ภาคผนวก

ตาราง 15 การประเมินเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของซากสุกร

น้ำหนักซากสด				ความหนาไขมัน		พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน	
ก.ก.	เปอร์เซ็นต์	ก.ก.	เปอร์เซ็นต์	เซนติเมตร	เปอร์เซ็นต์	ตร.ซม.	เปอร์เซ็นต์
59.1	12.6870	75.0	13.9995	0.76	36.510	22.6	8.125
59.5	12.7245	75.4	14.0370	0.89	36.045	23.2	8.250
60.0	12.7620	75.9	14.0745	1.02	35.580	23.9	8.375
60.4	12.7995	76.4	14.1495	1.14	35.115	24.5	8.500
60.9	12.8370	76.8	14.1495	1.27	34.650	25.2	8.625
61.4	12.8745	77.3	14.1870	1.40	34.185	25.8	8.750
61.8	12.9120	77.7	14.2245	1.52	33.720	26.5	8.875
62.3	12.9495	78.2	14.2620	1.65	33.255	27.1	9.000
62.7	12.9870	78.6	14.2995	1.78	32.790	27.7	9.125
63.2	13.0245	79.1	14.3370	1.90	32.325	28.4	9.250
63.6	13.0620	79.5	14.3745	2.03	31.860	29.0	9.375
64.1	13.0995	80.0	14.4120	2.16	31.395	29.7	9.500
64.5	13.1370	80.4	14.4495	2.29	30.930	30.3	9.625
65.0	13.1745	80.9	14.4870	2.41	30.465	31.0	9.750
65.4	13.2120	81.4	14.5245	2.54	30.000	31.6	9.875
65.9	13.2495	81.8	14.5620	2.67	29.535	32.3	10.000
66.4	13.2870	82.3	14.5995	2.79	29.070	32.9	10.125
66.8	13.3245	82.7	14.6370	2.92	28.605	33.5	10.250
67.3	13.3620	83.2	14.6745	3.05	28.140	34.2	10.375
67.7	13.3995	83.6	14.7120	3.18	27.675	34.8	10.500
68.2	13.4370	84.1	14.7495	3.30	27.210	35.5	10.625
68.6	13.4745	84.5	14.7870	3.43	26.745	36.1	10.750
69.1	13.5120	85.0	14.8245	3.56	26.280	36.8	10.875
69.5	13.5495	85.4	14.8620	3.68	25.815	37.4	11.000
70.0	13.5870	85.9	14.8995	3.81	25.350	38.1	11.125
70.4	13.6245	86.4	14.9370	3.93	24.885	38.7	11.250

ตาราง 15 (ต่อ)

น้ำหนักซากสด[1]				ความหนาไขมัน[2]		พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน[3]	
ก.ก.	เปอร์เซ็นต์	ก.ก.	เปอร์เซ็นต์	เซนติเมตร	เปอร์เซ็นต์	ตร.ซม.	เปอร์เซ็นต์
70.9	13.6620	86.8	14.9745	4.06	24.420	39.4	11.375
71.4	13.6995	87.3	15.0120	4.19	23.955	40.0	11.500
71.8	13.7370	87.7	15.0495	4.32	23.490	40.6	11.625
72.3	13.7745	88.2	15.0870	4.44	23.025	41.3	11.750
72.7	13.8120	88.6	15.1245	4.57	22.560	41.9	11.875
73.2	13.8495	89.1	15.1620	4.70	22.095	42.6	12.000
73.6	13.8870	89.5	15.1995	4.83	21.630	43.2	12.125
74.1	13.9245	90.0	15.2370	4.95	21.165	43.9	12.250
74.5	13.9620	90.4	15.2745	5.08	20.700	44.5	12.375
		90.9	15.3120			45.2	12.500

หมายเหตุ: [1] = น้ำหนักซากสด เท่ากับบวกหรือลบ 0.0825 เปอร์เซ็นต์ สำหรับน้ำหนักที่เปลี่ยนไป 1 กิโลกรัม

[2] = ความหนาไขมัน คือ บวกหรือลบ 0.465 เปอร์เซ็นต์ สำหรับความหนาไขมันที่เปลี่ยนไป0.127 เซนติเมตร

[3] = พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน คือ บวกหรือลบ 0.125 เปอร์เซ็นต์ สำหรับพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันที่เปลี่ยนไป 0.645 ตารางเซนติเมตร

การศึกษาคุณภาพซากในสุกร

1. น้ำหนักมีชีวิต น้ำหนักสัตว์ที่ฆ่า หลังจากกักไว้ โดยให้อดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา

2. น้ำหนักซากอุ่น น้ำหนักซากภายหลังถูกฆ่าโดยแยกเอาเลือด และอวัยวะภายในออกแล้ว ยกเว้นไต ยังคงติดอยู่กับซาก

3. เปอร์เซ็นต์ซาก = $\frac{(\text{น้ำหนักซากอุ่น-3\%ของน้ำหนักซากอุ่น})}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}}$ .....สมการที่ 7

4. ความยาวซาก วัดความยาวจาก ซี่โครงซี่แรก ถึงหัวกระดูกเชิงกราน (pelvic)

5. ความหนามันสันหลังวัด 3 จุด คือ บริเวณซี่โครงซี่แรก (first rib)บริเวณซี่โครงซี่สุดท้าย (last rib) และบริเวณกระดูก last lumbar (lumbar ข้อสุดท้าย) การวัดจะรวมหนังด้วย จากนั้นนำ 3 ค่ามารวมกันเพื่อหาค่าเฉลี่ย

6. พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (Loin eye area) ตัดกล้ามเนื้อสันระหว่างซี่โครงที่ 10 กับ 11 ตามขวาง ใช้กระดาษลอกลายวัดขนาด พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน นำไปอ่านค่าพื้นที่ด้วยแผ่นมาตราวัดพื้นที่เนื้อสัน

7. ชั่งน้ำหนักเครื่องใน ได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ ม้าม และไส้

การประเมินเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงจากซากสุกร

1. น้ำหนักซากสด คือ น้ำหนักตัวสุกรที่ฆ่าและขูดขน ตัดหัว รวมทั้งเอาอวัยวะภายในออกหมดแล้วจึงชั่งน้ำหนักบันทึกก่อนเก็บไว้

2. ความหนาไขมัน ใช้มีดตัดขวางกล้ามเนื้อสันนอก ณ ซี่โครงที่ 10 แล้วจึงใช้เลื่อยเลื่อยกระดูกสันหลังให้ขาดออกจากกัน ซึ่งก็จะมองเห็นหน้าตัดกล้ามเนื้อสันนอกได้เลย วัดความหนาของไขมันโดยวัดรวมหนังด้วย ณ จุดที่ 3 ใน 4 ของความกว้างของกล้ามเนื้อสันนอก และวัดให้ตั้งฉากกับกล้ามเนื้อนี้ด้วย บันทึกข้อมูลไว้

3. พื้นที่หน้าตัดเนื้อสันนอก ใช้กระดาษลอกลายทาบบนหน้าตัดเนื้อสันนอกแล้วลากเส้นตามลอยของกล้ามเนื้อสันนอกด้วยดินสอ ก่อนนำไปวัดเป็นพื้นที่ตารางนิ้ว หรือเซนติเมตรด้วยแผ่นมาตราวัดพื้นที่เนื้อสัน

นำข้อมูลทั้ง 3 ข้างต้นไปเปรียบเทียบกับตารางการประเมินเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของซากสุกร แล้วจะได้ค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของแต่ละข้อมูล ซึ่งเมื่อนำมาบวกกันทั้งหมดแล้วจะได้เปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของซาก

วิธีการวิเคราะห์หาความชื้น และวัตถุแห้ง

1. หลักการ

ความชื้นหรือน้ำเป็นองค์ประกอบอย่างหนึ่งในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ซึ่งจะมีปริมาณผกผันกับปริมาณของวัตถุแห้ง (Dry matter) วัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดมีปริมาณความชื้นแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและปัจจัยต่างๆ

2. อุปกรณ์

2.1 เตาอบแห้ง (drying oven)

2.2 จานอลูมิเนียม (aluminium pan)

2.3 โถดูดความชื้น (dessicator)

2.4 คีมสำหรับจับจานอลูมิเนียม (tong)

2.5 เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3. วิธีการหาความชื้นโดยการอบแห้ง

3.1 หาน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยหาความชื้นโดยนำถ้วยหาความชื้นที่สะอาดเข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100-200 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วเอาใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นนาน 30 นาที

3.2 ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 2-5 กรัม ใส่ลงในถ้วยหาความชื้น

3.3 นำถ้วยหาความชื้น เข้าอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100-102 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 หรือ 12 ชั่วโมง

3.4 นำถ้วยหาความชื้น ออกจากตู้อบ ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก

4. การคำนวณ

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{(A-B)}{A} \times 100 \quad \text{.....สมการที่ 8}$$

$$\% \text{ วัตถุแห้ง} = \frac{(X-Y)}{W} \times 100 \quad \text{.....สมการที่ 9}$$

A = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

B = น้ำหนักตัวอย่างกหลังอบ

X = น้ำหนักถ้วยหาความชื้น + ตัวอย่างหลังอบ

Y = น้ำหนักถ้วยหาความชื้น (ถ้วยเปล่า)

W = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

1. หลักการ

ไขมันเป็นสารอินทรีย์ (Organic matter) ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชและสัตว์ มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ (Water insoluble) แต่ละลายได้ดีใน organic solvent เช่น benzene, ether, chloroform, dichloromethane และอื่นๆ ไขมันในอาหารสัตว์ที่ได้จากการสกัดด้วยสาร organic solvent ประกอบไปด้วยไขมันแท้ (true fat) และสารคล้ายไขมัน (fat like substances) เช่น wax, volatile acids, alcohol และ pigments ต่างๆ

2. การหาค่าไขมันโดยคำนวณจากน้ำหนักอาหารที่หายไป

2.1 ชั่งน้ำหนักอาหาร 2 กรัม ใส่ใสกระดาษกรอง (ห่อกระดาษให้แน่นเพื่อไม่ให้อาหารหลุดออกมาในขณะทำการสกัดไขมัน) นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก

2.2 นำห่อตัวอย่างใส่ใน soxhlet tube แล้วต่อเข้ากับ condenser และ extraction flask

2.3 เติม Petroleum ether ลงในฟลาสประมาณ 2/3 ของฟลาส

2.4 ทำการกลั่นโดยควบคุมให้มีการควบแน่นของสารเคมี 5-6 หยดต่อนาทีเป็นเวลา 10-16 ชั่วโมง

2.5 นำห่อตัวอย่างออกจาก soxhlet tube และนำเข้าในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หรือจนกว่าตัวอย่างแห้ง

2.6 ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักที่หายไปเป็นน้ำหนักของ ether extract หรือ crude fat)

3. การคำนวณ

$$\% \text{ Ether extract} = \frac{(X-Y) \times 100}{W} \quad \text{.....สมการที่ 10}$$

X = น้ำหนักกระดาษกรอง + ตัวอย่างอาหาร (หลังอบในตู้อบ 2 ชั่วโมง)

Y = น้ำหนักกระดาษกรอง + ตัวอย่างอาหาร (หลังจากสกัดไขมัน)

W = น้ำหนักตัวอย่าง

การวิเคราะห์โปรตีน โดยใช้วิธี Kjedahl Method

1. หลักการ

ไนโตรเจนส่วนใหญ่ในอาหารสัตว์คือโปรตีน โดยปกติโปรตีนจะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์หาค่าไนโตรเจน แล้วคูณด้วย 6.25 จะได้เปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวอย่าง

2. วิธีการ

ใช้วิธี Kjedahl Method ซึ่งเป็นวิธีหาไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร มี 3 ขั้นตอนดังนี้

2.1 การย่อย เป็นการเปลี่ยนสารไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของ $(NH_4)_2SO_4$ โดยใช้กรดกำมะถันเข้มข้น

2.2 การกลั่น เป็นการกลั่นเพื่อนไล่แอมโมเนียออกมาโดยใช้โซเดียมไฮดร็อกไซด์และเก็บไว้ในสารละลายกรดบอริค

2.3 การไตเตรทเพื่อหาปริมาณสารละลายกรดมาตรฐานที่ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนีย

3. อุปกรณ์

3.1 เตาย่อยตัวอย่างพร้อมเครื่องดูดไอกรด

3.2 เครื่องกลั่นโปรตีน พร้อม cooling bath circulator

3.3 กระบอกตวงขนาด 20 มล., 25 มล.

