

ภาคผนวก ก

การวัดเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดด้วยวิธี Titrimetic method (ทองยศ, 2527)

วิธีการ

1. ผสมตัวอย่างนมหมักกรดให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. ใช้ปิเปตขนาด 30 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างนมหมักกรด 17.6 มิลลิลิตร ลงในขวดชมพูแล้วเติมน้ำกลั่น 17.6 มิลลิลิตรลงไป เขย่าตัวอย่างเบาๆ เพื่อให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน
3. เติมฟีนอลทาลีน (phenolphthalein) 1 เปอร์เซ็นต์ (เตรียมโดยชั่งฟีนอลทาลีน 1 กรัม ผสมเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) 95 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร ผสม น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) 0.5 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน
4. ทำการไตเตรทกับ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติ ซึ่งตัวอย่างจะมีสีชมพูอ่อนคงตัวอยู่เป็นเวลา 30 วินาที บันทึกปริมาณของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้
5. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดในนมหมักกรด โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด (แลคติก) ในนม} = \frac{\text{ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มิลลิลิตร)} \times 0.009 \times 100}{\text{ปริมาณนมหมักกรด (มิลลิลิตร)}}$$

ภาคผนวก ข

การตรวจนับเซลล์แบคทีเรียด้วยวิธี Direct microscopic count

การเตรียมกรอบสไลด์ต้นแบบ

ทำสไลด์ต้นแบบโดยการใช้แผ่นกระจกสไลด์ จำนวน 3 อัน ติดลงบนแผ่นกระดาษ เป็นกรอบบังคับไม่ให้กระจกสไลด์เลื่อนไปมา และวาดรูปสี่เหลี่ยม ขนาด 0.5 x 2.0 เซนติเมตร (พื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร) ภายในพื้นที่กระจกสไลด์ จำนวน 4 อัน

การเตรียมแผ่นเสมีียร์

1. เตรียมสไลด์ให้สะอาดโดยการล้างด้วยผงซักฟอกแล้วแช่ด้วย acid alcohol
2. ทำเครื่องหมายลงบนกระจกสไลด์ ประกอบด้วย วันที่ และระยะเวลาการหมัก

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการย้อมสีเซลล์แบคทีเรีย (Grams' stain)

1. Crystal violet

สารละลาย A

Crystal violet (85 เปอร์เซนต์ dye)	2.00	กรัม
เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์	20.00	มิลลิลิตร
ละลายสีในแอลกอฮอล์จนสีละลายหมด		

สายละลาย B

Ammonium oxalate	0.80	กรัม
น้ำกลั่น	80.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม ผสมสารละลาย A กับสารละลาย B ถ้ามีตะกอนกรองก่อนใช้

2. Safranin O counterstain (stock solution)

Safranin	2.50	กรัม
เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์	100.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม ละลายสีในแอลกอฮอล์ เก็บไว้เป็น stock solution การนำไปใช้ในการย้อม นำ stock solution 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร

3. Gram' s iodine solution

Iodine (ในรูปผลึก)	1.00 กรัม
Potassium iodine (KI)	2.00 กรัม
น้ำกลั่น	300.00 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม ละลายผลึกไอโอดีน และ KI ในน้ำกลั่นปริมาณน้อยๆก่อน แล้วเติมน้ำให้ครบ เก็บรักษาไว้ในขวดสีชาเพื่อป้องกันการเสื่อมเนื่องจากแสง

4. แอลกอฮอล์-อะซีโตน (Alcohol-acetone; decolorizer)

เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	250.00 มิลลิลิตร
Acetone	250.00 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม ผสมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ กับ Acetone ให้เข้ากัน

การเสมีียร์

1. ใช้ micropipette ปรับปริมาตรเท่ากับ 0.01 มิลลิลิตร คุณดมหมักกรดจากขวดที่เขย่าให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเกลี่ยนมหมักตกลงบนแผ่นสไลด์ให้สม่ำเสมอบนพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร ตามกรอบในสไลด์ต้นแบบที่เตรียมไว้ ทิ้งให้แห้ง แล้วตรึงเซลล์ให้ติดแผ่นสไลด์ โดยการ นำสไลด์ที่เกลี่ยเชื้อแล้วมาผ่านเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง โดยให้เปลวไฟผ่านใต้สไลด์ตรงรอยเสมีียร์

2. หยดสี crystal violet ให้ทั่วรอยเสมีียร์ของนมหมักกรด นาน 1 นาที แล้วเอียงสไลด์เทสีทิ้ง

3. หยดสายละลายไอโอดีนไล่สีออกไป และหยดให้ทั่วรอยเสมีียร์ ทิ้งไว้ นาน 1 นาที แล้วเทสารละลายไอโอดีนทิ้ง

4. หยดสารละลายแอลกอฮอล์-อะซีโตน ล้างสีออกจนกระทั่งไม่มีสีม่วงละลายออก แต่ไม่ควรเกิน 20 วินาทีแล้วล้างน้ำทันที ซับด้วยกระดาษซับ

5. หยด safranin O ให้ทั่วรอยเสมีียร์ นาน 30 วินาที แล้วล้างน้ำ ซับด้วยกระดาษซับ ทิ้งให้แห้ง แล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

6. ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า ในแต่ละรอยสเมียร์ จำนวน 30 fields โดยนับเฉพาะเซลล์ที่สามารถมองเห็นในพื้นที่ของเลนส์ใกล้วัตถุเกินครึ่งเซลล์ และเลือก fields ในการนับแบบสุ่มให้กระจายทั่วพื้นที่รอยสเมียร์ ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ จะทำการสเมียร์ 2 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง แล้วนำปริมาณเซลล์ที่นับได้มาคำนวณตามสูตร

$$\text{ปริมาณเซลล์ (เซลล์/มิลลิลิตร)} = \frac{(A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n) \times 1000 \times B}{30 \times n \times C \times D}$$

