สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อของแพะ ในระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ

Changing in Myofibrillar Protein of Goat Muscle in different Aging Periods

โดย

รศ.ดร.กันยา ตันติวิสุทธิกุล

RCH
SF
383.73
.T5
ก392ก
ค.1
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 120363
วัน, เดือน, ปี 20 ก.พ. 2555

b.18377373
i.....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย “การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อของแพะในระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ”นี้ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ 2554 คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เป็นจำนวนเงิน 50,000 บาท (ห้าหมื่นบาทถ้วน) ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย ที่ได้กำหนดไว้ คือ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 จนถึงเดือนกันยายน 2554 และได้เสร็จสิ้นเร็วกว่ากำหนดคือเสร็จสิ้นในเดือนพฤษภาคม 2554

งานวิจัยครั้งนี้ ลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความร่วมมือจากบุคคลากรหลายฝ่าย นอกเหนือจากคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมที่ให้เงินสนับสนุนแล้ว ยังมีคุณเกษม มหันตเกียรติ ผู้นำกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงสัตว์ทุ่งครุที่ได้อนุเคราะห์ให้เข้าเก็บข้อมูลในโรงฆ่า นางสาวสุมิตรา โคละทัต นายณัฐพงศ์ สุประพาส และนายอำพล ชาญชัยวัฒนา นักศึกษาแขนงวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม นางสาวอรพิน พิมพ์สมแดง นักศึกษาปริญญาโทหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร ซึ่งช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลและวิจัยในห้องปฏิบัติการ คุณตรัส เดแสง นายช่างเทคนิค ผู้ดูแลเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ และคุณเจริญศรี วุฒฑกุล เจ้าหน้าที่บริหารสาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการเบิกจ่ายเงินงบวิจัยในโครงการนี้ คุณเอื้อมอัมพร เพชรสินจร เจ้าหน้าที่ฝ่ายงานนโยบายและแผน บุคคลากรฝ่ายงานการเงินและพัสดุของคณะ และรองศาสตราจารย์สุขุมาลย์ นิลรัตน์ ซึ่งได้ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจไวยากรณ์บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ผู้วิจัยขอขอบคุณทุกท่านที่กล่าวนามมาข้างต้น

หวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้อ่าน นักศึกษา และนักวิชาการที่สนใจงานวิจัยที่เจาะลึกลงสู่ระดับโมเลกุลของเนื้อแพะนี้

ผู้จัดทำ

พฤษภาคม 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อของแพะในระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ

Changing in Myofibrillar Protein of Goat Muscle in different Aging Periods

แหล่งเงิน เงินรายได้คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ 2554 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 50,000 บาท (ห้าหมื่นบาทถ้วน)
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2553 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2554

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัดและ อีเมล์
รศ.ดร.กันยา ตันติวิสุทธิกุล สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สจล. กรุงเทพฯ 10520
e-mail: ktkunya@kmitl.ac.th

คำสำคัญ (Keywords) goat meat, myofibrillar protein, aging, muscle type, shear force

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อสันนอก (Longissimus dorsi, LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (Infraspinatus, IF) ของแพะในแต่ละระยะเวลาบ่ม 2) ตรวจสอบค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อทั้งสองชนิด 3) ศึกษาปัจจัยของชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาบ่มที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ตัวอย่างเป็นแพะลูกผสมเพศเมีย น้ำหนักมีชีวิตประมาณ 25-30 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว กล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ IF ถูกเลาะทันทีภายหลังการฆ่า แยกเนื้อออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ต้องการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน และส่วนที่ต้องการตรวจสอบค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เก็บบ่มเนื้อทั้ง 2 ส่วนภายใต้ถุงสุญญากาศ ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 7 14 และ 21 วัน เมื่อครบกำหนดแล้วนำมาศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริล โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

ผลการศึกษา พบว่า

1. การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ IF ที่การบ่ม 1 วัน พบแถบโปรตีนที่มีขนาด 212 102 86 71 58 56 50 44 40 36 35 31 26 24 22 18 และ 16 kDa ตามลำดับ และแถบโปรตีนขนาด 26 และ 24 kDa จะปรากฏชัดในกล้ามเนื้อ IF ในทุกระยะการบ่ม ซึ่งในกล้ามเนื้อ LD จะปรากฏชัดในวันที่ 1 ของการบ่ม ส่วนแถบโปรตีน 31 kDa นั้นจะปรากฏชัดในกล้ามเนื้อ LD กว่ากล้ามเนื้อ IF

2. ค่าต่ำสุดและสูงสุดของค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อ LD เมื่อทำการบ่มที่ 1 7 14 และ 21 วัน คือ 9.22-17.88, 6.15-7.68, 5.19-13.83 และ4.24-9.82 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนในกล้ามเนื้อ IF เท่ากับ 4.28-9.48, 5.29-7.82, 3.19-8.73 และ 3.50-7.13 กิโลกรัม ตามลำดับ

3. ชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มเนื้อมีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) กล่าวคือ ค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อ IF ต่ำกว่ากล้ามเนื้อ LD และเนื้อแพะที่บ่มถึง 14 และ 21วัน จะมีค่าแรงตัดผ่านน้อยกว่าเนื้อที่มีการบ่ม 1 วัน อย่างไรก็ตาม การบ่มที่ 14 วันไม่ต่างจากเนื้อที่บ่ม 7 วัน และการบ่มที่ 21 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

This research aimed to study 1) the changes in myofibrillar protein of M. longissimus dorsi (LD) and M. Infraspinatus (IF) during aging periods, 2) shear force values of both muscles, and 3) the effect of muscle types and aging periods on shear force values. Four female crossbreed goats, 25 to 30 kg live weight, were used as samples. After they were slaughtered, the LD and IF were cut and divided into two parts: one for changing of myofibrillar protein, and the other for shear force study. Each part of muscle was cut into 4 pieces in order to age in vacuum bag for 1 7 14 and 21 days under 4 $^{\circ}$C.

The result revealed as follows:

1. At the first day of aging, the gel showed 17 bands in both LD and IF, which were 212 102 86 71 58 56 50 44 40 36 35 31 26 24 22 18 and 16 kDa. The appearance of 26 and 24 kDa bands were clear at all aging times in IF meanwhile in LD they were disappeared at 7 14 and 21 days. The 31 kDa bands in LD had more intensity than those in IF.

2. The minimum and maximum shear force values of LD for 1 7 14 and 21 aged days were 9.22 to 17.88, 6.15 to 7.68, 5.19 to 13.83, and 4.24 to 9.82 kg, respectively, whereas those shear force values in IF were 4.28 to 9.48, 5.29 to 7.82, 3.19 to 8.73, and 3.50 to 7.13 kg for 4 aging times, respectively.

3. The muscle types and the aging periods had highly significantly influenced on shear force values ($p<0.01$). The shear force of IF muscle was lower than that of the LD muscle. The meat at 14 and 21 aged days had lower shear force than the 1 day. However, the shear force value of the 14 and of the 21 days did not differ from the 7 days aged.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ i
บทคัดย่อ ii
Abstract iii
สารบัญ iv
สารบัญภาพ v
สารบัญตาราง vi
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย 1
1.2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 2
1.3 วัตถุประสงค์ 8
1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย 8
1.5 ระยะเวลาดำเนินการ 8
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 8
บทที่ 2 วิธีดำเนินการ 9
2.1 สารเคมีและการเตรียมสารเคมี 9
2.2 การวิเคราะห์โปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ 12
2.3 การวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ 14
2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 14
2.5 สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล 14
บทที่ 3 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล 15
3.1 ผลการวิจัย 15
3.2 วิจารณ์ผล 20
บทที่ 4 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 23
บรรณานุกรม 26

ภาคผนวก 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1.1 การตัดแต่งแพะตามชิ้นส่วนขนาดใหญ่ 3

3.1 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อในกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของแพะที่ระยะเวลาการบ่ม 1 7 14 และ 21 วันหลังฆ่าวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE 15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 การเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์สำหรับการแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ด้วยเทคนิค SDS-PAGE 13

3.1 ค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของเนื้อตัวอย่างในแต่ละระยะเวลาบ่ม (กิโลกรัม) 17

3.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าแรงตัดผ่านเนื้อจากปัจจัยต่าง ๆ 18

3.3 ค่าเฉลี่ย (LSM) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่กล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ IF 19

3.4 ค่าเฉลี่ย (LSM) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่ระยะเวลาบ่ม 1 7 14 และ 21 วัน 19

3.5 ค่าเฉลี่ย (LSM) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่กล้ามเนื้อ 2 ชนิดและระยะเวลาบ่มต่างกัน 20

3.6 ชนิดของโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุล 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย

แพะ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Capra hircus* เป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีขนาดเล็ก ให้ผลผลิตทั้งน้ำนม เนื้อ ขนและหนัง แพะเข้ามามีบทบาทต่อเศรษฐกิจ และจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศชนิดหนึ่ง ปัจจุบัน รัฐบาลได้จัดเรื่องการเลี้ยงแพะเข้ามาเป็นยุทธศาสตร์หนึ่งในการพัฒนาประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเลี้ยงแพะในเขต 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ซึ่งรัฐบาลได้ให้การส่งเสริมและสนับสนุนการเลี้ยงเป็นอย่างยิ่ง (วีระยุทธ เชื้อไทย, 2551) อย่างไรก็ตาม ไม่เฉพาะแต่จังหวัดในภาคใต้เท่านั้นที่เลี้ยงแพะ ยังพบการเลี้ยงแพะมากในจังหวัดทางภาคเหนือตอนบน (ปนิดา บัวเทศ, 2549) ภาคกลาง (สมเกียรติ กลิ่นเกลี้ยง, 2548) รวมถึงในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานคร และปริมณฑลใกล้เคียงด้วย (เยาวนิตย์ บุรีรักษา, 2545) ผู้ที่ทำการเลี้ยงแพะมีทั้งชาวไทยพุทธและไทยอิสลาม รวมถึงไทยภูเขา เนื่องจากแพะเป็นสัตว์ที่เลี้ยงง่าย สามารถกินอาหารได้ทุกชนิด และทนต่อสภาพแวดล้อมได้ทุกชนิด

แพะที่เลี้ยงในประเทศ ส่วนใหญ่จะเป็นแพะที่ให้น้ำนม เช่น พันธุ์ซาแนน พันธุ์ทอกเก่นเบิร์ก เป็นต้น ส่วนพันธุ์ที่ให้เนื้อนั้น จะเป็นพันธุ์พื้นเมือง พันธุ์บอร์ พันธุ์แองโกลนูเบียน และลูกผสมของพันธุ์ดังกล่าว การบริโภคเนื้อแพะ ส่วนใหญ่จะนำมาต้ม หมก หรือเคี่ยวจนเปื่อย เช่น ข้าวหมกเนื้อแพะ แกงกระหรี่แพะ เป็นต้น ซึ่งเนื้อสัตว์ จัดเป็นอาหารโปรตีนที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของร่างกายมนุษย์ เนื่องจากโปรตีนจากเนื้อสัตว์ เป็นแหล่งของกรดอะมิโนจำเป็น ซึ่งบางชนิดไม่พบในพืช โดยทั่วไปในเนื้อสัตว์นั้น จะมีโปรตีนประมาณ 18-20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก โปรตีนจากเนื้อสัตว์ เป็นส่วนของกล้ามเนื้อสัตว์ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ชนิดด้วยกัน คือ กล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) หรือกล้ามเนื้อลาย (striated muscle) กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) และกล้ามเนื้อหัวใจ (heart muscle) กล้ามเนื้อที่เรานำมาใช้เป็นอาหารส่วนใหญ่จะเป็นกล้ามเนื้อโครงร่างนั่นเอง และโปรตีนในกล้ามเนื้อนั้นมี 3 ประเภท คือ sarcoplasmic protein, myofibrillar protein และ connective tissue protein

เทคโนโลยีในด้านชีวโมเลกุลนั้นได้พัฒนาการไปอย่างมาก จึงเป็นเหตุให้เกิดความคิดว่า ภายหลังจากแพะถูกฆ่าและชำแหละแล้วนั้น เนื้อของแพะจะเกิดจากเปลี่ยนแปลงอย่างไร โดยเฉพาะอย่างยิ่งกล้ามเนื้อของชิ้นส่วนที่แตกต่างกัน เช่น เนื้อสันสะเอว เนื้อสะโพก และกล้ามเนื้อไหล่ หรือกล้ามเนื้อสะบักนั้น เมื่อระยะเวลาการเก็บซากหรือบ่มซากเปลี่ยนแปลงไป จะมีการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยกล้ามเนื้อหรือไม่และอย่างไร ซึ่งมีการศึกษาและวิจัยในเรื่องนี้อย่างมากในเนื้อโคขุน และจากการตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง ไม่ปรากฏงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในเนื้อแพะในระยะการบ่มต่าง ๆ การวิจัยครั้งนี้ จึงเกิดขึ้น เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริล ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล้ามเนื้อ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับความเหนียวและความนุ่มของเนื้อ และสามารถหาคำตอบในเรื่องของความนุ่มของเนื้อแพะจากการทำการวิจัยในครั้งนี้ได้

1.2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ความหมายและการแบ่งประเภทของเนื้อแพะ

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2549) ได้ให้ความหมายของเนื้อแพะ (goat meat) ว่าหมายถึง เนื้อที่ได้จากแพะสุขภาพดีและไม่มีโรคที่ผ่านกระบวนการฆ่าแบบไม่ทรมาน เพื่อใช้เป็นอาหารมนุษย์ โดยนำเลือด หนัง หัว หาง ข้อเท้าหน้า ข้อเท้าหลัง รวมทั้งอวัยวะภายในออก แล้วตัดแต่ง (cutting) เป็นชิ้นส่วนใหญ่ โดยผ่านการตรวจสอบแล้วว่า สามารถบริโภคเป็นอาหารได้ และมีกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) เป็นส่วนใหญ่

