

รายงานการวิจัย

การศึกษาการทำงานของเอ็นไซม์คาลเปนในเนื้อแพะ

Study of calpain activity in goat meat



โดย
ผศ.ดร. จันทรพร เจ้าทรัพย์

และ

รศ.ดร. กัญญา ตันติวิสุทธิกุล

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในโครงการ “การศึกษาการทำงานของเอ็นไซม์คาลเปนในเนื้อแพะ” นี้ ได้บรรลุผลสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ โดยได้รับความร่วมมือและความช่วยเหลือจาก นักศึกษาศาखाวิชาครุศาสตร์เกษตร แขนงเทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ศึกษาในปีการศึกษา 2553 ได้แก่ นางสาวสมิตรา โคละทัต นายฉัฐพงศ์ สุประพาส นายอำพล ชาญชัยวัฒนา และนักศึกษาปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการเกษตร สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร นางสาวอรพิน พิมพ์สมแดง ซึ่งได้ให้ความช่วยเหลือในระหว่างการเก็บข้อมูลภาคสนามและการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ คุณเจริญศรี วุฒทกุล เจ้าหน้าที่บริหารภาควิชาครุศาสตร์เกษตร รวมถึงบุคลากรฝ่ายงานนโยบายและแผน และฝ่ายงานการเงินและพัสดุของคณะฯ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยงานและบุคคลที่ได้กล่าวนามมาข้างต้น ที่ได้ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือจนโครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

งานวิจัย เรื่อง “การศึกษาการทำงานของเอ็นไซม์คาลเปนในเนื้อแพะ” นี้ได้รับเงินวิจัยจากเงินรายได้คณะฯ เป็นจำนวน 50,000 บาท

คณะผู้วิจัย

พฤษภาคม 2554

RCH
SF
383.5
.T5
Q269A

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน **120399**
วัน, เดือน, ปี **21 ก.พ. 2555**

b. 120399
i.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาการทำงานของเอนไซม์คาลเปนในเนื้อแพะ.....
 ชื่อโครงการ(ภาษาอังกฤษ) Study of calpain activity in goat meat.....
 แหล่งเงิน เงินรายได้ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 ประจำปีงบประมาณ 2554..... จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 50,000 บาท
 ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2553 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2554
 ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัดและ อีเมลล์
 ผศ.ดร.จันทร์พร เจ้าทรัพย์ สาขาวิชา ครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
 E-mail kcchanpo@kmitl.ac.th.....
 รศ.ดร. กัญญา ดันติวิสุทธิกุล สาขาวิชา ครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
 E-mail ktkunya@kmitl.ac.th.....
 คำสำคัญ (Keywords)..... calpain activity, shear force, goat meat.....

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการทำงานของเอนไซม์ calpains ในกล้ามเนื้อของแพะ
 ลูกผสม เพศเมีย จำนวน 4 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 25 -30 กิโลกรัม พบว่ากล้ามเนื้อต่างชนิดกัน คือ กล้ามเนื้อ
 ไทต์ (Infraspinatus, IF) กล้ามเนื้อสันนอก (Longissimus dorsi, LD) และกล้ามเนื้อสันใน (Psoas major,
 PM) มีระดับการทำงานของเอนไซม์ที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนหลังสัตว์ตายที่ต่างกัน โดยเฉพาะ
 อย่างยิ่งการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 ($P < 0.05$) จึงอาจมีผลทำให้มีความนุ่มเหนียวของเนื้อต่างกัน
 ด้วย และพบว่าการบ่มเนื้อีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ calpain 1 ลดลงเกือบหมด ในขณะที่ การ
 ทำงานของเอนไซม์ calpain 2 ยังคงเหลืออยู่ประมาณ 48 เปอร์เซ็นต์หลังการบ่มเนื้อไว้ 7 วัน ดังนั้น
 เอนไซม์ calpain 1 จึงอาจจะมีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อมากกว่า calpain 2 ผลการทดลองครั้งนี้ไม่
 พบความสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของ calpain และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ แต่พบความสัมพันธ์เชิงบวก
 ระหว่าง การทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2

Abstract

Four female goats, average live weight 25 -30 kg were used. Calpain activity and shear force value were determined in three muscle types, Longissimus dorsi (LD) Infraspinus (IF) and Psoas major (PM), at different ageing time, 0 h and 7 d. LD and IF showed greater level of calpain 1 activity than PM ($P < 0.05$) while calpain 2 activity was not different ($P > 0.05$). Both calpain 1 and calpain 2 activity were decrease ($P < 0.05$) during ageing period in concomitant with shear force value ($P < 0.05$). Calpain 1 activity of IF and LD muscle at 0 h postmortem had greater level than PM at 0 h postmortem while the lowest level of calpain 1 activity was the interaction between three muscle types at 7 d post mortem. Goat LD muscle was tougher than PM and IF ($P < 0.05$). Calpain 1 activity had a positive correlation with calpain 2 activity ($P < 0.05$) while correlation between calpain activity and shear force value was not found ($P > 0.05$).



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์.....	10
1.4 ขอบเขตงานวิจัย.....	11
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	11
1.6 ระยะเวลาและสถานที่ในการดำเนินการ	11
บทที่ 2 เนื้อเรื่อง	12
2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	12
2.1.1 ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย การเก็บข้อมูล	12
2.1.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	16
2.2 ผลการวิจัยและวิจารณ์	17
สรุปผลการวิจัย.....	21
ข้อเสนอแนะและการนำไปใช้.....	21
บรรณานุกรม.....	22

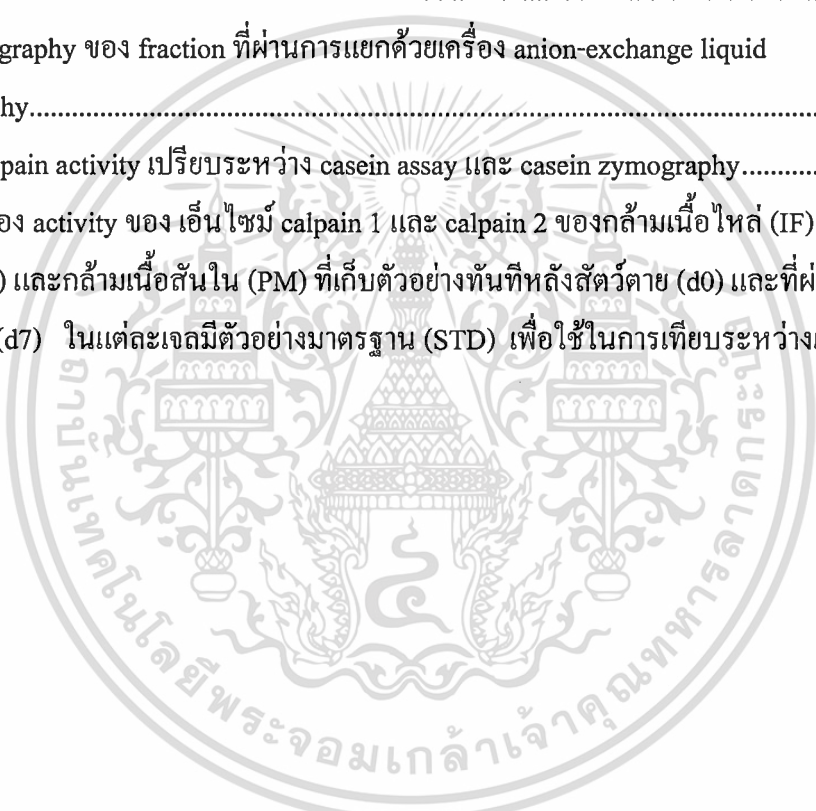
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ส่วนประกอบของโภชนะในเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ	3
2 ปริมาณกรดอะมิโนในเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ	3
3 อัตราความนุ่มของเนื้อของสัตว์แต่ละชนิดเมื่อบ่มซากไว้ที่ 1 องศาเซลเซียส	7
4 จำนวนวันที่เหมาะสมในการบ่มซากเพื่อให้เนื้อนุ่ม	7
5 ปริมาณการกินอาหาร และอัตราการเจริญเติบโตของแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกล-นูเบียน เปรียบเทียบกับแพะพื้นเมือง.....	8
6 ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์แพะและระบบการเลี้ยงที่มีต่อคุณลักษณะและส่วนประกอบทางเคมีของ เนื้อแพะ	10
7 Effect of muscle types and ageing time on Least squares means and standard error of calpain 1 and calpain 2 activity and shear force value of goat meat	20
8 Correlation between calpain 1 and calpain 2 activity and shear force value of goat meat	20

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 สัดส่วนจำนวนปศุสัตว์ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2551	2
2 จำนวนการเลี้ยงแพะในประเทศไทยในภาคต่างๆระหว่างปี พ.ศ. 2542-2552	2
3 การเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์ calpain activity และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ	4
4 การเปลี่ยนแปลงของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 (μ - calpain) calpain 2 (m – calpain) และ calpastatin ของกล้ามเนื้อ Semimembranosus ของโคในระหว่างการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 2 - 4 องศาเซลเซียส	5
5 Casein Zymography ของ fraction ที่ผ่านการแยกด้วยเครื่อง anion-exchange liquid chromatography.....	6
6 ระดับของ calpain activity เปรียบระหว่าง casein assay และ casein zymography.....	6
7 ไซโมแกรมของ activity ของ เอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ของกล้ามเนื้อไหล (IF) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อสันใน (PM) ที่เก็บตัวอย่างทันทีหลังสัตว์ตาย (d0) และที่ผ่านการบ่มเนื้อไว้ 7 วัน (d7) ในแต่ละเจลมีตัวอย่างมาตรฐาน (STD) เพื่อใช้ในการเทียบระหว่างเจล.....	18



คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

กก	กิโลกรัม
มก/ก	มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
AEBSF	2-(4-aminoethyl)-benzenesulphonyl fluoride
ATP	Adenosine tri phosphate
BSA	Bovine serum albumin
d0	day 0
d7	day 7
DTT	dithiothrietal
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
IF	Infraspinatus
LD	Longissimus dorsi
LSM	Least square means
mM	millimolar
Native PAGE	Native Polyacrylamide-Gel-Electrophoresis
PM	Psoas major
r	correlation coefficient
SE	standard error
STD	standard deviation
TEMED	tetramethylethylenediamine
v/v	volume/volume
w/v	weight/volume

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

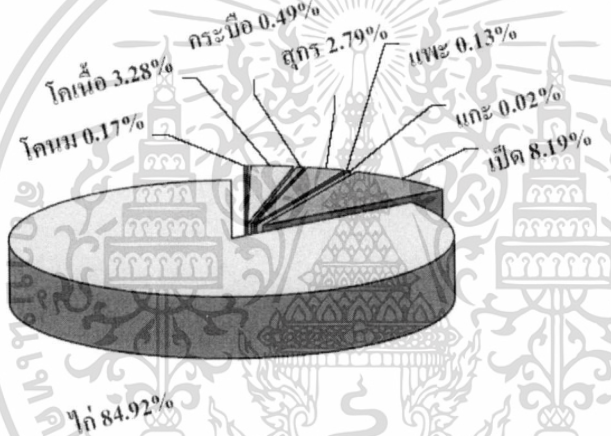
แพะจัดว่าเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย แต่ยังมีรูปแบบการเลี้ยง การปรับปรุงพันธุ์ ตลอดจนความนิยมในการบริโภคน้อยกว่าสัตว์เศรษฐกิจอื่น ๆ เช่น ไก่ และ สุกร การเลี้ยงในปัจจุบันยังไม่พัฒนาให้เป็นเชิงพาณิชย์มากนัก ส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบหลังบ้าน โดยเป็นแบบผูกถ้ำ และ แบบปล่อยอิสระ แต่อย่างไรก็ตามคาดว่า การเลี้ยงแพะมีแนวโน้มที่จะได้รับการพัฒนาเพื่อที่จะสามารถเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้น เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคสนใจเรื่องของสุขภาพมากขึ้น จึงมีการเลือกบริโภคแหล่งโปรตีนที่คาดว่าจะก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพ โดยเลือกแหล่งอาหารโปรตีนสูงที่มีปริมาณไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำ ดังนั้นผู้บริโภคจึงอาจจะหันมาบริโภคเนื้อแพะเพิ่มขึ้นเนื่องจากเป็นเนื้อที่มีไขมันและคอเลสเตอรอลซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือดน้อยกว่าในเนื้อสัตว์ชนิดอื่น (ไชยวรรณ, 2551) การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแพะยังมีอยู่ค่อนข้างน้อย ดังนั้น เพื่อรองรับความต้องการของตลาดที่คาดว่าจะเพิ่มขึ้นจึงต้องมีการพัฒนาและส่งเสริมให้มีการเลี้ยงแพะให้มากขึ้น จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาวิจัย โดยเฉพาะที่เกี่ยวกับคุณภาพเนื้อแพะที่มีการศึกษาอยู่น้อย

การวิจัยในครั้งนี้ มุ่งที่จะศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อแพะซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการตัดสินใจเลือกซื้อของผู้บริโภค อีกทั้งยังเป็นปัจจัยสำคัญต่อราคาของเนื้อแพะอีกด้วย กล่าวคือผู้บริโภคนิยมที่จะเลือกซื้อเนื้อที่มีความนุ่มถึงแม้จะมีราคาแพงกว่าก็ตาม ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อภายหลังขบวนการฆ่าแล้ว คือเอ็นไซม์ ซึ่งยังคงทำงานอยู่ภายหลังสัตว์ตาย และสามารถย่อยโปรตีนในเนื้อได้ โดยเฉพาะกลุ่มของเอ็นไซม์ calpains ดังนั้น การวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาถึงการทำงานของเอ็นไซม์กลุ่มนี้ที่อยู่ในเนื้อแพะ โดยมีสมมติฐานว่ากล้ามเนื้อต่างชนิดกันอาจมีคุณสมบัติทางชีวเคมีรวมทั้งปริมาณและชนิดของเอ็นไซม์ โดยเฉพาะเอ็นไซม์ calpains ที่ต่างกันซึ่งอาจมีอิทธิพลทำให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีนภายหลังสัตว์ ซึ่งจะส่งผลทำให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้น ตลอดจนศึกษาถึงอิทธิพลของการบ่มที่มีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ calpain ในเนื้อแพะ โดยผลจากการทดลองครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงคุณภาพเนื้อแพะได้ต่อไป

1.2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

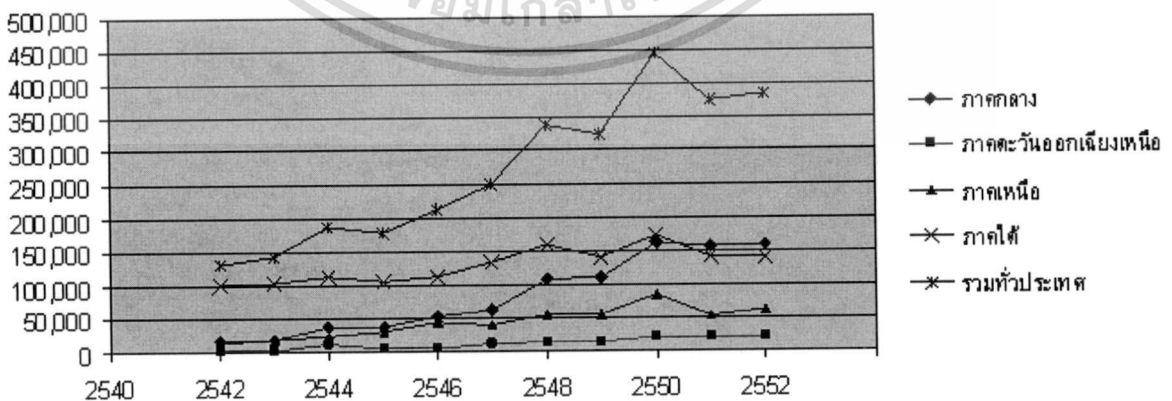
1.2.1 ปริมาณการเลี้ยงแพะในประเทศไทย

สัตว์ที่มีการเลี้ยงมากที่สุดในประเทศไทยคือสัตว์ปีก โดยเฉพาะไก่ที่มีมากถึง 85 เปอร์เซ็นต์ และ เป็ดประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มสัตว์ใหญ่ที่มีการเลี้ยงมาก 5 อันดับแรก คือ โคเนื้อ สุกร กระบือ โคนม และแพะ (ดังภาพที่ 1) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าแพะค่อนข้างมีความสำคัญต่อวงการปศุสัตว์ของประเทศไทย จากประมวลสถิติของกรมปศุสัตว์พบว่า ปริมาณการเลี้ยงแพะเนื้อมากกว่าแพะนม โดยในปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยมีปริมาณแพะเนื้อ 344,516 ตัว ส่วนแพะนม 29,513 ตัว การเลี้ยงแพะในประเทศไทยในระยะสิบปีที่ผ่านมา คือระหว่าง พ.ศ. 2542 - 2552 นั้นพบว่าจำนวนประชากรแพะทั่วประเทศเพิ่มขึ้นอย่างมากจาก 132,845 ตัวในปี พ.ศ. 2542 เป็น 383,796 ตัว ในปี พ.ศ. 2552 โดยมีการเพิ่มขึ้นในทุกภาคของประเทศ ภาคใต้มีการเลี้ยงแพะมากที่สุดและพบว่าตั้งแต่จากปีพ.ศ. 2550 เป็นต้นมาปริมาณการเลี้ยงแพะในภาคกลางเพิ่มขึ้นมาเท่ากับภาคใต้ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 สัดส่วนจำนวนปศุสัตว์ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2551

ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2553)



ภาพที่ 2 จำนวนการเลี้ยงแพะในประเทศไทยในภาคต่างๆระหว่างปี พ.ศ. 2542-2552

ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.2 คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อแพะ

เนื้อแพะมีโปรตีนสูง แต่ให้พลังงานต่ำ ทั้งยังมีปริมาณไขมันรวม ปริมาณไขมันอิ่มตัว และคอเลสเตอรอลน้อยกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ ดังในตารางที่ 1 ดังนั้นเนื้อแพะจึงเหมาะสำหรับผู้บริโภคคำนึงถึงสุขภาพเป็นสำคัญ โดยเฉพาะเรื่องของไขมันในอาหารที่อาจก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพตามมา เช่น โรคอ้วน หรือ ไขมันอุดตันในเส้นเลือด เป็นต้น นอกจากนี้เนื้อแพะยังมีปริมาณธาตุเหล็กที่สูงกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่น อีกทั้งยังมีปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) ใกล้เคียงกับเนื้อโคและเนื้อแกะ (ตารางที่ 2) ดังนั้นคาดว่าเนื้อแพะน่าจะได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากในปัจจุบันนี้ผู้บริโภคคำนึงถึงสุขภาพมากขึ้น

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของโภชนะในเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ

โภชนะ (เนื้อปรงสุก 100 ก)	แพะ	ไก่	โค	หมู	แกะ
แคลอรี (กิโลแคลอรี)	143	165	208	252	290
ไขมัน (ก)	3.03	3.57	11.07	14.28	21.12
ไขมัน (Saturated) (ก)	0.93	1.01	4.07	5.25	9.08
โปรตีน (ก)	75	85	84	96	93
คอเลสเตอรอล (มก)	27.1	31	25.05	28.88	23.27
ธาตุเหล็ก (มก)	3.73	1.04	1.66	1.05	1.4

ที่มา : USDA Nutrient Database for Standard Reference (2004)

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดอะมิโนในเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ

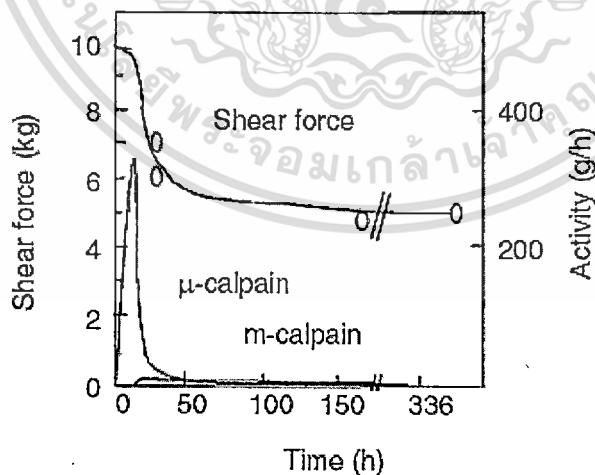
กรดอะมิโน (ก/100 ก)	แพะ	โค	แกะ
Tryptophan	0.306	0.14	0.234
Threonine	0.981	0.849	0.855
Isoleucine	1.042	0.967	0.964
Leucine	1.716	1.691	1.554
Lysine	1.532	1.797	1.765
Methionine	0.552	0.554	0.513
Cystine	0.245	0.274	0.239
Phenylalanine	0.715	0.84	0.814
Tyrosine	0.633	0.677	0.672
Valine	1.103	1.055	1.078
Arginine	1.512	1.375	1.187
Histidine	0.429	0.678	0.633

ที่มา : USDA Nutrient Database for Standard Reference (2010) มอนูญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.3 ความสำคัญของเอนไซม์ calpains ต่อความนุ่มของเนื้อ

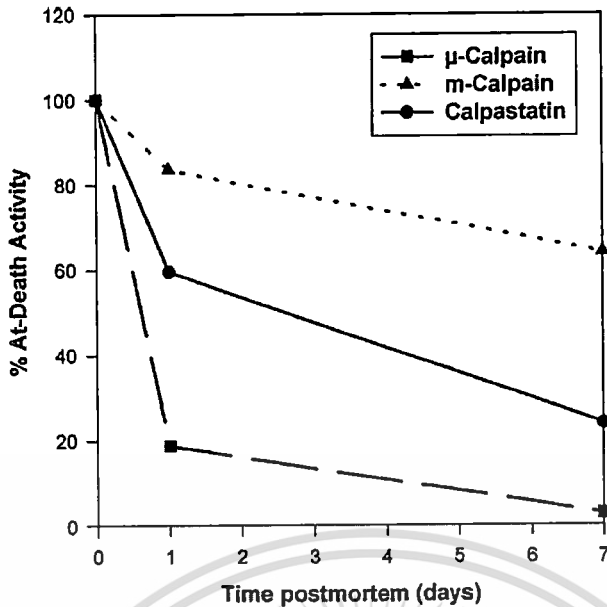
เอนไซม์ Calpains จะทำงานเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} และทำปฏิกิริยาได้ดีในสภาพเป็นกลาง calpain จะมีอยู่ 2 รูปคือ calpain 2 (m - calpain) จะถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} ปริมาณสูง (1 - 2 mM) และ calpain 1 (μ - calpain) จะถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} ปริมาณต่ำ (50 - 100 μM) เอนไซม์นี้จะอยู่บริเวณ z - line การทำงานของ calpain จะทำให้เกิดการแตกหักของ tropomyosin และ titin (connectin) โดยหลังจากการทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนแล้วเอนไซม์ calpain จะเกิดการสลายตัว (autolysis)

หลังจากสัตว์ตายแล้ว เมื่อ ATP ถูกใช้จนหมด จากนั้นกระบวนการ rigor mortis จะเริ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้ ผนังของซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมและไมโทคอนเดรียไม่สามารถเก็บ Ca^{2+} ไว้ได้ ทำให้ Ca^{2+} ถูกปล่อยออกสู่ซาร์โคพลาซึม และ ไปท่วมไมโอไฟบริล (Jeacocke, 1993) ซึ่งปริมาณของ Ca^{2+} ที่เพิ่มขึ้นนี้จะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpains มีรายงานผลการทดลองว่า calpain 1 มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้นหลังการบ่มซากไวกว่า calpain 2 โดยปกติเอนไซม์กลุ่มนี้เมื่อทำการย่อยสลายโปรตีนแล้วจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง ซึ่งวัดได้จากการลดลงของ activity นั้นเอง จากผลการทดลองของ te Pas et al. (2004) พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงในระหว่าง 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย สอดคล้องกับการลดลงของ calpain 1 activity ในช่วงเวลาเดียวกัน ในขณะที่ calpain 2 activity ที่ค่อนข้างต่ำและลดลงน้อยมากในช่วง 50 ชั่วโมงแรกหลังสัตว์ตาย (ภาพที่ 3) Boehm et al. (1998) พบว่า calpain 1 และ calpastatin มี activity ลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังสัตว์ตาย จากการศึกษาในกล้ามเนื้อสันนอกช่วงอกและกล้ามเนื้อสันในของโคพบว่า calpain 1 activity ลดลง 71 และ 93 เปอร์เซ็นต์ และ calpastatin ลดลง 76 และ 71 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ calpain 2 มี activity ลดลงเพียง 9 และ 27 เปอร์เซ็นต์ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ calpain activity และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

ที่มา : te Pas et al. (2004)



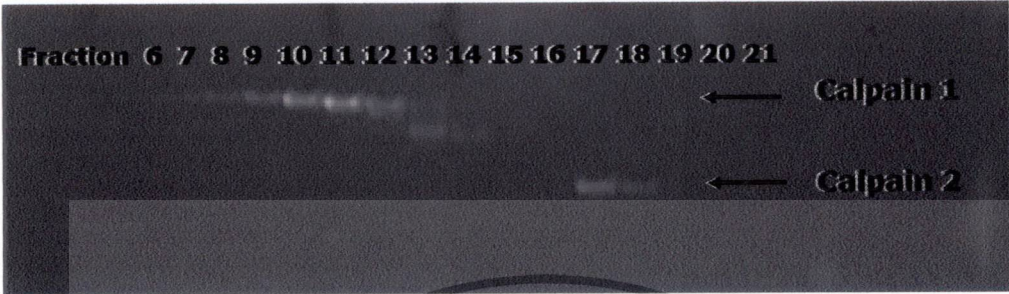
ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 (μ - calpain) calpain 2 (m - calpain) และ calpastatin ของกล้ามเนื้อ *Semimembranosus* ของโคในระหว่างการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 2 - 4 องศาเซลเซียส
ที่มา : Boehm et al. (1998)

1.2.4 การศึกษา activity ของเอ็นไซม์ calpains ด้วยวิธีไซโมกราฟ

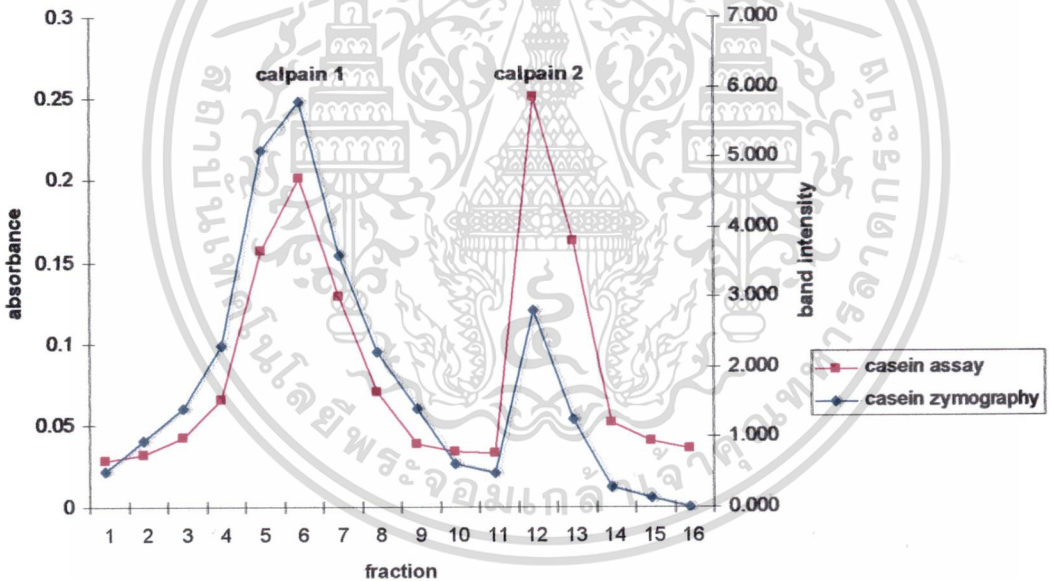
การศึกษา activity ของ เอ็นไซม์ calpains ด้วยวิธีไซโมกราฟ นั้นนับว่าเป็นวิธีที่ประหยัดทั้งเวลาและต้นทุนในการวิเคราะห์ เมื่อเปรียบเทียบกับการวัด activity ของเอ็นไซม์ calpains แบบดั้งเดิมที่ต้องทำการแยกเอ็นไซม์ให้บริสุทธิ์ก่อน โดยต้องแยกทั้ง calpain 1 calpain 2 และ calpastatin ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ calpains ด้วย ซึ่งมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและใช้เวลานาน ผลการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ว่าทั้งวิธีไซโมกราฟและแบบดั้งเดิมนั้นมีความสัมพันธ์กัน ดังผลการศึกษาของ Sensky et al. (1999) ที่ทำการแยกชนิดของเอ็นไซม์ calpain ออกจากกันด้วยเครื่อง anion-exchange liquid chromatography เมื่อนำเอา fraction ที่แยกออกมาไปทำ Western blot โดยใช้แอนติบอดีของ calpain 1 และ calpain 2 เป็นตัวทดสอบ พบว่า fraction ที่แยกออกมาก่อนทำปฏิกิริยากับ anti - calpain 1 ส่วน fraction ที่แยกออกมาทีหลังทำปฏิกิริยากับ anti - calpain 2 จึงสรุปได้ว่า calpain 1 จะถูกแยกออกมาก่อน calpain 2