- n = จำนวนซ้ำ
 $A_1, A_2, A_3, \dots, A_n$ = ปริมาณเซลล์ที่นับได้แต่ละซ้ำ
 B = พื้นที่สเมียร์ตัวอย่าง (ไมโครเมตร)
 C = พื้นที่ของเลนส์ใกล้วัตถุ (ไมโครเมตร)
 D = ปริมาณนมหมักกรดที่ใช้ในการสเมียร์



ภาพที่ 1 อุปกรณ์การย้อมสีประกอบด้วยกรอบสไลด์ต้นแบบ แผ่นสไลด์ Crystal violet Safranin O และสารละลายไอโอดีน

ภาคผนวก ค

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ในนมหมักกรดตามวิธีนับมาตรฐาน (standard plate count)

การเตรียมอาหาร

ซึ่งส่วนประกอบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังต่อไปนี้

อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS	6.00 กรัม
น้ำกลั่น	1.00 ลิตร

ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS กับน้ำกลั่น ในขวดแก้ว แล้วนำเข้าหม้อนึ่งแรงดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมตัวอย่างนมหมักกรด

ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างนมหมักกรดที่ผสมเข้ากันดีปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วที่บรรจุ peptone water ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะให้ความเจือจาง 1:10 จากนั้นใช้เครื่อง vortex mixer บั่นให้ตัวอย่างนมหมักกรดเข้ากัน 1 นาที จากนั้นใช้ปิเปตดูดตัวอย่างนมหมักกรดที่ความเจือจาง 1: 10 จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วที่บรรจุ peptone water ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จนความเจือจางเท่ากับ 1:10¹⁰

การนับจำนวนแบคทีเรียด้วยเทคนิค spread plate ตามวิธีของ George และ Jackson (1998)

ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่มีความเจือจาง :

นมดิบ ความเจือจาง 1:10² และ 1:10³

นมดิบหลังเติมกรดอะซิติก (0 ชั่วโมง) ความเจือจาง 1:10² และ 1:10³

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 1 วัน ความเจือจาง 1:10², 1:10³ และ 1:10⁴

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 3 วัน ความเจือจาง 1:10², 1:10³, 1:10⁴, 1:10⁵ และ 1:10⁶

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 6 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$ และ $1:10^8$

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 9 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$, $1:10^9$ และ $1:10^{10}$

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 12 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$, $1:10^9$, $1:10^{10}$, $1:10^{11}$ และ $1:10^{12}$

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 15 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$, $1:10^9$, $1:10^{10}$, $1:10^{11}$ และ $1:10^{12}$

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 18 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$, $1:10^9$, $1:10^{10}$, $1:10^{11}$ และ $1:10^{12}$

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 21 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$, $1:10^9$, $1:10^{10}$, $1:10^{11}$ และ $1:10^{12}$

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 24 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$, $1:10^9$, $1:10^{10}$, $1:10^{11}$ และ $1:10^{12}$

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 27 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$, $1:10^9$, $1:10^{10}$, $1:10^{11}$ และ $1:10^{12}$

นมหมักกรดระยะเวลาการหมัก 30 วัน ความเจือจาง $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$, $1:10^7$, $1:10^8$, $1:10^9$, $1:10^{10}$, $1:10^{11}$ และ $1:10^{12}$

ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร หยดบนผิวหน้าอาหาร MRS จากนั้นใช้แท่งแก้วอชูปเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ จุดไฟให้ติดเพื่อฆ่าเชื้อ ทิ้งให้เย็น แล้วนำมาเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร MRS แล้วบ่มโดยกลับด้านล่างจานเพาะเชื้อไว้ด้านบน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ตรวจสอบโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร บันทึกค่า CFU (colony forming unit) โดยถือว่า 1 CFU เจริญมาจาก 1 เซลล์ โดยคำนวณจากสูตร

$$X = N \times 10^n \text{ CFU ต่อ มิลลิลิตร}$$

X = จำนวนแบคทีเรียใน 1 มิลลิลิตร

N = ค่าเฉลี่ยโคโลนีที่ได้จากตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

n = dilution ของหลอดที่นับจำนวนแบคทีเรีย

การจำแนกแบคทีเรียจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำโคโลนิของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหารไปย้อมสีเชลล์แบคทีเรีย (Grams' stain) เพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนี้

1. เก็ยเชื้อจากเชื้อที่เพาะในอาหาร MRS โดยใช้เข็มเย็บเชื้อแบบรูป จุ่มน้ำสะอาด แตะบนสไลด์ 2 ลูก จากนั้นนำเข็มเย็บเชื้อไปเผาไฟเพื่อฆ่าเชื้อ จากนั้นเย็บเชื้อที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร MRS ให้ติดปลายรูปแตะเชื้อลงบนหยดน้ำแล้วละเลงเชื้อ โดยใช้ปลายรูปวนเป็นวงเล็กๆ ให้กระจายอย่างสม่ำเสมอทั่วให้แห้ง

2. หยด crystal violet ให้ท่วมรอยเสมียร์ นาน 1 นาที เอียงสไลด์เทสีทิ้ง

3. หยดสายละลายไอโอดีนไล่สีออกไป และหยดให้ท่วมรอยเสมียร์ทิ้งไว้ นาน 1 นาที เทสารละลายไอโอดีนทิ้ง

4. หยดสารละลายแอลกอฮอล์-อะซิโตน ล้างสีออกจนกระทั่งไม่มีสีม่วงละลาย ออกแต่ไม่ควรเกิน 20 วินาที แล้วล้างน้ำทันที ซับด้วยกระดาษซับ

5. หยด safranin O ให้ท่วมรอยเสมียร์ นาน 30 วินาที ล้างน้ำ แล้วซับด้วยกระดาษ ซับทิ้งให้แห้ง