เนื้อแพะตามมาตรฐานนี้ แบ่งออกเป็น 8 ประเภท (ภาพที่ 1.1) คือ

1. สันสะเอว (loins) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดผ่านกระดูกสันหลัง ตรงกระดูกซี่โครงซี่ที่ 12 และ 13 จนถึงกระดูกสันหลังข้อสุดท้ายที่ต่อกับส่วนสะโพก (chump)

2. ขาหลัง (hind legs) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดขวางตั้งฉากกับแนวยาวของกระดูกขาหลัง ตรงกระดูกใต้กระเบนเหน็บ (sacrum) ต่อกระดูกหาง โดยมีส่วนหัวกระดูกขาหลัง (femur) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 เซนติเมตร ติดอยู่ด้วย

3. สะโพก (chump) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดผ่านกระดูกสันหลังส่วนเอวข้อสุดท้าย

4. สันซี่โครง (rack) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดตามยาวผ่านกระดูกสันหลังระหว่างซี่โครงซี่ที่ 3 และ 4 ถึงซี่โครงซี่ที่ 12 โดยตัดแยกส่วนอกออก

5. ไหล่ (shoulder) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดตามยาวจากบริเวณส่วนคอต่อกับกระดูกสันหลัง ถึงกระดูกซี่โครงซี่ที่ 3

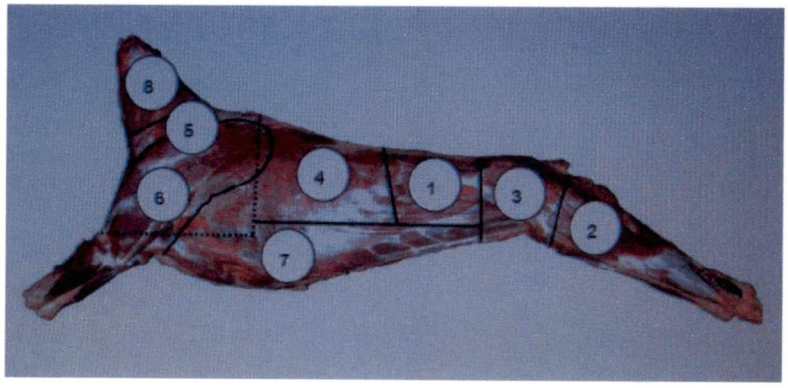
6. ขาหน้า (fore leg) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดขาหน้าที่ติดกระดูกใบพายแยกจากส่วนไหล่

7. อก (breast) เป็นชิ้นส่วนของเนื้อส่วนพื้นท้องซึ่งได้จากการตัดขวางกระดูกซี่โครงให้ขนานกับกระดูกสันหลัง กว้างประมาณ 1 ใน 3

8. คอ (neck) เป็นชิ้นส่วนของเนื้อซึ่งได้จากการตัดผ่านกระดูกคอต่อกับกระดูกสันหลัง

กล้ามเนื้อที่นำมาใช้เป็นตัวอย่างในการวิจัยครั้งนี้ จะอยู่ในส่วนที่ 1 (กล้ามเนื้อสันนอก) และส่วนที่ 6 (กล้ามเนื้อสะบัก ซึ่งติดกับกระดูกใบพาย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1.1 การตัดแต่งแพะตามชิ้นส่วนขนาดใหญ่ (1. สันสะเอว 2. ขาหลัง 3. สะโพก 4. สันซี่โครง5. ไหล่ 6. ขาหน้า 7. อก 8. คอ)

ที่มา: มกอช. เนื้อแพะ (2549)

1.2.2 การจัดชั้นคุณภาพเนื้อแพะ

การจัดชั้นคุณภาพเนื้อแพะ จะจัดแบ่งตามอายุของแพะ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 เกรด คือ

1. แพะอายุน้อยกว่า 1 ปี หรือแพะเล็ก (kid goat) เป็นซากแพะที่มีน้ำหนักแช่เย็นประมาณ 8 - 9 กิโลกรัม โดยข้อต่อของแข้งหน้า จะมีสีแดงปานกลาง ชื้น และพรุน พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน มีขนาดประมาณ 5-6 ตารางเซนติเมตร กระดูกซี่โครงจะมีลักษณะค่อนข้างกลม สีขาวอมชมพู

2. แพะอายุระหว่าง 1 – 2 ปี หรือแพะรุ่น (yearling goat) เป็นซากแพะที่มีน้ำหนักแช่เย็นประมาณ 17 - 18 กิโลกรัม ข้อต่อของแข้งหน้าจะมีรอยแตก มีลักษณะเป็นหลอดม้วน (spool joint) หรือมีการแตกแบบไม่สมบูรณ์ มีขนาดของพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันประมาณ 12 – 13 ตารางเซนติเมตร กระดูกซี่โครงมีลักษณะค่อนข้างแบน สีแดงอ่อน

3. แพะอายุมากกว่า 2 ปี หรือแพะเต็มวัย (adult goat) เป็นซากแพะที่มีน้ำหนักแช่เย็นประมาณ 19 – 20 กิโลกรัม ข้อต่อของหน้าแข้งเป็นแบบหลอดม้วน มีขนาดพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันประมาณ 14 – 15 ตารางเซนติเมตร กระดูกซี่โครง มีลักษณะกว้างแบน สีขาวขุ่น

1.2.3 เทคนิคที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์โปรตีน

ในการวิเคราะห์โปรตีนในเนื้อสัตว์นั้น มีหลายเทคนิคที่นำมาประยุกต์ใช้ ได้แก่

1. โครมาโตกราฟี (Chromatography) เป็นวิธีการแยกสารให้บริสุทธิ์ โดยใส่สารลงในตัวกลาง (medium) ซึ่งสามารถจับสารนี้ไว้ได้โดยการดูดซับ (adsorption) จากนั้นผ่านของเหลวหรือแก๊สไปในตัวกลางนี้ ซึ่งจะชะ (elute) สารต่าง ๆ ออกไปด้วยอัตราเร็วต่าง ๆ กัน อัตราการเคลื่อนที่ของสารต่าง ๆ ไปตามทิศทางของการชะ ขึ้นอยู่กับแรงดึงดูดทั้งกายภาพและทางเคมีระหว่างสารเหล่านั้นกับตัวกลางและตัวชะ ตัวกลางบางชนิดเป็นของเหลว ซึ่งติดอยู่กับตัวรองรับ (support) สารซึ่งต้องการจะแยกให้บริสุทธิ์จะละลายอยู่ในตัวกลางนี้ส่วนหนึ่ง อีกส่วนหนึ่งละลายอยู่ในตัวชะ ดังนั้น จะมีการแบ่งละลาย (partition) ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารระหว่างตัวกลางและตัวชะ อัตราส่วนระหว่างตัวกลางกับตัวชะ จะมีค่าคงที่เสมอ อัตราส่วนนี้ เรียกว่า สัมประสิทธิ์ของการแบ่งละลาย (partition coefficient) หากสารสามารถละลายในตัวกลางได้ดี จะเคลื่อนที่ไปช้า แต่หากละลายในตัวชะได้ดี ก็จะเคลื่อนที่ได้เร็ว หลักการดูดซับและการแบ่งละลาย เป็นปัจจัยสำคัญในการแยกสารด้วยวิธีโครมาโตกราฟี โครมาโตกราฟี จำแนกเป็นหลายประเภท ได้แก่ Column Chromatography, Thin-Layer Chromatography (TLC), Paper Chromatography, Gas-Liquid Chromatography (GLC) เป็นต้น

2. อิเล็คโตรฟอริซีส (Electrophoresis) เป็นวิธีการที่ใช้ในการแยกและวิเคราะห์สารต่าง ๆ ที่มีประจุไฟฟ้า โดยอาศัยหลักการที่ว่า สารที่มีประจุไฟฟ้าต่างกัน ย่อมมีแรงเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าต่างกัน กล่าวคือ อนุภาคที่มีประจุไฟฟ้า จะเคลื่อนที่ไปในสนามไฟฟ้า อนุภาคที่มีประจุบวกจะเคลื่อนที่ตามทิศทางของสนาม ส่วนอนุภาคที่มีประจุลบจะเคลื่อนที่ทวนกับทิศทางของสนาม วิธีการอิเล็คโตรฟอริซีสแบบ Zone electrophoresis เป็นเทคนิคที่มีความสำคัญมากในการวิเคราะห์ แยก และเตรียมสารชีวเคมี หลักการสำคัญ คือ การใช้กระแสไฟฟ้าแยกสารต่าง ๆ ในสารละลายออกจากกัน โดยในช่วงแรกใส่สารละลายนี้ลงเป็นแถบ (zone) บนตัวกลาง (medium) ซึ่งอาจเป็นของแข็ง เช่น กระดาษ หรือเจล (gel) ซึ่งเป็นวุ้นที่ทำด้วยแป้งหรือโพลีเมอร์อื่น เช่น polyacrylamide ตัวกลางนี้อยู่ในบัฟเฟอร์ซึ่งมีกระแสไฟฟ้าผ่าน สารต่าง ๆ จะแยกออกจากันเป็นแถบ ๆ ตามประจุและลักษณะของมัน เราตรวจตำแหน่งที่ของสารได้โดยวิธีการย้อมสี หรือวิธีสเปคโตรสโคปี (spectroscopy) จากนั้นแยกสารที่บริสุทธิ์ออกได้โดยตัดส่วนที่มีสารนี้ออกไปแล้วผ่านบัฟเฟอร์ไล่สารละลายออกจากตัวกลาง หรือแยกออกโดยวิธีอื่น เทคนิคนี้จำแนกออกเป็นหลายแบบตามชนิดและรูปร่างลักษณะของตัวกลาง บัฟเฟอร์ และการทดลอง ได้แก่ agarose gel electrophoresis, polyacrylamide gel electrophoresis, Gradient Electrophoresis, SDS polyacrylamide gel electrophoresis, solubilizable polyacrylamide gels, nucleic acid electrophoresis, quantitative immunoelectrophoresis, iso-electric focusing electrophoresis เป็นต้น

SDS electrophoresis วิธีนี้ อาศัยหลักการที่ว่า โปรตีนสามารถถูกแยกออกให้อยู่เดี่ยว ๆ ตามขนาดของมันได้ หากโปรตีนถูกทำละลายด้วยสารดีเทอร์เจน (detergent) sodium dodecylsulphate (SDS) โดย SDS จะเชื่อมกับโมเลกุล จากนั้นทำการเปลี่ยนรูปร่างคล้ายเป็นแถบ ๆ เนื่องจาก โมเลกุลของ SDS ที่เชื่อมต่อกับโพลีเปปไทด์ของโปรตีนนั้น มีสัดส่วนของน้ำหนักคงที่ ประจุต่อหน่วยน้ำหนักจะคงที่ และการเคลื่อนที่ของประจุดังกล่าวแยกตามน้ำหนักโมเลกุล นั่นหมายถึง เมื่อนำสารซึ่งเป็นโปรตีนผ่านกระบวนการของ polyacrylamide gel electrophoresis ซึ่งมีความเข้มข้นของประจุเท่ากัน สารดังกล่าวจะถูกทำให้บริสุทธิ์ตามขนาดของน้ำหนักโมเลกุลโดยเป็นผลมาจากการที่เจลทำหน้าที่เป็นตัวกรอง ใน SDS electrophoresis นั้น อัตราการเคลื่อนที่ จะมีความสัมพันธ์กันอย่างถูกต้องกับน้ำหนักโมเลกุล และเทคนิคนี้จะน้ำหนักโมเลกุลจะถูกนำมาพิจารณาหาโปรตีนที่ไม่ทราบชื่อมาก่อนได้ โดยการเปรียบเทียบค่า relative electrophoretic mobility (Rf) กับโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลอย่างแน่นอน (Weber and Osborn, 1969; Swanks and Munkres, 1971; Gordon, 1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในงานวิจัยครั้งนี้ จะใช้เทคนิค SDS electrophoresis หรือ SDS-PAGE มาใช้เป็นตัวแยกการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่เกิดขึ้นในกล้ามเนื้อสันสะเอว และสะบักของเนื้อแพะในระยะเวลาบ่มต่าง ๆ

1.2.4 องค์ประกอบของกล้ามเนื้อ

เนื้อสัตว์ ประกอบด้วย กระดูก กล้ามเนื้อ และไขมัน ในปัจจุบันการผลิตสัตว์ให้เนื้อนั้น ส่วนใหญ่จะทำให้เนื้อสัตว์มีไขมันและกระดูกน้อยลง และให้มีเนื้อแดงหรือกล้ามเนื้อเพิ่มให้มากที่สุด

กล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของเนื้อ ซึ่งมีประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว มีรายงานว่า ในกล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมที่โตเต็มวัยนั้นประกอบด้วย น้ำ 75.5 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 18 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 3 เปอร์เซ็นต์ และสารที่ไม่ใช่โปรตีน 3.5 เปอร์เซ็นต์

โปรตีนในกล้ามเนื้อถูกแบ่งตามแหล่งที่มาและความสามารถในการละลายได้เป็น 3 กลุ่ม คือ sarcoplasmic protein, myofibrillar protein และ connective tissue protein เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า โปรตีนในกล้ามเนื้อดังกล่าว ประกอบด้วย sarcoplasmic protein 36 เปอร์เซ็นต์ myofibrillar protein 58 เปอร์เซ็นต์ และ connective tissue protein 6 เปอร์เซ็นต์

ซาร์โคปลาสมิกโปรตีน (sarcoplasmic protein) เป็นโปรตีนที่ห่อหุ้มรอบเส้นใยย่อยซึ่งละลายอยู่ในส่วนของซาร์โคพลาสซึม จึงเรียกว่าซาร์โคปลาสมิกโปรตีน ซาร์โคปลาสมิกโปรตีนเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติจะละลายได้ในน้ำและสารละลายน้ำเกลืออ่อน ๆ โปรตีนในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วยไมโอโกลบิน ฮีโมโกลบิน ไซโตโครม และเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับ glycolytic cycle เป็นต้น

ไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน (myofibrillar protein) เป็นโปรตีนที่พบมากที่สุด ทำหน้าที่ในการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ เนื่องจากไมโอไฟบริลลาร์อยู่ในเส้นใยย่อยจึงอาจเรียกว่า โปรตีนเส้นใยย่อย สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือ โปรตีนที่พบมากที่สุดในกลุ่มนี้ คือ ไมโอซิน (myosin) โดย Bailey (1954) เป็นผู้ตั้งชื่อนี้เป็นครั้งแรก แอกทิน (Actin) โทรโปนิน (Troponin) และโทรโปไมโอซิน (Tropomyosin) ซึ่งค้นพบโดย Bailey ในปี ค.ศ. 1946 เป็นต้น Naqvi (1999) รายงานว่า องค์ประกอบที่สำคัญของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีนนี้ ประกอบด้วย ไมโอซิน 50-55 เปอร์เซ็นต์ แอกทิน 20-25 เปอร์เซ็นต์ โทรโปไมโอซิน 10-15 เปอร์เซ็นต์ และองค์ประกอบอื่น ๆ อีก 5-10 เปอร์เซ็นต์

คอนเนคทีฟโปรตีน (connective tissue protein) หรือ สโตรมาโปรตีน (stroma protein) เป็นโปรตีนที่มีองค์ประกอบเหมือนกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจึงอาจเรียกอีกอย่างว่าโปรตีนจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โปรตีนในกลุ่มนี้ ได้แก่ คอลลาเจน อิลาสติน และเรติคิวลิน เป็นต้น โปรตีนเหล่านี้ละลายบ้างในสารละลายเข้มข้นของกรดและเบส

งานวิจัยครั้งนี้ สนใจเฉพาะกลุ่มของไมโอไฟบริลลาร์โปรตีน เนื่องจากเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความเหนียวความนุ่นของเนื้อ ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจของคุณภาพเนื้อลักษณะหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย

1.2.5.1 งานวิจัยในต่างประเทศ

เป็นที่ทราบกัน โดยทั่วไปแล้วว่า การเก็บซากภายหลังสัตว์ตาย หรือการบ่มซาก (aging) จะช่วยปรับปรุงให้เนื้อนุ่มได้ (Chou *et. al.* 1996) การเพิ่มขึ้นของความนุ่มของเนื้อ ซึ่งได้ทำการเก็บไว้ในห้องเย็นภายหลังการเกิด rigor mortis มีผลมาจากกระบวนการย่อยสลาย (degradation) ของโครงสร้างทั้งภายในและภายนอกของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Palka, 2000) มีหลายท่านได้สรุปการเปลี่ยนแปลงภายหลังสัตว์ตายในขณะที่ทำการบ่มซาก (Stromer *et al.* 1974; Bandman, 1992) ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในกล้ามเนื้อโค (Olson *et al*, 1976) กล้ามเนื้อสุกร (Penny, 1976) กล้ามเนื้อแกะ (Wheeler and Koohmaraie, 1994) และกล้ามเนื้อไก่ (Chou *et al*, 1994) นอกจากนี้ Kolczak *et al.* (2003a, b) ได้ศึกษาการบ่มซากในกล้ามเนื้อลูกโค โคสาว และแม่โค เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ในการใช้เทคนิคของ SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel eletrophoresis) เพื่อศึกษาเส้นใยกล้ามเนื้อไมโอไฟบริล ในระหว่างการบ่มซากนั้น จะพบแถบโปรตีน (bands) ใหม่ ๆ หลาย bands ที่อยู่ในบริเวณระหว่าง 25-34 kDa (Ouali, 1990) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การปรากฏของ band 30 kDaนั้น จะเกี่ยวข้องกับความนุ่มของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย และสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดการบ่มได้วิธีหนึ่ง (Parrish *et al.* 1981)

อย่างไรก็ตาม Farouk *et al.* (1992) เสนอว่า การปรากฏของ 30 kDa components นั้นอาจใช้เป็นดัชนีตัวหนึ่งในการชี้อัตราการเกิด proteolysis เท่านั้น ไม่สามารถใช้เป็นดัชนีของความนุ่มได้ ส่วน Ho *et al.* (1994) ได้รายงานต่อว่า การสลายตัวของ troponin-T และการปรากฏของ 30 kDa components นั้น ไม่เพียงแต่ชี้ให้เห็นว่าเกิด proteolysis เท่านั้น แต่ยังไปเกี่ยวข้องกับ Z-lines ในกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย Parrish (1973) รายงานว่าการปรากฏของ Z-line fracment ปรากฏในบริเวณเดียวกันหรือใกล้เคียงกับ Z-disk และการเกิด fragment นี้ จะมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับความนุ่มของเนื้อ

Chou *et al.* (1994) พบว่า ระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษา ชนิดของสัตว์ และชนิดของกล้ามเนื้อจะอาจเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสลายตัวของ titin และ nebulin โดย Taylor *et al.* (1995) ได้รายงานว่า T1 จะสลายเป็น T2 ภายใน 24-72 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ส่วน Anderson and Parrish (1989) รายงานว่า titin ย่อยสลายไปเป็น T1และT2 ภายใน 3 วันหลังสัตว์ตาย จากนั้น จะพบ band T2 มากในวันที่ 7 หลังสัตว์ตาย โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Nagaraj *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ myofibrillar protein ของกล้ามเนื้อโครงร่างของแพะภายหลังสัตว์ตาย โดยใช้ SDS-PAGE รายงานว่า การปรากฏของ band 30 kDa ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายของ troponin-T นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของกล้ามเนื้อ โดยพบในกล้ามเนื้อ semitendinosus ในวันที่ 6 ของการบ่มมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบpolypeptide 55 kDa ซึ่งเป็น band ใหม่ในกล้ามเนื้อ biceps femoris และ semimembranosus ซึ่งมีรายงานจาก Koohmaraie *et al.* (1984) ซึ่งศึกษาในเนื้อโคว่า พบ polypeptide 55 kDa ตั้งแต่เริ่มต้นการบ่มซากภายหลังสัตว์ตาย ที่มาของ polypeptide นี้ยังไม่ทราบแน่ชัด Nagaraj *et al.* (2004) ได้สรุปว่า การสลายของ Z-line ใน fragmentation ของ myofibrils และการปรากฏ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ 30kDa components เป็นการเปลี่ยนแปลงส่วนใหญ่ที่พบในกล้ามเนื้อของแพะในระหว่างการบ่มเนื้อภายสัตว์ตาย

Paterson and Parrish (1987) ใช้เทคนิค SDS-PAGE ในการตรวจหา titin และ nebulin ในเนื้อสันและขาหลัง ในกล้ามเนื้อของโค พบว่า titin จะถูกย่อยสลายจาก myofibrils ในกล้ามเนื้อ infraspinatus มากกว่าจาก myofibrils จากกล้ามเนื้อ rhomboideus นอกจากนี้ยังพบ nebulin ในปริมาณน้อยมากจากการย่อยสลายของ myofibrils จากกล้ามเนื้อทั้ง 2 ชนิดด้วย และยังเสนอแนะว่า การใช้อัตราส่วนของ acrylamide/bisacrylamide เท่ากับ 37:1 และใช้บัฟเฟอร์ที่ pH 8.0 เป็นเงื่อนไขที่ดีที่สุดในการค้นพบความแตกต่างของ titin nebulin และผลผลิตอื่นๆ ที่ได้จากการย่อยสลาย

Anderson and Parrish (1989) ได้ศึกษาการย่อยสลายภายหลังสัตว์ตายของ titin และ nebulin ของเนื้อสเต็ก (เนื้อโค) โดยการใช้ SDS-PAGE พบว่า band ของ titin และ nebulin บนเจล จากเนื้อสเต็กที่มีความนุ่ม จะมีความเข้มน้อยกว่าจากเนื้อสเต็กที่มีความนุ่มน้อยกว่า ซึ่งชี้ให้เห็นว่า titin และ nebulin จะมีการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วในเนื้อสเต็กที่มีความนุ่มมากมากกว่าในเนื้อสเต็กที่มีความนุ่มน้อย และสรุปว่า ความนุ่มของเนื้อนั้น อาจขึ้นอยู่กับการย่อยสลายของ titin และ nebulin ภายหลังสัตว์ตาย

Babiker (1990) พบว่า ความเข้มข้นของ sarcoplasmic protein ในเนื้อแพะจะสูงกว่าในเนื้อแกะ และความเข้มข้นของ myofibrillar protein ในสัตว์ทั้งสองชนิดใกล้เคียงกัน

1.2.5.2 การวิจัยในประเทศ

งานวิจัยเกี่ยวกับแพะในประเทศส่วนใหญ่จะศึกษาในด้านสมรรถภาพการผลิต สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ คุณภาพซาก และผลตอบแทนในการเลี้ยงแพะ (บุญนำพา ด่างเหลา, 2548; เยาวนิตย์ บุรีรักษา, 2545; วีรศักดิ์ หลวงติ๊บ, 2550; วัชราภรณ์ ศรีพลน้อย, 2550; สมเกียรติ กลิ่นเกลี้ยง, 2548; สัญชัย จตุรสิทธา และ บุญเสริม ชีวะอิสระกุล, 2534;สุรีย์ ชาติวัยงาม, 2540) จะมีเพียงงานของ ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ และคณะ (2552) ที่นอกจากศึกษาถึงสมรรถภาพการผลิต ลักษณะซาก และผลตอบแทนที่ได้จากการเลี้ยงแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียน (50:50) และแพะพื้นเมืองแล้ว ยังศึกษาคุณภาพเนื้อของแพะดังกล่าวด้วย โดยได้รายงานคุณสมบัติทางกายภาพของเนื้อ ซึ่งพบว่า สีของเนื้อในระบบ CIE และการสูญเสียน้ำในระหว่างการปรุง ของกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) *M. Biceps femoris* และ *M. Triceps brachii* ของแพะทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ สำหรับค่าแรงตัดผ่านเนื้อนั้น พบว่า ค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะทั้งสองกลุ่มแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมมีค่าแรงตัดผ่านต่ำกว่าแพะพื้นเมือง (2.45 และ 2.95 กก. ตามลำดับ) นอกจากนี้ ยังรายงานว่า กลุ่มของแพะนั้นไม่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อ *B. femoris* และ *T. brachii* โดยกล้ามเนื้อ *B. femoris* มีค่าแรงตัดผ่านอยู่ในช่วง 4.87 – 5.40 กก. ขณะที่ *T. brachii* มีค่าแรงตัดผ่านอยู่ในช่วง 4.89 - 5.16 กก. ผลการวิจัยนี้ ทำให้ทราบว่า ค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อสันนอกต่ำกว่าของกล้ามเนื้อ *B. femoris* และ *T. brachii* นั่นหมายถึง เนื้อสันนอกของแพะจะมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อบริเวณสะโพกและบริเวณอก ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ และคณะ (2552) ยังได้รายงานว่า กล้ามเนื้อสันนอกของแพะพื้นเมืองมีความหนา

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเพอริไมเซียมมากกว่า และมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่กว่ากล้ามเนื้อของแพะลูกผสมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในขณะที่กล้ามเนื้อ *T. brachii* ของแพะพื้นเมืองมีเพอริไมเซียมหนากว่ากล้ามเนื้อของแพะลูกผสม ($p<0.01$) และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อของ *B. femoris* และ *T. brachii* ของแพะทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

จากการตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง สรุปได้ว่า การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในกล้ามเนื้อส่วนใหญ่ใช้โปรตีนไมโอไฟบริล โดยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดจะมีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนดังกล่าวแตกต่างกัน สำหรับการวิจัยการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อของแพะภายหลังสัตว์ตายด้วยเทคนิค SDS-PAGEนั้น เท่าที่ได้ทำการตรวจเอกสาร ยังไม่ปรากฏงานวิจัยในเรื่องนี้ ส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาวิจัยในเนื้อโค

1.3 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อไหล่ในแต่ละระยะเวลาบ่ม
2. ตรวจสอบค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อไหล่ในแต่ละระยะเวลาบ่ม
3. ศึกษาปัจจัยของชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาบ่มที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ จะศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อ 2 ชนิด คือ กล้ามเนื้อสันนอก (M. longissimus dorsi, LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (M. infraspinatus, IF) ของแพะ โดยทำการบ่มที่ระยะ 1 7 14 และ 21 วัน ด้วยเทคนิค SDS-PAGE และเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนดังกล่าวในแต่ละช่วงเวลาของการบ่มและในกล้ามเนื้อทั้ง 2 ชนิด ทำการตรวจสอบค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อแต่ละชนิดในแต่ละระยะเวลาบ่ม และศึกษาปัจจัยของชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาบ่มที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

1.5 ระยะเวลาดำเนินการ

ระยะเวลาในการดำเนินการตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2553 ถึง 30 กันยายน 2554 รวม 12 เดือน

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำผลการวิจัยครั้งนี้ไปใช้ในการพิจารณาการบ่มเนื้อแพะในกล้ามเนื้อแต่ละชนิดตามความเหมาะสม
2. สามารถนำไปใช้ประกอบการเรียนการสอนวิชากายวิภาคและสรีรวิทยาของสัตว์เลี้ยงในส่วนของระบบกล้ามเนื้อได้ ซึ่งเป็นวิชาแกน ของหลักสูตรครุศาสตร์เกษตร (5 ปี) และวิชาการขายปลีกขายส่งเนื้อสัตว์ ของหลักสูตรครุศาสตร์เกษตร (2 ปี)
3. ผลที่ได้จากการวิจัยสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อการวิจัยต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

2.1.1 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่

1) 2-mercaptoethanol (MCE) (Acros Organics, U.S.A)
2) 30% acrylamide/bis solution (29:1) (Bio Rad, U.S.A)
3) Acetic acid (Merck, Germany)
4) APS (ammoniumpersulfate) (Bio-Rad, U.S.A)
5) Bromophenol blue (Bio Basic Inc., U.S.A)
6) BSA (bovine serum albumin) (Fluka Biochemika, U.S.A)
7) Coomassie blue R-250 (Research Organics, U.S.A)
8) EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt) (Univar, Australia)
9) Glycerol (Amresco, U.S.A)
10) Glycine (Research Organics, U.S.A)
11) Hydrochloric acid (HCl) (Merck, Germany)
12) Methanol (Merck, Germany)
13) SDS (sodium dodecyl sulfate) (Ajax Finechem, Australia)
14) TEMED (tetramethylethylenediamine) (Bio Rad, USA)
15) Tris-base (Promega, U.S.A)
16) น้ำยาวัดโปรตีน Bio-Rad Protein Assay (Bio Rad, U.S.A)
17) โปรตีนมาตรฐาน PageRuler Plus Prestained Protein (Fermentas, Canada)