3.4 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.

3.5 บีกเกอร์ ขนาด 250 มล., 100 มล.

3.6 หลอดย่อยสำหรับเตาย่อย

3.7 ช้อนตักสาร

3.8 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.9 บิวเรต พร้อม Stand

4. สารเคมี

4.1 Catalyst mixture (ประกอบด้วย โปตัสเซียมซัลเฟต 100 กรัม บวกคอปเปอร์ซัลเฟต 7 กรัม)

4.2 กรดซัลฟูริคเข้มข้น

4.3 สารละลาย NaOH 40 %

4.4 สารละลาย NaOH 20 %

4.5 สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.1 N

4.6 สารละลายกรดบอริค 4 %

4.7 Mix indicator

5. ขั้นตอนการวิเคราะห์โปรตีนด้วยเครื่องกึ่งอัตโนมัติ (VELP)

5.1 การเตรียมเครื่องดูดไอกรด และปรับให้เป็นกลาง

5.1.1 ใส่น้ำลงในอ่างของเครื่องให้ได้ขีด Maximum

5.1.2 ใส่ขวดพลาสติกบรรจุสารละลาย NaOH 20 % 1 ลิตร และขวดพลาสติกเปล่าที่ตัวเครื่อง

5.1.3 เปิดสวิตช์ให้เครื่องทำงาน

5.1.4 กด set เพื่อเลือก menu ที่ DK6

5.2 การเตรียม และย่อยตัวอย่าง

5.21 ชั่งตัวอย่างอาหาร 0.5-1.5 กรัม (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ลงในหลอดย่อย

5.2.2 เติม Catalyst mixture ลงไป 7-10 กรัม

5.2.3 เติมกรดกำมะถันเข้มข้น ประมาณ 20 มล. (ทำในตู้ดูดควัน)

5.2.4 ตั้งส่วนผสมที่อยู่ในหลอดบนเตาย่อย เปิดเตาให้ทำงานย่อย ที่อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส เปิดชุดดูดควันพร้อมย่อยจนกว่าส่วนผสมทั้งหมดใส เมื่อใสแล้วปิดเตาย่อยและทิ้งไว้ให้เย็น (ประมาณ 20 นาที ขึ้นอยู่กับความร้อนที่สะสมในเตา)

5.3 การกลั่น

5.3.1 นำหลอดที่ใส่ส่วนผสมที่ใส ซึ่งผ่านการย่อยแล้ว ไปต่อเข้าเครื่องกลั่น แล้วนำขวดรูปชมพู่ที่ใส่สารละลายบอริค จำนวน 50 มล. และ Mix indicator ประมาณ 3 หยด วางรองรับแอมโมเนียที่ได้จากการกลั่น ให้ปลายของคอนเดนเซอร์จุ่มอยู่ต่ำกว่าระดับของสารละลายกรดบอริค

5.3.2 ให้เครื่องกลั่นเติมน้ำกลั่นและสารละลาย NaOH 40 % ลงไป โดยตั้งโปรแกรมของเครื่องที่ program 01 (ตั้งเวลากลั่นไว้ 4 นาที) โดยการกด enter สังเกตการเปลี่ยนสีของหลอดย่อยจะเป็นสีฟ้าเขียว แสดงถึงแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะถูกจับไว้ด้วยสารละลายกรดบอริค 4 %

5.4 การไตเตรต

นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไตเตรต กับสารลายมาตรฐานกรดเกลือ หรือกรดกำมะถัน 0.1 N (สารละลายในขวดเปลี่ยนกลับเป็นสีเดิม)

5.5 การคำนวณ

$$\% \text{ Nitrogen (N)} = \frac{(V2 - V1) \times N \times 1.4}{W} \quad \text{.....สมการที่ 11}$$

% Crude Protein = 6.25 x % Nitrogen

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 = 0.1 N

V1 = ปริมาตรของของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรต blank

V2 = ปริมาตรของของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง

W = น้ำหนักตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

1. หลักการ

เผาตัวอย่างอาหารด้วยความร้อนสูง (ประมาณ 550-600 องศาเซลเซียส) สารอินทรีย์จะสลายตัวกลายเป็นน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนที่เหลือคือเถ้า ซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ประกอบด้วยแร่ธาตุหลายชนิด

2. วิธีการ

2.1 หาน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยเผา (ล้างถ้วยเผาให้สะอาดนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักทำจนได้น้ำหนักคงที่)

2.2 ชั่งตัวอย่างอาหารที่บดละเอียด ประมาณ 2-5 กรัม ใส่ลงในถ้วยเผา

2.3 นำไปเผาให้หมดควัน (ในตู้ดูดควัน) ด้วย hot plate

2.4 นำถ้วยเผาเข้าเผาต่อในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3-10 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะได้เถ้าที่สมบูรณ์ ไม่มีส่วนที่เป็นสีดำเหลืออยู่ (ระยะเวลาที่ใช้เผาขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของตัวอย่าง) หรือถ้าหลังจากเผาเถ้ายังไม่เป็นสีขาวให้หยดน้ำกลั่นหรือแอมโมเนียคาร์บอเนตลงไปให้เถ้าเปียก ระเหยให้แห้งแล้วเผาต่อ

2.5 นำถ้วยเผาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก

3. การคำนวณ

$$\% \text{ เถ้า} = \frac{B - A}{W} \times 100 \qquad \text{.....สมการที่ 12}$$

A = น้ำหนักกรูซิเบิลเปล่า

B = น้ำหนักกรูซิเบิล + ตัวอย่างหลังเผา

W = น้ำหนักตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

1. หลักการ

ทำให้สารที่ไม่ใช่พวกผนังเซลล์ของพืช อยู่ในรูปของสารละลายโดยใช้สารละลายกรดและด่าง คือ Sulfuric acid และ Potassium hydroxide หรือ Sodium hydroxide (สารเหล่านี้คือพวกสารประกอบภายในเซลล์เป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ แป้ง น้ำตาลและโปรตีน เป็นต้น)

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย

2.2 ภาชนะใส่สารละลายกรดและด่างที่สามารถต้มได้

2.3 hotplate

2.4 Filter หรือ sintered glass crucible

2.5 เครื่องชั่งละเอียด

2.6 โถดูดความชื้น

2.7 hot air over

2.8 Muffle furnace

3. สารเคมี

3.1 Sulfuric acid 1.25 %

3.2 Potassium hydroxide หรือ Sodium hydroxide 1.25 %

3.3 N-octanol ใช้เป็น Antifoam

3.4 Acetone

3.5 Celited

4. วิธีการวิเคราะห์

4.1 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่บดละเอียดประมาณ 1 กรัม โดยทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่ลงใน Filter glass crucible แล้วใส่ สารซีไลส์ลงไปใน glass crucible ให้มีความสูงประมาณ 0.5 เซนติเมตร เพื่อช่วยในการกรอง (กรณีที่ตัวอย่างเป็นอาหารข้น)

4.2 วาง Filter glass crucible ที่มีตัวอย่างบนแป้นเครื่อง ในส่วนที่สกัดด้วยความร้อนแล้วโยกคันล๊อค

4.3 เติม Sulfuric acid 1.25 % 150 มล. หลังจากทำให้ร้อนเพื่อลดเวลาในการต้มให้เดือด

4.4 เติม N-octanol 3-5 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง

4.5 เปิดสวิตซ์ไฟให้ความร้อนสูงสุด เพื่อต้มสารละลายที่มีตัวอย่างอยู่ให้เดือด หลังจากส่วนผสมเดือดแล้ว ลดความร้อนลงประมาณครึ่งหนึ่ง แล้วต้มต่อไปอีก 30 นาที

4.6 เมื่อครบเวลา 30 นาที เปิดลิ้นไปที่ Vacuum เพื่อระบาย Sulfuric acid ออก

4.7 ล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 ครั้งๆ ละ 30 มล. ในการล้างแต่ละครั้งให้เปิดลิ้นไปที่ Pressure เพื่อดันให้อากาศผ่านฐาน crucible ทำให้ส่วนผสมใน crucible คลุกเคล้าโดยตลอด

4.8 หลังจากปล่อยน้ำล้างครั้งสุดท้ายออกจนหมดแล้วเติมสารละลาย Potassium hydroxide 12.5 % ที่ทำให้ร้อนไว้ก่อนแล้วลงไป 150 มล. พร้อมกับเติม N-octanol 3-5 หยด

4.9 ต้มให้เดือดนาน 30 นาที เช่นเดียวกับข้อ 5

4.10 ทำขั้นตอนที่ 6 และ 7 ซ้ำ

4.11 ล้างด้วยน้ำกลั่นเย็นอีก 1 ครั้ง แล้วล้างอีก 3 ครั้งด้วย Acetone ประมาณ 25 มล.

4.12 ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักซึ่งค่านี้เป็นน้ำหนักแห้งของ Filter glass crucible ที่มีเยื่อใยรวมกับน้ำหนักของเถ้า

4.13 นำ crucible ในข้อ 12 ไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หรือ ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่ได้เป็นน้ำหนักของเถ้าบวกกับ Filter glass crucible เมื่อนำน้ำหนักที่ได้ ไปหักออกจากน้ำหนักในข้อ 12 จะได้น้ำหนักของเยื่อใย

หมายเหตุ ก่อนเปิดสวิตซ์ให้เครื่องสกัดเยื่อใยทำงาน ต้องเปิดสวิตซ์ ปั๊มที่ cooling bath circulator ซึ่งตั้งอุณหภูมิน้ำไว้ประมาณ 10-12 องศาเซลเซียส เพื่อให้น้ำเย็นไหลเข้าเครื่อง

5. การคำนวณ

$$\% \text{ เยื่อใย} = \frac{(X - Y)}{W} \times 100 \qquad \text{.....สมการที่ 13}$$

X = น้ำหนักของ Filter glass crucible ที่มีตัวอย่างหลังต้มด้วยเครื่องและอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส

Y = น้ำหนักของ Filter glass crucible ที่มีตัวอย่างหลังเผาที่ อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส

W = น้ำหนักตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียม

1. หลักการ

เปลี่ยนแคลเซียมที่รวมตัวกับธาตุอื่นๆ ให้อยู่ในรูปของ oxide แล้วตกตะกอนแคลเซียมออกมาในรูปของ oxalate ซึ่งละลายได้ในกรดซัลฟูริค จากนั้นไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน $KMnO_4$

2. อุปกรณ์

2.1 ถ้วยเผา (Crucible)

2.2 บีกเกอร์ขนาด 250 มล.

2.3 วอลลูเมตรริกฟลาส ขนาด 250 มล.

2.4 กระดาษกรองเบอร์ 40

2.5 กระจกนาฬิกา

2.6 เตาเผา (Muffle furnace)

2.7 Hot plate

3. สารเคมี

3.1 กรด HNO_3 เข้มข้น

3.2 HCL 50 %

3.3 HCL 6 N

3.4 Ammonium hydroxide เข้มข้น (con.NH_4OH)

3.5 กรดซัลฟูริคเข้มข้น (con.H_2SO_4)

3.6 Urea

3.7 Ammonium oxalate 4 % หรือ saturated

3.8 Ammonium solution (ใช้ ammonium hydroxide : น้ำกลั่น = 1 : 50 มล.)

3.9 Std. $KMnO_4$ 0.05 N

3.10 Methyl red (indicator)

4. วิธีทำ

4.1 การเตรียมสารละลายสำหรับหาแคลเซียม

4.1.1 ชั่งตัวอย่างอาหารที่บดละเอียดแล้วใส่ในถ้วยเผา 2-5 กรัม (รู้น้ำหนักแน่นอน)

4.1.2 นำไปเผาให้หมดควันแล้วเอาไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 4-6 ชั่วโมง หรือเผาจนได้เถ้าสมบูรณ์ นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็น

4.1.3 หยดกรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc.) ลงไปในเถ้าให้เปียกชื้นให้ทั่ว

4.1.4 นำไปเผาให้แห้งบน hot plate (เผาในตู้ดูดควัน) จนหมดควันกรด แล้วนำเข้าเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส 1 ½ ชั่วโมง จะได้เถ้าสีขาว – เทา ให้ทำข้อ 4.1.3 ซ้ำ

4.1.5 เมื่อได้เถ้าสีขาว – เทา แล้วให้เติม NCL 50 % จำนวน 10 มล. แล้วนำไปต้มเพื่อละลายเถ้า (ใช้เวลาประมาณ 20-30 นาที ต้มในตู้ดูดควัน)

4.1.6 ถ่ายสารละลายที่เย็นแล้วลงในวอลลูเมตริกฟลาส ขนาด 250 มล. โดยใช้น้ำกลั่น 2 ครั้ง ชะล้างสารละลายให้หมด แล้วเติมน้ำกลั่น 2 ครั้ง ให้ได้ปริมาตร 250 มล.

4.2 การวิเคาะห์หาแคลเซียม

4.2.1 ไปเปตเอาสารละลายในวอลลูเมตริกฟลาส มา 50 มล. ใส่ลงในบีกเกอร์ขนา 250 มล. แล้วหยด methyl red ลงไป 1-2 หยด

4.2.2 หยด ammonium hydroxide เข้มข้น (NH_4OH conc.) ลงไปทีละหยดพร้อมคนสารละลายจนได้สีเหลือง

4.2.3 เติม HCL 6 N ใส่ลงไป 1-5 มล.

4.2.4 ชั่งยูเรีย 5 กรัม ใส่ลงไป

4.2.5 เติม ammonium oxalate 4 % จำนวน 5 มล. ใส่ลงไป ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา นำไปต้มใช้ไฟไม่แรงนักจนเดือดและได้สารละลายเป็นสีส้ม (อย่าต้มจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีอื่น)รีบยกลงปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

4.2.6 นำสารละลายกรอง (ใช้กระดาษกรองเบอร์ 40) โดยชะล้างเอาตะกอนลงมาให้หมดด้วยสารละลายแอมโมเนีย แล้วล้างตะกอนด้วยสารละลายแอมโมเนีย เพื่อเอา ammonium oxalate ออกให้หมด

4.2.7 ชะล้างตะกอนลงใส่ในบีกเกอร์ใบเดิมที่ใช้ต้ม ใช้น้ำกลั่น 2 ครั้ง ฉีดล้างตะกอนลงไปให้หมด จำนวนน้ำกลั่นที่ใช้ล้างควรจะใช้ประมาณ 75-100 มล. (กระดาษกรองให้เก็บไว้ก่อน)

4.2.8 เติมกรดซัลฟูริค (con.H_2SO_4) 2.5 มล. ใส่ลงไป

4.2.9 นำไปต้มให้สารละลายร้อนมีไอกรุ่นๆ (หรือมีอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส) แล้วรีบนำไปไตเตรตด้วย $KMnO_4$ 0.05 N จนสารละลายในบีกเกอร์เปลี่ยนเป็นสีม่วงหยุดไตเตรต นำเอากระดาษกรองจากข้อ 7 ใส่ลงไปในบีกเกอร์ กดให้จมอยู่ในสารละลายแล้วไตเตรตต่อ จนได้สีของสารละลายเป็นสีม่วงคงอยู่ 30 วินาที จดปริมาตรของ $KMnO_4$ ที่ใช้นำไปคำนวณหา % แคลเซียม

5. การคำนวณ

$$\% Ca = \frac{V \times 0.001 \times C \times 100}{W} \quad \text{.....สมการที่ 14}$$

V = ปริมาตรของ $KMnO_4$ ที่ใช้ในการไตเตรต

C = อัตราส่วนของปริมาตรสารละลานทั้งหมดที่เตรียม : ปริมาตรที่นำไปวิเคราะห์

W = น้ำหนักตัวอย่า'

Std. $KMnO_4$ 0.05 N จำนวน 1 มล. = แคลเซียม 0.001 กรัม

6. ข้อควรระวัง

6.1 หลังจากไตเตรตเสร็จแล้วให้รีบทำความสะอาดบิวเรตทันที อย่าใส่ $KMnO_4$ แช่ทิ้งไว้ในบิวเรต

6.2 ระวังอย่าให้ไอของ ammonium hydroxide เข้มข้นเข้าตาและจมูก หลังจากใช้ ammonium hydroxide เข้มข้นเสร็จแล้วให้เก็บไว้ในตู้เย็น

การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟัสโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่อง Spectrophotometer

1.2 วอลลูเมตริกฟลาส ขนาด 100, 200, 1000, 2000 มล.

1.3 ไปเปต

2. สารเคมี

2.1 Ammonium molybdate [$(NH_4)_6 Mo_7O_{24} 4H_2O$]

2.2 Ammonium metavanadate (NH_4VO_3)

2.3 Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)

2.4 HCL (1:3)

2.5 Perchloric acid (70%), $HCLO_4$

3. วิธีการ

3.1 การเตรียมสารละลาย Molybdovanadate

3.1.1 ละลายสาร Ammonium molybdate 40 กรัม ในน้ำกลั่นร้อน 400 มล. แล้วตั้งไว้ให้เย็น

3.1.2 ละลายสาร Ammonium metavanadate 2 กรัม ในน้ำกลั่นร้อน 250 มล. ตั้งไว้ให้เย็นแล้วเติม $HCLO_4$ (70%) 250 มล.

3.1.3 เทสารละลายในข้อ 3.1.1 ลงในสารละลายข้อ 3.1.2 อย่างช้าๆ คนให้เข้ากัน แล้วปรับให้ได้ปริมาตร 2 ลิตร

3.2 การเตรียมสารละลาย Phosphorus standard

3.2.1 เตรียม Stock solution ที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 2 มก./มล. ละลาย KH_2PO_4 จำนวน 8.788 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

3.2.2 เตรีนม Working solution ที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 0.1 มก./มล. ไปเปตสารละลาย Stock solution จำนวน 50 มล. แล้วปรับให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

3.3 การเตรียม Standard curve

3.3.1 เตรียม Working solution มาจำนวน 5, 8, 10 และ 15 มล. (ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 0.5, 0.8, 1.0 และ 1.5 มก./มล. ตามลำดับ) ใส่ลงในวอลลูเมตริกฟลาส ขนาด 100 มล.

3.3.2 เทสารละลาย Working solution ใส่ลงในหลอดอ่านค่า

3.3.3 นำไปอ่านค่า Absorbance จากเครื่อง Spectrophotometer ที่ 400 nm. (ต้องทำ blank ด้วย)

3.3.4 นำค่าที่อ่านได้ไป Plot curve ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส (มก.) ต่อค่า Absorbance ที่อ่านได้เป็น Standard curve

3.4 วิธีการหาฟอสฟอรัสในอาหารสัตว์

3.4.1 ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม (ถ้าเป็นตัวอย่างที่มีฟอสฟอรัสน้อยควรใช้ตัวอย่างเพิ่มขึ้นเป็น 4-5 กรัม) ใส่ในกรูซิเบิล

3.4.2 นำไปเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง นำออกมาตั้งไว้ให้เย็น

3.4.3 เติม HCL (1:3) จำนวน 40 มล. และ HNO_3 เข้มข้น 8-10 หยด นำไปต้มให้เดือดแล้วยกลงตั้งไว้ให้เย็น ถ่ายตะกอนลงในวอลลูเมตริกฟลาส แล้วปรับให้ได้ปริมาตร 200 มล.

3.4.4 ไปเปตสารละลาย จากข้อ 3.4.3 จำนวน 2 มล. (ถ้าเป็นตัวอย่างอาหารที่มีฟอสฟอรัสน้อย ต้องเพิ่มเป็น 20 มล.) ใส่ลงในวอลลูเมตริกฟลาส ขนาด 100 มล.

3.4.5 เติมสารละลาย Molybdovanadate จำนวน 20 มล. แล้วปรับให้ได้ปริมาตร 100 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ 10 นาที

3.4.6 นำไปอ่านค่า Absorbance จากเครื่อง Spectrophotometer ที่ 400 nm. แล้วเปลี่ยนเป็นค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัส (มก.) โดยเทียบจาก Standard curve

4. การคำนวณ

$$\% P = \frac{mg.P \times C}{W \times 10} \quad \text{.....สมการที่ 15}$$

C = อัตราส่วนของสารละลายทั้งหมด : จำนวนสารละลายที่ใช้วิเคราะห์

W = น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

5. ข้อแนะนำ

5.1 ต้องทำ blank ทุกครั้ง

5.2 ควรทำการเช็ค Standard curve บ่อยๆ

5.3 ถ้าสาร $HClO_4$ หยดลงบนโต๊ะปฏิบัติการให้รีบทำความสะอาดทันที ด้วยน้ำจำนวนมากๆ

หาจำนวนเชื้อ LAB โดยวิธีการ Pour plate

1. การเจือจางตัวอย่าง

ขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงเพื่อลดความหนาแน่นของจุลินทรีย์ในตัวอย่างให้อยู่ในระดับที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ โดยทั่วไป มักทำให้ตัวอย่างเจือจางลงครั้งละ 10 เท่า (10 – fold dilution) ซึ่งทำได้โดยผสมตัวอย่างกับสารละลายสำหรับเจือจางในอัตราส่วน 1:9 เป็นลำดับ

โดยเริ่มแรกชั่งตัวอย่างน้ำหนักที่แน่นอน เช่น 10, 25 หรือ 50 กรัม ผสมกับสารละลายสำหรับเจือจางปริมาตร 90, 225 หรือ 450 มล. ตามลำดับ จากนั้นจึงทำให้เป็นเนื้อเดียวกันจะได้ตัวอย่างที่เจือจางลงจากเดิม 10 เท่า (1/10 หรือ 10^{-1}) สำหรับการเจือจางตัวอย่างความเจือจาง 10^{-1} ลงต่อไปอีกครั้งละ 10 เท่านั้น มีวิธีการคือ ถ่ายตัวอย่างความเจือจาง 10^{-1} ปริมาณ 1 มล. ลงในสารละลายสำหรับเจือจาง ปริมาตร 9 มล. ผสมให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างความเจือจาง 10^{-2} หรือ 1/100 จากนั้นจึงทำการเจือจาง โดยวิธีเดียวกันต่อไปอีกจนมีความเจือจางถึงระดับที่ต้องการ สำหรับขั้นตอนการเจือจางตัวอย่างเป็นลำดับครั้งละ 10 เท่า

2. การนับจำนวนโคโลนี

จำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตนอาหาร 1 มล. คำนวณได้เมื่อทราบค่าจำนวนโคโลนีเฉลี่ยใน 1 จาน ที่หาได้จากทุกซ้ำของความเจือจางที่มีจำนวนโคโลนีต่อจานระหว่าง 25-250 และสมมุติว่า 1 โคโลนีเจริญจาก 1 เซลล์ อย่างไรก็ตาม ในความเป็นจริงบางโคโลนีอาจเจริญมาจากเซลล์มากกว่า 1 ที่เกาะกุมกันหรือเรียงต่อกันเป็นสาย ดังนั้นจึงควรใช้คำว่า colony forming unit (CFU) และค่า CFU/g หรือ CFU/ml ของตัวอย่างจากวิธีการ Pour plate คำนวณได้จากความสัมพันธ์ ต่อไปนี้

CFU/g หรือ CFU/ml = n/d .....สมการที่ 16

หรือ CFU/g หรือ CFU/ml = n/df

n = จำนวนโคโลนีเฉลี่ยใน 1 จาน ของจานที่มีอยู่ในช่วง 25-250 ต่อจาน

d = ความเจือจางของตัวอย่างที่นำมาเพาะในจานที่หาค่า n ได้

df = dilution factor หรือส่วนกลับของความเจือจาง

3. วิธีการทำ Pour plate

3.1 ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกเทสารละลายเปบโตนปริมาตร 225 มล. ลงในถุงนำไปตีผสมด้วยเครื่องปั่นเป็นเวลา 60 นาที

3.2 ทำการเจือจางตัวอย่างต่อไปด้วยเปบโตน 9 มล. จนได้ตัวอย่างความเจือจางตามที่ต้องการ

3.3 ใช้ปิเปตถ่ายตัวอย่างความเจือจาง 3 ระดับหรือมากกว่านั้นก็ได้ ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 1 มล. ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ในแต่ละความเจือจาง

3.4 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานที่มีตัวอย่าง จานละ15 มล. หมุนจานเพื่อผสมให้เข้ากัน ทิ้งให้แข็งตัว

3.5 บ่มจานอาหารในโถเพาะเชื้อไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนี

ตาราง 16 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลอง (เฉพาะอาหารข้น)

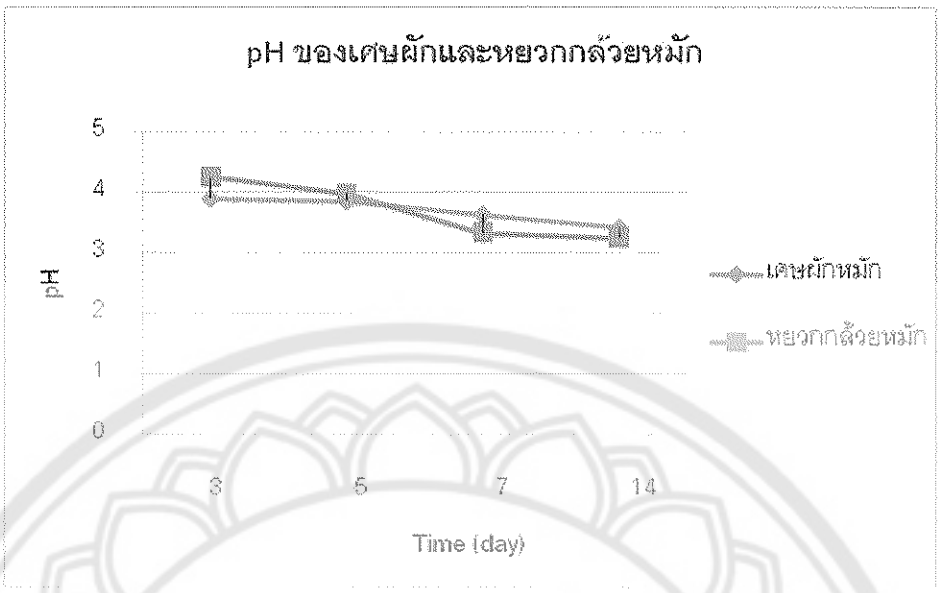
สูตรอาหาร		องค์ประกอบทางเคมีจากการวิเคราะห์ (เปอร์เซ็นต์)								พลังงาน (cal/g)
		ความชื้น	วัตถุแห้ง	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	แคลเซียม	ฟอสฟอรัส	
ช่วง น.น. สุกร 30-55 กิโลกรัม	1	7.82	92.18	15.94	7.19	6.44	3.60	0.82	0.57	4,181.19
	2	7.62	92.38	21.66	6.37	7.01	4.79	0.75	0.33	4,168.33
	3	8.13	91.87	22.79	7.02	7.04	3.92	0.75	0.37	4,174.29
	4	7.90	92.10	22.40	6.64	6.51	3.61	0.65	0.39	4,215.90
ช่วง น.น. สุกร 55-80 กิโลกรัม	1	7.43	92.57	20.82	7.80	6.64	3.75	0.82	0.30	4,195.86
	2	7.39	92.61	15.45	7.72	6.73	4.59	0.57	0.29	4,187.56
	3	7.60	92.40	19.75	7.96	6.05	4.51	0.65	0.32	4,188.22
	4	7.56	92.44	20.86	7.20	6.71	4.94	0.72	0.38	4,130.20
ช่วง น.น. สุกร 80-100 กิโลกรัม	1	7.73	92.27	11.82	8.76	6.41	3.66	0.65	0.46	4,219.95
	2	7.45	92.55	15.08	7.63	6.43	3.13	0.52	0.52	4,129.05
	3	7.71	92.29	20.31	7.83	5.94	3.78	0.57	0.53	4,154.59
	4	8.47	91.53	19.79	7.00	6.29	4.70	0.57	0.54	4,121.08

ตาราง 17 ปริมาณอาหารสุกรที่กินในการทดสอบการย่อยได้ในสภาพอาหารสด แห้ง และวัตถุแห้ง