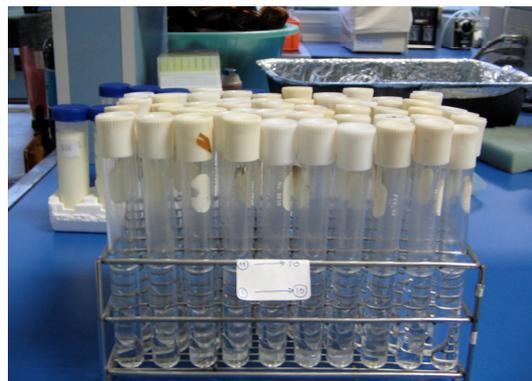
6. ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า และ จัดกลุ่มโดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา



ภาพที่ 3 การเจือจางนมหมักกรดกับ peptone water ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์



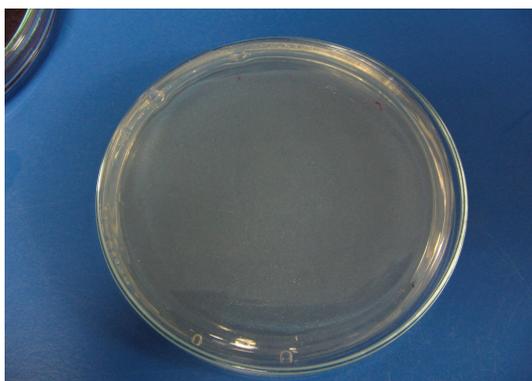
ภาพที่ 4 การปั่นให้ตัวอย่างนมหมักกรดเข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer



ภาพที่ 5 ตัวอย่างนมหมักกรดที่มีความเจือจางระดับต่างๆ

<p>1.10660. 0500 VW114760 333 17.07.08 Ch.-B./Lot verwendbar bis/Exp.</p>		<p>500 g</p>	
<p>Microbiology</p>		<p>Zubereitung: 66,2 g in 1 Liter demin. Wasser lösen durch Erhitzen im siedenden Wasserbad oder im strömenden Dampf; autoklavieren (15 min. bei 118°C). pH: 5,7 ± 0,2 bei 25°C.</p>	
<p>Usage in vitro</p>		<p>MRS-Agar Lactobacillus-Agar nach DE MAN, ROGOSA und SHARPE für die Mikrobiologie</p>	
<p>MRS agar Lactobacillus agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE for microbiology</p>		<p>Preparation: Suspend 66,2 g in 1 litre of demin. water by heating in a boiling water bath or in a current of steam; autoclave (15 min. at 118°C). pH: 5,7 ± 0,2 at 25°C.</p>	
<p>Agar MRS Agar des Lactobacillus selon DE MAN, ROGOSA et SHARPE pour la microbiologie</p>		<p>Préparation: Ajouter 66,2 g à 1 litre de l'eau déminéralisée par chauffage dans un bain-marie bouillant ou dans un courant de vapeur; passer à l'autoclave (15 minutes à 118°C). pH: 5,7 ± 0,2 à 25°C.</p>	
<p>Agar MRS Agar para Lactobacillus según DE MAN, ROGOSA y SHARPE para microbiología</p>		<p>Preparación: Disolver 66,2 g en 1 litro de agua desmineralizada calentando en un baño de agua hirviendo o en corriente de vapor; tratar en la autoclave (15 minutos a 118°C). pH: 5,7 ± 0,2 a 25°C.</p>	
<p>MERCK Merck KGaA 64271 Darmstadt Germany Tel. +49 (0)6151 720 Website: www.merck.de Made in Germany</p>		<p>Typische Zusammensetzung (g/Liter): Peptone aus Casein 10,0; Fleischextrakt 8,0; Hefeextrakt 4,0; D(+)-Glucose 20,0; di-Kaliumhydrogenphosphat 2,0; Tween® 80 1,0; di-Ammoniumhydrogencitrat 2,0; Natriumacetat 5,0; Magnesiumsulfat 0,2; Mangansulfat 0,04; Agar-Agar 14,0. Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage für berufsmäßige Verwender erhältlich.</p>	
<p>Typical composition (g/litre): Peptone from casein 10,0; Meat extract 8,0; Yeast extract 4,0; D(+)-Glucose 20,0; di-Potassium hydrogen phosphate 2,0; Tween® 80 1,0; di-Ammonium hydrogen citrate 2,0; Sodium acetate 5,0; Magnesium sulfate 0,2; Manganese sulfate 0,04; Agar-agar 14,0. Safety data sheet available for professional user on request.</p>		<p>Composición típica (g/litro): Peptona de caseína 10,0; extracto de carne 8,0; extracto de levadura 4,0; D(+)-glucosa 20,0; hidrogenofostato di-potásico 2,0; Tween® 80 1,0; hidrogenocitrato di-amónico 2,0; acetato sódico 5,0; sulfato de magnesio 0,2; sulfato de manganeso 0,04; agar-agar 14,0. Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.</p>	
<p>Trocken und gut verschlossen lagern. ** Lagern bei +15°C bis +25°C. ** Vor Licht schützen.</p>		<p>Store dry and tightly closed. ** Store at +15°C to +25°C. ** Protect from light.</p>	
<p>Conservier en récipient bien fermé et au sec. ** Conserver de +15°C à +25°C. ** Protéger de la lumière.</p>		<p>Almacenar en lugar seco y en recipiente bien cerrado. ** Almacenar de +15°C hasta +25°C. ** Proteger de la luz.</p>	

ภาพที่ 6 อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS





ภาพที่ 9 การเปลี่ยนนมหมักกรดทั่วผิวหนังอาหาร
MRS

ภาพที่ 8 การนำตัวอย่างนมหมักกรดใส่บน
ผิวหนังอาหาร MRS
ภาพที่ 10 การบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศา-
เซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

ภาคผนวก ง

วิธี การณ์ ำและการตัดแต่งซากลูก โกล

ทำกรรมำลูกโกลตามวิธีกรรมำของชัยณรงค์ (2529) และตัดแต่งซากของลูกโกลตามวิธีกรรมำที่ดัดแปลงจากชัยณรงค์ (2529) และ Albert (1970) ดังนี้

1. อดอาหารลูกโกลเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 20 ชั่วโมง แต่มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา
2. ชั่งน้ำหนักตัวลูกโกล และบันทึกน้ำหนักมีชีวิต (fasted live weight)
3. ทำกรรมำลูกโกลโดยวิธีกรรมำตัดหลอดเลือดที่คอ ปล่อยให้เลือดไหลออกจากตัวชั่งและบันทึกน้ำหนักเลือด
4. ทำกรรมำตัดหัว ตัดเข้ง เลาะหนัง และเอาอวัยวะภายในออก
5. ชั่งน้ำหนักซากอุ่น น้ำหนักหัว เข้งทั้ง 4 เข้ง หนัง และอวัยวะภายใน
6. การคำนวณเปอร์เซ็นต์ซาก (Dressing percentage) ของลูกโกล โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ซาก} = \frac{\text{น้ำหนักซากอุ่น}}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}} \times 100$$

7. การคำนวณน้ำหนักซากเย็น โดยคำนวณจาก 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักซากอุ่น
8. บันทึกลักษณะสิ่งทีค้างอยู่ในกระเพาะผ้าจีร์ว และสีผนังกระเพาะผ้าจีร์ว
9. แบ่งซากลูกโกลออกเป็นซีกซ้าย และซีกขวาเพื่อนำซากไปตัดแต่งแบบสากล
 - 8.1 ซากซีกขวานำไปวัดพื้นที่เนื้อสันนอก และสุ่มตัวอย่างเนื้อสันนอกนำไปวัดค่าสีเนื้อ (meat colour)
 - 8.2 ซากซีกซ้ายจะตัดแต่งแบบสากลโดยนำซากแช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง
10. ทำกรรมำวัดความยาวซาก (carcass length) โดยวัดจากตำแหน่งซี่โครงซี่แรกถึงหัวกระดูก lumbar โดยใช้สายวัด และความกว้างซากโดยวัดตามแนวเส้น EH ในภาพที่ 11
11. วัดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันนอก (loin eye area) จากเนื้อสันนอกบริเวณตำแหน่งระหว่างซี่โครงที่ 12 และ 13 ของซากซีกขวา
12. การตัดแต่งซากสากล โดยกรรมำตัดแต่งซากเป็น 2 ส่วน คือซากส่วนหน้า (fore quarter) และซากส่วนหลัง (hind quarter) โดยตัดแยกทีระหว่างซี่โครงซี่ที่ 12 และ 13 (ตามแนว AB ใน

ภาคผนวก จ

การคำนวณต้นทุนการเลี้ยงลูกโค

1. ต้นทุนค่าสัตว์ทดลอง

ลูกโคนมเพศผู้มีชีวิตราคาตัวละ 600 บาท ซึ่งจากเกษตรกรเลี้ยงโคนม จ. พัทลุง

2. ต้นทุนค่าเสื่อมโรงเรือนและอุปกรณ์

$$\begin{aligned} \text{ค่าเสื่อมโรงเรือน และอุปกรณ์} &= \frac{\text{มูลค่าของโรงเรือน และอุปกรณ์}}{\text{ค่าเสื่อมทรัพย์สินต่อปี} \times \text{ระยะเวลาการเลี้ยง} \times \text{จำนวนลูกโค}} \\ &= \frac{37,500}{10 \times 3 \times 24} = 52.08 \text{ บาท/ตัว} \end{aligned}$$

หมายเหตุ : โรงเรือนเลี้ยงลูกโค และอุปกรณ์การเลี้ยงมีมูลค่าประมาณ 37,500 บาท
โรงเรือนมีมูลค่าลดลง 10 เปอร์เซ็นต์ต่อปี

3. ต้นทุนค่าเช่าที่ดิน

$$\begin{aligned} \text{ต้นทุนค่าเช่าที่ดิน} &= \text{ค่าเช่าที่ดิน/จำนวนลูกโค} \\ &= 4,500/24 = 187.50 \text{ บาท/ตัว} \end{aligned}$$

หมายเหตุ : ค่าเช่าที่ดินเดือนละ 1,500 บาท

4. ต้นทุนค่าแรงงาน

$$\begin{aligned} \text{ค่าแรงงาน} &= (\text{จำนวนวัน} \times \text{อัตราค่าจ้าง}) / \text{จำนวนลูกโค} \\ &= (90 \times 68) / 24 = 254.70 \text{ บาท/ตัว} \end{aligned}$$

หมายเหตุ : อัตราค่าแรงงานชั่วโมงละ 17 บาท อิงจากเงินเดือนของพนักงานเลี้ยงลูกโคของ
สถานีปฏิบัติการสัตวศาสตร์นาทวี เดือนละ 4,100 บาท

การเลี้ยงลูกโคทดลง 24 ตัว ใช้เวลาในการให้อาหาร และบันทึกข้อมูลต่างๆ วันละ 4 ชั่วโมง

5. ต้นทุนค่านมหมักกรด

$$\begin{aligned} \text{ต้นทุนค่านมหมักกรด} &= \text{ค่านม} + \text{ค่ากรดอะซิติก} + \text{ค่าแรงงาน} + \text{ค่าถังหมัก} \\ &= 4.50 + 0.18 + 0.28 + 0.30 = 5.26 \text{ บาท/กิโลกรัม} \end{aligned}$$

หมายเหตุ : ค่านมราคา กิโลกรัมละ 4.50 บาท อิงราคานมที่ไม่ผ่านการตรวจจากโรงงานจาก สหกรณ์โคนม จังหวัดพัทลุง

กรดอะซิติก 1 ขวด ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ราคา 45 บาท

