป็นสีเหลือง (yellowness)

3.5.3 องค์ประกอบทางเคมี (chemical composition)

นำตัวอย่างกล้ามเนื้อออกและสะโพกในแต่ละกลุ่มการทดลอง มาบดเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อ ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความชื้น โปรตีน และไขมัน ของเนื้อด้วยวิธี proximate analysis (AOAC, 2000)

3.5.3.1 การวิเคราะห์หาความชื้น (moisture percentage)

วิธีการ

1. นำถ้วยสำหรับใส่ตัวอย่างวิเคราะห์หาความชื้น (weighing bottle) ที่ล้างสะอาด และเช็ดให้แห้งแล้ว นำไปอบในตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 1 ชม. เพื่อไล่ความชื้นออกจากถ้วย จากนั้นนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น (desiccator) ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งและจด บันทึกน้ำหนักถ้วย
2. ชั่งตัวอย่างเนื้อที่บดละเอียดแล้ว 2 กรัม ใส่ในถ้วยที่อบแล้ว บันทึกน้ำหนักรวมทั้งหมด และนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 4 ชม.
3. นำถ้วยออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งและจดบันทึก ซึ่งน้ำหนักที่หายไปคือ ปริมาณความชื้นและสารที่ระเหยได้ทั้งหมด

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$\text{Moisture percentage} = \left(\frac{A - B}{C} \right) \times 100\ \%$$

เมื่อ A = น้ำหนักถ้วย + น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

B = น้ำหนักถ้วย + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

3.5.3.2 การวิเคราะห์หาโปรตีน (protein percentage)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อที่บดแล้ว 0.5 กรัม แล้วนำใส่ใน kjeldahl flask

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา (K_2SO_4:$CuSO_4$; 20:1) ประมาณ 2 กรัม จากนั้นเติมกรด sulfuric เข้มข้น 15 มิลลิลิตร
3. นำ kjeldahl flask เข้าเครื่องย่อยที่อุณหภูมิ 420 °C นาน 4 ชม. จนได้สารละลายสีเขียวใส ทิ้งให้เย็นและเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. ตวงสารละลาย 4% boric acid 40 มิลลิลิตร ใส่ใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติม screen methylred indicator
5. นำ kjeldahl flask ต่อเข้าเครื่องกลั่น แล้วนำขวด erlenmeyer flask ที่ใส่สารละลาย 4 % boric acid 40 มิลลิลิตร ต่อเข้าอีกปลายของ condenser ของเครื่องกลั่นโดยให้ปลายท่อจุ่มสารละลาย
6. เติม 40% sodium hydroxide จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ขวด kjeldahl flask นำ kjeldahl flask ต่อเข้ากับเครื่องกลั่น กลั่นจนได้สารละลายใน erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร
7. นำสารที่กลั่นได้มาไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.1 N HCl โดยไทเทรตจนสารละลายจากสีเขียวเป็นสีม่วงอมเทา บันทึกปริมาณสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการไทเทรต

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีน

$$\text{Protein percentage} = \left(\frac{(A - B) \times C \times E \times 0.014}{D} \right) \times 100\ \%$$

เมื่อ A = จำนวนปริมาณสารละลายมาตรฐาน HCl 0.1 N ที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = จำนวนปริมาณสารละลายมาตรฐาน HCl 0.1 N ที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)

C = ความเข้มข้น (N) ของสารละลายมาตรฐาน HCl

D = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

E = Kjeldahl factor (6.25)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5.3.3 การวิเคราะห์หาไขมัน (ether extract analysis)