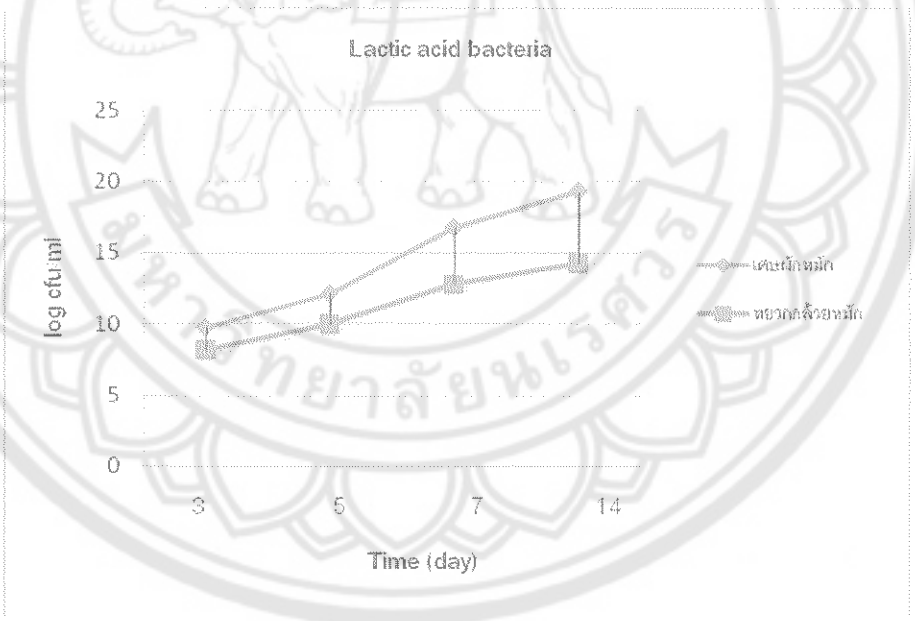
	อาหารให้กินในสภาพสด/วัน (ก.ก.)			อาหารในสภาพ air dry/ วัน (ก.ก.)*			อาหารในสภาพ DM / วัน (ก.ก.)**		
	อาหารข้น	ผักหมัก	หยวกหมัก	อาหารข้น	ผักหมัก	หยวกหมัก	อาหารข้น	ผักหมัก	หยวกหมัก
สูตรควบคุม	1.66	-	-	1.66	-	-	1.59	-	-
12.50 %	0.94	0.62	0.81	0.94	0.06	0.09	0.90	0.05	0.09
25 %	0.76	1.17	1.52	0.76	0.11	0.17	0.72	0.10	0.16
50 %	0.30	1.36	1.80	0.30	0.12	0.21	0.25	0.11	0.19
75 %	0.10	1.32	1.77	0.10	0.12	0.20	0.05	0.11	0.19
100 %	-	1.60	2.10	-	0.14	0.24	0.00	0.13	0.22

หมายเหตุ: * = ผักหมักสภาพสด 1 ก.ก. จะมีน้ำหนักในสภาพ air dry 0.0903 ก.ก. และหยวกกล้วยหมักสภาพสด 1 ก.ก. จะมีน้ำหนักในสภาพ air dry 0.1145 ก.ก. ซึ่งอาหารในสภาพ air dry หมายถึง ผักหมักที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

** = DM ผักหมักเท่ากับ 92.86 % DM หยวกกล้วยหมักเท่ากับ 92.76 % และDM อาหารข้นเท่ากับ 96.17 %



ภาพ 2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเศษผักหมัก และหยวกกล้วยหมัก



ภาพ 3 การเลี้ยงเชื้อ LAB ของเศษผักหมัก และหยวกกล้วยหมัก

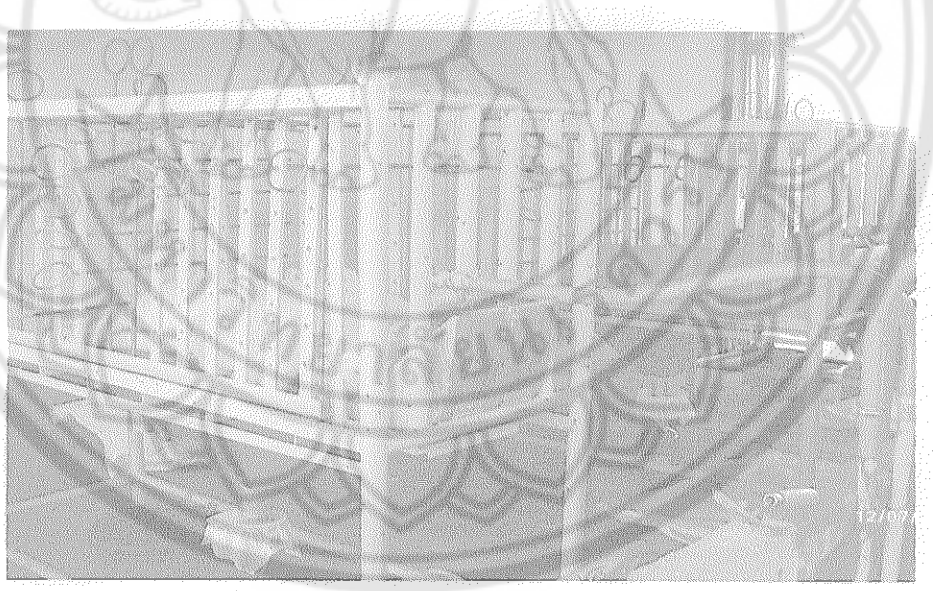
ภาพ 4 เศษผักและหยวกกล้วยสำหรับทำอาหารหมัก

ภาพ 5 อาหารหมักที่ได้จากเศษผักและหยวกกล้วย

ภาพ 6 เศษผักและหยวกกล้วยหมักผสมกับอาหารข้น

ภาพ 7 คอกสุกรทดลองศึกษาประสิทธิภาพการผลิต

ภาพ 8 ชำแหละซากสุกรเพื่อทำการวัดคุณภาพซาก



ภาพ 9 การศึกษาทดลองบนกรงศึกษาการย่อยได้ เพื่อเก็บมูลและปัสสาวะของสุกร