ถังพลาสติกขนาดบรรจุ 50 ลิตร ราคา 180 บาท มีค่าลดลง 10 เปอร์เซ็นต์ หลังใช้งาน

อัตราค่าแรงงานชั่วโมงละ 17 บาท ใช้เวลาในการทำนมหมัก 10 นาที

2. ต้นทุนค่านมที่ลูกโคกิน

	ปริมาณ นมหมัก กรด(กก.)	x	ราคา (บาท/ กก.)	=	ต้นทุนค่า นมหมักกรด (บาท/ตัว)	ปริมาณ นมเทียม (กก.)	x	ราคา (บาท/ กก.)	=	ต้นทุนค่า นมเทียม (บาท/กก.)	ต้นทุนค่า นมรวม (บาท/ตัว)
นมหมักกรด	= 478.71	x	5.26	=	2,518.01	-	-	=	-		2,518.01
นมหมักกรด 75% ผสม นมเทียม 25%	= 291.19	x	5.26	=	1,531.65	97.0	x	55	=	667.30	2,198.95
นมหมักกรด 50% ผสม นมเทียม 50%	= 186.67	x	5.26	=	981.89	194.13	x	55	=	1,334.61	2,316.50
นมเทียม	= -	-	-	=	-	345.76	x	55	=	2,377.09	2,377.09

หมายเหตุ : นมหมักกรดราคา กิโลกรัมละ 5.26 บาท

นมเทียม เลวิด้า® ราคา กิโลกรัมละ 55 บาท (1 ถู่น้ำหนัก 25 กิโลกรัม ราคา 1,375 บาท) อิงราคาของสหกรณ์โคนม จังหวัดพัทลุง อ.เมือง จังหวัดพัทลุง ณ เดือน กรกฎาคม- ตุลาคม 2547

7. ต้นทุนค่าอาหารชั้น

ต้นทุนค่าอาหารชั้น (บาท/ตัว) = ปริมาณอาหารชั้นที่ลูกโคกินตลอดการทดลอง 90 วัน (กก.) x
ราคาอาหารชั้น (บาท/กก.)

นมหมักกรด = 85.63 x 8 = 685.00 บาท/ตัว

นมหมักกรด 75% ผสมนมเทียม 25% = 62.97 x 8 = 503.73 บาท/ตัว

นมหมักกรด 50% ผสมนมเทียม 50% = 65.55 x 8 = 524.40 บาท/ตัว

นมเทียม = 53.91 x 8 = 431.28 บาท/ตัว

หมายเหตุ : ราคาอาหารชั้นอิงราคาจากหมวดอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากร-
ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

8. ต้นทุนค่าเวชภัณฑ์

ค่าเวชภัณฑ์ (บาท/ตัว) = AD₃E + Asuntol[®] + Wormitan[®] + Biocatalin[®] + Novaseland[®]

นมหมักกรด = 4 + 2 + 2 + 0 + 0 = 8 บาท/ตัว

นมหมักกรด 75% ผสมนมเทียม 25% = 4 + 2 + 2 + 2 + 0 = 10 บาท/ตัว

นมหมักกรด 50% ผสมนมเทียม 50% = 4 + 2 + 2 + 0 + 5 = 13 บาท/ตัว

นมเทียม = 4 + 2 + 2 + 10 + 12 = 30 บาท/ตัว

หมายเหตุ : AD₃E ราคา 400 บาท/ขวด (100 มิลลิลิตร) นีดอัตรา 1 มิลลิลิตร/ตัว อิงราคาจากร้าน
ขายเวชภัณฑ์สัตว์เลี้ยง อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา ณ เดือน กรกฎาคม - ตุลาคม 2547
Asuntol[®] ราคา 50 บาท/ซอง (10 กรัม) อิงราคาจากร้านขายเวชภัณฑ์สัตว์เลี้ยง
อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา ณ เดือน กรกฎาคม - ตุลาคม 2547
Wormitan[®] ราคา 70 บาท/ขวด (100 มิลลิลิตร) กรอกให้กิน 4 มิลลิลิตร/ตัว อิงราคา
จากร้านขายเวชภัณฑ์สัตว์เลี้ยง อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา ณ เดือน กรกฎาคม - ตุลาคม
2547

Biocatalin[®] ราคา 120 บาท/ขวด (100 มิลลิลิตร) อิงราคาจากร้านขายเวชภัณฑ์สัตว์-
เลี้ยง อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา ณ เดือน กรกฎาคม - ตุลาคม 2547

Novaseland[®] ราคา 200 บาท/ขวด (100 มิลลิลิตร) อิงราคาจากร้านขายเวชภัณฑ์สัตว์-

เลี้ยง อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา ณ เดือน กรกฎาคม - ตุลาคม 2547

9. ต้นทุนค่าใช้จ่ายอื่นๆ

ค่าใช้จ่ายอื่นๆในการเลี้ยงลูกโค ได้แก่ ค่าน้ำ ค่าน้ำยาทำความสะอาด และก๊าซหุงต้ม ที่ใช้ในการต้มน้ำเพื่อละลายนมเทียม

ต้นทุนค่าใช้จ่ายอื่น (บาท/ตัว)	=	ค่าน้ำ + ค่าน้ำยาทำความสะอาด + ค่าก๊าซหุงต้ม
นมหมักกรด	=	4.50 + 6.25 + 0 = 10.25 บาท/ตัว
นมหมักกรด 75% ผสมนมเทียม 25%	=	4.50 + 6.25 + 25 = 35.80 บาท/ตัว
นมหมักกรด 50% ผสมนมเทียม 50%	=	4.50 + 6.25 + 25 = 35.80 บาท/ตัว
นมเทียม	=	4.50 + 6.25 + 25 = 35.80 บาท/ตัว

หมายเหตุ : ลูกโค 1 ตัว ใช้น้ำวันละ 5 ลิตร น้ำราคาลิตรละ 0.01 บาท อิงราคาจากสำนักงาน-
 ประปา อำเภอนาทวี ระหว่างเดือนกรกฎาคม - เดือนตุลาคม 2547
 น้ำยาซันไลท์® ราคา 150 บาท/ขวด (1 ลิตร) ลูกโคใช้ร่วมกัน 24 ตัว
 ก๊าซหุงต้ม ปตท® ราคา 230 บาท/ถัง จำนวน 2 ถัง ลูกโคใช้ร่วมกัน 18 ตัว