2.1.2 การเตรียมสารเคมี

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ แยกตามการนำไปใช้ มีดังต่อไปนี้

2.1.2.1 การสกัดโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

- **Extraction buffer A**

Tris-HCl, pH 6.8	50 mM
EDTA	5 mM
Glycerol	10 %

น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **Extraction buffer B**

SDS	5 %
MCE	5 %
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	

2.1.2.2 การวัดความเข้มข้นโปรตีน

- **Standard BSA 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 mg/ml**

BSA 1 mg/ml = BSA 10 mg : Distilled water 10 ml -----(1)

BSA 0.8 mg/ml = ดูด (1) มา 800 µl : Distilled water 200 µl

BSA 0.6 mg/ml = ดูด (1) มา 600 µl : Distilled water 400 µl

BSA 0.4 mg/ml = ดูด (1) มา 400 µl : Distilled water 600 µl

BSA 0.2 mg/ml = ดูด (1) มา 200 µl : Distilled water 800 µl

BSA 0.1 mg/ml = ดูด (1) มา 100 µl : Distilled water 900 µl

- **น้ำยาวัดโปรตีน Bio-Rad Protein Assay 100 ml (1 ส่วนต่อ 4 ส่วน)**

น้ำยาวัดโปรตีน Bio-Rad Protein Assay	25 ml
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	75 ml

2.1.2.3 เทคนิค SDS-PAGE

- **Tris 3 M pH 8.8 (1L)**

Tris	365 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	700 ml

ละลาย Tris ในน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อจากนั้นปรับ pH ให้เป็น 8.8 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วยน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อเก็บในตู้ที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

- **Tris 1.5 M pH 8.8 (1L)**

Tris 3 M pH 8.8	500 ml
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	500 ml

- **Tris 0.5M pH 6.8 (1L)**

Tris	60.6 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	700 ml

ละลาย Tris ในน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 6.8 ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อให้ครบ 1,000 ml เก็บในตู้เก็บที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

- **10 % SDS (10 ml)**

SDS	1 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ 10 ml

- **10 % Ammonium persulphate solution ; APS (1 ml)** (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

Ammonium persulphate	0.1 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	1 ml

- **1 % Bromophenol blue (10 ml)**

Bromophenol blue	0.01 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	10 ml

- **4xLoading buffer**

0.5 M Tris – HCl pH 6.8	7.6 ml
10 % SDS	12 ml
100 % Glycerol	6 ml
0.1 % Bromophenol blue	12 ml
ผสมสารให้เข้ากัน ก่อนใช้เติม MCE	150 µl

- **10x Running buffer (1L)**

Glycine	144 g
Tris-base	30 g
SDS	10 g

ละลายสาร Tris-base, Glycine และ SDS และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อให้ครบ 1,000 ml เก็บในตู้เก็บที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

- **Transfer buffer (1L)** (25mM Tris pH 8.3, 192mM glycine, 20% (v/v) methanol)

Tris-base	3.03 g
Glycine	14.4 g
Methanol	200 ml

ละลายสาร Tris-base และ Glycine และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ ให้ครบ 1,000 ml เก็บในตู้เก็บที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

- **Staining solution (2L)** (40% Methanol, 10% Acetic acid, 0.1% Coomassie blue R-250)

น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	1,000 ml
Methanol	800 ml
Acetic acid	200 ml
Coomassie blue R-250	2 g

เก็บในตู้เก็บที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **Destaining solution** (40% Methanol, 10% Acetic acid ; 2L)

น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	1,000 ml
Methanol	800 ml
Acetic acid	200 ml

เก็บในตู้เก็บที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

2.2 การวิเคราะห์โปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

2.2.1 ตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอก (Longissimus dorsi muscle, LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (Infraspinatus muscle, IF) ซีกซ้ายของซากจากแพะเพศเมียลูกผสมพันธุ์ จำนวน 4 ตัว ภายใน 45 นาทีหลังฆ่า โดยทำการห่อด้วยพลาสติกใส ใส่ลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง แล้วนำมาบ่มที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส จนครบเวลา 24 ชั่วโมงหลังฆ่า (นับเป็นวันที่ 1 ของการบ่ม) หลังจากนั้นจึงนำชิ้นเนื้อมาตัดแบ่งเป็น 4 ส่วนเท่า ๆ กัน ตามระยะเวลาการบ่มที่ 1, 7, 14 และ 21 วันหลังฆ่า โดยทำการเก็บในถุงสุญญากาศชนิด polyvinyl chloride ไล่อากาศออกด้วยเครื่องบรรจุสุญญากาศ รุ่น Audionvac VM 151 (Audion Elektro B.V., Netherlands) แล้วทำการบ่มต่อไปจนครบระยะเวลาที่กำหนด หลังจากนั้นนำตัวอย่างเนื้อมาบดในไนโตรเจนเหลว และเก็บตัวอย่างที่ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์โปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

2.2.2 การสกัดโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

ทำการสกัดโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ดัดแปลงจากวิธีการของ Shibata *et al.* (2009) โดยนำตัวอย่างเนื้อแพะที่ผ่านการบ่มที่ระยะเวลา 1, 7, 14 และ 21 วันหลังฆ่า มา 0.2 กรัม ปั่นใน Extraction buffer A 2 มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง homogenizer (Ultra tarrax, Germany) จากนั้นเติม Extraction buffer B 100 ไมโครลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากันและนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง รุ่น Centurion K2R Series (U.K) ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใสนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรตีน

2.2.3 การวัดความเข้มข้นโปรตีน

เจือจางน้ำยาวัดโปรตีน Bio-Rad Protein Assay (Bio Rad, U.S.A) ในสัดส่วนน้ำยาวัดโปรตีน 1 ส่วน ต่อน้ำกลั่น 4 ส่วน จากนั้นทำกราฟมาตรฐาน (Standard Curve) โดยเจือจาง Bovine Serum Albumin (BSA) (Fluka Biochemika, U.S.A) ให้มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตัวอย่างละ 10 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำยาวัดโปรตีนที่เจือจางแล้ว 500 ไมโครลิตร และสำหรับการวัดตัวอย่างโปรตีน ทำโดยนำตัวอย่างโปรตีนที่สกัดได้ ตัวอย่างละ 10 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำยาวัดโปรตีนที่เจือจางแล้ว 500 ไมโครลิตร จากนั้นผสมสารให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BioPhotometer plus (Eppendorf, Germany) ที่ความยาวคลื่น 595 nm (A_{595}) โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของ BSA ที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวณสมการถดถอยเชิงเส้น $y = ax \pm b$ โดยค่า y เป็นค่าการดูดกลืนแสง และค่า x เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย BSA และทำการคำนวณความเข้มข้นของโปรตีนตัวอย่างได้จากสมการถดถอยเชิงเส้นของกราฟมาตรฐาน ตามลำดับ

2.2.4 การเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์

เตรียมชุดเจลพอลิอะคริลาไมด์ สำหรับเครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า รุ่น mini-PROTEAN ® Tetra Cell (Bio Rad, U.S.A) ตามคู่มือของบริษัท จากนั้นทำการเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์ (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 การเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์สำหรับการแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

สารเคมี	12 % separating gel (ml)	5 % stacking gel (ml)
น้ำกลั่น	6.4	5.7
1.5 M Tris/HCl, pH 8.8	5.0	-
0.5 M Tris/HCl, pH 6.8	-	2.5
30% acrylamide/bis solution (29:1)	8.4	1.7
10 % SDS	0.2	0.1
10 % APS	0.1	0.05
TEMED	0.02	0.01
ปริมาตรรวม (ml)	**20**	**10**

ทำการผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน โดย APS และ TEMED ให้ใส่เป็นตัวสุดท้าย พยายามอย่าให้เกิดฟองอากาศ หลังจากเทชั้น separating gel ให้ดูด isopropanol ทับชั้น separating gel ทันที เพื่อให้ผิวหน้าด้านบนเรียบ จากนั้นทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที จึงเท stacking gel แล้วใส่หวี ปล่อยไว้อีกประมาณ 2 ชั่วโมง จึงสามารถนำเจลมาใช้ได้

2.2.5 การแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเทคนิค SDS-PAGE

นำโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อที่สกัดได้มาทำการแยกด้วยเทคนิค SDS-PAGE ตามวิธีของ Laemmli (1970) ด้วยเครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Ho *et al.* (1997) ใช้ separating gel ความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ และใช้ stacking gel ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำตัวอย่างโปรตีนที่สกัดได้ผสมกับ loading buffer ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นทำการหยอดโปรตีนตัวอย่างหลุมละ 15 ไมโครกรัม โดยเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน PageRuler Plus Prestained Protein marker หลังจากนั้นทำการแยกโปรตีนโดยใช้ running buffer เป็นตัวพากระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 30 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดนำเจลไปย้อมสีใน

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

staining solution นาน 12 ชั่วโมง และนำเจลไปล้างใน destaining solution เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง หรือจนกว่าโปรตีนส่วนเกินจะถูกล้างออกจนหมด จึงนำเจล SDS-PAGE ไปสแกนภาพด้วยเครื่องสแกน รุ่น CanoScan N670U (Canon) และวิเคราะห์ความเข้มข้นของแถบโปรตีนที่ปรากฏด้วยโปรแกรม Gene Tool

2.3 การวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ

นำตัวอย่างเนื้อแพะที่ครบระยะเวลาบ่มที่ 1 7 14 และ 21 วัน มาตัดแต่งเอาพังผืดและไขมันออก และตัดชิ้นเนื้อเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า หนา 2.5 เซนติเมตร ใส่ในถุงร้อนแล้วทำการไล่อากาศออกด้วยเครื่องบรรจุสุญญากาศ และนำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส จนได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อที่ 70-75 องศาเซลเซียส จึงนำถุงที่ใส่ชิ้นเนื้อไปลดอุณหภูมิ โดยการใช้น้ำไหลผ่าน ประมาณ 30 นาที แล้วตัดชิ้นเนื้อตามแนวยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อให้มีขนาด กว้าง x ยาว x หนา เท่ากับ 1 x 1 x 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตัวอย่างละ 3-6 ชิ้น (ทั้งนี้เนื่องจากกล้ามเนื้อตัวอย่างมีขนาดเล็กมาก จึงไม่สามารถตัดชิ้นเนื้อออกได้เป็น 10 ชิ้น) แล้วนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ ด้วยเครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ Hounsfield S-Series โดยกำหนดหน่วยเป็นกิโลกรัม (Boccard *et al.* 1981)

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ตัวแปรต้น คือ ชนิดของกล้ามเนื้อ 2 ชนิด และระยะเวลาในการบ่ม 4 ระยะ (1 7 14 และ 21 วัน) ส่วนตัวแปรตามคือ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ pdiff ส่วนการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน จะพิจารณาจากความเข้มและการคงอยู่ของแถบโปรตีนในเจลที่ปรากฏ

2.5 สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร (เทคโนโลยีการผลิตสัตว์) คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์เกษตร และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ส่วนสถานที่เก็บตัวอย่างเนื้อแพะเป็นโรงฆ่าแพะของกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงสัตว์ทุ่งครุ ประชาอุทิศ 69 แขวงทุ่งครุ เขตทุ่งครุ กรุงเทพมหานคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 ผลการวิจัย

3.1.1 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อไหล่ในแต่ละระยะเวลาบ่มต่าง ๆ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของแพะกลุ่มตัวอย่าง ในระยะการบ่มที่ 1 7 14 และ 21 วันหลังฆ่า ด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่า ในกล้ามเนื้อแพะทั้ง 2 ชนิด ที่การบ่ม 1 วัน ปรากฏแถบ (band) ของโปรตีนจำนวน 17 แถบ โดยแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่ที่สุดและเล็กที่สุด สามารถประมาณขนาดของแต่ละแถบได้ คือ 212 102 86 71 58 56 50 44 40 36 35 31 26 24 22 18 และ 16 kDa ตามลำดับ (ภาพที่ 3.1)

ภาพที่ 3.1 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อในกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของแพะที่ระยะเวลาการบ่ม 1 7 14 และ 21 วันหลังฆ่าวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

Lane M คือ โปรตีนมาตรฐาน PageRuler Plus Prestained Protein marker

Lane BSA คือ Bovine Serum Albumin 2 µg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาจากเนื้อตัวอย่างจากแพะทั้ง 4 ตัว พบความผันแปรระหว่างตัวอย่างเนื้อและซ้ำ (ก และ ข) เล็กน้อย คือ ในภาพที่ 1.1(ก)ในภาคผนวกนั้น จะมีแถบโปรตีนขนาดใหญ่สุด 176 kDa และเล็กสุด 13 kDa ส่วนภาพที่ 1.3 ในภาคผนวก จะพบขนาดโปรตีนใหญ่สุดที่ 204 kDa (ก) และ 207 kDa (ข) และเล็กที่สุดที่ 16 kDa เท่ากันทั้ง (ก)และ(ข) และในภาพที่ 1.4 (ข)ในภาคผนวกนั้น จะพบแถบโปรตีนขนาดใหญ่ที่สุด 217 kDa และต่ำที่สุด 15 kDa