Chaosap (2010) นำ fraction ที่ได้จากการแยกด้วยเครื่อง anion-exchange liquid chromatography มาทำทดสอบ activity ของเอ็นไซม์ calpains พบว่า calpain 1 จะอยู่ในตำแหน่งที่สูงกว่า calpain 2 ใน casein gel ดังภาพที่ 5 ซึ่งสอดคล้องกับ Arther and Mykles (2000), Veiseth et al. (2001) และ Camou et al. (2007) จากการศึกษาของ Chaosap (2010) ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับของ activity ของทั้งเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ด้วยวิธี casein เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

zymography และวิธีการดั้งเดิมที่วัดจากการย่อยเคซีนด้วยเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ตามวิธีการของ Higgins et al. (1988) นั้นพบว่า แต่ละ fraction ที่แยกออกมา มีระดับของปฏิกิริยา calpain 1 และ calpain 2 ที่สอดคล้องกัน (ภาพที่ 6) จึงสรุปได้ว่าการศึกษา activity ของ calpains นั้นสามารถใช้วิธี casein zymography มาทำการทดสอบได้



ภาพที่ 5 Casein Zymography ของ fraction ที่ผ่านการแยกด้วยเครื่อง anion-exchange liquid chromatography
ที่มา : Chaosap (2010)



ภาพที่ 6 ระดับของ calpain activity เปรียบระหว่าง casein assay และ casein zymography
ที่มา : Chaosap (2010)

1.2.5 การบ่มซาก (ageing)

โรงฆ่าสัตว์ที่ได้มาตรฐานนั้น หลังจากการฆ่าและชำแหละซากแล้วจะมีการแช่ซากในห้องเย็นอุณหภูมิประมาณ 3 องศาเซลเซียสทันที เพื่อเป็นการลดอุณหภูมิจากประมาณ 38 องศาเซลเซียส เป็น 10 องศาเซลเซียส และแช่เย็นซากไว้อย่างนี้ประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อให้กระบวนการหดเกร็งตัวเอกสาร์เป็นเอกสาร์ที่ลงวันไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาดเห็นาเปไซประเยชนดานการค้ำไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของกล้ามเนื้อเป็นไปอย่างสมบูรณ์ แล้วจึงนำไปตัดแต่งเพื่อส่งตลาดต่อไป การแช่เย็นนี้นอกจากจะทำให้การหดเกร็งตัวของเนื้อเป็นไปอย่างสมบูรณ์แล้ว ยังเป็นการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ อีกทั้งทำให้ง่ายในการตัดแต่งซากอีกด้วย การบ่มซากที่ต้องการให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้นนั้น จะต้องมีระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นไปอีก ระยะเวลาในการบ่มซากสัตว์แต่ละชนิดก็ไม่เท่ากัน เช่น ในสุกรจะใช้ระยะเวลาการบ่มสั้นกว่าโค โดยสุกรใช้ระยะเวลาในการบ่มซากที่อุณหภูมิ 1 - 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วันก็เพียงพอ ในขณะที่โคอาจต้องบ่มซากนานถึง 8 - 14 วัน (ตารางที่ 3 และ ตารางที่ 4)

การบ่มซากมีผลทำให้เนื้อนุ่มขึ้น เนื่องจากการบ่มซากนั้นทำให้เนื้อมียูณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ calpains ที่อยู่ในเนื้อ โดยหลังจากที่ผ่านกระบวนการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อแล้ว แคลเซียมที่อยู่ในเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัมจะเกิดการรั่วไหลออกมาสู่ซาร์โคพลาสมิซึม ปริมาณแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นนี้จะไปกระตุ้นการทำงานของ เอนไซม์ calpains โดยเฉพาะอย่างยิ่ง calpain 1 ทำให้เกิดการย่อยสลายเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นผลให้เนื้อนุ่มขึ้น

ตารางที่ 3 อัตราความนุ่มของเนื้อของสัตว์แต่ละชนิดเมื่อบ่มซากไว้ที่ 1 องศาเซลเซียส

ชนิดสัตว์	จำนวนวันในการบ่มเนื้อ จนมีความนุ่ม 80 เปอร์เซนต์ของความนุ่มสูงสุด
โค	10.0
กระต่าย	9.5
แกะ	7.7
สุกร	4.2
ไก่	0.3

ที่มา : Warris (2000)

ตารางที่ 4 จำนวนวันที่เหมาะสมในการบ่มซากเพื่อให้เนื้อนุ่ม

ชนิดสัตว์	จำนวนวันที่ควรทำการบ่มซาก
สุกร	4-10
แกะ	7-14
โค	10-21

ที่มา : Warris (2000)

1.2.6 การศึกษาเกี่ยวกับแพะ

1.2.6.1 อัตราการเจริญเติบโตและคุณภาพซาก

ผลการศึกษาในเรื่องของสมรรถภาพการเจริญเติบโตและคุณภาพซากเปรียบเทียบกับระหว่างแพะพันธุ์ ถูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียน และ พันธุ์พื้นเมืองเพศผู้ของ สาธิต และคณะ (2553) พบว่าแพะ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลูกผสมพื้นเมืองและแองโกลนูเบียมีการกินอาหารทั้งอาหารหยาบและอาหารชั้นสูงกว่าแพะพื้นเมือง ($P<0.05$; ตารางที่ 5) น้ำหนักหลังสิ้นสุดการทดลองสูงกว่า ($P<0.05$) และมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงกว่า ($P<0.05$) ในขณะที่มีค่าอัตราแลกเปลี่ยน (feed conversion ratio) ต่ำกว่า ($P<0.05$) ส่วนในเรื่องของคุณภาพซากพบว่าแพะลูกผสมมีน้ำหนักซาก เปอร์เซ็นต์ซาก และ พื้นที่หน้าตัดเนื้อสันใหญ่กว่าพันธุ์พื้นเมือง ($P<0.05$) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์เนื้อแดงและเปอร์เซ็นต์ไขมันในซากไม่ต่างกันทางสถิติ Pralomkarn และคณะ (1995) รายงานว่าแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบีย 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์มีโครงร่างใหญ่กว่าและน้ำหนักตัวมากกว่าพันธุ์พื้นเมืองแต่เปอร์เซ็นต์ซากไม่ต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 5 ปริมาณการกินอาหาร และอัตราการเจริญเติบโตของแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียเปรียบเทียบกับแพะพื้นเมือง

ลักษณะที่ศึกษา	ลูกผสมพื้นเมืองกับ แองโกลนูเบีย	พื้นเมือง
สมรรถภาพการเจริญเติบโต		
ปริมาณการกินอาหาร (ก./ตัว/วัน)		
อาหารชั้น	349.99 ± 21.90 ⁿ	296.76 ± 19.35 ^u
อาหารหยาบ	938.45 ± 138.23 ⁿ	754.34 ± 132.47 ^u
รวมปริมาณการกินทั้งหมด	1288.43 ± 150.23 ⁿ	1051.12 ± 146.54 ^u
นน.เริ่มต้น (กก.)	16.45 ± 2.38 ⁿ	15.52 ± 1.33 ^u
นน.สิ้นสุดการทดลอง (กก.)	30.18 ± 4.46 ⁿ	25.69 ± 2.28 ^u
อัตราการเจริญเติบโต อายุ 0-180 วัน (ก./วัน)	72.47 ± 16.85 ⁿ	56.85 ± 9.70 ^u
อัตราการแลกเปลี่ยน อายุ 0-180 วัน	10.51 ± 1.41 ⁿ	13.73 ± 0.47 ^u
คุณภาพซาก		
นน.ซากร้อน (กก.)	14.51 ± 2.27 ⁿ	11.89 ± 1.31 ^u
นน.ซากเย็น (กก.)	13.75 ± 2.82 ⁿ	10.75 ± 1.37 ^u
เปอร์เซ็นต์ซาก	51.06 ± 1.28	50.72 ± 1.96
พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (ซม ²)	10.49 ± 0.39 ⁿ	8.64 ± 0.30 ^u
เปอร์เซ็นต์เนื้อแดง	69.99 ± 0.94	70.38 ± 0.81
เปอร์เซ็นต์ไขมัน	6.88 ± 1.76	7.03 ± 1.39