10. ต้นทุนค่าเสียโอกาสของเงินลงทุน

ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน	=	ต้นทุนสิ้นแปรทั้งหมด x อัตราดอกเบี้ยเงินฝาก x ระยะเวลาการเลี้ยง
นมหมักกรด	=	3,475.96 x 1.25 x $\frac{3}{12}$ = 10.86 บาท/ตัว
นมหมักกรด 75% ผสมนมเทียม 25%	=	3,003.18 x 1.25 x $\frac{3}{12}$ = 9.38 บาท/ตัว
นมหมักกรด 50% ผสมนมเทียม 50%	=	3,144.40 x 1.25 x $\frac{3}{12}$ = 9.83 บาท/ตัว
นมเทียม	=	3,128.86 x 1.25 x $\frac{3}{12}$ = 9.78 บาท/ตัว

หมายเหตุ : อัตราดอกเบี้ยเงินฝาก 1.25% อิงจากธนาคารแห่งประเทศไทย ณ เดือน กรกฎาคม-
 ตุลาคม 2547

11. ต้นทุนทั้งหมดต่อหน่วยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น

$$\text{ต้นทุนทั้งหมดต่อหน่วยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น} = \text{ต้นทุนทั้งหมด/น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}$$

นมหมักกรด	=	4,326.40/62.66	=	69.04	บาท/ตัว
นมหมักกรด 75% ผสมนมเทียม 25%	=	3,852.15/40.83	=	94.34	บาท/ตัว
นมหมักกรด 50% ผสมนมเทียม 25%	=	3,993.80/34.85	=	114.60	บาท/ตัว
นมเทียม	=	3,978.21/25.53	=	155.82	บาท/ตัว

12. ต้นทุนค่าอาหารที่ถูกโคกินคิดเฉพาะค่านม และอาหารชั้น

$$\text{ต้นทุนค่าอาหาร} = \text{ค่านมหมักกรด} + \text{ค่านมเทียม} + \text{ค่าอาหารชั้น}$$

นมหมักกรด	=	2,518.01 + 685.00 + 0	=	3,203.01	บาท/ตัว
นมหมักกรด 75% ผสมนมเทียม 25%	=	1,531.65 + 667.30 + 503.73	=	2,702.68	บาท/ตัว
นมหมักกรด 50% ผสมนมเทียม 25%	=	981.89 + 1,334.61 + 524.40	=	2,840.90	บาท/ตัว
นมเทียม	=	0 + 2,377.09 + 431.27	=	2,808.36	บาท/ตัว

13 ต้นทุนค่าอาหารต่อหน่วยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น

$$\text{ต้นทุนค่าอาหารต่อหน่วยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น} = \text{ต้นทุนค่าอาหาร/น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}$$

นมหมักกรด	=	3,203.01/62.66	=	51.12	บาท/ตัว
นมหมักกรด 75% ผสมนมเทียม 25%	=	2,702.68/40.83	=	66.20	บาท/ตัว
นมหมักกรด 50% ผสมนมเทียม 25%	=	2,840.90/34.85	=	81.52	บาท/ตัว
นมเทียม	=	2,808.36/25.53	=	110.02	บาท/ตัว

ภาคผนวก ฉ

ภาพประกอบ



ภาพที่ 12 การบรรจุนมหมักกรดในขวด



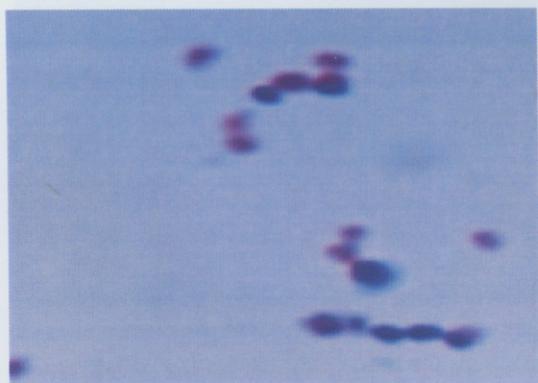
ภาพที่ 13 การเก็บนมหมักกรด



ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงการแยกชั้นของนมหมักกรด



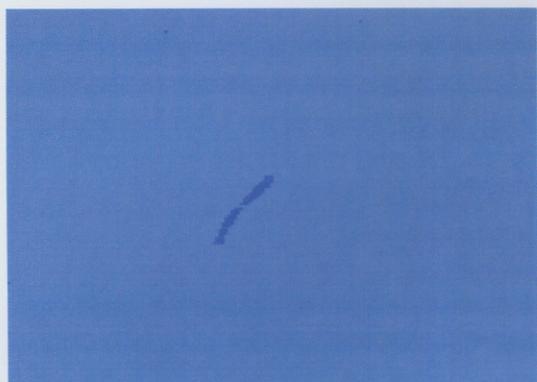
ภาพที่ 15 การวัด pH ของนมหมักกรด



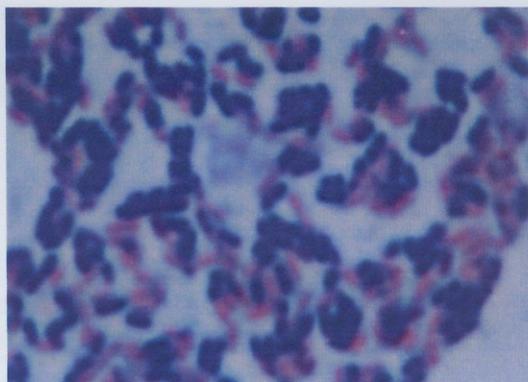
ภาพที่ 16 แบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม



ภาพที่ 17 แบคทีเรียที่มีรูปร่างท่อนสั้น



ภาพที่ 18 แบคทีเรียที่มีรูปร่างท่อนยาว
ย้อมติดสีแกรม

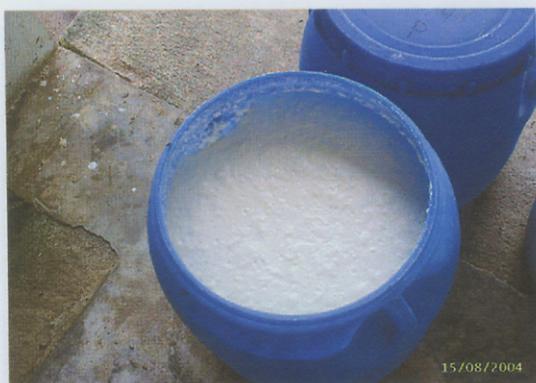


ภาพที่ 19 แบคทีเรียที่มีรูปร่างท่อนสั้น
ย้อมติดสีแกรม และไม่ติดสี
แกรม



ภาพที่ 20 โคลนินของแบคทีเรียจากตัวอย่าง

นมหมักกรดที่เจริญบนฟิวหน้าอาหาร MRS



ภาพที่ 21 ลักษณะนมหมักกรดที่ผสมให้เป็น
เนื้อเดียวกันที่ใช้เลี้ยงลูกโคทดลอง



ภาพที่ 22 โรงเรือนเลี้ยงลูกโคทดลอง

อาหารสัตว์ประเภทผลิตภัณฑ์นม
ชนิด อาหารแทนนมสำหรับสัตว์
เลิวตี้

เลขทะเบียนอาหารสัตว์เลขที่ 02 05 36 0006

วัตถุดิบสำคัญที่ใช้เป็นส่วนผสม

หางเนยผง, สวีท เวย์ พาวเดอร์, ดีแล็คโตส เวย์ พาวเดอร์ และ ดีมีนเนอร์โรลไลซ์ เวย์ พาวเดอร์	75.0 %
ไขมันพืช	16.0 %
โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น	7.95 %
แอล-ไลซีน	0.03 %
ดีแอล-เทโทอินัน	0.02 %
ไวตามินและแร่ธาตุ	1.0 %

คุณภาพอาหารสัตว์ทางเคมี

โปรตีน	ไม่น้อยกว่าร้อยละ	20 ของน้ำหนัก
ความชื้น	ไม่มากกว่าร้อยละ	8 ของน้ำหนัก

น้ำหนักสุทธิ 25 กิโลกรัม

ชื่อผู้ผลิต บริษัท อินเตอร์ ฟู้ดส์ จำกัด
เมือง ฮาเวิร์ท ประเทศ ฮอลแลนด์

ชื่อผู้นำเข้า หจก. มิลค์โก๊ เทรตติ้ง
7/24 ซอยสุวรามสวัสดิ์ ถนนพระราม 4
แขวงทุ่งพนาภิรม เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120
โทร. 02-2495079-81

วัน เดือน ปี ที่ผลิต 30.03.2004 FACT. CODE: NL 16735
วัน เดือน ปี ที่ลงอายุ 30.03.2005 LEIV.007

ภาพที่ 23 ส่วนประกอบของนมเทียมที่ใช้เลี้ยงลูกโค



ภาพที่ 24 การชั่งนมให้ลูกโคทดลอง



ภาพที่ 25 การชั่งอาหารขึ้นให้ลูกโคทดลอง



ภาพที่ 26 การชั่งน้ำหนักตัวลูกโคทดลอง



ภาพที่ 27 ลักษณะลูกโคที่ได้รับนมหมักกรด
ที่แสดงอาการขนร่วง



ภาพที่ 28 การเจาะเลือดลูกโคจากใบหูลูกโค



ภาพที่ 29 การอ่านค่าปริมาณเนื้อเลือดแดงอัด
แน่นบนจาน reading device



ก



ข



ค



ง

ภาพที่ 30 ลักษณะลูกโคเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ก ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมหมักกรด

ข ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมหมักกรด 75

เปอร์เซ็นต์ ผสมนมเทียม 25 เปอร์เซ็นต์

ค ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมหมักกรด 50 เปอร์เซ็นต์
ผสมนมเทียม 50 เปอร์เซ็นต์

ง ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมเทียม



ก

ข



ค

ง

ภาพที่ 31 ลักษณะเนื้อมูลของลูกโค

ก ระดับที่ 1 มูลแห้ง หรือแน่นเป็นก้อน (dry & firm) และ ไม่มีจุดเลือดออก

ค ระดับที่ 3 มูลเหลวมากหรือเป็นน้ำ (loose/wet หรือ runny)

ข ระดับที่ 2 เนื้อมูลนุ่มเป็นครีม (creamy หรือ soft)

ง ระดับที่ 4 มูลเป็นน้ำปนเลือด หรือมีมูกเลือด (watery with blood)