โปรตีนส่วนใหญ่จะปรากฏในทุกระยะเวลาการบ่มที่ศึกษา ยกเว้น โปรตีนที่ขนาดประมาณ 31 26 และ 24 kDa โดยพบแถบโปรตีนขนาด 31 kDa ในกล้ามเนื้อ LD ที่ทุกระยะการบ่ม ส่วนในกล้ามเนื้อ IF บางตัวอย่างไม่พบแถบโปรตีนนี้ในทุกระยะการบ่ม (ภาพที่ 1.3 ในภาคผนวก) หากเปรียบเทียบความเข้มของแถบโปรตีนดังกล่าวระหว่างกล้ามเนื้อ พบว่าแถบโปรตีนในกล้ามเนื้อ LD จะเข้มกว่าในกล้ามเนื้อ IF ในทุกระยะเวลาการบ่ม (ภาพที่ 3.1 และภาพที่ 1.1-1.4 ในภาคผนวก) ส่วนความเข้มของแถบโปรตีน 26 kDa บางมากในการบ่มเนื้อที่ 1 วัน หลังฆ่าในกล้ามเนื้อ LD (ภาพที่ 3.1 และภาพที่ 1.1-1.4 ในภาคผนวก) และความเข้มของแถบโปรตีนนี้ จะลดลงจนไม่เห็นในวันที่ 7 14 และ 21 ของการบ่ม ในทางกลับกัน ยังคงพบแถบ 26kDaในกล้ามเนื้อ IF ในทุกระยะเวลาการบ่มที่ศึกษา สำหรับแถบ 24 kDa นั้น พบแถบโปรตีนนี้จาง ๆในกล้ามเนื้อ LD ส่วนในกล้ามเนื้อ IF จะเข้มกว่าในกล้ามเนื้อ LD ทุกระยะการบ่ม (ภาพที่ 3.1 และภาพที่ 1.1-1.4 ในภาคผนวก) เช่นกัน

3.1.2 ตรวจสอบค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อไหล่ในแต่ละระยะเวลาบ่มต่าง ๆ

ค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็นค่าที่แสดงให้เห็นว่า เนื้อมีความเหนียวหรือความนุ่มมากน้อยเพียงใด หากค่าแรงตัดผ่านสูงแสดงว่าเนื้อมีความเหนียวมาก และค่าที่น้อยแสดงว่าเนื้อมีความเหนียวน้อยหรือมีความนุ่มมากนั่นเอง

ผลการตรวจสอบค่าแรงตัดผ่านที่กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อไหล่ในระยะเวลาการบ่มที่ 1 7 14 และ 21 วันของตัวอย่างเนื้อทั้ง 4 ตัวอย่าง ได้แสดงให้เห็นในตารางที่ 3.1 จะเห็นได้ว่า ค่าเฉลี่ยของค่าแรงตัดผ่านเนื้อของเกือบทุกตัวอย่างในกล้ามเนื้อ LD ในระยะเวลาการบ่ม 1 7 14 และ 21 จะลดลงตามลำดับ ยกเว้นตัวอย่างเนื้อที่ 1 ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของวันที่ 21 ของการบ่มจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย นั่นแสดงให้เห็นว่า ยิ่งมีการบ่มเนื้อนานขึ้น จะทำให้เนื้อมีความนุ่มมากขึ้น

เป็นที่น่าสังเกตว่าในกล้ามเนื้อ LD จากตัวอย่างที่ 2 นั้นจะมีค่าแรงตัดผ่านสูงกว่าตัวอย่างอื่นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในอายุการบ่มที่ 1 และ 7 วัน คือสูงถึง 16.61 และ14.18 กิโลกรัม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 3.1 ค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของเนื้อตัวอย่างในแต่ละระยะเวลาบ่ม (กิโลกรัม)

ตัวอย่างที่	กล้ามเนื้อ	อายุการบ่ม(วัน)	ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
1	LD	1	10.03	0.74	9.22	10.97
		7	7.05	0.81	6.15	7.68
		14	6.95	0.81	6.04	7.58
		21	8.92	0.74	8.10	9.82
2	LD	1	16.61	0.94	15.62	17.88
		7	14.18	0.98	13.51	15.31
		14	12.11	1.68	10.46	13.83
		21	8.80	1.20	7.47	9.80
3	LD	1	12.42	1.24	11.11	13.57
		7	11.46	1.67	10.06	13.32
		14	6.24	0.97	5.19	7.31
		21	5.85	1.17	4.24	6.88
4	LD	1	12.87	1.04	11.80	13.92
		7	10.22	0.23	10.02	10.47
		14	6.47	1.03	5.45	7.51
		21	5.92	0.25	5.63	6.10
1	IF	1	4.84	0.74	4.28	5.67
		7	6.10	0.58	5.69	6.51
		14	5.07	1.23	3.19	6.06
		21	-	-	-	-
2	IF	1	7.09	0.75	6.32	7.81
		7	6.34	0.67	5.94	7.12
		14	6.29	1.83	4.73	8.73
		21	5.05	1.87	3.50	7.13
3	IF	1	8.47	1.39	6.88	9.48
		7	6.50	1.02	5.37	7.82
		14	5.32	0.28	5.09	5.63
		21	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

120363

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	กล้ามเนื้อ	อายุการบ่ม(วัน)	ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
4	IF	1	7.15	0.82	6.41	8.04
		7	6.72	1.26	5.29	7.66
		14	4.75	0.55	4.23	5.32
		21	4.28	0.31	3.99	4.68

- = ไม่ได้ทำการตรวจสอบ

ในกล้ามเนื้อ IF พบแนวโน้มเช่นเดียวกับในกล้ามเนื้อ LD กล่าวคือ ค่าแรงตัดผ่านจะลดลงเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาการบ่ม ยกเว้นเนื้อจากตัวอย่างที่ 1 ซึ่งวันที่ 1 ของการบ่มมีค่าแรงตัดผ่านน้อยกว่าวันที่ 7 และ 14 หากพิจารณาในภาพรวมตามตารางที่ 3.1 แล้วจะเห็นว่า ค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อ IF จะต่ำกว่าในกล้ามเนื้อ LD ซึ่งจะมีการทดสอบทางสถิติในหัวข้อต่อไป

3.1.3 ศึกษาปัจจัยของชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาบ่มที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของตัวอย่าง ซึ่งตัวแปรต้นเป็นปัจจัยของชนิดของกล้ามเนื้อ (LD และ IF) และระยะเวลาการบ่ม (1 7 14 และ21วัน) และตัวแปรตามคือ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ พบว่า ชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาการบ่มเนื้อมีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) ดังตารางที่ 3.2 ส่วนปัจจัยร่วมระหว่างชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาการบ่มไม่มีอิทธิพลต่อลักษณะที่ศึกษา

ตารางที่ 3.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าแรงตัดผ่านเนื้อจากปัจจัยต่าง ๆ

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr >F
muscle	1	106.3992250	106.3992250	26.86	<.0001
aging	3	70.4264364	23.4754788	5.93	0.0040
muscle*aging	3	16.0581091	5.3527030	1.35	0.2836

ตารางที่ 3.3 ชี้ให้เห็นว่า กล้ามเนื้อ IF ของแพะมีความเหนียวน้อยกว่ากล้ามเนื้อ LD อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 5.83 และ 9.70 กิโลกรัม ในกล้ามเนื้อ IF และ LD ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 ค่าเฉลี่ย (LSM) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่กล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ IF

ชนิดของกล้ามเนื้อ	LSM ± SE
Longissimus dorsi (LD)	9.70 ± 0.50 [a]
Infraspinatus (IF)	5.83 ± 0.56 [b]

LSM=Least Squares means, SE=Standard Error

[ab] อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

ตารางที่ 3.4 แสดงให้เห็นอิทธิพลของระยะเวลาการบ่มที่มีต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ จะเห็นได้ว่า การบ่มเนื้อที่ 1 วัน ค่าแรงตัดผ่านสูงที่สุด คือ 9.94 กิโลกรัม (เนื้อจะเหนียวที่สุด) แม้ว่าการบ่มที่ 7 วันจะทำให้ค่าแรงตัดผ่านลดลง (8.57 กิโลกรัม) แต่ไม่แตกต่างจากการบ่มเนื้อที่ 1 วัน และ 14 วัน การบ่มเนื้อที่ 14 และ 21 วัน จะทำให้เนื้อมีความเหนียวน้อยกว่าการบ่มที่ 1 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) อย่างไรก็ตาม หากเกษตรกรต้องการบ่มเนื้อเพื่อจำหน่าย ผู้วิจัยเสนอแนะให้บ่มเพียง 14 วันก็เพียงพอ เนื่องจาก 1) ค่าแรงตัดผ่านของเนื้อที่บ่มที่ 14 วันไม่แตกต่างทางสถิติกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ 21 วัน และ 2) การบ่มเนื้อที่ 21 วัน เกษตรกรต้องเสียเวลาในการรอจำหน่ายเนื้อและเสียค่าใช้จ่ายด้านพลังงานที่ต้องใช้ในการบ่มเนื้อมากขึ้น ซึ่งอาจไม่คุ้มกับราคาเนื้อที่จำหน่ายได้

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ปัจจัยร่วมระหว่างชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาการบ่มไม่มีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (ตารางที่ 3.5)

ตารางที่ 3.4 ค่าเฉลี่ย (LSM) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่ระยะเวลาบ่ม 1 7 14 และ 21 วัน

อายุการบ่ม (วัน)	LSM ± SE
1	9.94 ±0.70 [a]
7	8.57 ±0.70 [ab]
14	6.65 ±0.70 [bc]
21	5.90 ±0.86 [c]

LSM=Least Squares means, SE=Standard Error

[ab] อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.5 ค่าเฉลี่ย (LSM) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่กล้ามเนื้อ 2 ชนิดและระยะเวลาบ่มต่างกัน

Muscle	Aging (days)	LSM ± SE
LD	1	12.98 ±1.00
	7	10.73 ±1.00
	14	7.94 ±1.00
	21	7.14 ±1.00
IF	1	6.89 ±1.00
	7	6.42 ±1.00
	14	5.36 ±1.00
	21	4.66 ±1.41

LD= Longissimus dorsi, IF= Infraspinatus, LSM=Least Squares means, SE=Standard Error

3.2 วิจารณ์ผล

จากการวิจัยการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อมีงานวิจัยจากหลายกลุ่มดังนี้

Sellers and Goodson (1995) รายงานว่า กล้ามเนื้อโครงสร้างประกอบด้วย myosin 70-100 มิลลิกรัมต่อเนื้อสด 1 กรัม ซึ่งประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในกล้ามเนื้อทั้งหมด myosin ประกอบด้วย ส่วนหัวซึ่งเป็น light chain และส่วนหางซึ่งเป็น heavy chain 2 เส้นพันกัน เมื่อทำการแยกด้วย SDS จะพบ Myosin light chains (MLC) จำนวน 3 bands คือ LC1 และ LC3 สามารถแยกออกด้วยการใช้ด่างหรือ alkali จึงมักเรียก LC1 และ LC3 ว่า Alkali 1 และ Alkali 2 light chains ซึ่งจัดเป็น essential light chains ประกอบด้วยกรดอะมิโน 142 ตัว ที่ C-terminal ตามลำดับ ทั้ง 2 isozymes เกิดจากการควบคุมของยีน 1 ยีน โดยการเกิด alternative splicing ส่วน LC2 นั้น จะเกี่ยวข้องกับขบวนการ phosphorylation และถูกจัดให้เป็น regulatory light chain ส่วนหัวของ myosin แต่ละหัวนั้น ประกอบด้วย essential light chain และ regulatory light chain อย่างละ 1 ชนิด

Claeys *et al.* (1995) ได้รายงานความเข้มของmyofibrillar proteins ในเนื้อโคโดยการใช้ SDS-PAGE โดยพบแถบโปรตีนของ Titin และ Filamin เมื่อใช้ separated gel 4.6 เปอร์เซ็นต์ และพบแถบโปรตีนของ Myosin heavy chain, α-Actin, Tropomyosin, Actin, Troponin-T, 36 kDa, 30 kDa, Myosin light chain 1, Troponin-I, Troponin-C และ Myosin light chain 2

Artchawakom *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาโปรตีนไมโอไฟบริลในเนื้อโคกำแพงแสนและเนื้อโคพื้นเมืองไทยที่ระยะเวลาบ่มต่าง ๆ พบแถบโปรตีนที่ยังคงอยู่ตลอดระยะเวลาการบ่มทั้ง 2 พันธุ์ คือ myosin (210 kDa), α-actinin (148 kDa), 67 kDa, actin (42 kDa), tropomyosin (34-36 kDa), myosin light chain 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(26 kDa), myosin light chain 2 (16 kDa) และtroponin-C (18 kDa) ส่วนแถบโปรตีนที่ความเข้มลดลงในระยะเวลาการบ่มทุกระดับ ได้แก่ แถบโปรตีน 113 kDa, desmin (55 kDa), troponin-T (37-39 kDa) และ troponin-I (24 kDa) และพบว่าความเข้มของแถบโปรตีนที่ 30-kDa ของในเนื้อโคกำแพงแสนจะเข้มมากที่สุดในวันที่ 7 ของการบ่ม ในขณะที่ความเข้มของแถบโปรตีนดังกล่าวในเนื้อโคพื้นเมืองอยู่ที่วันที่ 21 ของการบ่ม และพบแถบโปรตีนที่ 27 kDa เฉพาะในเนื้อโคกำแพงแสน เมื่อพิจารณาค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (WBSF) พบว่า เนื้อโคกำแพงแสนมีค่าดังกล่าวต่ำกว่าเนื้อโคพื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ ยังพบว่าการสลายของโปรตีนไมโอไฟบริลนั้น มีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อโคทั้งสองพันธุ์

ผลการวิจัยครั้งนี้ที่พบแถบโปรตีนทั้งหมด 17 แถบนั้น (212 102 86 71 58 56 50 44 40 36 35 31 26 24 22 18 และ 16 kDa) หากเปรียบเทียบขนาดของแถบโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลกับนักวิจัยข้างต้น (ตารางที่ 3.6) พบว่า แถบ 176-212 kDa น่าจะเป็น MHC, 102 kDa น่าจะเป็น actinin, 35-36 kDa น่าจะเป็น Tropomyosin, 24 kDa คือ Troponin-I, 13-16 kDa คือ MLC2 ส่วนแถบโปรตีนขนาด 31 kDa นั้นอาจจะเป็นผลผลิตจากการสลาย Troponin ก็เป็นได้ เนื่องจาก Ho *et al.* (1994) รายงานว่า polypeptide ขนาด 30 kDa นั้น เป็นผลผลิตที่เกิดจากการสลายของ Troponin T สอดคล้องกับ Negishi *et al.* (1996) ที่กล่าวว่า 32kDa ก็เป็นผลผลิตจากการสลายตัวของ Troponin T เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 3.6 ชนิดของโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุล

น้ำหนักโมเลกุล (kDa)	ชนิดของโปรตีน	ผู้วิจัย	ผลจากการวิจัยนี้
200-210	Myosin heavy chain (MHC)	1), 2), 4)	176-212
100-110-148	Actinin	1), 2), 5)	102
53	Desmin	1), 2)	-
42	Actin	2), 3)	-
37-38	Troponin-T (TnT)	4)	-
34-36	Tropomyosin	1)	35-36
25	Myosin Light Chain (MLC) 3	3)	
21-24	Troponin-I (TnI)	1), 2), 4)	24
20	Troponin-C (TnC)	1), 2), 4)	
20	MLC1	3)	
15-18	MLC2	2), 3)	13-16

1) Claeys *et al.* (1995); 2) Artchawakom et al. (2008); 3) Sellers and Goodson (1995); 4) Greaser and Gergely (1973); 5) Lehninger (1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shin *et al* (2008) ได้รายงานว่า แถบโปรตีนของ myosin และ actin มีความคงทนอยู่มาก และยังรายงานว่า แถบ MHCs ที่พบมีขนาดประมาณ 200 kDa และแถบ MLCs มีขนาดประมาณ 16 ถึง 27.5 kDa Muroya *et al.* (2010) พบว่า โปรตีน desmin นั้นมีขนาด 54 kDa นอกจากนี้ยังพบแถบ polypeptide ที่เป็น products ของ desmin ที่มีขนาด 52 50 47 และ 39 kDa เมื่อบ่มเนื้อ 1 ถึง 6 วัน ส่วน isoforms ของ TnT มีขนาด 38-37 และ 34 kDa และยังพบแถบโปรตีนที่เกิดจากการสลายตัวของ TnT เมื่อบ่มเนื้อโคได้ 3 วันซึ่งมีขนาด 31 29 และ 28 kDa

หากพิจารณาจากรายงานของ Shin *et al* (2008) แล้วอาจกล่าวได้ว่า แถบโปรตีนที่พบในครั้งนี้ ที่มีขนาด 16-26 kDa นั้น อาจเป็นแถบของ MLCs ก็เป็นได้

ส่วนแถบโปรตีนอื่นนั้น ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ อย่างไรก็ตาม ควรทำการจำแนกแถบโปรตีนทุกแถบที่พบในผลการวิจัยครั้งนี้ โดยการศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีในแถบโปรตีน (polypeptide) เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน จะสามารถจำแนกได้ว่า แถบโปรตีนนั้นเป็นโปรตีนชนิดใดหรือเป็นผลผลิตจากการย่อยสลายของโปรตีนใด หรืออาจใช้เทคนิค Western blot ในกรณีที่มีการศึกษาโปรตีนดังกล่าวมาแล้วโดยการใช้ antibody จับกับโปรตีนดังกล่าว ซึ่งการจำแนกโปรตีนทั้งสองวิธีการนั้น ไม่สามารถดำเนินการในงานวิจัยครั้งนี้ได้ เนื่องจากต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูงกว่างบประมาณที่ได้รับการสนับสนุนในครั้งนี้มาก

ส่วนผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อนั้น พบว่า ชนิดของกล้ามเนื้อมีผลต่อความนุ่มของเนื้อนั้น สอดคล้องกับ Kannan *et al.* (2002) ซึ่งรายงานว่า ชนิดของกล้ามเนื้อของแพะมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยพบว่า ค่าแรงตัดผ่านของเนื้อจากกล้ามเนื้อ Semimembranosus (SM) และTriceps brachii (TB) แตกต่างจากค่าแรงตัดผ่านเนื้อจากกล้ามเนื้อ Longissimus (LD) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (4.5, 4.2 และ 2.8 กิโลกรัม ตามลำดับ) นอกจากความแตกต่างของกล้ามเนื้อแล้ว ความนุ่มของเนื้อแพะยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ พันธุ์ เพศ และอายุของแพะ โดยเนื้อแพะพันธุ์แองโกรา (Angora) มีความนุ่มกว่าเนื้อจากแพะพันธุ์บอร์ (Schönfeldt *et al.*, 1993) แพะเพศเมียมีความนุ่มและฉ่ำน้ำกว่าเพศผู้ตอน (Hogg *et al.*, 1992; Devendra, 1981) ในขณะที่เนื้อจากแพะที่มีอายุน้อยจะมีความนุ่ม และฉ่ำน้ำกว่าแพะที่มีอายุมาก (Schönfeldt *et al.*, 1993)

ผลของระยะเวลาบ่มต่อความนุ่มของเนื้อที่พบครั้งนี้ สอดคล้องกับ Kannan *et al.* (2002) ซึ่งรายงานว่า ระยะเวลาในการบ่มมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) โดยพบว่า ในกล้ามเนื้อ SM ค่าแรงตัดผ่านจะลดลงจากวันที่ 0 ไปจนถึงวันที่ 4 ของการเก็บ McKeith *et al.* (1979) ได้ศึกษาพบว่าหลังจากบ่มได้ 7 วัน กล้ามเนื้อ SM และ BF ที่ปรุงสุกแล้ว จะนุ่มขึ้น แต่ไม่พบในกล้ามเนื้อ LD ของแพะ นอกจากนี้ Hogg *et al.* (1992) รายงานว่า เนื้อแพะ (chevon) ที่บ่มเมื่อ 2 วัน จะนุ่มกว่าเนื้อที่บ่มเพียง 1 วันอย่างมีนัยสำคัญ ที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจาก การเปลี่ยนแปลงความนุ่มอย่างรวดเร็วภายใน 1-2 วันแรกของการบ่มเกิดจากความอ่อนแรงของโครงสร้างของ myofibrils และกระบวนการนุ่มเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ก็เป็นผลมาจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การอ่อนแรงของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่ภายในกล้ามเนื้อ (intramuscular connective tissue) ส่วนการอ่อนแรงของ myofibril ในช่วงแรกของการบ่มภายหลังสัตว์ตายนั้น เกิดขึ้นในขั้นแรกเนื่องจากการทำงานของเอ็นไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน คือ calpain (Koohmarie, 1988)

หากแยกกล้ามเนื้อออกตามชนิดของเมตาบอลิซึมโดยอาศัยหลักชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ส่วนใหญ่แบ่งออกเป็น 3 ชนิด (Brooke and Kaiser, 1970) คือ 1) red (type I หรือ β-red), 2) intermediate (type IIA หรือ α-red) 3) white (type IIB หรือ α-white) ชนิด type I มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อที่มีขนาดเล็กที่สุด มีเลือดฝอยมาหล่อเลี้ยงมาก มีไขมัน ไมโอโกลบิน ไมโตคอนเดรีย และ เอ็นไซม์ในวัฏจักร tricarboxylic acid (TCA) สูง เหมาะต่อการเกิดเมตาบอลิซึมที่ต้องใช้ออกซิเจน (oxidative metabolism)ได้สูง กล้ามเนื้ออยู่ในส่วนลึกเข้าไปในไหล่ (เช่น *M. trapezieus*)vหรือสะโพก (*เช่น M. semimembranosus*) ชนิด type I มีเปอร์เซ็นต์การเกิด slow oxidation ได้สูงสุด ส่วนกล้ามเนื้อที่อยู่ด้านบนและเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนตัว จะเป็นชนิด type II เพราะมีการเกิด glycolytic สูง (Simela, 2005)

ปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อความนุ่มของเนื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดของกล้ามเนื้อซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่ง Ouali (1990) รายงานว่า อัตราการบ่มใน fast twitch white muscle จะเร็วกว่าใน slow twitch red muscle เนื่องจากระดับของเอ็นไซม์ protease และ inhbitors ซึ่ง Koohmaraie (1996) เสนอว่าเอ็นไซม์ calpains เป็นกลุ่มแรกที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของไมโอไฟบริล และโปรตีนที่เกี่ยวข้อง Goll *at al.* (1977) กล่าวว่า การเกิดพันธะร่วมระหว่าง actin/myosin cross-bridge ระหว่าง 72 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายเป็นปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับความนุ่มของเนื้อ

จากผลการวิจัยครั้งนี้ ที่พบว่า กล้ามเนื้อ IF มีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อ LD นั้น อาจเป็นเพราะทั้งเส้นใยกล้ามเนื้อของทั้ง IF และLD ในเนื้อแพะเป็นคนละชนิดกันก็เป็นได้ คือ IF เป็นชนิด type I ส่วน LD เป็นชนิด type IIB ซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อไป

ส่วนระยะเวลาการบ่มเนื้อนั้น ผลการวิจัยนี้ พบว่า การบ่มเนื้อที่ 14 วันเนื้อจะมีความนุ่มไม่แตกต่างไปจากการบ่มที่ 21 วัน จึงเสนอแนะว่า หากเกษตรกรต้องการบ่มเนื้อ ก็ควรบ่มที่ 14 วันนั้น สอดคล้องกับ Warris (2000) ที่รายงานว่า จำนวนวันที่เหมาะสมในการบ่มซากเพื่อให้เนื้อนุ่ม ในแกะซึ่งใกล้เคียงกับแพะคือ 7 ถึง 14 วัน ส่วนในโค 10 ถึง 21วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผล

ผลการวิจัยครั้งนี้ สรุปได้ว่า

1. การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลที่เกิดขึ้นในระหว่างการบ่มเนื้อแพะที่ระยะ 1 7 14 และ 21 วัน ในกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) จะพบแถบโปรตีนที่มีขนาด 212 102 86 71 58 56 50 44 40 36 35 31 26 24 22 18 และ 16 kDa ตามลำดับ และแถบโปรตีนขนาด 26 และ 24 kDa จะปรากฏชัดในกล้ามเนื้อ IF ในทุกระยะการบ่ม ซึ่งในกล้ามเนื้อ LD จะปรากฏชัดในวันที่ 1 ของการบ่ม ส่วนแถบโปรตีน 31 kDa นั้นจะปรากฏชัดในกล้ามเนื้อ LD กว่ากล้ามเนื้อ IF

2. ค่าต่ำสุดและสูงสุดของค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อ LD เมื่อทำการบ่มที่ 1 7 14 และ 21 วัน คือ 9.22-17.88 6.15-7.68 5.19-13.83 และ4.24-9.82 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนในกล้ามเนื้อ IF เท่ากับ 4.28-9.48 5.29-7.82 3.19-8.73 และ 3.50-7.13 กิโลกรัม ตามลำดับ

3. ชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มเนื้อมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) กล่าวคือ ค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อ IF น้อยกว่า กล้ามเนื้อ LD เนื้อที่บ่มถึง 14 และ 21วัน จะมีค่าแรงตัดผ่านน้อยกว่าเนื้อที่มีการบ่ม 1 วัน แต่การบ่มที่ 14 วันไม่ต่างจากเนื้อที่บ่ม 7 วัน และการบ่มที่ 21 วัน ซึ่งเนื้อจะมีความนุ่มมากที่สุด ไม่ต่างจากการบ่มที่ 14 วัน

4.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะ ดังนี้

1. การบ่มและชนิดของกล้ามเนื้อมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนไมโอไฟบริล แต่หากต้องการทราบว่า การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดกับโปรตีนใด จำเป็นต้องมีการศึกษายอดจากการวิจัยครั้งนี้ โดยการใช้เทคนิค Western blot มาใช้ในการแยกโปรตีนแต่ละชนิดที่พบในเจลและอาจใช้ amino acid analyzer ในการวิเคราะห์ amino acids composition เพื่อตรวจสอบว่าเป็นโปรตีนชนิดใด หรือเป็นผลจากการย่อยสลายในระหว่างการบ่มของโปรตีนใด เป็นต้น

2. ผลการวิจัยครั้งนี้ ทำให้ทราบว่ากล้ามเนื้อไหล่มีความนุ่มกว่ากล้ามเนื้อสันนอก หากผู้บริโภคต้องการเนื้อสดที่มีความนุ่มก็ควรจะเลือกรับประทานกล้ามเนื้อไหล่ (IF) แม้ว่า การบริโภคเนื้อแพะในปัจจุบัน ผู้บริโภคที่เป็นคนไทยจะนิยมบริโภคเนื้อสดที่ไม่ผ่านการบ่มก็ตาม หากแต่เนื้อแพะกำลังเป็นที่ต้องการของตลาดมาเลเซียและตะวันออกกลางมาก ดังนั้น หากผู้บริโภคในตลาดส่งออกต้องการเนื้อมีความนุ่มมากขึ้น เกษตรกรสามารถนำวิธีการบ่มมาใช้ และจากผลการวิจัยครั้งนี้ เสนอแนะให้ควรบ่มเนื้อไว้ที่ 14 วัน ซึ่งจะเป็นการประหยัดพลังงานและคุ้มค่ามากกว่าการบ่มถึง 21 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เนื่องจากปัจจัยที่ส่งผลต่อความนุ่มของเนื้อนั้นมีหลายประการ เช่น เพศ พันธุ์ อายุ น้ำหนักมีชีวิต และชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ เป็นต้น งานวิจัยครั้งนี้ได้ใช้เฉพาะแพะเพศเมียและน้ำหนักที่ใกล้เคียงกัน เพราะต้องการลดความคลาดเคลื่อนจากปัจจัยด้านเพศ และน้ำหนักมีชีวิต ดังนั้น ในการทำวิจัยครั้งต่อไป จึงควรศึกษาถึงปัจจัยอื่นๆ ที่กล่าวมาข้างต้นมาศึกษาด้วย เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการผลิตแพะเนื้อเพื่อการค้าต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์ และวันวิศาข์ งามผ่องใส. 2552. ผลของพันธุ์และระบบการเลี้ยงที่มีต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต คุณสมบัติทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี และโครงสร้างระดับจุลภาคของกล้ามเนื้อแพะ. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 134 หน้า.