วิธีการ

1. นำขวดสกัดไขมัน (round bottom) ที่ล้างสะอาดและเช็ดให้แห้งแล้ว อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 1 ชม. เพื่อไล่ความชื้น จากนั้นนำขวดออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งและจดบันทึกน้ำหนักขวด
2. ชั่งตัวอย่างเนื้อที่บดแล้ว 2 กรัม ใส่ใน thimble ablundum ที่แห้งและสะอาด
3. นำ thimble ablundum ใส่ลงใน sample containers แล้วต่อกับ holding clips ของเครื่องสกัดไขมันแบบ soxhlet extraction
4. ใส่ dichloromethane ลงในขวดสกัดไขมันที่บันทึกน้ำหนักไว้แล้ว ต่อเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน และเปิดน้ำให้ไหลผ่าน condenser ตลอดเวลา
5. เปิดเครื่องสกัดไขมันโดยใช้ความร้อนสกัดนาน 16 ชม. ด้วยอัตราการกลั่น 2-3 หยดต่อนาที
6. นำ sample container ออกแล้วนำ reclaiming tube ใส่แทนที่ ให้ความร้อน dichloro-methane จะถูกกลั่นและเก็บใน reclaiming tube ส่วนไขมันที่ได้จะอยู่ในขวดสกัดไขมัน
7. นำขวดสกัดไขมันที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 30 นาที จากนั้นนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งและจดบันทึกน้ำหนัก โดยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นภายหลังการสกัดคือ น้ำหนักของไขมันในเนื้อ

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมัน

$$\text{Fat percentage} = \left(\frac{A - B}{C} \right) \times 100\ \%$$

เมื่อ A = น้ำหนักขวดสกัดไขมัน + น้ำหนักไขมันที่อบแล้ว
B = น้ำหนักขวดสกัดไขมัน
C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเตอรอล (cholesterol analysis) (Chaudhry, 2004)

วิธีการ

1. ทำการสกัดไขมันตามวิธีของ AOAC (2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. นำไขมันที่สกัดได้มาละลายด้วย isopropanol ให้มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
3. ดูดไขมันจากข้อ 2 ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge tube
4. เติม ferric chloride 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที
5. นำไปปั่นเหวี่ยงจนได้สารละลายใส
6. ดูดสารละลายส่วนใสมา 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองอีกชุดหนึ่ง
7. เติม conc. H_2SO_4 3 มิลลิลิตร
8. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที
9. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

สูตรในการคำนวณหาปริมาณคอเลสเตอรอล

$$\text{Total cholesterol (mg/100 g of sample)} = \frac{\text{O.D. sample} \times A \times B \times 100}{\text{O.D. standard} \times C}$$

เมื่อ A = ปริมาณ isopropanol (มิลลิลิตร) ที่ใช้ละลายไขมัน
B = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)
O.D. sample = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง
O.D. standard = ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

3.5.5 การวิเคราะห์หาปริมาณไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride analysis) (Bigg *et al*., 1975)

วิธีการ

1. ทำการสกัดไขมันตามวิธีการของ AOAC (2000)
2. นำไขมันที่สกัดได้จากเนื้อมาละลายด้วย isopropanol ให้มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
3. ดูดสารละลายจากข้อ 2 ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 25 มิลลิลิตร
4. เติม n-heptane 2 มิลลิลิตร
5. เติม isopropanol 3.5 มิลลิลิตร
6. เติม sulfuric acid 40 mM 1 มิลลิลิตร
7. ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixture ประมาณ 20 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จนแยกชั้น
8. เตรียมหลอดทดลองอีกหนึ่งชุด เติม sodium alkoxide 2 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

9. ดูดสารละลายที่แยกชั้นในส่วนบนของข้อ 7 จำนวน 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้
10. เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปใส่ตู้อบอุณหภูมิ 60 °C นาน 5 นาที
11. เติม sodium periodate 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
12. เติม acetyl acetone 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำเข้าตู้อบอุณหภูมิ 60 °C นาน 20 นาที
13. ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร

หมายเหตุ : หลอด blank เติมสารละลายทุกอย่างยกเว้นตัวอย่าง

สูตรในการคำนวณหาปริมาณไตรกลีเซอไรด์

$$\text{Total triglyceride (g/100 of sample)} = \frac{A \times \text{O.D. sample} \times B \times 100}{\text{O.D. standard} \times C \times 1000}$$