ก



ข



ค



ง



จ



ฉ



ช

ภาพที่ 32 ลักษณะสีมูลของลูกโค

ก ระดับที่ 1 สีขาว

ข ระดับที่ 2 สีเหลือง

ค ระดับที่ 3 สีเหลืองอมน้ำตาล

ง ระดับที่ 4 น้ำตาลอ่อน

จ ระดับที่ 5 สีน้ำตาล

ฉ ระดับที่ 6 สีเหลืองอมน้ำตาลเทา

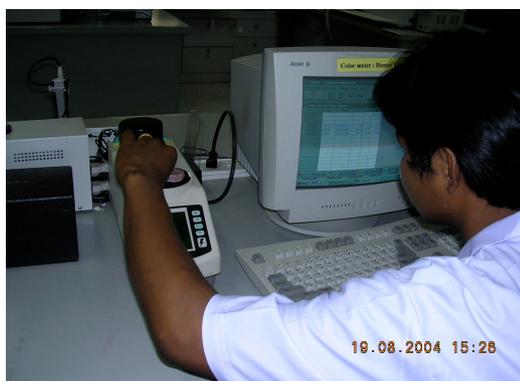
ช ระดับที่ 7 สีเทา



ภาพที่ 33 ซากลูกโคหลังฆ่า



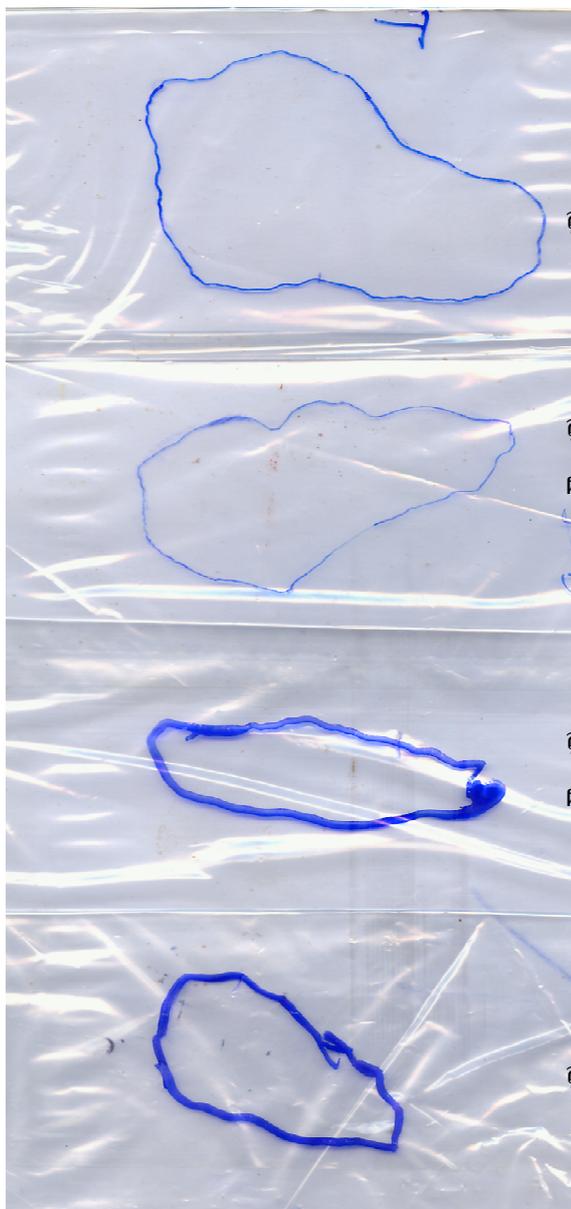
ภาพที่ 34 ซากลูกโคที่แบ่งเป็นซีกซ้าย และ ซีกขวา



ภาพที่ 35 การวัดค่าสีเนื้อสันนอกของลูกโค



ภาพที่ 36 การวัดพื้นที่น้ำซึมออกจากเนื้อ และพื้นที่เนื้อ เพื่อคำนวณความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสันนอกของลูกโค



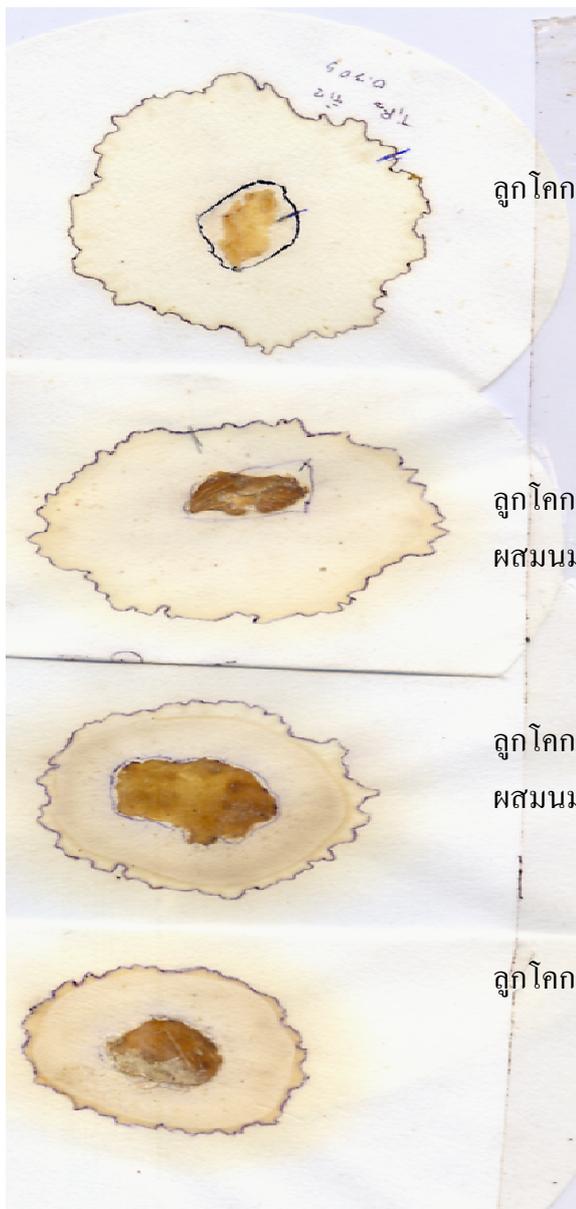
ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมหมักกรด

ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมหมักกรด 75 เปอร์เซ็นต์
ผสมนมเทียม 25 เปอร์เซ็นต์

ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมหมักกรด 50 เปอร์เซ็นต์
ผสมนมเทียม 50 เปอร์เซ็นต์

ลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมเทียม

ภาพที่ 37 พื้นที่หน้าตัดเนื้อสีนนอกของลูกโคกลุ่มที่ได้รับนมหมักกรด นมหมักกรด 75 เปอร์เซ็นต์ ผสมนมเทียม 25 เปอร์เซ็นต์ นมหมักกรด 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมนมเทียม 50 เปอร์เซ็นต์ และนมเทียม



ลูกโลกุ่มที่ได้รับนมหมักกรด

ลูกโลกุ่มที่ได้รับนมหมักกรด 75 เปอร์เซ็นต์
ผสมนมเทียม 25 เปอร์เซ็นต์

ลูกโลกุ่มที่ได้รับนมหมักกรด 50 เปอร์เซ็นต์
ผสมนมเทียม 50 เปอร์เซ็นต์

ลูกโลกุ่มที่ได้รับนมเทียม

ภาพที่ 38 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสั้นนอกของลูกโลกุ่มที่ได้รับนมหมักกรด นมหมักกรด 75 เปอร์เซ็นต์ ผสมนมเทียม 25 เปอร์เซ็นต์ นมหมักกรด 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมนมเทียม 50 เปอร์เซ็นต์ และนมเทียม