บุญนำพา ด่างเหลา. 2548. ผลของเยื่อใยจากเปลือกถั่วลิสงและฟางข้าวในสูตรอาหารผสมสำเร็จ ต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ และสมรรถนะการเจริญเติบโตของแพะ. รายงานการศึกษาแบบอิสระเชิงวิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 40 หน้า.

ปนิดา บัวเทศ. 2549. การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ของการทำฟาร์มเลี้ยงแพะขนาดใหญ่ ในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย. รายงานการค้นคว้าแบบอิสระเชิงวิทยานิพนธ์ปริญญาเศรษฐศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 203 หน้า.

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เนื้อแพะ. 2549. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [Online available]: http://www.acfs.go.th

เยาวนิตย์ บุรีรักษา. 2545. สภาพการผลิตแพะในกลุ่มเขตศรีนครินทร์ กรุงเทพมหานคร. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. 2545.

วีรศักดิ์ หลวงติ๊บ. 2550. การผลิตแพะในภาคเหนือของประเทศไทย และการใช้กระถินสดและเศษผักกาดหอม ห่อเป็นอาหารหยาบของแพะรุ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 125 หน้า.

วีระยุทธ เชื้อไทย. 2551. การพัฒนาการบริหารเครือข่ายเชิงพาณิชย์ ของผู้ประกอบการเลี้ยงแพะ ในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้. รายงานการศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 71 หน้า.

วัชราภรณ์ ศรีพลน้อย. 2550. การปรับปรุงหญ้าแพงโกล่า คุณภาพต่ำด้วยการหมักร่วมกับการกระถิน ในอัตราส่วนต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของแพะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 109 หน้า.

สมเกียรติ กลิ่นเกลี้ยง. 2548. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่ของสัตว์ตัวให้และตัวรับของแพะพื้นเมืองไทย. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สมเกียรติ กลิ่นเกลี้ยง. 2548. การลงทุนทำฟาร์มเลี้ยงแพะเนื้อ ในอำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 117 หน้า.

สัญชัย จตุรสิทธา และ บุญเสริม ชีวะอิสระกุล. 2534. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะซากและการเจริญเติบโตของแพะพื้นเมือง และแพะลูกผสมที่เลี้ยงขังกับเลี้ยงปล่อย. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 26 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุรีย์ ชาติวัยงาม. 2540. การศึกษาเพื่อปรับปรุงความสมบูรณ์พันธุ์และอัตราการมีลูกดกในแพะพื้นเมืองของไทย. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 44 หน้า.

Anderson, T.J. and Parrish, F.C.J.R. 1989. Post-mortem degradation of titin and nebulin of beef steaks varying in tenderness. J. Food Sci. 54, 748-749.

Artchawakom A., Y. Opatpatanakul, J. Sethakul, and K. Jirajaroenrat. 2008. Myofibrillar Protein Profile of Kampaengsaen Beef and Thai Native Beef during Aging Periods. In The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. Hanoi: Vietnam. September 22-26.

Bailey, K. 1946. *Nature*, **157**, 368. Detailed publications by Bailey, Astbury *et al.*, are in preparation. Cited by: Astbury, W. T. 1947. J. Chim. Phys., **44**, 3.

Babiker, S.A., El-Khider, I.A. and Shafie, S.A. 1990. Chemical composition and quality attributes of goat meat and lamb. Meat Sci. 28, 273-277.

Bandman, E. 1992. Changes in myofibrillar and cytoskeletal proteins in *post-mortem* muscle. Proc. Recip. Meat Conf. 45, 47-50.

Boccard, R., Buchter, I., Casteels, M., Cosentino, E., Dransfield, E. and Hood, D.E. 1981. "Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments". **Lives. Prod. Sci.** 8: 385-397.

Brooke M.M. and Kaiser, K. 1970. Cited by Simela, L. 2005.

Chou, R.G.R., Lin, K.J. and Tseng, T.F. 1996. *Post-mortem* changes in breast muscle of mule duck. J. Sci. Food Agric. 71, 99-102.

Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B. and Demeyer, D. 1995. "Quantitation of beef myofibrillar protein by SDS-PAGE". **Meat Sci**. 39: 177-193.

Chou, R.G.R., Tseng, T.F., Lin, K.J. and Yang, J.H. 1994. Post-mortem changes in myofibrillar proteins of breast and leg muscles from broilers, spent hens and Taiwanese country chickens. J. Sci. Food Agric. 65, 1034-1044.

Devendra, C. 1981. Potential of sheep and goats in less developed countries. J. Anim. Sci. 51:461-473.

Farouk, M.M. Price, J.F. and Salih, A.M. 1992. Post-exsanguination infusion of ovine carcasses: Effect on tenderness indicators and muscle microstructure. J. Food Sci. 57, 1311-1315.

Goll, D.E., M.L. Boehm, G.H. Geesink. 1997. What causes post-mortem tenderization? Reciprocal Meat Conference, Savoy, 50:60-67.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gordon, A.H. 1975. Laboratory techniques in Biochemistry and molecular biology. Vol. 1, Part 1, North Holland Publishing Co. Amsterdam – London.

Ho, C.Y., Stromer, M.H., and Robson, R.M. 1994. Identification of the 30 kDa polypeptide in post-mortem skeletal muscle as a degradation product of troponin-T. Biochimie 76, 369-375.

Ho, C.Y., Stromer, M.H., Rousek, G. and Robson, R.M. 1997. "Effects of electrical stimulation and postmortem storage on changes in titin, nebulin, troponin–T and muscle ultrastructure in *Bos indicus* crossbreed cattle". **J. Anim. Sci.** 75: 366-376.

Hogg, B.W., G.J.K. Mercer, B.J. Mortimer, A.H. Kirton, D.M. Duganzich. 1992. Carcass and meat quality attributes of commercial goats in New Zealand. Small Ruminant Res. 8:243-256.

Kannan, G., C.B. Chawan, B. Kouakou, and S. Gelaye. 2002. Influence of packaging method and storage time on shear value and mechanical strength of intramuscular connective tissue of chevon. J. Anim. Sci. 80:2383-2389.

Kolczak *et al.* 2003a. Cited by Nagaraj, N.S., Anilakumar, K.R. and Santhanam, K. 2004.

Kolczak *et al.* 2003b. Cited by Nagaraj, N.S., Anilakumar, K.R. and Santhanam, K. 2004.

Koohmarie, M. 1988. The role of endogenous protease in meat tenderness. In: Proc. Recip. Meat Conf., Laramie, Wy. 41:89-100.

Koohmarie, M. 1996. Cited by Simela, L. 2005.

Laemmli, U. K. 1970. "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4." **Nature.** 227:680 - 685.

Lehninger, 1975. Cited by Claeys et al. 1995.

Greaser, M. L. and J. Gergely. Purification and Properties of the Components from Troponin. 1973. The American Society of Biological Chemists, Inc.

McKeith, F.K., J.W. Savell, G.C. Smith, T.R. Dutson, and Maurice Shelton. 1979. Palatability of goat meat from carcasses electrically stimulated at four different stages during the slaughter-dressing sequence. J. Anim. Sci. 49:972-978.

Muroya, S., P. Ertbjerg, L. Pomponio and M. Chrisyensen. 2010. Desmin and troponin T are degraded faster in type iib muscle fibers than in type I fiber during postmortem aging of porcine muscle. Meat Science 86:764-769.

Naqvi, S.M.K.H. 1999. Analytical study of Pakistani Native Red Meat. [Online available]:http://www.prr.hee.gov. 15/05/2011.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nagaraj, N.S., Anilakumar, K.R. and Santhanam, K. 2005. Postmortem changes in myofibrillar protein of goat skeletal muscles. J. Food Biochemistry. 29, 152-170.

Negishi, H., E. Yamamoto, and T. Kuwata. 1996. The origin of the 30 kDa component appearing during post-mortem aging of bovine muscle. Meat Sci. 42:289-303.

Olson, D.G., Parrish, F.C.J.R. and Stromer, M.H. 1976. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscle during *post-mortem* storage. J. Food Sci. 41, 1036-1041.

Ouali, A. 1990. Meat tenderization: Possible causes and mechanisms. A review, J. Muscle Foods 1, 129-165.

Palka, K. 2000. Changes in the microstructure and texture of bovine muscles during post-mortem ageing and heating. Zesz. Nauk. AR w Krakowie, rozprawy 270, 69-74. Cited by Nagaraj..

Parrish, F.C.J.R., Young, R.B., Miner, B.E. and Andersen, L.D. 1973. Effect of post-mortem conditioning on certain chemical, morphological and organoleptic properties of bovine muscle. J. Food Sci. 38, 690-695.

Parrish, F.C., Selvig, C.J., Culler, R.D. and Zeece, M.G. 1981. CaF activity, calcium concentration and the 30,000 D component of tough and tender bovine longissimus muscle. J. Food Sci. 46, 308-309.

Paterson, B.C. and Parrish, F.C. 1987. SDS-PAGE Conditions for Detection of Titin and Nebulin in Tender and Tough Bovine Muscles. J. Food Sci. 52(2) 509.

Penny, I.F. 1976. The effect of conditioning on the myofibrillar proteins on pork muscle. J. Sci. Food Agric. 27, 1147-1155.

Schönfeldt, H.C., R.T. Naude, W. Bok, S.M. van Heerden, R. Smit, and E. Boshoff. 1993. Flavor- and tenderness-related quality characteristics of goat and sheep meat. Meat Sci. 34:363-379.

Sellers, J.R. and Goodson, H.V. 1995. Motor proteins 2: myosin. Protein Profile, 2, 1323-1423. [Online Available]: uic http://www.uic.edu. 9/05/2011.

Shibata, M., Matsumoto, K., Oe, M., Ohnishi-Kameyama, M., Ojima, K., Nakajima, I., Muroya, S. and ChikuniS, K. 2009. "Differential expression of the skeletal muscle proteome in grazed cattle." J. Anim. Sci. 87:2700-2708.

Shin, H.G., Y.M. Choi, H.K. Kim, Y.C. Ryu, S.H. Lee and B.C. Kim. 2008. Tenderization and fragmentation of myofibrillar proteins in bovine longissimus dorsi muscle using proteolytic extract from Sarcodon aspratus. LWT – Food Science and Technology, 41:1389-1393.

Simela, L. 2005. Meat characteristics and acceptability of chevon from South African indigenous goats. Dissertation. Faculty of Natural & Agricultural Sciences. University of Pretoria. Pretoria.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Stromer, M.H., Goll, D.E., Reville, W.J., Olson, D.G., Dayton, W.R. and Robson, R.M. 1974. Structural changes in muscle during post-mortem storage. In Proceedings of the 4th International Congress on Food Science and Technology, Vol1, pp 401-418, Institute de Agroquimica y Techologica de Alimentos, Jaime Roig, II, Valencia, Spain.

Swanks, R.T. and Munkres, K.D. 1971. Molecular weight analysis of oligopeptides by electrophoresis in polyacrylamide gel with sodium dodecyl sulphate. Anal. Biochem. 39: 462-477.

Taylor, R.G., Geesink, G.H., Thompson, V.F., Koohmaraie, M. and Goll, D.E. 1995. Is Z-disc responsible for post-mortem tenderization?. J. Anim. Sci. 73, 1351-1367.

Warris, P.D. 2000.0 Meat Science: An Introductory Text. CAB International, Wallingford, UK.

Weber, K. and Osborn, M. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresisJ. Biol. Chem. 244, 4406-4412.

Wheeler, T.L. and Koohmaraie, M. 1994. Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine longissimus muscle. J. Amin. Sci. 72, 1232-1238.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

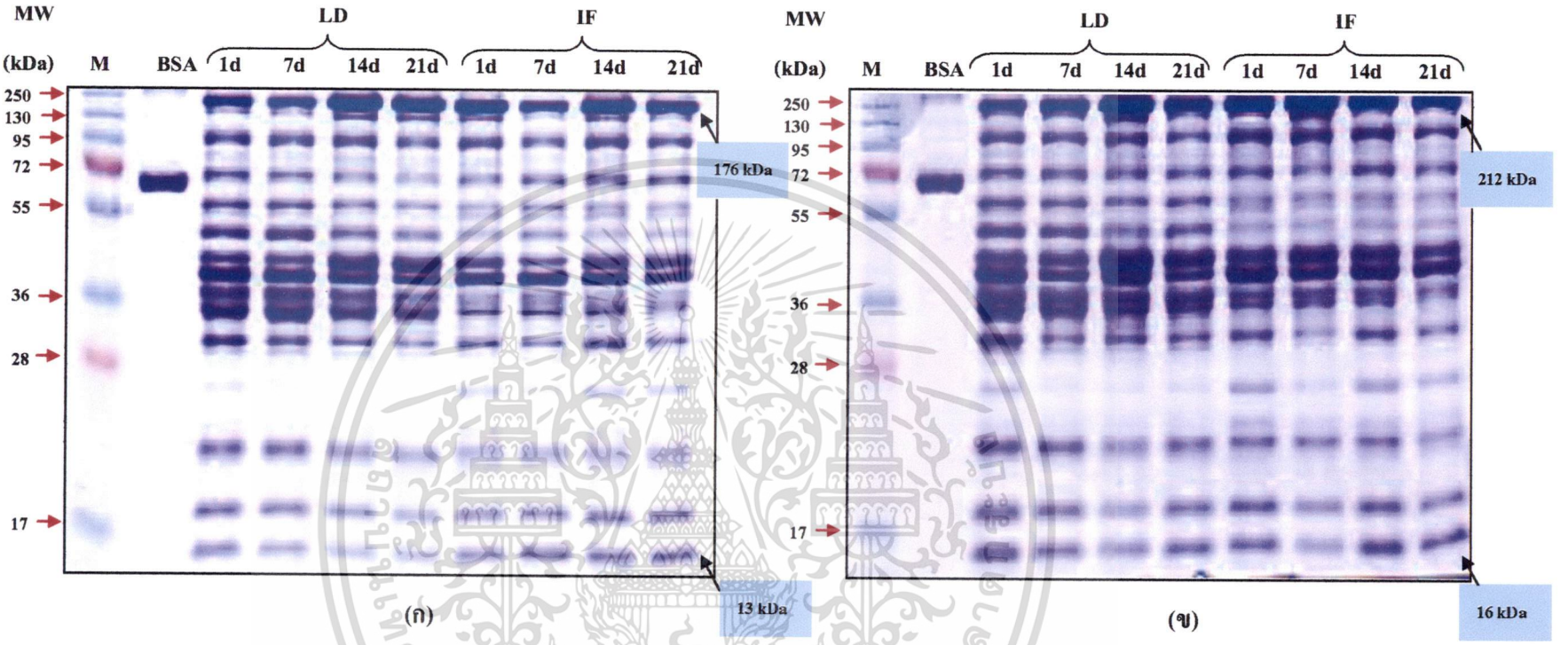
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ 1

รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อในกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของแพะที่ระยะเวลาการบ่ม 1 7 14 และ 21 วันหลังฆ่าวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGEของแพะกลุ่มตัวอย่างแต่ละตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



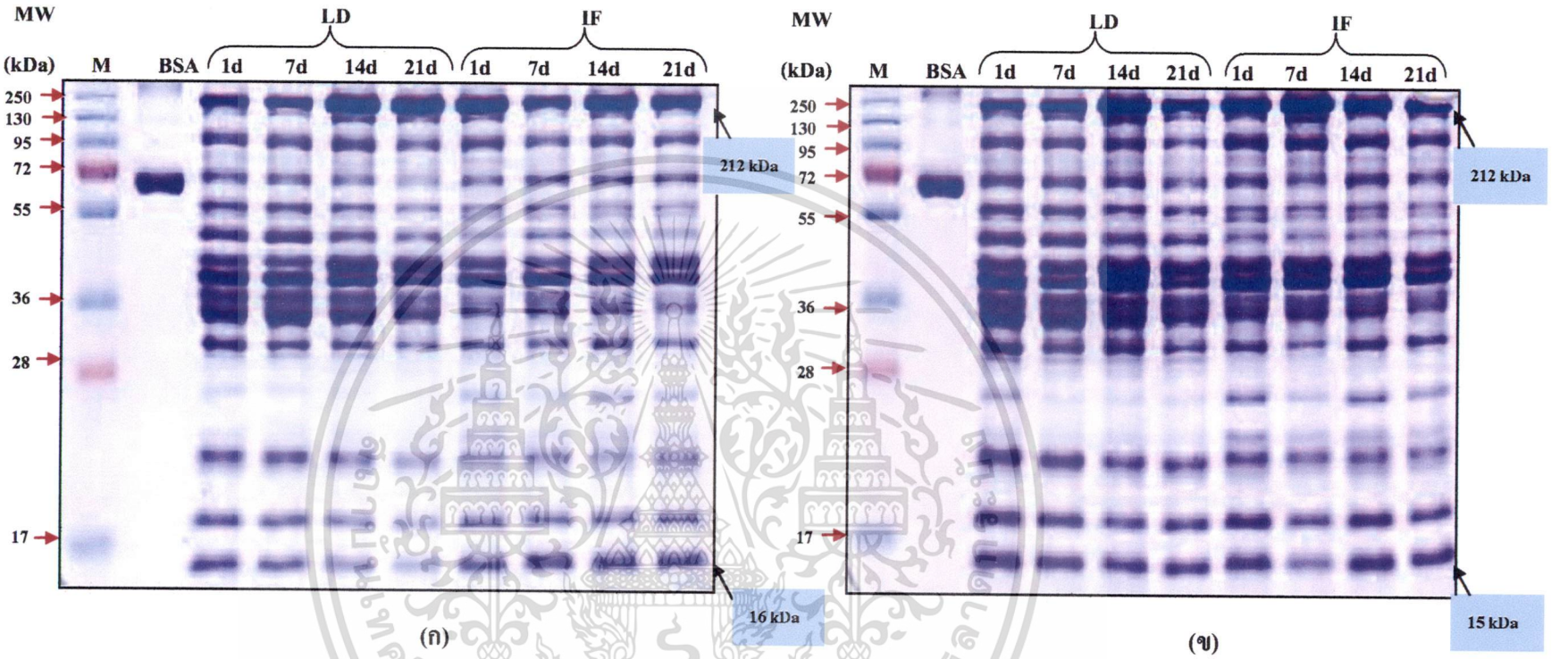
ภาพที่ 1.1 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ในกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของแพะตัวที่ 1 ที่ระยะเวลาการบ่ม 1 7 14 และ 21 วัน หลังฆ่า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

Lane M คือ โปรตีนมาตรฐาน PageRuler Plus Prestained Protein marker

Lane BSA คือ bovine serum albumin 2 µg

(ก) คือ การแยกโปรตีนครั้งที่ 1 : โปรตีนที่มีขนาดมากสุดเท่ากับ 176 kDa และโปรตีนที่มีขนาดน้อยสุดเท่ากับ 13 kDa

(ข) คือ การแยกโปรตีนครั้งที่ 2 : โปรตีนที่มีขนาดมากสุดเท่ากับ 212 kDa และโปรตีนที่มีขนาดน้อยสุดเท่ากับ 16 kDa



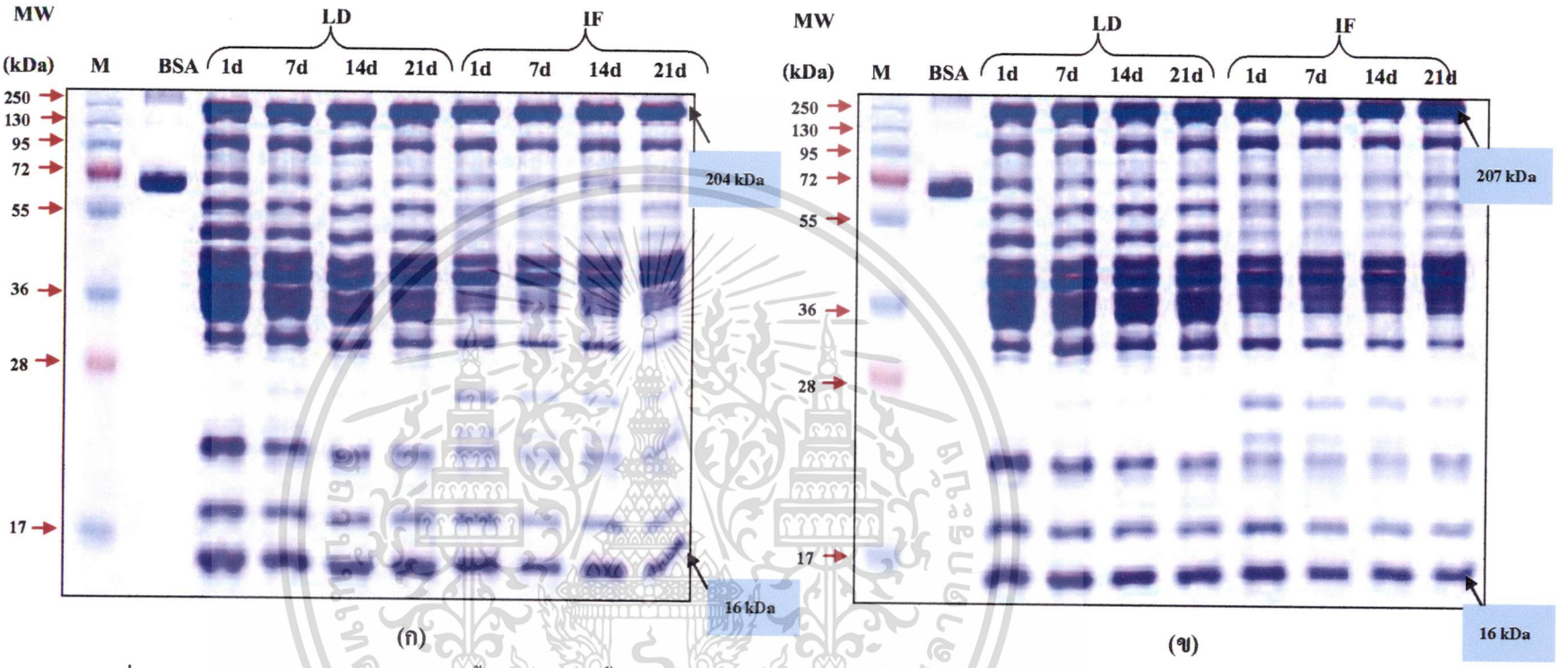
ภาพที่ 1.2 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ในกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของแพะตัวที่ 2 ที่ระยะเวลาการบ่ม 1 7 14 และ 21 วัน หลังฆ่า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

Lane M คือ โปรตีนมาตรฐาน PageRuler Plus Prestained Protein marker

Lane BSA คือ bovine serum albumin 2 µg

(ก) คือ การแยกโปรตีนครั้งที่ 1 : โปรตีนที่มีขนาดมากสุดเท่ากับ 212 kDa และโปรตีนที่มีขนาดน้อยสุดเท่ากับ 16 kDa

(ข) คือ การแยกโปรตีนครั้งที่ 2 : โปรตีนที่มีขนาดมากสุดเท่ากับ 212 kDa และโปรตีนที่มีขนาดน้อยสุดเท่ากับ 15 kDa



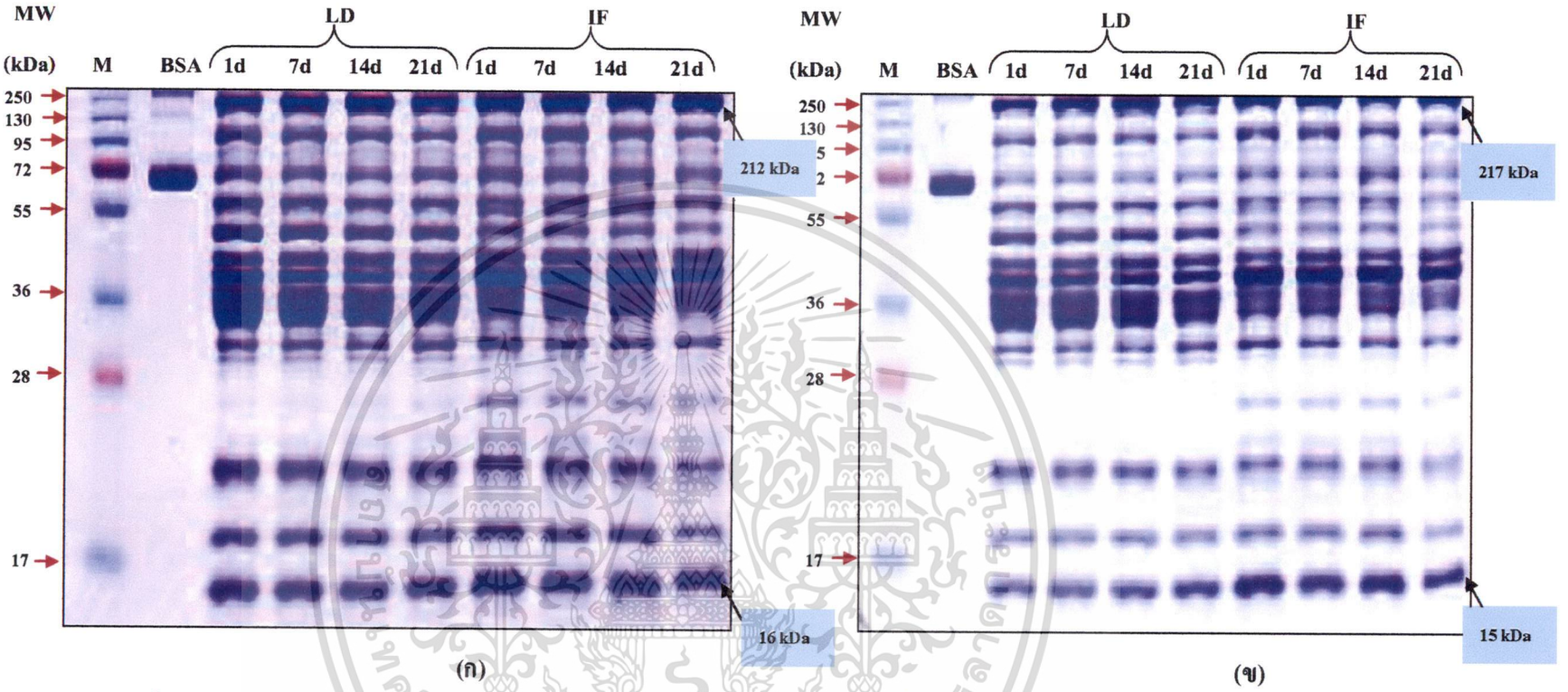
ภาพที่ 1.3 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ในกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของแพะตัวที่ 3 ที่ระยะเวลาการบ่ม 1 7 14 และ 21 วัน หลังฆ่า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

Lane M คือ โปรตีนมาตรฐาน PageRuler Plus Prestained Protein marker

Lane BSA คือ bovine serum albumin 2 µg

(ก) คือ การแยกโปรตีนครั้งที่ 1 : โปรตีนที่มีขนาดมากสุดเท่ากับ 204 kDa และโปรตีนที่มีขนาดน้อยสุดเท่ากับ 16 kDa

(ข) คือ การแยกโปรตีนครั้งที่ 2 : โปรตีนที่มีขนาดมากสุดเท่ากับ 207 kDa และโปรตีนที่มีขนาดน้อยสุดเท่ากับ 16 kDa



ภาพที่ 1.4 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ในกล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อไหล่ (IF) ของแพะตัวที่ 4 ที่ระยะเวลาการบ่ม 1 7 14 และ 21 วัน หลังฆ่า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

Lane M คือ โปรตีนมาตรฐาน PageRuler Plus Prestained Protein marker Lane BSA คือ bovine serum albumin 2 µg

(ก) คือ การแยกโปรตีนครั้งที่ 1 : โปรตีนที่มีขนาดมากสุดเท่ากับ 212 kDa และโปรตีนที่มีขนาดน้อยสุดเท่ากับ 16 kDa

(ข) คือ การแยกโปรตีนครั้งที่ 2 : โปรตีนที่มีขนาดมากสุดเท่ากับ 217 kDa และโปรตีนที่มีขนาดน้อยสุดเท่ากับ 15 kDa

ภาคผนวกที่ 2

ตัวอย่างเนื้อแพะที่นำมาวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้