เมื่อ A = ปริมาณ isopropanol (มิลลิลิตร) ที่ใช้ละลายไขมัน
B = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
C = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)
O.D. sample = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง
O.D. standard = ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน

3.5.6 ค่าออกซิเดชัน (oxidation value) (Rossell, 1994)

การวัดระดับการหืนของไขมัน จะวัดจากค่าของ thiobarbituric acid (TBA)

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเนื้อที่บดละเอียดแล้ว 10 กรัม เติมน้ำกลั่นลงไป 70 มิลลิลิตร
2. ปั่นในเครื่องปั่น (blender) ประมาณ 15 วินาที
3. เทใส่ใน distillation flask แล้วล้าง blender ด้วยน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลาย 4 M HCl 2.5 มิลลิลิตร
5. เติม anti-foming agent 1-2 หยด และหินกันระเบิด 2-3 เม็ด
6. ต่อเข้ากับชุดกลั่น กลั่นจนได้ของเหลวประมาณ 50 มิลลิลิตร
7. ปิเปตสารละลายที่กลั่นได้ 5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย TBA ลงไป 5 มิลลิลิตร
8. นำไปต้มในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 35 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น
9. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร
10. คำนวณหาค่า TBA number จากสูตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หมายเหตุ : หลอด blank ใช้น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และสารละลาย TBA 5 มิลลิลิตร

สูตรการคำนวณหาค่า TBA number

TBA number (mg malondialdehyde/kg sample) = 7.8 × O.D.

เมื่อ O.D. = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

3.5.7 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (water holding capacity: WHC) (สัญชัย, 2555)

3.5.7.1 การสูญเสียน้ำจากการละลาย (thawing loss)

การสูญเสียน้ำจากการละลาย (thawing loss) โดยชั่งน้ำหนักเริ่มต้นกล้ามเนื้ออกและสะโพก (Wt_1) เก็บแบบสุญญากาศ (vacuum) ในถุงพลาสติกชนิดเย็นผนึกปากถุงให้สนิท เก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C รอการวิเคราะห์ต่อไป จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาละลายน้ำแข็ง (thawing) ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชม. นำชิ้นเนื้อออกจากถุง ซับน้ำให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก (Wt_2) คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำขณะทำการละลาย (thawing loss)

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

3.5.7.2 การสูญเสียน้ำจากการประกอบอาหาร (cooking loss)

จากนั้นนำชิ้นเนื้อที่ผ่านการทำละลายแล้วเก็บในถุงร้อนแบบสุญญากาศ ต้มในหม้อต้มน้ำจนได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อประมาณ 80 °C วัดด้วย Thermocouple (T851, Consort, Belgium) ใช้เวลาประมาณ 15-16 นาที ผึ่งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำชิ้นเนื้อออกจากถุง ซับน้ำให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก (Wt_3) คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำจากการประกอบอาหาร (cooking loss) จากสูตร

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5.8 การวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner - Blazler shear force)

นำชิ้นเนื้อออกและสะโพกใส่ในถุงร้อนแบบสุญญากาศต้มในน้ำจนอุณหภูมิใจกลางเนื้อสุดท้ายอยู่ที่ 80 ° C ซึ่งอุณหภูมิใจกลางจะถูกควบคุมด้วยเครื่อง thermocouple จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชม. และซับเนื้อให้แห้ง ใช้หัวเจาะ (core) เนื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. ทำการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อด้วยเครื่อง Texture analyzer (TA-XT2i/50, UK) วัดด้วยความเร็ว 2.0 มิลลิเมตร/วินาที ด้วยความหนา 3 มิลลิเมตร ตัดด้วยใบมีดทำมุม 73 องศา โดยแปลผลเป็นค่าแรงตัดผ่านสูงสุด (maximum force, N หรือ kg) และค่าพลังงาน (energy, J)

3.5.9 การวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจน (collagen content)

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจนที่ละลาย และละลายไม่ได้ในเนื้อ (soluble and in soluble collagen analysis) (Hill, 1969) มีวิธีการดังนี้