ที่มา : ดัดแปลงจาก สาริต และคณะ (2553)

ⁿ อักษรต่างกัน ในแถวเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

1.2.6.2 คุณภาพเนื้อ

ลักษณะทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อแพะ เกลิมขวัญ และคณะ (2552) ศึกษาถึงอิทธิพลของพันธุ์และวิธีการเลี้ยงแพะ น โดยเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พื้นเมืองกับลูกผสมพื้นเมืองการค้า ไม่ว่าจะถึงอายุทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับแองโกลนูเบียน ที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลาโดยให้กินหญ้าอย่างเต็มที่ กับ แบบกึ่งขังคอกคือปล่อยในแปลงหญ้าและเข้าคอกตอนเย็น โดยทั้งสองกลุ่มได้รับอาหารชั้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์และวิธีการเลี้ยงมีผลต่อระดับของคอเลสเทอรอลโดยพันธุ์ถูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลา มีคอเลสเทอรอลสูงที่สุด รองลงมาคือแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนที่เลี้ยงแบบกึ่งขังคอก และแพะพื้นเมืองที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลา ส่วนแพะพื้นเมืองที่เลี้ยงแบบกึ่งขังคอกมีระดับคอเลสเทอรอลต่ำที่สุด ($P < 0.05$) แพะพื้นเมืองมีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงกว่าลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนในขณะเดียวกันก็มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อสันนอกสูงกว่าด้วย การเลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลาเนื้อสันนอกแพะมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นและโปรตีนสูงกว่าแบบกึ่งขังคอก ($P < 0.05$) แพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนมีเปอร์เซ็นต์ไขมันในเนื้อสันนอกสูงกว่าแพะพื้นเมือง ($P < 0.05$; ตารางที่ 6) นอกจากนี้ เกลิมขวัญ และคณะ (2552) ยังรายงานว่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จัดว่าดีต่อสุขภาพ โดยเฉพาะลิโนเลอิก (C18:2) นั้นพบว่ามีในแพะพันธุ์พื้นเมืองสูงกว่าแพะลูกผสม และยังพบว่าการเลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลามีลิโนเลอิกมากกว่าการแบบกึ่งขังคอก รวมทั้งพบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการเลี้ยงและพันธุ์แพะอีกด้วย ($P < 0.05$) Casey (1992) รายงานว่าเนื้อแพะมีปริมาณคอเลสเตอรอล 5 มก/ก ของเนื้อ และมีปริมาณคอเลสเตอรอลที่ละลายได้อยู่ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณคอเลสเตอรอลทั้งหมด ปริมาณคอเลสเทอรอลในเนื้อแพะที่มีค่าต่ำกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นดังรายงานของ USDA Park และคณะ (1991) พบว่ากล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสะโพกของแพะมีปริมาณคอเลสเทอรอลต่างกันคือ 57.80 และ 69.50 มก./100 ก ตามลำดับ Beserra และคณะ (2004) รายงานการเพิ่มขึ้นของคอเลสเทอรอลตามอายุของแพะ โดยพบว่าแพะที่อายุ 4-6 เดือนมีปริมาณคอเลสเทอรอล 20.5 - 28.5 มก/100 ก แต่ที่อายุมากขึ้นมีปริมาณคอเลสเทอรอลสูงขึ้นเป็น 52 - 74 มก/100 ก

การศึกษาในเรื่องคุณภาพของเนื้อแพะในเรื่องของความนุ่ม ลักษณะทางกายภาพ ตลอดจนเรื่องขององค์ประกอบทางเคมีนั้นมีความค่อนข้างมาก แต่ในเรื่องของการศึกษาถึงเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อ โดยเฉพาะเอ็นไซม์ calpains นั้นยังไม่มีการศึกษามากนัก โดยเฉพาะในประเทศไทย ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาในเรื่องนี้เพื่อที่จะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อแพะในประเทศต่อไป

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์แพะและระบบการเลี้ยงที่มีต่อคุณลักษณะและส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อแพะ

Item	TI		TI x AN		Level of significant		
	Intensive	Semi-intensive	Intensive	Semi-intensive	A	B	A x B
Longissimus dorsi							
L*	34.4±5.05	34.3±3.48	37.4±3.88	37.2±6.23	ns	ns	ns
a*	13.2±3.92	11.5±2.08	10.9±1.99	11.4±1.83	ns	ns	ns
b*	12.3±5.98	11.3±4.44	10.6±4.20	10.2±3.34	ns	ns	ns
Cooking loss (%)	36.0±2.28	37.9±3.55	35.7±3.20	36.4±3.34	ns	ns	ns
Shear force values (kg)	2.84±0.47	3.05±0.63	2.43±0.32	2.47±0.17	*	ns	ns
Moisture (%)	76.1±0.35	74.6±0.87	75.4±0.48	74.6±0.66	ns	*	ns
Protein (%)	22.1±0.54	23.1±0.95	22.1±0.37	23.0±0.74	ns	*	ns
Fat (%)	0.90±0.08	0.90±0.03	1.32±0.11	1.39±0.21	*	ns	ns
Ash (%)	1.24±0.00 ^b	1.38±0.06 ^a	1.25±0.04 ^b	1.29±0.07 ^b	ns	*	*
Total collagen (mg/g muscle)	6.39±0.58	8.69±0.16	4.95±0.55	7.69±0.31	*	*	ns
Soluble collagen (% of total collagen)	36.9±0.48	35.8±0.78	35.4±1.00	35.7±0.84	ns	ns	ns
Cholesterol (mg/100g)	26.77±0.00 ^a	27.17±0.00 ^c	35.82±0.00 ^a	27.79±0.00 ^b	*	*	*
Biceps femoris							
L*	34.0±3.37	37.7±5.26	34.5±6.04	33.2±3.24	ns	ns	ns
a*	12.1±2.09	12.8±2.43	12.7±2.73	14.3±4.05	ns	ns	ns
b*	10.1±3.78	10.9±5.04	10.5±4.39	12.3±6.87	ns	ns	ns
Cooking loss (%)	38.1±1.09	38.9±1.82	37.9±3.40	36.7±5.85	ns	ns	ns
Shear force values (kg)	5.13±0.21 ^{ab}	5.67±1.32 ^a	4.42±0.66 ^b	5.32±0.45 ^{ab}	ns	ns	*
Moisture (%)	76.2±0.63	76.2±0.81	75.3±0.46	75.0±1.39	*	ns	ns
Protein (%)	21.3±0.69	21.4±0.78	22.3±0.45	22.7±1.22	*	ns	ns
Fat (%)	1.01±0.06	1.16±0.17	1.02±0.10	1.14±0.18	ns	ns	ns
Ash (%)	1.29±0.13	1.22±0.08	1.30±0.06	1.42±0.06	*	ns	ns
Total collagen (mg/g muscle)	8.01±0.09 ^b	8.99±0.34 ^a	5.77±0.28 ^c	8.59±0.29 ^a	*	*	*
Soluble collagen (% of total collagen)	37.8±0.21	37.4±0.59	37.7±0.31	37.8±0.29	ns	ns	ns
Cholesterol (mg/100g)	26.6±0.00 ^a	27.8±0.00 ^a	25.3±0.00 ^a	27.2±0.00 ^b	*	*	*
Number of goat	6	6	6	6	-	-	-

TI = Thai Native, TI x AN = Thai Native x Anglonubian (50:50%)

A = Breeds, B = Rearing System, A x B = Breeds x Rearing System

* = $p < 0.05$, ns = non significance

^{abc} Mean within row with differing superscripts are significant differences between breeds and rearing systems

ที่มา : เฉลิมขวัญ และคณะ (2552)

1.3 วัตถุประสงค์

1. วิเคราะห์หาเอ็นไซม์ calpain activity ในกล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันใน
2. ตรวจสอบค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในที่ระยะเวลาภายใน 1 วันหลังสัตว์ตาย และที่บ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน
3. หาความสัมพันธ์ระหว่างเอ็นไซม์ calpain activity และความนุ่มของเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ จะทำการศึกษาเอ็นไซม์ calpain activity ในกล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอก และกล้ามเนื้อสันในของแพะลูกผสม เพศเมีย จำนวน 4 ตัว สำหรับการวิเคราะห์หาเอ็นไซม์ calpain activity ทำการเก็บตัวอย่างที่ระยะไม่เกิน 1 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย และ หลังการบ่มเนื้อ ไว้ที่อุณหภูมิ ประมาณ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน ด้วยเทคนิค casein zymography ส่วนการวิเคราะห์หาค่าแรงตัดผ่านเนื้อนั้นทำการศึกษาในกล้ามเนื้อทั้ง 3 ชนิด และใน 2 ระยะเวลาการบ่มเนื้อ คือที่ระยะเวลาภายใน 1 วันหลังสัตว์ตาย และที่บ่มเนื้อ ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป
2. บริการความรู้แก่ประชาชน
3. บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจ
4. นำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์
5. สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

เกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ กรมปศุสัตว์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

1.6 ระยะเวลาและสถานที่ในการทำวิจัย

1.5.1 ระยะเวลาในการทำวิจัยครั้งนี้ ตั้งแต่ ตุลาคม พ.ศ. 2553 – เมษายน พ.ศ. 2554

1.5.2 สถานที่ในการทำวิจัย มี ดังนี้

สถานที่ทำการทดลองคือห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์เกษตร และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทที่ 2

เนื้อเรื่อง

2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1.1 ขั้นตอนและวิธีการในการวิจัย การเก็บข้อมูล

การวิจัยแบ่งออกเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้เป็นกล้ามเนื้อไหล่ง กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในของแพะลูกผสม เพศเมีย จำนวน 4 ตัว น้ำหนักมีชีวิตประมาณ 25-30 กก. โดยใช้แพะที่โตเต็มวัย อายุมากกว่า 2 ปี โดยทำการเก็บตัวอย่างที่โรงฆ่าแพะ เขตทุ่งครุ กรุงเทพมหานคร เมื่อแพะถูกฆ่าและชำแหละแล้ว เก็บตัวอย่างดังกล่าวภายใน 1 ชั่วโมงหลังฆ่าแล้วแช่ในไนโตรเจนเหลวจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์หา calpain activity ต่อไป ส่วนตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์หาค่าแรงตัดผ่านเนื้อนั้นทำการห่อด้วยพลาสติกใส ใส่ลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง แล้วนำมาบรรจุในถุงสุญญากาศ (vacuum) บ่มที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส จนถึงครบ 1 วัน และ 7 วัน เมื่อครบเวลาการบ่มจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่อไป

สารเคมี และ อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. สารเคมี

1.1 Extraction buffer

50 mM Tris/HCl pH 7.5

5 mM EDTA

added the following proteinase inhibitors before use

200 µg/ml AEBSF (20 mg/ml stock solution)

1 µg/ml leupeptin (5 mg/ml stock solution)

1 µg/ml pepstatin (5 mg/ml stock solution)

1.2 Gel sample buffer

2 ml glycerol

1.25 ml 1 M Tris/HCl

1 ml 1 M DTT (from a 0.154 g/ml solution)

make to 10 ml with distilled water

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ add few grains of Bromophenol blue เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 Casein solution

10 mg/ml casein in 0.75 M Tris-HCl, pH 8.8

for 0.75 M Tris-HCl take 3.75 mls of 2 M Tris/HCl pH 8.8 plus 6.25 mls H₂O

1.4 Gel solutions

- เตรียม 40% acrylamide ในอัตราส่วน 75:1 ของ Acrylamide:Bis ถ้าต้องการเตรียม 10 ml จะต้องใช้ 5 ml of 40% (w/v) Acrylamide/Bis-acrylamide solution 37.5:1 ผสมกับ 5 ml of 40% (w/v) Acrylamide solution

- 2M Tris-HCl, pH 8.8

- 1M Tris-HCl, pH 6.8

- Ammonium Persulphate (Sigma, UK)

- N,N,N',N' tetramethylethylenediamine (Sigma, UK)

1.5 Electrophoresis buffer (5 x stock):

125 mM Tris base

625 mM glycine

5mM EDTA

pH 8.3

จากนั้นละลายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1x ก่อนใช้และเติม 1mM DTT 0.154g/ml solution (1 mM DTT 500µl ต่อ buffer 500ml) และต้องทำให้เย็นก่อนนำไปใช้โดยแช่ไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

1.6 Ca²⁺ incubation buffer

50 mM Tris/HCl pH 7.0

5 mM CaCl₂

10 mM DTT

1.7 Fixing solution

10% (v/v) acetic acid

1.8 Staining solution

0.2% (w/v) coomassie blue, 0.2% (w/v) amido black, 10% (v/v) acetic acid)

1.9 Destain solution

10% (v/v) acetic acid

1.10 การเตรียม non reducing gel

Solution	2 Gel		4 Gel	
	Resolving gel (ml)	Stacking gel (ml)	Resolving gel (ml)	Stacking gel (ml)
Acrylamide:bis (75:1) 40% w/v acylamide solution	2.5		5	
Acrylamide:bis (37.5:1) 40% w/v acylamide solution		0.6		1.2
2 M Tris-HCl, pH 8.8	1.13		2.25	
1 M Tris-HCl, pH 6.8		0.63		1.25
Casein, 10 mg/ml	2		4	
Water	4.31	3.78	8.62	7.56
	Mix			
TEMED	10 ul	5 ul	20 ul	10 ul
10% (w/v) Ammonium persulphate	50 ul	25 ul	100 ul	50 ul

2. อุปกรณ์

2.1 การวัด calpain activity

- 1) ชุดอิมมูโนโบลอกราฟี (Biorad, USA)
- 2) Scanner Epson Perfection V700 Photo
- 3) Software Quantity One (Biorad, USA)

2.2 การวิเคราะห์หาค่าความนุ่มของเนื้อ

- 1) เครื่อง Hounsfield S-Series
- 2) มีด และเชียง

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การวัด calpain activity

1.1 การสกัดโปรตีน

ทำการสกัดโปรตีนจากตัวอย่างกล้ามเนื้อไหล่ (IF, Infraspinatus) สันนอก (LD, Longissimus dorsi) และ สันใน (PM, Psoas major) ที่เก็บทันทีหลังสัตว์ตายและที่ผ่านการบ่มไว้ 7

วันแล้วเก็บไว้ที่ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส โดยชั่งเนื้อตัวอย่าง 1 ก. แล้วเติม extraction buffer ลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไป 3 มล. นำไปปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer (Ika, Germany) ที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centurion, UK) ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เก็บสารละลายส่วนใส 200 μ l และเติม sample buffer 200 μ l ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัด calpain activity ด้วยวิธี casein zymography ทันที เก็บสารละลายส่วนใส 20 μ l ผสมกับ 0.1 M NaOH 900 μ l จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C ก่อนนำไปวัดความเข้มข้นของโปรตีนต่อไป

1.2 การทำอิเล็กโตรโฟรีซิส แบบ Native PAGE

ทำการแยกเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิส แบบ Native PAGE ด้วยเครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า รุ่น Mini-Protein Tetra Cell (Biorad, USA) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก (Arther and Mykle, 2000) ใช้เจลชั้นล่าง (separating gel) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และเจลชั้นบน (stacking gel) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ดังวิธีการเตรียมใน ข้อ 1.10 นำส่วนใสที่ได้จากการสกัดโปรตีนของตัวอย่างเนื้อเพาะผสมกับ loading buffer ในอัตราส่วน 1 : 2 ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ประมาณ 30 วินาที ก่อนนำไปใส่ลงในหลุม (well) บนเจล

ก่อนใส่ตัวอย่างลงไปในเจล จะต้องทำการ pre run ก่อนเป็นเวลา 30 นาที โดยเจลอยู่ในชุดอิเล็กโตรโฟรีซิสที่มี running buffer อยู่และต้องทำการใส่เครื่องแยกโปรตีนลงในกล่องโพลีที่มีน้ำแข็งหล่อเย็นตลอดเวลา จากนั้นต่อขั้วบวก (Anode) เข้ากับ Chamber ล่างและขั้วลบ (Cathod) เข้ากับ Chamber บน และเปิดสวิทช์ของเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 125 โวลต์ เมื่อครบ 30 นาทีแล้วปิดสวิทช์ก่อนแล้วใช้ไมโครปิเปตค่อยๆ ใส่ตัวอย่าง 6 ไมโครลิตรลงไปในเจล แล้วทำการ run ต่อโดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 125 โวลต์ ประมาณ 4 ชั่วโมง หรือหลังจากเห็น Bromophenol blue หลุดออกจากเจลให้ run ต่อไปอีกประมาณ 1 ชั่วโมง

จากนั้นนำเจลไปแช่ใน Ca^{2+} incubation buffer โดยเปลี่ยน buffer 3 ครั้งทุกๆ 10 นาที แล้วแช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องจนครบ 1 คืน แล้วนำเจลมาแช่ใน Fixing solution เป็นเวลา 20 นาที นำไปย้อมสีด้วย Staining solution เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างด้วย 10 % Acetic acid จนกระทั่งมองเห็นแถบสว่างอย่างชัดเจนซึ่งแถบสว่างนี้เกิดจากเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ย่อยสลายเคซีนที่อยู่ในเจล

นำเจลที่ได้ไปทำการสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ Epson V700 ให้อยู่ในรูปแบบ Tiff file โดยภาพเป็นแบบ Gray scale 16 bit จากนั้นนำภาพที่ได้ไปทำการ quantify band ด้วยโปรแกรม Quantity One (Biorad, USA)

1.3 การวัดความเข้มข้นของโปรตีน

วัดความเข้มข้นของโปรตีนด้วยเทคนิค Lowry โดยแต่ละตัวอย่างทำการวัด 2 ซ้ำ นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่เจือจางของ Bovine serum albumin (BSA; Sigma, UK) ด้วย 0.1 M NaOH ให้มีความเข้มข้น ระหว่าง 0 – 90 ไมโครกรัม จากนั้นเปิด 50 ไมโครลิตรของสารละลายมาตรฐาน ตัวอย่างที่เจือจางด้วย 0.1 M NaOH จนมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงเดียวกับสารละลายมาตรฐาน และใช้ 0.1 M NaOH เป็น blank ลงในหลุมของไมโครเพลท แล้วเติม solution 1 ลงไป 50 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน (solution 1 ประกอบด้วย 5 ml of 2%(w/v) Na_2CO_3 in 0.1 M NaOH, 0.5 ml 1%(w/v) CuSO_4 , 0.5 ml KNaTartate) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาทีแล้วเติม solution 2 ลงไป 50 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน (solution 2 ประกอบด้วย 5 ml 0.1 M NaOH, 0.5 ml Folin Ciocalteu reagent) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Elisa (Tecan Sunrise, UK) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของ BSA ไปสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวณหาสมการถดถอยเชิงเส้น $Y = aX \pm b$ โดยค่า Y เป็นค่าการดูดกลืนแสงและค่า X เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย BSA จากนั้นทำการคำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนตัวอย่างโดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นของกราฟมาตรฐาน

2. การวิเคราะห์หาความนุ่มของเนื้อ

- 1) ตัดชิ้นเนื้อส่วนกล้ามเนื้อไหล่ สันนอก และสันใน เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดประมาณ 2 x 3 นิ้วหนา 1 นิ้ว
- 2) นำก้อนเนื้อบรรจุในถุงสุญญากาศ แล้วนำไปต้มด้วยเครื่อง Water Bath (Memmert WB-14, Germany) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 30 นาที
- 3) จากนั้นนำถุงพลาสติกที่บรรจุเนื้อไปทำให้เย็นจนเท่าอุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำไหลผ่านถุงพลาสติกที่บรรจุเนื้อประมาณ 2 ชั่วโมง
- 4) นำเนื้อที่เย็นแล้วมาทำการตัดตามความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยมีขนาดพื้นที่หน้าตัด 1 ตารางเซนติเมตรและยาวประมาณ 1 นิ้ว แล้วนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ การวัดตัดขวางตามเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเครื่อง Texture Analyser (Hounsfield, UK)

2.1.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- 1) ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9 โดยทำการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการทำงานของเอนไซม์ calpains และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ซึ่งมี 2 ปัจจัย คือ ชนิดของกล้ามเนื้อที่มีอยู่ 3 ชนิดคือ กล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอก และ กล้ามเนื้อสันใน และปัจจัยที่ 2 คือระยะเวลาการบ่มเนื้อ มี 2 ระยะคือที่ระยะเวลาภายใน 1 วันหลังสัตว์ตาย และที่บ่มเนื้อไว้ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน โดยใช้แบบหุ่่นเชิงเส้นตรงทั่วไป (General Linear Model) ซึ่งมีแบบหุ่่นทางสถิติ ดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = ลักษณะที่ศึกษา
 μ = ค่าเฉลี่ยรวมที่เกิดขึ้นกับทุก ๆ ค่าสังเกต
 A_i = อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อที่ i ($i = 1, 2, 3$)
 B_j = อิทธิพลของการบ่มเนื้อ ที่ j ($j = 1, 2$)
 AB_{ij} = อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อ ที่ i การบ่มเนื้อ ที่ j
 e_{ijk} = ความคลาดเคลื่อนรวมที่วัดไม่ได้

ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (LSMeans) ของปัจจัยต่างๆ โดยใช้ PDIF (SAS, 2000)

2) วิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของเอ็นไซม์ calpains และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยใช้ Pearson correlation ในโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9

2.2 ผลการวิจัยและวิจารณ์

2.2.1 การทำงานของเอ็นไซม์ calpains

ผลการศึกษาการทำงานของเอ็นไซม์ calpains ดังภาพที่ 7 พบว่าอิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อ มีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ calpain 1 แต่ไม่มีผลต่อเอ็นไซม์ calpain 2 โดยพบว่า IF และ LD มีระดับของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 สูงกว่า PM ($P < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาของ Gheisari et al (2007) ที่ศึกษาในแพะเพศผู้พันธุ์พื้นเมืองของประเทศอิหร่านพบว่า activity ของเอ็นไซม์ calpain ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกล้ามเนื้อ Triceps brachii Longissimus dorsi และ Biceps femoris ($P < 0.05$) Nagaraj et al (2002) รายงานความแตกต่างของ calpastatin activity ซึ่งเป็น calpain inhibitor ว่ามีความแตกต่างกันระหว่างกล้ามเนื้อต่างชนิดกันซึ่งอาจเป็นผลทำให้กล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีอัตราการย่อยสลายตัวของโปรตีนต่างกันเป็นผลทำให้มีความนุ่มแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Woodward et al (2000)

การทดลองครั้งนี้พบว่าระยะเวลาการบ่มซากมีผลต่อระดับ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 มากกว่า calpain 2 โดยพบว่าหลังบ่มซากไว้ 7 วัน ระดับ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 เหลืออยู่ไม่ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) ในขณะที่ ระดับ activity ของเอ็นไซม์ calpain 2 ยังคงเหลืออยู่ถึงประมาณ 48 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) ซึ่งสอดคล้องกับ Nagaraj et al (2002) ทดลองบ่มเนื้อแพะไว้เป็นเวลา 20 วัน พบว่าระดับ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 ลดลงมากกว่า calpain 2 คือ 85 และ 34 เปอร์เซ็นต์สำหรับ LD กล้ามเนื้อสะโพก 3 ชนิดคือ Bicep femoris (BF) Semimembranosus (SM)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อายุประมาณ 12-13 เดือน น้ำหนักมีชีวิตเฉลี่ย 16 กก. ที่ผ่านการเลี้ยงแบบกึ่งขังคอกมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็น 3.05 และ 5.67 กก. ตามลำดับ สำหรับแพะพื้นเมืองไทย และ 2.47 และ 5.32 กก. ตามลำดับ สำหรับแพะลูกผสมพื้นเมืองและแองโกลนูเบียน ซึ่งเนื้อสันนอกมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ต่ำกว่าผลการทดลองครั้งนี้เป็นอย่างมากซึ่งอาจเนื่องมาจากพันธุ์ เพศ รวมทั้งอายุของสัตว์ที่ต่างกัน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Werdi et al (2004) ที่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของแพะพันธุ์บอร์เพศผู้ตอนที่มีน้ำหนักมีชีวิตเพิ่มขึ้นจะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงขึ้นตามไปด้วย โดยพบว่าแพะที่น้ำหนักตัว 5 กกมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าแพะที่มีน้ำหนักตัวตั้ง 15 กกขึ้นไป ($P < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของค่าแรงตัดผ่านเนื้อในแพะที่มีน้ำหนักตัวตั้งแต่ 15 ถึง 105 กก. Arguello et al. (2005) พบว่าลูกแพะที่น้ำหนักมีชีวิต 5 กก. และ 10 กก. มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างกัน ($P > 0.05$)

การบ่มซากไว้ 7 วันมีผลทำให้ความนุ่มของเนื้อแพะเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) แต่ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มซากมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P > 0.05$) ดังตารางที่ 7

การทดลองครั้งนี้พบว่าการบ่มซากมีผลทำให้ความนุ่มของเนื้อแพะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Karami et al (2010) ที่รายงานว่า กล้ามเนื้อไหล่ Infraspinatus เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน และ 7 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างกัน ($P < 0.05$) แต่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ 0 มีค่าสูงกว่าที่ 14 วัน ($P < 0.05$) โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็น 5.03 4.57 และ 3.97 กก. ตามลำดับ Gadiyaram et al (2008) กล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมเพศผู้ตอนผ่านการบ่มไว้ที่อุณหภูมิที่ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าการบ่มไว้ 1 วัน ($P < 0.05$) โดยมีค่าเป็น 4.6 และ 3.8 กก.ตามลำดับ ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าเนื้อแพะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อค่อนข้างสูง ดังค่าแรงตัดผ่านเนื้อสันนอกของการทดลองครั้งนี้เท่ากับ 11.82 กก. ในขณะที่ Johnson et al. (2010) รายงานว่าเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมบอร์เลี้ยงแบบปล่อยแปลงหญ้าที่มีน้ำหนักซากร้อนเฉลี่ย 17.39 กก. มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ 3.48 กก.

ตารางที่ 7 Effect of muscle types and ageing time on least squares means and standard error of calpain 1 and calpain 2 activity and shear force value of goat meat

Factor		calpain 1		calpain 2		shear force	
		LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE
Muscle	IF	12.09 ^a	1.033	5.51	0.802	6.54 ^f	0.710
	LD	11.51 ^a	1.033	3.77	0.802	11.82 ^e	0.710
	PM	8.07 ^b	1.033	3.78	0.802	8.70 ^f	1.119
Ageing	d0	20.92 ^c	0.844	5.89 ^c	0.655	10.28 ^a	0.578
	d7	0.19 ^f	0.844	2.81 ^f	0.655	7.76 ^b	0.817
Interaction	IF x d0	24.06 ^a	1.461	7.91	1.135	6.80	1.001
	IF x d7	0.12 ^c	1.461	3.10	1.135	6.27	1.001
	LD x d0	22.73 ^a	1.461	4.53	1.135	12.79	1.001
	LD x d7	0.30 ^c	1.461	3.01	1.135	10.85	1.001
	PM x d0	15.98 ^b	1.461	5.24	1.135	11.24	1.001
	PM x d7	0.15 ^c	1.461	2.31	1.135	6.16	2.003

^{abcd} LSMs within a column within main effect and interaction with different letter differ significantly ($P < 0.05$)

^{ef} LSMs within a column within main effect and interaction with different letter differ significantly ($P < 0.01$)

2.2.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง calpain activity และ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตัดผ่านเนื้อและ activity ของเอนไซม์ calpain (ตารางที่ 8) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อและ activity ของทั้งเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่พบว่าคุณสมบัติสหสัมพันธ์ของ activity ของเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2 มีค่าเท่ากับ 0.661 ($P < 0.05$) Gheisari et al (2007) รายงานว่าคุณสมบัติแรงตัดผ่านเนื้อและ activity ของเอนไซม์ calpain มีความสัมพันธ์เชิงลบต่อกัน ($r = -0.81$) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 8 Correlation between calpain 1 and calpain 2 activity and shear force value of goat meat

	calpain 1 activity	calpain 2 activity
WBSF	0.256	-0.032
calpain 1 activity		0.661**

** $P < 0.01$

สรุปผลการวิจัย

กล้ามเนื้อต่างชนิดกันมีระดับการทำงานของเอนไซม์ที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนหลัง สัตว์ตายที่ต่างกันจึงมีผลทำให้มีความนุ่มเหนียวของเนื้อต่างกันด้วย โดยเอนไซม์ที่มีอิทธิพลต่อ ความนุ่มของเนื้ออย่างมีนัยสำคัญคือเอนไซม์ calpain 1 แต่อย่างไรก็ตามยังมีอีกหลายปัจจัย นอกจากการทำงานของเอนไซม์กลุ่มที่ทำการย่อยสลายโปรตีนที่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อ เช่น ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน หรือปริมาณไขมันแทรก เป็นต้น ดังผลการทดลองครั้งที่พบว่ากล้ามเนื้อ สันนอก และกล้ามเนื้อไหล่ มี calpain activity ไม่ต่างกันแต่กล้ามเนื้อไหล่มีก่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากล้ามเนื้อสันนอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง calpain activity และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ แต่พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่าง activity ของเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2

ข้อเสนอแนะและการนำไปใช้

ในการวิจัยครั้งต่อไปควรที่จะมีการศึกษาข้อมูลทางด้านคุณภาพเนื้อแพะให้เพิ่มขึ้นจากครั้งนี้ ซึ่งทำได้เพียงการศึกษาค่าแรงตัดผ่านเนื้อ อีกทั้งควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างและพันธุ์แพะให้มากขึ้น เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มากพอในการเพิ่มระดับความน่าเชื่อถือทางสถิติ อีกทั้งเป็นการเชื่อมโยงข้อมูลใหม่ของเอนไซม์ calpains ที่ยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อยในขณะนี้ ให้เข้ากับข้อมูลทางด้านคุณภาพของเนื้อแพะก็จะทำให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการนำไปปรับปรุงคุณภาพเนื้อแพะในประเทศไทยต่อไปได้

บรรณานุกรม

กรมปศุสัตว์. สถิติแพะในประเทศไทยรายภาค. [Online]. เข้าถึงได้จาก: ศูนย์สารสนเทศและข้อมูลสถิติกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2553.

ไชยวรรณ วัฒนจันทร์. 2551. บทสังเคราะห์เรื่องการเลี้ยงแพะของประเทศไทยและของภาคใต้ [แพะที่ไม่ใช่ (คนเลี้ยง) แพะรับบาป]. เอกสารนำเสนอในการประชุมสัมมนา เรื่อง “เชื่อมโยงงานวิจัยเพื่อรับใช้การพัฒนาจังหวัด : ความท้าทายที่สตุล”. ณ โรงเรียนอนุบาลรุ่งทิพย์ อ.เมือง จ.สตุล. วันที่ 21 กรกฎาคม 2551.

สาธิต เขาไข่แก้ว, ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ และ วันวิสาข์ งามผ่องใส. 2553. ผลของพันธุ์และระบบการเลี้ยงแพะที่มีต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต ลักษณะซาก ตันทุนการเลี้ยง และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ. ว วิทย เทคโนโลยี มมส 29(1) : 32-43.

เจติมขวัญ สุขนิยม, ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ และ เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์. 2552. ผลของพันธุ์และระบบการเลี้ยงแพะที่มีต่อลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อ. ว วิทย เทคโนโลยี มมส 28(4) : 424-433.

Arguello A., Castro N., Capote J., and Solomon M. 2005. Effects of diet and live weight at slaughter on kid meat quality. *Meat Sci.* 70, 173-179.

Arther, J.S.C., and Mykles, L. 2000. Calpain Zymography with casein or fluorescein isothiocyanate casein. In *Calpain methods and protocols*. Edited by J. S. ELce. Humana Press Inc., Totowa, NJ. 343 p.

Beserra, F. J., Madruga, M. S., Leite, A. M., Silva, E. M., & Maia, E. L. 2004. Effect of age at slaughter on chemical composition of meat from Moxotó goats and their crosses. *Small Rumin. Res.* 55 : 177-181.

Boehm, M.L., Kendall, T.L., Thompson, V.F., and Goll, D.E. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 76, 2415-2434

Camou, J.P., Marchello, J.A., Thompson, V.F., Mares, S.W., and Goll, D.E. 2007. Effect of postmortem storage on activity of μ - and m-calpain in five bovine muscles, *J. Anim. Sci.* 85 : 2670-2681.

Casey N.H. 1992. Goat meat in human nutrition. In *V International Conference on Goats*, March 1992. p. 581-598.

Chaosap C. 2010. The Effect of Compensatory Growth on Performance and Muscle Biochemistry in Pigs. Thesis present to The University of Nottingham.

Gheisari, H. R., Shekarforoush, S.S. and Aminlari, M. 2007. Comparative studies on calpain activity of different muscles of cattle, camel, sheep and goat. *Iranian J. of Vet. Res.* 8(20)

Retrieved January, 1, 2011, from http://www.sid.ir/en/VEWSSID/J_pdf/102320070305.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Gadiyaram, K.M., Kannan, G., Pringle, T.D., Kouakou, B., McMillin, K.W., and Park Y.W. 2008. Effects of postmortem carcass electrical stimulation on goat meat quality characteristics. *Small Rumin. Res.* 78 : 106-114.
- Higgins, J.A., Lasslett, Y.V., Bardsley, R.G. and Buttery, P.J. 1988. The relation between dietary restriction or clenbuterol (a selective β_2 agonist) treatment on muscle growth and calpain proteinase (EC 3.4.22.17) and calpastatin activities in lambs. *British Journal of Nutrition* 60, 645-652.
- Jeacocke, R. E. 1993. The concentrations of free magnesium and free calcium ions both increase in skeletal muscle fibres entering rigor mortis. *Meat Sci.* 35(1), 27–45.
- Johnson, C.R., Doyle, S.P., and Long, R.S. 2010. Effect of Feeding System on Meat Goat Growth Performance and Carcass Traits. *Sheep and Goat Research J.* Retrieved January, 1, 2011, from http://www.sheepusa.org/user_files/file_855.pdf.
- Karami, M., Alimon, A.R., Sazili A.Q., and Goh Y.M. 2010. Meat Quality and Lipid Oxidation of Infraspinatus Muscle and Blood Plasma of Goats under Dietary Supplementation of Herbal Antioxidants. *J. Anim. Vet. Adv.* 9 (24) : 3039-3047.
- Koohmaraie, M. 1992. Ovine skeletal muscle multicatalytic proteinase complex (proteasome): purification, characterization, and comparison of its effect on myofibrils with m calpain. *J. Anim. Sci.* 70 : 3697-3708.
- Maltin, C., Balcerzak, D., Tilley, R. and Delday, M. 2003. Determinants of meat quality: tenderness. *Proc. Nutri. Soc.* 62 : 337- 347.
- Nagaraj, N. S., K. R. Anilakumar, and K. Santhanam. 2002. Changes in the calpain-calpastatin and cathepsin (B, B+L, H and D) during postmortem storage of goat muscles. *J. Food Biochem.* 26:75–89.
- Nagaraj, N. S. and Santhanam, K. 2006. Effects of muscle proteases, endogenous protease inhibitors and myofibril fragmentation on postmortem aging of goat meat. *J. Food. Biochem.* 30 (3) : 269–291.
- Park, Y. W., M. A. Kouassi, and K. B. Chin. 1991. Moisture, total fat and cholesterol in goat organ and muscle meat. *J. Food Sci.* 56(5):1191-1193.
- Pralomkarn W, Ngampongsai W, Kochapakdee S, Lawpetchara A. 1995. Effect of age and sex on body composition of Thai native and cross-bred goat. *Asian-Australasian. J. Anim. Sci.* 32:255-61.
- Sensky, P.L., Parr, T., Lockley, A.K., Bardsley, R.G., Buttery, P.J., Wood, J.D., and Warkup, C. 1999. Altered calpain levels in longissimus muscle from normal pigs and

- heterozygotes with the ryanodine receptor mutation. *J. Anim. Sci.* 77 : 2956–2964.
- te Pas, M.F., Visscher, A.H., and de Greef, K.H. 2004. Molecular genetic and physiologic background of the growth hormone-IGF-I axis in relation to breeding for growth rate and leanness in pigs. *Domestic Animal Endocrinology* 27: 287-301.
- USDA. 2004. Nutrient database for standard reference, release 14. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- USDA Nutrient Database for Standard Reference, (2010) Retrieved May, 1, 2011, from <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>.
- Veiseth, E., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., and Koohmaraie M. 2001. Effect of postmortem storage on α -calpain and m-calpain in ovine skeletal muscle. *J. Anim. Sci.* 79 : 1502–1508.
- Warriss, P.D. 2000. *Meat Science: An Introductory Text*. CAB International, Wallingford, UK.
- Wardi Pratiwi, N. M., Murray, P. J. and Taylor, D. G. 2004. Meat quality of entire and castrated male Boer goats raised under Australian conditions and slaughtered at different weights: physical characteristics, shear force values and eating quality profiles. *Anim. Sci.* 79:213-219.
- Woodward, B. W., DeNise S. K. , and Marchello J. A. 2000. Evaluation of calpastatin activity measures in ante- and postmortem muscle from half-sib bulls and steers. *J. Anim. Sci.* 78:804-809.