ขั้นตอนการแยก (Hill, 1969)

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อที่บดแล้ว 4 กรัม ใส่ในหลอด homogenize ขนาด 30 มิลลิลิตร
2. ใส่ strength ringer solution 8 มิลลิลิตร
3. ทำการบดละเอียด (homogenize) ที่ระดับความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที
4. ต้มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 77 °C นาน 70 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น 1 ชม.
5. ปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 5,200 g นาน 26 นาที
6. แยกส่วนส่วนใน (supernatant) ใส่ลงใน Erlenmeyer flask และส่วน residue ใส่ลงใน Erlenmeyer flask เช่นเดียวกัน

ขั้นตอนการย่อย (AOAC, 2000)

1. เติมกรด sulfuric acid 7 N ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระจกนาฬิกา นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ105 ± 1 °C นาน 16 ชม.
2. นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยกรองผ่านกระดาษกรองใส่ใน volumetric flask ขนาด 500 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น

ขั้นตอนการทำสี (AOAC, 2000)

1. ปิเปตสารละลายที่ได้ในขั้นตอนแรก 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 2 หลอด และทำ blank โดยการเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. เติม oxidant solution 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 ± 2 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. เติม color reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าทันที และปิดฝาหลอดให้สนิท
4. ต้มในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 ± 0.5 °C เป็นเวลา 15 นาที
5. ทำหลอดให้เย็นโดยการเปิดน้ำให้ไหลผ่าน 3 นาที
6. ทำหลอดให้แห้งโดยการเช็ดหรือตั้งทิ้งไว้
7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 558 ± 2 นาโนเมตร

สมการ standard curve h = (y-0.0255)/0.0778

H (กรัม/100 กรัม) = (2.5 x h)/mv

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

h = ความเข้มข้นของ hydroxyproline (ไมโครกรัม/2 มิลลิกรัม)

H = ปริมาณ hydroxyproline (กรัม/100 กรัม)

m = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

v = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ดูดมาทำละลาย (มิลลิลิตร)

ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ = H ของคอลลาเจนที่ละลายได้ x 7.52

ปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลาย = H ของคอลลาเจนที่ไม่ละลาย x 7.25

3.5.10 การประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัส (sensory evaluation)

นำตัวอย่างกล้ามเนื้อออกและสะโพกต้มให้สุก โดยอุณหภูมิใจกลางชิ้นเนื้อเท่ากับ 80 °C จากนั้นตัดให้มีขนาดเท่าๆ กัน แล้วเสริฟให้ผู้ตรวจชิมซึ่งได้ผ่านการฝึกฝนการตรวจชิม (ไพโรจน์, 2535) ผู้ตรวจชิมจะได้รับแบบสอบถามการตรวจชิมเนื้อและฟังบรรยายขั้นตอนการตรวจชิมโดยละเอียด ซึ่งการให้คะแนนพิจารณา 5 ลักษณะคือ ความนุ่ม (tenderness) ความชุ่มฉ่ำ (juiciness) กลิ่นรส (flavor) กลิ่นรสไม่พึงประสงค์ (off flavor) และความพอใจโดยรวม (overall acceptability) โดยให้คะแนนตั้งแต่ 1 ถึง 9 ซึ่งหมายถึง พอใจน้อยที่สุดไปจนถึงพอใจมากที่สุด ยกเว้นลักษณะกลิ่นรสไม่พึงประสงค์จะให้คะแนนตั้งแต่ 1 ถึง 9 ซึ่งหมายถึงรับรู้ถึงกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์น้อยที่สุดไปจนถึงรับรู้ถึงกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์มากที่สุด ผู้ตรวจชิมจะได้รับน้ำและรับประทานขนมหลังจากทดสอบชิมเนื้อแต่ละชิ้น นำคะแนนที่ได้จากผู้ตรวจชิมทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ย

3.6 สถานที่ทำการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

3.6.1 ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.6.2 ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.6.3 ห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.6.4 ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่

3.7 ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

ประมาณ 18 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved