

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อโค

Improvement of Beef Tenderness by Using Calcium Chloride

คณะผู้วิจัย

รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล

ผศ.ดร. ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ

สนับสนุนโดยเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2541

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

TX

556

B4

๗๖๓๑๘

เลขหมู่

เลขทะเบียน 589101

วันที่ 16 ก.พ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่เนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีกรนำไปใช้

๗๖๐๖๖๐๐  
b.....  
i.....

# การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อโค

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) เพื่อปรับปรุงคุณภาพความนุ่มของเนื้อโค โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0 200 250 และ 300 mM 5% (wt/wt) โดยการฉีดเข้าที่บริเวณกล้ามเนื้อโคทดลอง 5 ชนิด ได้แก่ กล้ามเนื้อสะโพกบริเวณพับใน top round (*M. semimembranosus*) กล้ามเนื้อสะโพกบริเวณพับนอก bottom round (*M. gluteobiceps*) กล้ามเนื้อหมอนของสะโพก eye round (*M. semitendinosus*) กล้ามเนื้อสันในเทียม false filet (*M. Supraspinatus*) และ กล้ามเนื้อสันนอก loin (*M. Longissimus dorsi*) ใช้ซากโคทดสอบจำนวน 4 ตัว โดยซากโคซีกซ้ายถูกกำหนดให้ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย ณ ชั่วโมงที่ 6 และซีกขวาถูกกำหนดให้ฉีด ณ ชั่วโมงที่ 12 จัดปัจจัยทดลองแบบ 2x4x5 แฟคทอเรียล (factorial) ในแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อก ทำการวัด pH ชั่วโมงที่ 6 และ 24 ภายหลังสัตว์ตาย ทำการชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาปริมาณของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการฉีดเข้ากล้ามเนื้อและทำการบันทึกน้ำหนักก่อนและหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 6-8 °C ซึ่งบรรจุในถุงสุญญากาศ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (drip loss) บันทึกน้ำหนักก่อนและหลังการอบที่อุณหภูมิ 150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงจนกระทั่งอุณหภูมิภายในเนื้อเท่ากับ 72 °C เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก (cooking loss) และวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear force)

ผลการทดลองพบว่า เนื้อที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย ณ ชั่วโมงที่ 6 มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าเนื้อที่ได้รับการฉีด ณ ชั่วโมงที่ 12 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 9.10 และ 9.69 กก. ตามลำดับ และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 300 และ 250 mM มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 200 mM อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 8.84 9.04 9.70 และ 10.00 กก. ตามลำดับ

กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่ากล้ามเนื้อ Supraspinatus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 10.51 และ 8.59 กก. ตามลำดับ ในขณะที่กล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps กล้ามเนื้อ Semitendinosus พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 9.08 8.82 และ 9.97 กก. ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบเฉพาะอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และชนิดกล้ามเนื้อต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ คือในกล้ามเนื้อ Semimembranosus และกล้ามเนื้อ Supraspinatus นั้นการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในช่วงเวลาที่ 12 ทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่าในช่วงเวลาที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งให้ผลในการทำงานเดียวกันในกล้ามเนื้อ Semitendinosus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Gluteobiceps ที่ได้รับการฉีดในช่วงเวลาที่ 12 ต่ำกว่าในช่วงเวลาที่ 6 แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ

การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่ากลุ่มควบคุม (0 mM) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยที่ระดับความเข้มข้น 300 250 200 และ 0 mM มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเท่ากับ 3.84 3.75 3.96 และ 3.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ในกล้ามเนื้อ Semitendinosus มีค่าต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ซึ่งเท่ากับ 2.81 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติในกล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.47 3.41 และ 3.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกล้ามเนื้อ Supraspinatus มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) เท่ากับ 5.12 เปอร์เซ็นต์ ส่วนช่วงเวลาที่ 6 และ 12 ชั่วโมง ซึ่งไม่มีค่าเท่ากับ 3.81 และ 3.59 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์รวมทั้งชนิดของกล้ามเนื้อ ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

การทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ฉีดเข้ากล้ามเนื้อและบ่มเนื้อโคในระยะเวลาที่แตกต่างกัน โดยจัดปัจจัยทดลองแบบ 2x3 แฟกทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อก โดยใช้โคทดลองจำนวน 6 ตัวกำหนดให้กล้ามเนื้อจากซากโคซีกซ้าย ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับ 250 mM 5 % (wt/wt) ณ ช่วงเวลาที่ 6 ภายหลังสัตว์ตาย โดยฉีดที่บริเวณกล้ามเนื้อทั้ง 5 ชนิดได้แก่ กล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps กล้ามเนื้อ Semitendinosus กล้ามเนื้อ Supraspinatus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ส่วนกล้ามเนื้อจากโคซีกขวาไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จากนั้นนำกล้ามเนื้อทั้ง 2 ซีกไปบ่มที่อุณหภูมิ 6-8 °C เป็นระยะเวลาที่ 3 และ 5 วัน และศึกษาโครงสร้างทางระดับเซลล์ของกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และทำการบ่มที่ 1 3 และ 5 วัน โดยรักษาสภาพเนื้อเยื่อด้วย Glutaraldehyde และ Osmium Tetroxide in Buffer Sorensen 's Phosphate pH 7.3-7.5 แล้วตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่เพื่อเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองพบว่าการบ่มเนื้อที่นานขึ้น ทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ในทุกกล้ามเนื้อ ยกเว้นกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ช่วยลดค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ในทุกกล้ามเนื้อ ยกเว้นกล้ามเนื้อ Semitendinosus นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมระหว่างการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์กับระยะเวลาการบ่มเนื้อต่อค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi คือกลุ่มที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ไม่ว่าจะบ่มเนื้อนานเท่าไร มีค่าแรงตัดผ่านที่ไม่ต่างกัน แต่กลุ่มที่ไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เมื่อบ่มนาน 5 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อใกล้เคียงกับกลุ่มที่ฉีด โดยมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดเมื่อบ่มนาน 1 และ 3 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ส่วนเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษานั้นมีค่าสูงชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) เมื่อบ่มนานขึ้นในกล้ามเนื้อทุกชนิดและการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา สูงชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) เฉพาะในกล้ามเนื้อ Semitendinosus นอกจากนี้ยังพบอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาในกล้ามเนื้อ Semimembranosus และกล้ามเนื้อ Supraspinatus โดยการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ทำให้ให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงขึ้นในการบ่มวันแรก แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติในการบ่มเนื้อ 3 และ 5 วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ฉีด ส่วนกล้ามเนื้อ Semitendinosus นั้นการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่ากลุ่มไม่ฉีดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในการบ่มวันที่ 1 และ 3 แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในการบ่มวันที่ 5

ส่วนอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก พบว่าไม่มีอิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ ยกเว้นกล้ามเนื้อ Semitendinosus ซึ่งการบ่มเนื้อนาน 3 และ 5 วัน ช่วยลดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) เมื่อเทียบกับการบ่มเนื้อนาน 1 วัน จากการศึกษาโครงสร้างภายในกล้ามเนื้อทางจุลกายวิภาคพบว่า I-band และ H-zone ของกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เมื่อบ่มนาน 1 และ 5 วัน เกิดการเลือนหายไป ซึ่งคล้ายกับโครงสร้างภายในกล้ามเนื้อของกลุ่มที่ไม่ฉีดและบ่มนาน 5 วัน

## Improvement of Beef Tenderness by Using Calcium Chloride

### ABSTRACT

This study was aimed to investigate utilization of calcium chloride ( $\text{CaCl}_2$ ) for improving beef tenderness and was divided into two experiments. The first experiment was conducted to determine the effects of 6 or 12 h postmortem injection of 0 200 250 or 300 mM  $\text{CaCl}_2$  at 5 % (wt/wt) into five types of muscles including *M. Semimembranosus* *M. Gluteobiceps* *M. Semitendinosus* *M. Supraspinatus* and *M. Longissimus dorsi*. Four *Bos indicus* crossbred steers were slaughtered and fabricated, then muscles were removed and assigned in 2x4x5 factorial arrangement in randomized complete block design (RCBD). After vacuum packaged and stored at 6-8 °C, pH values at 6 and 24 h postmortem were measured. After 24 h of storage, each muscle was weighted and calculated for %drip loss, then cooked at 150 °C for 2 h to an internal temperature of 72 °C and calculated for % cooking loss. Warner-Bratzler shear force was determined.

The results showed that shear force was reduced in  $\text{CaCl}_2$ -injected muscle at 6 h postmortem (9.10 kg) compared with those at 12 h postmortem (9.69 kg) ( $P < 0.01$ ). Muscle injected with 250 and 300 mM  $\text{CaCl}_2$  had lower shear force values than those injected with 0 and 200 mM  $\text{CaCl}_2$  ( $P < 0.01$ ). The *M. Longissimus dorsi* had significant higher shear force than *M. Supraspinatus* (10.51 and 8.59 kg respectively). There was no significant difference in shear force values among *M. Semimembranosus* *M. Gluteobiceps* and *M. Semitendinosus* (9.08 8.82 and 9.97 kg respectively). There was found a significant interaction between injection time and type of muscle on shear force. With *M. Semimembranosus* and *M. Supraspinatus*  $\text{CaCl}_2$  injection at 6 h lowered shear force significantly compared with 12 h injection ( $P < 0.05$ ) which was similar to *M. Semitendinosus* and *M. Longissimus dorsi* but there was not significantly different. In contrast shear force in *M. Gluteobiceps* injected at 12 h was lower than injected at 6 h but there was not significantly different.

Injection of  $\text{CaCl}_2$  increased %drip loss compared with control group ( $P < 0.05$ ). The percentage of drip loss was not affected by injection time ( $P > 0.05$ ). However %drip loss from the *M. Semitendinosus* was the lowest (2.81 %) while there was no significant difference in %drip loss from *M. Semimembranosus* *M. Gluteobiceps* and *M. Longissimus dorsi* (3.47 3.41 and 3.70% , respectively). The *M. Supraspinatus* had the highest %drip loss (5.12%). The

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

percentage of cooking loss were not affected by concentration and time of  $\text{CaCl}_2$  injection as well as type of muscle.

The second experiment was conducted to investigate the effects of no injection or 6 h postmortem injection of 250 mM  $\text{CaCl}_2$  at 5% (wt/wt) for 1 3 or 5 d of storage in five types of muscle. Six *Bos indicus* crossed steers were slaughtered and fabricated, then muscles were removed and assigned in 2x3 factorial arrangement in RCBD. The muscles from right sides were not injected while those from left sides were  $\text{CaCl}_2$ -injected. Each muscle was vacuum packaged and stored at 6-8 °C for 1 3 or 5 d. The pH value, %drip loss, %cooking loss and shear force value were determined as described in the first experiment. In histological study, tissues from the injected *M. Longissimus dorsi* stored for 1 3 and 5 and those from control muscles stored for 1 and 5 d were treated with Glutaraldehyde and Osmium Tetroxide in Buffer Sorensen's Phosphate pH 7.3-7.5 and examined by a transmission electron microscope.

It was found that shear force values decreased with storage incrementally ( $P < 0.01$ ) in most of muscles except *M. Longissimus dorsi*. Injection of  $\text{CaCl}_2$  reduced shear force ( $P < 0.01$ ) in most of muscles except *M. Semitendinosus*. In addition, interactions between  $\text{CaCl}_2$  injection and postmortem storage were observed on shear force in *M. Semimembranosus*, *M. Gluteobiceps* and *M. Longissimus dorsi*. There was no significant difference in shear force in  $\text{CaCl}_2$  injected muscles, even length of storage increased. However, shear force in control muscles stored for 5 d were higher than those stored for 1 and 3 d ( $P < 0.05$ ) but were not different from  $\text{CaCl}_2$ -injected muscles. The percentage of drip loss increased as storage time increased ( $P < 0.01$ ) in all muscles. Injection of  $\text{CaCl}_2$  increased % drip loss only in *M. Semitendinosus* ( $P < 0.01$ ). Moreover, there were interactions of those two factors on % drip loss in *M. Semitendinosus* and *M. Supraspinatus*. For 1 d of storage,  $\text{CaCl}_2$ -injected muscles had higher % drip loss than control ( $P < 0.05$ ) but, when they were stored for 3 and 5 d there was no significant difference. In *M. Semitendinosus* stored for 1 and 3 d,  $\text{CaCl}_2$ -injected increased % drip loss ( $P < 0.05$ ). However, % drip loss was not affected by  $\text{CaCl}_2$  injection when muscle was stored for 5 d.

There was no effect of  $\text{CaCl}_2$  injection and postmortem storage on % cooking loss in most of muscles except *M. Semitendinosus*. The percentage of % cooking loss decreased when *M. Semitendinosus* were stored for 3 and 5 d compared with those stored for 1 d. Interactions were not observed on % cooking loss. From ultrastructure of muscle in histology, the results showed that I-band and H-zone in  $\text{CaCl}_2$ -injected muscles were unclear when they stored for 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	IV
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	XI
สารบัญภาพ.....	XIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ในการศึกษา.....	2
1.3. วิธีดำเนินการวิจัย.....	2
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	8
2.1. กลไกการทำงานของกล้ามเนื้อและสรีรวิทยาของกล้ามเนื้อ.....	8
2.1.1. ลักษณะโครงสร้างของกล้ามเนื้อ.....	8
2.1.2. คุณสมบัติทางชีวเคมีของการหดตัวของกล้ามเนื้อ.....	10
2.1.2.1. ไมโอซิน.....	10
2.1.2.2. แอคติน.....	11
2.1.2.3. โทรโปไมโอซินและโทรโปนิน.....	11
2.1.2.4. ไททินหรือคอนเนคติน.....	12
2.1.2.5. เนบูลิน.....	12
2.1.2.6. เดสมิน.....	13
2.1.3. กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อ.....	13
2.1.3.1. แหล่งพลังงานสำหรับหดตัว.....	13
2.1.3.2. การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย.....	14
2.1.3.3. ปฏิกริยาและเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นภายหลังสัตว์ตาย.....	14
2.1.4. การเกิดภาวะการเกร็งตัว.....	17
2.1.5. การเปลี่ยนแปลงหลังเกิดภาวะการเกร็งตัว.....	17
2.2. ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์.....	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.1. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องก่อนสัตว์ตาย.....	18
2.2.1.1 ชนิดของสัตว์.....	18
2.2.1.2 พันธุ์ของสัตว์.....	18
2.2.1.3 สารเร่งเนื้อแดง.....	19
2.2.1.4 อายุ.....	19
2.2.1.5 เพศ.....	19
2.2.1.6 ชนิดของกล้ามเนื้อ.....	20
2.2.1.7 ปริมาณไขมันที่แทรกอยู่ภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	23
2.2.1.8 ความเครียดของสัตว์ก่อนถูกฆ่า.....	23
2.2.2. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องภายหลังสัตว์ตาย.....	24
2.2.2.1 ความเป็นกรด-ด่าง.....	24
2.2.2.2 อุณหภูมิในการเก็บรักษาเนื้อ.....	29
2.2.2.3 การทำให้เนื้อสุก.....	30
2.2.2.4 เอนไซม์.....	32
2.3. กรรมวิธีในการตรวจสอบความนุ่มของเนื้อ.....	34
2.4. การปรับความนุ่มของเนื้อสัตว์.....	36
2.4.1. การใช้ไฟฟ้ากระตุ้น.....	36
2.4.2. การใช้เอนไซม์จากธรรมชาติในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค.....	37
2.4.3. การบ่มซาก.....	37
2.4.4. การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับปรุงความนุ่ม ของเนื้อโค.....	39
บทที่ 3 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	45
3.1. การทดลองที่ 1.....	45
3.1.1 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์.....	45
3.1.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์.....	46
3.1.3 อิทธิพลของชนิดของกล้ามเนื้อโคซึ่งได้รับการฉีด สารละลายแคลเซียมคลอไรด์.....	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.4	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	48
3.1.5	อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านในแต่ละชนิดของกล้ามเนื้อ.....	49
3.1.6.	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่าน.....	50
3.1.7.	อิทธิพลร่วมของความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	50
3.1.8	อิทธิพลร่วมของระยะเวลาที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	51
3.1.9	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลา ในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา .....	52
3.1.10	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	53
3.1.11	อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	53
3.1.12	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลา ในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก.....	54
3.2	การทดลองที่ 2.....	55
3.2.1	อิทธิพลที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	55
3.2.1.1	กล้ามเนื้อ Semimembranosus.....	55
3.2.1.2	กล้ามเนื้อ Gluteobiceps.....	56

# สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.1.3 กล้ามเนื้อ Semitendinosus.....	57
3.2.1.4 กล้ามเนื้อ Supraspinatus.....	58
3.2.1.5 กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi.....	59
3.2.2 อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา.....	59
3.2.2.1 กล้ามเนื้อ Semimembranosus.....	59
3.2.2.2 กล้ามเนื้อ Gluteobiceps.....	60
3.2.2.3 กล้ามเนื้อ Semitendinosus.....	61
3.2.2.4 กล้ามเนื้อ Supraspinatus.....	62
3.2.2.5 กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi.....	63
3.2.3 อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก.....	64
3.2.4 อิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อโครงสร้างกล้ามเนื้อ ทางจุลกายวิภาค.....	66
บทที่ 4 วิจารณ์ผลการทดลอง.....	70
4.1 การทดลองที่ 1.....	70
4.1.1 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์.....	70
4.1.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์.....	71
4.1.3 อิทธิพลของชนิดของกล้ามเนื้อ.....	72
4.1.4 อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และชนิดของกล้ามเนื้อ.....	72
4.2 การทดลองที่ 2.....	73
4.2.1 อิทธิพลร่วมของการฉีดหรือไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ.....	73
4.2.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มเนื้อ.....	74
4.2.3 อิทธิพลร่วมของการฉีดหรือไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และเวลาในการบ่มเนื้อ.....	74
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1 สรุป.....	76
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	77
บรรณานุกรม.....	78



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	จำแนกประเภทของกล้ามเนื้อตามกลไกการทำงาน.....9
2.2	จำแนกความนุ่มของกล้ามเนื้อชนิดต่างๆ.....21
2.3	ค่าแรงตัดผ่านตามชนิดของกล้ามเนื้อ.....21
2.4	การวัดลำดับของกล้ามเนื้อชนิดต่างๆของโค โดยทำการตรวจหิม.....22
2.5	การทดสอบความนุ่มของกล้ามเนื้อ longissimus thoracis ด้วยวิธีต่างๆ..... 25
2.6	แสดงค่าการออกฤทธิ์ของ calpain , calpastatin , cathepsin B+L.....28
2.7	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิในการเก็บรักษาและเวลาที่เก็บรักษา ภายหลังสัตว์ตาย.....30
2.8	ชนิดของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อการย่อยโปรตีนชนิดต่างๆ.....32
2.9	อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อและ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก.....42
3.1	อิทธิพลของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่า แรงตัดผ่าน , เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก.....46
3.2	อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของอิทธิพลของระยะเวลาในการ ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าแรงตัดผ่าน เปอร์เซ็นต์การ สูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก.....47
3.3	อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้าไปในกล้ามเนื้อ แต่ละชนิดที่มีผลต่ออิทธิพลของระยะเวลาในการฉีดสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าแรงตัดผ่าน , เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษาและเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักใน ระหว่างการทำให้สุก.....48
3.4	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....49
3.5	อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มี ผลต่อค่าแรงตัดผ่าน.....49
3.6	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่าน.....50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
3.7	อิทธิพลร่วมของความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....51
3.8	อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....52
3.9	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา.....52
3.10	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการปรุงอาหารของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....53
3.11	อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....54
3.12	อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก.....54
3.13	อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อ Semimembranosus.....56
3.14	อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อ Gluteobiceps.....57
3.15	อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อ Semitendinosus.....58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
3.16 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลา ในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อ Supraspinatus.....	58
3.17 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลา ในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi.....	59
3.18 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลา ในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่าง การเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Semimembranosus.....	60
3.19 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลา ในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่าง การเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Gluteobiceps.....	61
3.20 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลา ในการบ่มเนื้อโคต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่าง การเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Semitendinosus.....	62
3.21 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลา ในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่าง การเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Supraspinatus.....	63
3.22 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลา ในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บ รักษาของกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi.....	64
3.23 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลา ในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่าง การทำให้สุกของกล้ามเนื้อทั้ง 5 ชนิด.....	65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงความสัมพันธ์ของค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่อ % cooking loss และ ความนุ่ม โดยการชิม .....	26
2.2 แสดงความสัมพันธ์ของความยาวซาร์โคเมอร์กับค่า Ultimate pH.....	27
2.3 แสดงผลของ pH ต่อการทำงานของ $\mu$ -calpain.....	29
3.1 electron micrograph กล้ามเนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และบ่มที่ 1 วัน .....	67
3.2 electron micrograph กล้ามเนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และบ่มที่ 5 วัน.....	67
3.3 electron micrograph กล้ามเนื้อที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และบ่มที่ 1 วัน.....	68
3.4 electron micrograph กล้ามเนื้อที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และบ่มที่ 3 วัน.....	68
3.5 electron micrograph กล้ามเนื้อที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และบ่มที่ 5 วัน.....	69

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โดยทั่วไปเนื้อโคจะถูกกำหนดมาตรฐานทางคุณภาพในหลายๆด้าน นอกเหนือจากความสะดวกและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ยังพบว่าปัจจัยทางด้านความนุ่มจะเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ผู้บริโภคให้ความสำคัญ ทางหน่วยงานต่างๆทั้งส่วนราชการและเอกชนได้มีความพยายามในการยกระดับมาตรฐานความนุ่มของเนื้อโคเพื่อให้เกิดการยอมรับของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งต้องอาศัยความรู้ทางวิชาการและระยะเวลาในการปรับปรุงทางด้านสายพันธุ์ การจัดการด้านอาหารสัตว์ การจัดการด้านโรงฆ่าสัตว์และกรรมวิธีในการชำแหละหรือตัดแต่งซาก ตลอดจนกรรมวิธีในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

การปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโคด้วยการลดอุณหภูมิซากโค โดยทำการเก็บในห้องเย็นเป็นวิธีที่ปฏิบัติกันมานาน และต่อมาได้ทำการปรับปรุงเพิ่มเติมโดยใช้กระแสไฟฟ้าในการกระตุ้นซากเพื่อเร่งการใช้พลังงานในกล้ามเนื้อ ซึ่งไม่สอดคล้องต่อสภาวะการณ์ในปัจจุบันซึ่งได้มีการรณรงค์ให้มีการประหยัดพลังงานกันอย่างแพร่หลาย รวมทั้งอาจเกิดความเสียหายต่อเนื้อโคได้ หากลดอุณหภูมิไม่ได้ในระดับที่ต้องการจะทำให้เนื้อโคเน่าเสียและเกิดความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้

ดังนั้น การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์จึงเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งในการปรับความนุ่มของเนื้อโครวมทั้งขจัดปัญหาอันเนื่องมาจากการสูญเสียพลังงานไฟฟ้าในการลดอุณหภูมิซากโค และการประหยัดพื้นที่ในการบ่มซากในห้องเย็น เพราะกรรมวิธีนี้ไม่จำเป็นต้องบ่มซากโคในอุณหภูมิต่ำและระยะเวลานาน อีกทั้งสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยมีการยอมรับจากนานาประเทศเช่น ในประเทศสหรัฐอเมริกาโดยองค์การอาหารและยา (FDA.) มีการอนุญาตให้ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อโค โดยให้ใช้ในระดับความเข้มข้น 800 mM ที่ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อโค ดังนั้นการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์จึงเป็นทางเลือกทางหนึ่งในการเพิ่มความนุ่มของเนื้อโคได้โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณสมบัติในการให้สารอาหาร โปรตีนแก่ร่างกายผู้บริโภค อีกทั้งยังมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคอีกด้วย

จากคุณสมบัติเฉพาะตัวของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่กล่าวมาข้างต้น จึงได้กำหนดโครงการวิจัยขึ้น โดยทำการศึกษาถึงการใช้สารละลายดังกล่าวในกล้ามเนื้อที่สำคัญ 5 ชนิดคือกล้ามเนื้อสะโพกพับใน (M. Semimembranosus) กล้ามเนื้อสะโพกบริเวณพบนอก (M. Gluteobiceps) กล้ามเนื้อสะโพกบริเวณพบนอก ( M. Semitendinosus ) กล้ามเนื้อสันในเทียม ( M. Supraspinatus )

และกล้ามเนื้อสันนอก ( M. longissimus dorsi ) ซึ่งกล้ามเนื้อดังกล่าวจัดได้ว่าเป็นกล้ามเนื้อที่มีราคาไม่แพงเกินไป อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูงและนิยมนบริโภคในรูปแบบของการทำเสต็ก ดังนั้นความนุ่มของกล้ามเนื้อดังกล่าวจึงเป็นคุณลักษณะสำคัญที่จะต้องปรับปรุง นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาระยะเวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนึ่งสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยทำการปฏิบัติให้สอดคล้องต่อสภาพความจริงที่เป็นไปได้

## 1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ในการศึกษา

1.2.1 ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการปรับปรุงคุณภาพความนุ่มของเนื้อโค

1.2.2 ศึกษาถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการนึ่งสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในอัตราส่วนที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการปรับปรุงคุณภาพความนุ่มเนื้อโค

1.2.3 ศึกษาเปรียบเทียบการใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ร่วมกับระยะเวลาในการบ่มเนื้อโค

1.2.4 ศึกษาชนิดของกล้ามเนื้อต่างๆต่อการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับปรุงคุณภาพความนุ่มเนื้อโค

## 1.3 วิธีดำเนินการวิจัย

### 1.3.1 การศึกษาทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโคเพื่อหาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการทดลองที่ 2

การทดลองที่ 2 ศึกษาเปรียบเทียบการใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ร่วมกับระยะเวลาในการบ่มเนื้อโคในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

### 1.3.2 อุปกรณ์

1. ซากโคทดลอง ลูกผสมระหว่างพันธุ์เรดซินดีและพันธุ์พื้นเมืองเพศผู้ตอน จำนวน 10 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักขณะมีชีวิตระหว่าง 300-350 กก. โดยทำการฆ่าและชำแหละที่โรงฆ่าสัตว์มาตรฐานภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

การทดลองที่ 1 ใช้โคทดลองจำนวน 4 ตัว

การทดลองที่ 2 ใช้โคทดลองจำนวน 6 ตัว

### 2. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>) food grade

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สารเคมีที่จำเป็นในขบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ ที่ใช้กับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope ; TEM)

### 3. เครื่องมือ ได้แก่

- เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ (Digital Balancing)
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือค่า pH (Knick Model 651-2)
- เครื่องมือวัดค่าแรงตัดผ่าน (The Instron Model 1011)
- เครื่องบรรจุถุงสุญญากาศ
- ชุดอุปกรณ์ตัดแต่งซากโค

#### 1.3.3 วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

##### 1. การวางแผนการทดลอง

จัดปัจจัยการทดลองแบบ 2x4x5 แฟกทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อก (2x4x5 factorial in RBD) ประกอบด้วย 3 ปัจจัย คือ

- ปัจจัย A คือ ระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มี 2 ระดับ ณ ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 12 หลังจากสัตว์ตาย
- ปัจจัย B คือ ระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มี 4 ระดับ คือ ไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์(0 mM) ฉีดที่ระดับความเข้มข้น 200 250 และ 300 mM
- ปัจจัย C คือ ชนิดของกล้ามเนื้อโค ซึ่งมี 5 ชนิด ดังต่อไปนี้
  - กล้ามเนื้อ Semimembranosus หรือกล้ามเนื้อสะโพกบริเวณพับใน
  - กล้ามเนื้อ Gluteobiceps หรือกล้ามเนื้อสะโพกบริเวณพับนอก
  - กล้ามเนื้อ Semitendinosus หรือกล้ามเนื้อสะโพกบริเวณพับนอก
  - กล้ามเนื้อ Supraspinatus หรือกล้ามเนื้อสันในเทียม
  - กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi หรือกล้ามเนื้อสันนอก
- บล็อก คือ จำนวนโคที่ทำการทดลองมีทั้งสิ้น 4 ตัว

##### 2. วิธีการทดลอง

เป็นการศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ ไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ฉีดที่ระดับความเข้มข้น 200 250 และ 300 mM และระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อโคทั้ง 5 ชนิด โดยมีรายละเอียดของขั้นตอนการดำเนินการดังต่อไปนี้

##### 2.1 หลังจากสัตว์ถูกฆ่า ทำการแบ่งซากออกเป็น 2 ซีกคือ ซีกซ้ายและซีกขวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ทำการตัดแต่งเนื้อแยกชิ้นส่วนต่างๆของกล้ามเนื้อเพื่อใช้ในการทดลองโดยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดจะทำการบันทึกน้ำหนักเริ่มต้นเป็นค่า  $w_1$  หลังจากนั้นทำการวัดค่า pH ในชั่วโมงที่ 6 และบันทึกเป็นค่า  $pH_6$

2.3 กำหนดให้ชิ้นส่วนโคซีกซ้ายได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 ที่ระดับความเข้มข้น 0 200 250 และ 300 mM ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนโคซีกขวาได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 12 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เช่นเดียวกันกับชิ้นส่วนโคซีกซ้าย หลังจากนั้นตัดแต่งกล้ามเนื้อส่วนต่างๆของชิ้นส่วนโคทั้ง 2 ซีก ตามที่กำหนดทั้ง 5 ชนิด ไปบรรจุในถุงสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 6-8 °C

2.4 เมื่อครบ 24 ชั่วโมงหลังจากสัตว์ตายจึงนำตัวอย่างเนื้อไปวัดค่า pH และบันทึกเป็น  $pH_{24}$  และทำการวัดน้ำหนักอีกครั้งแล้วบันทึกเป็น  $w_2$  เพื่อทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss) โดยทำการคำนวณตามวิธีดังนี้

$$\frac{(w_1 - w_2) \times 100}{w_1}$$

หลังจากนั้นนำตัวอย่างเนื้อไปอบที่อุณหภูมิ 150 °C โดยที่ก้อนเนื้อถูกห่อด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟลอยด์ เป็นเวลา 2-2.5 ชั่วโมง จนกระทั่งอุณหภูมิแกนกลางของเนื้ออยู่ในระดับ 72°C นำไปชั่งน้ำหนักภายหลังการอบและทำการบันทึกเป็น  $w_3$  เพื่อทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก (% cooking loss) โดยทำการคำนวณตามวิธีดังนี้

$$\frac{(w_2 - w_3) \times 100}{w_2}$$

จากนั้นนำตัวอย่างกล้ามเนื้อแต่ละชนิดมาทำการตัดเป็นแท่งสี่เหลี่ยมผืนผ้ายาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร โดยให้มีพื้นที่หน้าตัดของขนาดชิ้นเนื้อประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร ทำการตัดผ่านเนื้อขนาดดังกล่าวให้อยู่ในแนวตัดขวางเส้นใยกล้ามเนื้อ และทำการบันทึกค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear force)

### 3. การบันทึกผล

3.1 บันทึกค่า pH ในชิ้นส่วนต่างๆ ของโคที่ต้องการทดสอบทั้ง 2 ซีก ในชั่วโมงที่ 6 และ 24 ตามลำดับ

3.2 บันทึกน้ำหนักชิ้นส่วนต่างๆของโคที่ต้องการทดสอบโดยมีการชั่งน้ำหนัก 3 ครั้ง ดังต่อไปนี้

- ชั่งน้ำหนักก่อนเริ่มต้นทดลองเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาตรที่ต้องฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ( $w_1$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ชั่งน้ำหนักหลังจากเก็บรักษาจนครบ 24 ชั่วโมงเพื่อนำไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ( $w_2$ )
- ชั่งน้ำหนักหลังจากออกจากตู้เย็นเพื่อนำไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการปรุงอาหาร ( $w_3$ )

3.3 บันทึกค่าแรงตัดผ่านของชิ้นส่วนต่างๆของเนื้อโคที่ต้องการทดสอบหลังจากผ่านขบวนการทำให้เนื้อสุก

การทดลองที่ 2 ศึกษาเปรียบเทียบการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ร่วมกับระยะเวลาในการบ่มในกล้ามเนื้อโคที่แตกต่างกัน

#### 1. การวางแผนการทดลอง

จัดปัจจัยการทดลองแบบ 2x3 แฟกทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อก (2x3 factorial in RBD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัยคือ

- ปัจจัย A คือ ระดับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์โดยกล้ามเนื้อโคซีกขวาซึ่งไม่ได้รับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ส่วนกล้ามเนื้อโคซีกซ้ายได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 250 mM ที่ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อ (5% wt/wt)
- ปัจจัย B คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษาชิ้นส่วนของเนื้อโค ณ ระยะเวลา 1 3 และ 5 วัน โดยบรรจุเนื้อไว้ในถุงสุญญากาศและเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 6-8°C

โดยทำการทดลองปัจจัยทั้งสองต่อชนิดกล้ามเนื้อโค ทั้ง 5 ชนิด ดังนี้

กล้ามเนื้อ Semimembranosus

กล้ามเนื้อ Gluteobiceps

กล้ามเนื้อ Semitendinosus

กล้ามเนื้อ Supraspinatus

กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi

- บล็อก คือ จำนวนโคที่ทำการทดลองที่มีทั้งสิ้น 6 ตัว

#### 2. วิธีการทดลอง

การศึกษาอิทธิพลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ร่วมกับการบ่มเนื้อโค โดยการเก็บรักษาชิ้นส่วนต่างๆของเนื้อโคไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 6-8 °C ในระยะเวลาต่างๆกัน มีรายละเอียดขั้นตอนการดำเนินการดังต่อไปนี้

2.1 หลังจากสัตว์ถูกฆ่าจะทำการแบ่งซากโคออกเป็น 2 ซีกคือ ซีกซ้ายและซีกขวา

2.2 ทำการตัดแต่งเนื้อแยกชิ้นส่วนต่างๆตามกล้ามเนื้อทั้ง 5 ชนิดที่ถูกกำหนดไว้ใน การทดลองจากซากโคทั้ง 2 ซีก

2.3 เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi เพื่อนำไปทดสอบทางจุลกายวิภาค (histology) ตามวิธีการของณรงค์ (2529) ดังแสดงไว้ในภาคผนวก เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระดับเส้นใยกล้ามเนื้อ

2.4 กำหนดให้ชิ้นส่วนทั้ง 5 ชนิดของเนื้อโคจากซากโคซีกซ้ายเป็นกลุ่มทดลองที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในชั่วโมงที่ 6 ที่ระดับ 250 mM ที่ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อโคทดลอง และทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6-8°C ไว้เป็นเวลา 1 3 และ 5 วัน ส่วนชิ้นส่วนของเนื้อโคจากซากโคซีกขวา ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกันกับซีกซ้ายไว้เป็นเวลา 1 3 และ 5 วัน เช่นเดียวกัน

2.5 เมื่อครบกำหนดเวลาเก็บรักษาในวันที่ 1 3 และ 5 ตามลำดับ แต่ละชิ้นส่วนเนื้อถูกนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและวัดค่า pH ที่วันนั้นๆ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.6 นำตัวอย่างเนื้อไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 2-2.5 ชั่วโมง จนกระทั่งอุณหภูมิภายในเนื้ออยู่ที่ระดับ 72°C นำมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกและนำไปทดสอบหาค่าแรงตัดผ่านเนื้อเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

### 3. การบั่นที่กผล

3.1 บั่นที่กค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อ ที่ต้องการทดสอบ ทั้ง 2 ซีก ในชั่วโมงที่ 6 และ 24

3.2 บั่นที่กน้ำหนักชิ้นส่วนต่างๆของเนื้อโคที่ต้องการทดสอบ โดยทำการชั่งน้ำหนัก 3 ครั้ง ดังต่อไปนี้

- ชั่งน้ำหนักก่อนเริ่มต้นทดลองเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณที่ต้องการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ( $w_1$ )

- ชั่งน้ำหนักหลังจากเก็บรักษาที่ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ( $w_2$ )

- ชั่งน้ำหนักหลังจากออกจากตู้อบ เพื่อนำไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการปรุงอาหาร ( $w_3$ )

3.3 บั่นที่กค่าแรงตัดผ่านของชิ้นส่วนต่างๆของเนื้อโคที่ต้องการทดสอบหลังจากผ่านขบวนการทำให้เนื้อสุก

3.4 แปรผลจากภาพถ่ายในส่วนของการทดสอบทางจุลกายวิภาค

#### 1.3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทุกการทดลองทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ศึกษาทั้งหมดโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีดเมนต์โดยวิธี

Duncan's New Multiple Range test การวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT (1993)

### 1.3.5 สถานที่ทำงานวิจัย

ห้องปฏิบัติการตัดแต่งเนื้อสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ห้องปฏิบัติการเนื้อสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

หน่วยชีวเคมี ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

### 1.3.6 ระยะเวลาในการทดลอง

ระยะเวลาในการทดลองนาน 6 เดือน เริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2539 และเสร็จสิ้นการทดลอง เดือนเมษายน พ.ศ.2540



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 กลไกการทำงานของกล้ามเนื้อและสรีรวิทยาของกล้ามเนื้อ

##### 2.1.1 ลักษณะโครงสร้างกล้ามเนื้อ

อมรา และคณะ (2532) กล่าวว่า กล้ามเนื้อมีหน้าที่ในการหดตัวและคลายตัว ทำให้เกิดการเคลื่อนไหวต่างๆของร่างกายโดยมีคุณสมบัติพื้นฐานทั่วไปของกล้ามเนื้อคือ ไวต่อการเร้า (irritability) เส้นใยกล้ามเนื้อจะประกอบด้วยนิวเคลียสหลายนิวเคลียส (multinucleus) ซึ่งเส้นใยกล้ามเนื้อเหล่านี้จะมีเส้นประสาทมาหล่อเลี้ยง (innervated) เราเรียกบริเวณนี้ว่า จุดศูนย์รวมของเส้นประสาท (neuromuscular junction)

มัดกล้ามเนื้อ (muscle tube) จะประกอบด้วยเส้นใยย่อย (myofibril) จัดเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของกล้ามเนื้อ ซึ่งสามารถหดตัวได้ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 - 3 ไมครอน ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ของกล้ามเนื้อลาย จะมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์อื่นๆ แต่จะมีจำนวนน้อยกว่า และมักจะอยู่บริเวณระหว่างมัดของเส้นใยย่อย อาจอยู่ในแนวขวางหรือแนวยาว ที่บริเวณแถบของกล้ามเนื้อที่โปร่งแสง (isotropic) หรือ (I-band) บางครั้งกล้ามเนื้อจะถูกจัดแบ่งตามชนิดของสีของกล้ามเนื้อได้แก่กล้ามเนื้อแดง (red muscle) และกล้ามเนื้อขาว (white muscle) สีแดงของกล้ามเนื้อเกิดเนื่องจากสีของไมโอโกลบิน (myoglobin) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีหน้าที่ในการจับออกซิเจน โดยพบว่ากล้ามเนื้อที่มีสีแดง เช่น กล้ามเนื้อน่อง (soleus muscle) จะมีการทำงาน (action) ที่ช้ากว่ากล้ามเนื้อที่มีสีขาว เช่น กล้ามเนื้ออก (pectoral muscle) และมีการล้า (fatigue) น้อยกว่าเช่นกัน จะสังเกตได้จากกล้ามเนื้อหน้าอกของไก่ จะมีสีจางกว่ากล้ามเนื้อส่วนอื่นๆ ซึ่งมีสีแดง และมีหน้าที่ในการปรับตัว เช่นการปรับตัวเพื่อต่อต้านแรงดึงดูดของโลก (postural contraction) เป็นต้น

เราสามารถจัดแบ่งเส้นใยกล้ามเนื้อ ออกเป็น 2 แบบ ตามประเภทของการหดตัวและความสามารถในการใช้ออกซิเจนได้ดังนี้

ตารางที่ 2.1 จำแนกประเภทของกล้ามเนื้อตามกลไกการทำงาน

ประเภท	Type I	Type II
การหดตัวของกล้ามเนื้อ	ช้า	เร็ว
ความสามารถในการใช้ออกซิเจน	เร็ว	ช้า

ที่มา : โสภ (2538)

เส้นใยกล้ามเนื้อ type I มักพบเป็นพวกกล้ามเนื้อสีแดง ส่วนเส้นใยกล้ามเนื้อ type II จะเป็นพวกกล้ามเนื้อขาว และ type II สามารถแบ่งออกเป็นอีก 2 ชนิดคือ type II A และ type II B โดย type II A จะอยู่ระหว่าง type II B กับ type I ทั้งนี้เส้นใยกล้ามเนื้อ type II A และ type II B จะเป็นพวกกึ่งประเภท type I และ type II โดยมีคุณสมบัติในการหดตัว พบการใช้ออกซิเจนอยู่ในระดับปานกลาง

เส้นใยกล้ามเนื้อเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับการลดลงของค่าความเป็น กรด-ด่าง โดยพบว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ type II B จะมีการลดลงของ pH มากกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ type I รวมทั้งพบว่า ในกล้ามเนื้อสันนอก จะมีสัดส่วนของ type II B มากกว่า type I

ภายในซาร์โคพลาสม (sarcoplasm) จะพบว่ามีเยื่อร่างแห (membranous network) ของท่อ (tubules) และแอ่งที่เก็บของเหลว (cisternae) ซึ่งมีผนังหุ้ม รวมเรียกว่าซาร์โคพลาสมิครีติคูลัม (sarcoplasmic reticulum or longitudinal tubular system) เสมือนท่อที่เชื่อมต่อๆกันเป็นร่างแห (endoplasmic reticulum) อยู่บริเวณตรงกลางเช่นเดียวกับเซลล์อื่นๆ บริเวณปลายสุดของแอ่งที่เก็บของเหลว (terminal cisternae) ของซาร์โคพลาสมิครีติคูลัมจะประกอบกันเป็นโครงสร้างสามเส้นขนานหรือเรียกว่า triad ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับการส่งผ่านสัญญาณประสาท (electrical impulse) จากภายนอกเซลล์เข้าสู่เซลล์ มีผลทำให้เกิดการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อ โครงสร้างนี้จะขนานกับระบบท่อลำเลียงตามขวาง (transverse tubular system) ซึ่งเป็นส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ (sarcolemma) ที่แทรกเข้ามาหุ้มเส้นใยกล้ามเนื้อ จนเกิดเป็นทางให้ของเหลวจากภายนอก (external medium) เข้ามาสัมผัสกับซาร์โคไมเออร์ของซาร์โคพลาสมิครีติคูลัมของเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งจะเป็นบริเวณที่เก็บแคลเซียม และจะพบโครงสร้างสามเส้นขนาน (triad) ที่บริเวณรอยต่อระหว่างแถบสว่างและแถบมืด อาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า A-I (Bendall *et al.* 1962)

เส้นใยกล้ามเนื้อจะประกอบขึ้นด้วยเส้นใยโปรตีน (myofilaments) 2 ชนิดคือ ไมโอซิน (myosin) และแอคติน (actin) โดยโปรตีนเหล่านี้สามารถทำให้กล้ามเนื้อยึดหรือหดตัวได้เพราะมีโปรตีนที่ช่วยในการหดตัว (contractile protein) อยู่ด้วย การเรียงตัวของเส้นใยโปรตีนเหล่านี้จะอยู่

ในแนวที่เรียงขนานกัน จากคุณสมบัติที่แตกต่างกันในการให้แสงผ่าน (higher and lower refractive index) ทำให้มองเห็นเป็นลักษณะลายซึ้น และจะเห็นว่าแถบที่หนาหรือทึบแสงเรียกว่า A-band (anisotropic band) ส่วนแถบที่มองเห็นบาง หรือโปร่งแสงกว่าเรียกว่า I-band (Isotropic band) ซึ่งแถบสว่างแต่ละอันจะถูกแบ่งตรงกลางด้วยเส้นที่เรียกว่า Z-line ซึ่งเป็นบริเวณที่แอกตินมาบรรจบกัน ระยะห่างระหว่างเส้นที่บสองอัน รวมเรียกว่าซาร์โคเมียร์ (sarcomere) จัดเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของกล้ามเนื้อ (หมายถึงจาก Z-line หนึ่งถึงอีก Z-line หนึ่งจะเรียกว่า ซาร์โคเมียร์) หรือกล่าวได้ว่าการเกิดลักษณะลายทึบหรือจางนี้ เนื่องมาจากการเรียงตัวของเส้นใยโปรตีนไมโอไฟลาเมนต์ 2 ชนิด คือ ไมโอซินและ แอกติน (Bendall *et al.* 1962)

ที่บริเวณแถบมืดจะประกอบด้วยบางส่วนของไมโอซินและบางส่วนของแอกติน ส่วนที่บริเวณแถบสว่างจะประกอบด้วยแอกตินเพียงอย่างเดียว เชื่อกันว่าเป็นโปรตีนที่ชื่อว่าโทรโปไมโอซิน (tropomyosin) จะอยู่ตรงกลางระหว่างไมโอซิน จึงเห็นลักษณะเป็นแนวเรียกว่า M-line จุดที่แอกตินมาต่อกันกับเขตที่อยู่ในแถบมืดจะมองเห็นเป็นสีที่ค่อนข้างจางเรียกว่า H-zone โดยจะเป็นที่สังเกตโดยการยัดเอา H-zone เป็นเครื่องบอกถึงการยืดและหดตัวของเส้นใยย่อยต่างๆ ได้ กล่าวคือ ถ้า H-zone ห่างออกไปแสดงว่ามีการยืดออก สรุปได้ว่า H-zone คือช่วงหรือระยะห่างของแอกติน (โสภา 2538)

### 2.1.2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของการหดตัวของกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อลายประกอบด้วยโปรตีนหลัก เช่น ไมโอซิน 54 % และ แอกติน 20-25 % และโปรตีนย่อยในส่วนที่เหลือเช่น ไททิน เนบูลินและเดสมินรวมกันอีกประมาณ 20-25 % ของมวลสารทั้งหมด

#### 2.1.2.1 ไมโอซิน

ไมโอซินหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เส้นใยกล้ามเนื้อฝอยแบบหนา (thick filament) มีลักษณะเป็นเส้นยาวประมาณ 1.5 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 12-15 นาโนเมตรโดยประมาณ มีหัวกลมที่หักยื่นออกมาทางด้านข้างพบอยู่ตรงกลางของซาร์โคเมียร์ โดยเป็นส่วนประกอบของแถบมืด และ H-zone คุณสมบัติทางเคมีของไมโอซินขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของประจุไฟฟ้าในสารละลาย โดยสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนอื่น ๆ เช่น ATP รวมทั้งสารละลายทางชีวเคมีที่มีประจุบวกเป็นสอง (divalent cation) โดยที่ไมโอซินนั้นจะทำหน้าที่คล้ายเป็นเอนไซม์ ATPase และไปรวมกับแอกตินให้กลายเป็นแอกโตไมโอซิน (actomyosin) เมื่อนำมาแยกออกจากกันจะประกอบด้วยส่วนที่เรียกว่าไลท์เมอร์ไมโอซิน (light meromyosin ; LMN) และเฮฟวีเมอร์ไมโอซิน (heavy meromyosin ; HMN) โดย LMN จะไม่มีคุณสมบัติในการรวมตัวกับโปรตีนอื่นๆ ในขณะที่ HMN มีการทำงานคล้ายเป็นเอนไซม์ ATPase และสามารถรวมกับแอกตินได้ กล่าวคือ HMN จะเป็นส่วนที่จับแอกติน ทำให้เกิดการเชื่อมกันระหว่างโปรตีนทั้งสองในขณะที่กล้ามเนื้อหดตัว (Bendall *et al.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโอซินจะมีการจัดเรียงตัวกันโดยเอาส่วนหางซึ่งเป็น LMN มาชนกันตรงกลางซึ่งเป็นตำแหน่งของ H-zone ของซาร์โคเมอร์ และให้ส่วนที่เป็น HMN จะโผล่ออกมาเป็นตะขอเกี่ยว

### 2.1.2.2 แอคติน

แอคตินหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เส้นใยกล้ามเนื้อฝอยแบบบาง (thin filament) มีความยาวประมาณ 1.0 ไมครอน และเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 นาโนเมตรโดยประมาณ ลักษณะเป็นเส้นยาวบางครั้งเรียก F-actin ที่แท้จริงโปรตีนชนิดนี้จะประกอบด้วยเส้นโปรตีน 2 เส้น พันเป็นเกลียว (double helix) โดยแต่ละเส้นประกอบด้วยโปรตีนทรงกลม (globular actin) หรือ G-actin ที่ต่อเข้ากับ F-actin โดยมีบริเวณเฉพาะที่จะไปจับกับไมโอซินและมีร่องสำหรับโปรตีนโทรโปนินและโทรโปไมโอซินไปยึดเกาะ ส่วนใหญ่เส้นใยแอคติน เป็นองค์ประกอบอยู่ในส่วนแถบสว่างและจะพบในส่วนแถบมืดเมื่อเซลล์กล้ามเนื้อหดตัว (Bendall *et al.* 1962)

### 2.1.2.3 โทรโปไมโอซินและโทรโปนิน

โทรโปไมโอซิน เป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นเส้นยาวประมาณ 40 นาโนเมตร ประกอบด้วย 2 พันธะโปรตีน (polypeptide chains) และโทรโปไมโอซิน พันรอบ F-actin ส่วนโทรโปนินเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยหน่วยย่อย (subunit) คือ

1. โทรโปนิน - ที (TnT) เป็นส่วนที่ติดแน่นกับ โทรโปไมโอซิน
2. โทรโปนิน - ซี (TnC) เป็นส่วนที่จับกับแคลเซียมไอออน
3. โทรโปนิน - ไอ (TnI) เป็นส่วนที่ยับยั้งไม่ให้แอคตินเกาะกับไมโอซิน

โปรตีนเหล่านี้จะพบในกล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อหัวใจของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งเชื่อกันว่าโทรโปไมโอซิน เป็นส่วนของเส้นใยแอคตินและเกี่ยวข้องกับการเกิดแอคโตไมโอซิน มักพบร่วมกับกับ โปรตีนที่เรียกว่าโทรโปนิน โดยมีหน้าที่ควบคุมการจับและปล่อยตัวของแคลเซียมในการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อ จากการรวมตัวกันระหว่างไมโอซินกับแอคติน กลายเป็นแอคโตไมโอซินซึ่งเป็นสารเชิงซ้อน โดยมีแคลเซียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและพบว่าเมื่อแมกนีเซียมเพิ่มขึ้นจะทำให้แอคโตไมโอซินสลายตัวกลับเป็นแอคตินและไมโอซินใหม่อีกครั้ง ซึ่งจะทำให้กล้ามเนื้อคลายตัวในกล้ามเนื้อลายส่วนใหญ่มีประจุไฟฟ้าของแมกนีเซียมมากกว่า  $2 \times 10^{-6}$  โมลลาร์ซึ่งจัดเป็นความเข้มข้นที่สูงพอที่จะทำให้แอคตินและไมโอซินแยกตัวออกจากกัน และเมื่อ ATP ที่มีอยู่นั้นไม่ถูกไฮโดรไลซ์ กล้ามเนื้อจึงอยู่ในสภาพคลายตัว ประจุแคลเซียมที่บริเวณซาร์โคเมอร์ขณะนั้นจะต่ำ (น้อยกว่า  $10^{-7}$  โมลลาร์) หากแยกเส้นใยกล้ามเนื้อขณะที่ยังมีกล้ามเนื้อมาทำการทดลองโดยการเพิ่มปริมาณแคลเซียมลงไปจนมีความเข้มข้นที่  $10^{-6}$  โมลลาร์หรือมากกว่านี้ จะพบว่าแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นสามารถไปแย่งที่แมกนีเซียม ก็จะทำให้แอคตินและไมโอซินมาจับกันเกิดเป็นแอคโตไมโอซิน จากนั้นแมกนีเซียมจะไปเร่งปฏิกิริยาของ แอคโตไมโอซิน ATPase ให้ไฮโดรไลซ์ ATP เกิดเป็นวัฏจักรของการจับและการปล่อยของคอสบริจ (cross bridge) ขึ้น (Bendall *et al.*

1962) ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่างกายมีกลไกที่สามารถเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของแคลเซียมในซาร์โคพลาสมิซึมได้อย่างรวดเร็ว เพราะปกติแคลเซียมถูกเก็บอยู่ในแอ่งที่เก็บของเหลวส่วนปลายของซาร์โคพลาสมิซึมเรติคูลัม เมื่อถูกเร้าโดยคลื่นประสาทจะเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อผนังส่วนปลาย ทำให้แคลเซียมซึมผ่านมาสู่ซาร์โคพลาสมิซึมได้ เป็นผลให้แอกตินและไมโอซินมารวมตัวกันเกิดเป็นแอกโตไมโอซิน ครั้นเมื่อสิ่งเร้าคลื่นประสาทหมดไป ผนังของแอ่งที่เก็บของเหลวส่วนปลายจะกลับสู่สภาพปกติตามเดิม คือไม่ยอมให้แคลเซียมซึมผ่าน ขณะเดียวกันประจุแคลเซียมที่ตกค้างอยู่ในซาร์โคพลาสมิซึม ก็ถูกเก็บกลับเข้าไปในซาร์โคพลาสมิซึมเรติคูลัม โดยการเคลื่อนที่แบบกัมมันต์ (active transport) ความเข้มข้นของประจุแคลเซียมในซาร์โคพลาสมิซึม จึงลดลงถึงระดับที่ทำให้แอกโตไมโอซินสลายตัวกล้ำมเนื้อจึงเกิดการคลายตัวขึ้นอีกครั้ง (โสภา 2538)

บทบาทของ ATP ที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อกลไกการยึดและหดตัวนั้น เนื่องจาก ATP เกี่ยวข้องทั้งในปฏิกิริยาที่มีการรวมตัวและแตกตัวของแอกโตไมโอซิน รวมทั้งการรวมตัวของไกลบูลาร์แอกติน ถ้าไม่มี ATP ในกล้ามเนื้อเลยก็เกิดการเกร็งตัว (rigor) เช่น การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย (rigor mortis) การยึดกล้ามเนื้อลายขณะคลายตัวจะทำได้ง่ายเพราะแอกตินและไมโอซิน จะไม่มีการเกาะกัน ทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อ ทั้งสองชนิดสามารถเลื่อนไถลออกจากกันได้ง่าย แต่หากจะยึดกล้ามเนื้อลายขณะหดตัว หรือภายหลังการเร้าคลื่นประสาทให้กล้ามเนื้อหดตัว จะทำได้ลำบากขึ้นเพราะแอกตินและไมโอซิน มีการเกาะกันโดยมี ATP เป็นสื่อกลาง และหากว่ายังต้องการที่จะยึดกล้ามเนื้อลายนี้ให้ได้ จะต้องใช้แรงจำนวนมากเพื่อไปแยกการเชื่อมกันระหว่างแอกตินและไมโอซิน ซึ่งอาจทำให้ซาร์โคไมเออร์ฉีกขาดได้ (โสภา 2538)

#### 2.1.2.4 ไททิน หรือ คอนเนคติน (connectin)

ไททินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30 กิโลดาลตันและเป็นโปรตีนที่มีความยืดหยุ่น (elastic protein) บางครั้งอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าคอนเนคติน ซึ่งไททินหรือคอนเนคตินนี้จะยึดติดอยู่กับ แอกติน ในส่วนจุดกึ่งกลางซาร์โคไมเออร์ (Z-disk) ไททินจะมีความยาวประมาณ 1.25 ไมครอนและมีหน้าที่ในการยึดและหดตัวของกล้ามเนื้อ รวมทั้งเป็นศูนย์กลางให้เส้นใยไมโอซินยึดติดได้โดยมีลักษณะคล้ายสปริงทั้ง 2 ข้าง เนื่องจากคอนเนคตินมีคุณสมบัติในการมีความยืดหยุ่นสูง ไททินจะสลายตัวไปภายหลังสัตว์ตาย โดยความเร็วในการสลายตัวของไททิน จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อโคในห้องเย็น ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า ปริมาณไททินจะเป็นดัชนีในการวัดความนุ่มของเนื้อโคที่ได้รับการบ่มซาคได้ (Koochmarai *et al.* 1988a)

#### 2.1.2.5 เนบูลิน (nebulin)

เนบูลิน เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีเส้นใยฝอยขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุล 800 กิโลดาลตัน จะแผ่กระจายบริเวณจุดกึ่งกลางซาร์โคไมเออร์ (Z-disk) รวมทั้งจุดสุดท้าย ซึ่งจะเกาะติดกันกับแอกติน ปกติพบว่าเนบูลินจะสลายตัวภายหลังการบ่มซาค โดยพบกับสัตว์ทุกชนิด ซึ่งเนบูลินจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระจายตัวออกเป็นเส้นใยฝอยย่อย (subfilament) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน เช่น 200 180 40 30 และ 23 กิโลดาลตัน (อมรา และคณะ 2532)

#### 2.1.2.6 เดสมิน (desmin)

เดสมิน เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน โดยอยู่บริเวณรอบจุดกึ่งกลางซาร์โคเมียร์ (Z-disk) และบริเวณจุดที่มีแอกตินและไมโอซินมาเชื่อมต่อกันของเส้นใย โดยเดสมินเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเซลล์ (cytoskeleton protein) รวมทั้งการหดตัวและคลายตัว เดสมินนี้จะสลายตัวไปภายหลังการบ่มซาก (Koochmarai *et al.* 1988a)

#### 2.1.3 กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อ (mechanism of contraction muscle)

Hanson and Huxley (1995) ได้เสนอสมมติฐานการเลื่อนเข้าออกของเส้นใย ในขณะกล้ามเนื้อหดตัวและคลายตัว โดยรวบรวมผลจากการที่สังเกตได้จาก กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนและจากการใช้รังสีเอกซเรย์ (x-ray diffraction) สมมติฐานนี้กล่าวว่าการหดตัว ต้องอาศัยเส้นใยกล้ามเนื้อ แอกตินและไมโอซินเมื่อเกิดการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อทั้งสองชนิดจะเกิดการคาบเกี่ยวกัน มีลักษณะคล้ายตะขอ (cross-bridges) ของเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยแอกตินจะถูกดึงให้เลื่อนผ่านไมโอซิน เข้าไปทางด้านในและจะทำให้ซาร์โคเมียร์หดตัวสั้นจนเกิดเป็นแรงดึง (tension) ขึ้น ปุ่มหรือตะขอที่ยื่นออกมาจากด้านข้างของไมโอซิน ทำให้เกิดการคาบเกี่ยวกันของตะขอจะทำงานเป็นจังหวะๆ คือมีการเกี่ยว สลับกันกับการปล่อยจากตะขอรับ (hook) บนแอกติน ตลอดเวลาที่ถูกรู้ บริเวณที่มีการคาบเกี่ยวกันจะเรียกว่า binding site แรงที่เกิดจากการคาบเกี่ยวกันนี้เองทำให้แอกตินถูกดึงให้เลื่อนเข้าสู่กึ่งกลางของแถบมืด เมื่อการหดตัวเต็มที่ Z-line จะเข้าไปแตะกับปลายของไมโอซินทั้งสองข้าง ทำให้ความยาวของแถบมืดมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาของช่วงการหดตัว แต่แถบสว่างจะค่อยๆหายไป และจะไม่พบเมื่อมีการหดตัวเต็มที่ (อมรา และคณะ 2532)

การเรียงตัวของโมเลกุลของไมโอซิน เมื่อเกิดการคาบเกี่ยวกันจะมีการเรียงตัวเป็นเกลียว (helical arrangement) และเมื่อนับการเรียงตัวของไมโอซินแต่ละเกลียวจะประกอบด้วยตะขอ ซึ่งจะคาบเกี่ยวได้ 6 อันในระหว่างที่กล้ามเนื้อหดตัว ปริมาตรของกล้ามเนื้อจะคงที่และเมื่อซาร์โคเมียร์หดตัวสั้นเข้าระยะห่างระหว่างเส้นใยแอกตินและไมโอซินที่วางเรียงขนานกันจะห่างออก เนื่องจากแรงไฟฟ้าสถิตย์ (electrostatic force) ระหว่างเส้นใยโปรตีน ซึ่งช่วยให้เส้นใยเลื่อนเข้า-ออกระหว่างกันได้สะดวก (อมรา และคณะ 2532)

#### 2.1.3.1 แหล่งพลังงานสำหรับหดตัว

กล้ามเนื้อมีเอนไซม์ครีเอทีนไคเนส (creatine kinase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชัน (rephosphorelation) ของ ADP ในภาวะวิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน (oxidative phosphorylation pathway) ดำเนินไปอย่างปกติ (Bendall 1962) กล้ามเนื้อจะใช้ ATP เป็นแหล่งพลังงานในการหดตัวและคลายตัว แต่ถ้าหากวิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันเกิดขัดข้อง กล้ามเนื้อจะดึงพลังงานออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่ไว้ก่อนการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยเป็นอย่างสูง และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากครีเอทีนฟอสเฟต (creatine phosphate) หรือ CP ครีเอทีนฟอสเฟตจะทำงานโดยเป็นที่สะสมหมู่ฟอสเฟตที่มีพลังงานสูงไว้สำรองใช้ แต่ในขณะที่ปริมาณออกซิเจนที่ได้รับไม่เพียงพอกับความต้องการของกล้ามเนื้อขณะทำงานหนัก (oxygen debt) และเมื่อถึงระยะพัก ออกซิเจนที่มาเลี้ยงกล้ามเนื้อจะมีพอที่จะให้วิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน ดำเนินไปอย่างปกติใหม่อีกครั้ง จะทำให้ ATP ถูกสังเคราะห์ และมีการเก็บสะสมไว้สำหรับการหดตัวและคลายตัวในครั้งต่อไปและในขณะเดียวกัน ATP ส่วนหนึ่ง จะถูกนำไปเปลี่ยนแปลงให้เกิดการเปลี่ยนกลับ (rephosphorelate creatine) ให้กลายเป็นครีเอทีน ฟอสเฟตสะสมไว้เช่นกัน

นอกจากกล้ามเนื้อใช้ ATP และครีเอทีนฟอสเฟตแล้วยังสามารถใช้ระบบไกลโคไลซิสสำหรับให้พลังงานในภาวะที่ขาดออกซิเจนจะได้ผลผลิตสุดท้ายนอกจากจะได้ ATP ในปริมาณน้อยแล้วยังจะได้กรดแลคติก อันเนื่องจากการแตกตัวของกลูโคสให้กลายเป็นกรดไพรูวิก โดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน ซึ่งจะผ่านเข้าระบบไหลเวียนโลหิตไปยังตับและตับจะทำการเปลี่ยนกรดแลคติกให้เป็นไกลโคเจนได้อีกครั้ง (Bailey 1972)

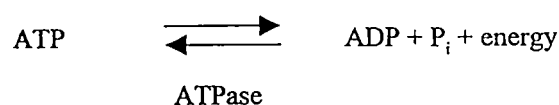
### 2.1.3.2 การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย

ภายหลังจากที่สัตว์ถูกฆ่าตายแล้ว กล้ามเนื้อของสัตว์ซึ่งมิได้หยุดดำเนินกิจกรรมในการคงสภาพของกล้ามเนื้อ และเปลี่ยนเป็นเนื้อสัตว์ในทันทีทันใด แต่ตรงกันข้าม การเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมี และกายภาพหลาย ๆ อย่างได้เกิดขึ้น และดำเนินอยู่ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง จนกระทั่งเมื่อกล้ามเนื้ออยู่ในสภาพที่เกิดการเกร็งตัวอย่างถาวรหรือที่เรียกว่า เกร็ง (rigor mortis)

ปฏิกิริยาและการเปลี่ยนแปลงต่างๆที่เกิดขึ้นนี้ เป็นผลจากความพยายามที่จะคงสภาพของกล้ามเนื้อไว้ของสัตว์ เมื่อเกิดการเกร็งตัวภายหลังสัตว์ตายโดยสมบูรณ์แล้ว ถือได้ว่ากล้ามเนื้อนั้นได้กลายเป็นเนื้อสัตว์ (Bailey 1972)

### 2.1.3.3 ปฏิกิริยาและการเปลี่ยนแปลงต่างๆที่เกิดขึ้นภายหลังสัตว์ตาย

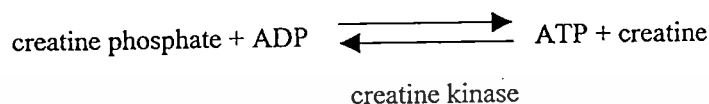
การเกิดขบวนการไกลโคไลซิสในกล้ามเนื้อภายหลังจากสัตว์ตาย (post-mortem glycolysis) การพยายามคงสภาพของกล้ามเนื้อ จะดำเนินขึ้นทันทีหลังจากขจัดเอาเลือดออก เพื่อที่จะพยายามดำรงสภาพต่างๆ เช่นเดียวกับในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ ให้เหมือนเดิมซึ่งต้องอาศัยพลังงานอย่างมาก พลังงานเหล่านี้จะได้จากการย่อยสลายประกอบ ATP โดยเอนไซม์ ATPase ที่อยู่ในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ดังสมการ



(สมการที่ 2.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อสัตว์ตายแล้วขบวนการสร้าง ATP ในสภาพปกติได้หยุดชะงักไป ดังนั้นปริมาณ ATP ที่สะสมไว้เมื่อถูกใช้ไปจึงหมดลงอย่างรวดเร็ว จึงต้องหาพลังงานจากขบวนการอื่นๆมาทดแทนพลังงานแรกที่จะถูกใช้เป็นแหล่งแรก คือการแลกเปลี่ยนกลุ่มฟอสเฟตระหว่าง ครีเอทีนฟอสเฟตกับ ADP ดังสมการ



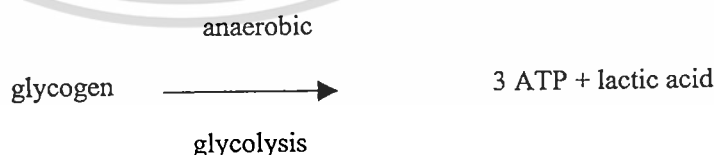
(สมการที่ 2.2)

ขบวนการนี้เกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นๆ เพราะครีเอทีนฟอสเฟตที่มีปริมาณจำกัดจะถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็ว แต่ไกลโคเจนซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ถูกสะสมไว้ในกล้ามเนื้อจะถูกนำมาย่อยสลายโดยขบวนการที่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้องหลายขั้นตอน เพื่อให้เกิดพลังงานขึ้นในรูปแบบของ ATP ออกมาเพื่อทดแทนส่วนที่ถูกใช้ ขบวนการนี้เรียกว่าขบวนการไกลโคไลซิส หากยังมีออกซิเจนในกล้ามเนื้อเพียงพอ ขบวนการนี้ก็จะเกิดขึ้น ดังสมการ



(สมการที่ 2.3)

แต่เนื่องจากการขจัดเลือดออกจากกระบวนการฆ่าสัตว์ ดังนั้น ปริมาณของออกซิเจนที่เข้าไปหล่อเลี้ยงกล้ามเนื้อ โดยมีเลือดเป็นตัวกลางในการขนส่งจะลดปริมาณลงอย่างรวดเร็ว ขบวนการไกลโคไลซิส ซึ่งมีออกซิเจนเข้ามาเกี่ยวข้องนี้จึงเกิดขึ้นต่อไปไม่ได้อีกต่อไป จึงเป็นผลให้เกิดขบวนการไกลโคไลซิส ซึ่งไม่มีออกซิเจนมาเกี่ยวข้องเกิดขึ้นมาแทนที่ในทันที เพื่อการสร้าง ATP ดังสมการ



(สมการที่ 2.4)

ขบวนการสุดท้ายนี้เองที่เรียกว่า ขบวนการไกลโคไลซิสภายหลังสัตว์ตาย (post-mortem glycolysis) (Bodwell *et al.* 1966) จากสมการดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการสลายไกลโคเจนมากขึ้นก็จะได้พลังงานคือ ATP และกรดแลคติก การสะสมของกรดแลคติกโดยขบวนการนี้ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือค่า pH ของกล้ามเนื้อค่อยๆลดลงจาก pH ประมาณ 7 ในสภาพปกติ

เอนไซม์เป็นเอนไซม์ที่สังเคราะห์ขึ้นจากตับเพื่อใช้ในการสลายไขมันไปเป็นพลังงานในรูปของ ATP ในสภาวะปกติไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนถูกฆ่าเป็น pH ประมาณ 5.6 – 5.7 ภายใน 6 – 8 ชั่วโมง ภายหลังจากถูกฆ่าตาย และเป็น 5.3 – 5.7 ภายใน 24 ชั่วโมง ภายหลังจากถูกฆ่าตาย เราเรียกค่าความเป็นกรด-ด่างนี้ว่าเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อ (ultimate pH) ค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายนี้จะมีค่าเท่าใดขึ้นอยู่กับปริมาณไกลโคเจนที่สัตว์สะสมไว้ ถ้าปริมาณของไกลโคเจนมีน้อย เนื้อสัตว์ที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูง เนื่องจากมีการผลิตกรดแลคติกออกมาน้อย เนื่องจากเอนไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในขบวนการไกลโคไลซิสจะไม่ทำงานเมื่อ pH ต่ำกว่า 5.4 ดังนั้น การสะสมของกรดแลคติกจึงหยุดเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.3-5.7 อัตราความเร็วในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายจะเป็นค่าใด มีหลายปัจจัย เช่น ชนิดของสัตว์และประเภทของมัดกล้ามเนื้อ (Lansdell *et al.* 1995) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น เช่น การได้รับยาหรือสารเคมีใดๆ ก่อนที่สัตว์จะถูกฆ่า เช่น ถ้าสัตว์ได้รับยาละลายปฏิกิริยาประเภทแมกนีเซียมซัลเฟตก่อนถูกฆ่า ขบวนการไกลโคไลซิสภายหลังจากสัตว์ตายจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ แต่ถ้าได้รับสารประกอบของเกลือแคลเซียมหรือได้รับแอดรีนาลิน (adrenalin) จะทำให้ขบวนการไกลโคไลซิสภายหลังจากสัตว์ตายเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นต้น รวมทั้งอุณหภูมิหรือสภาพแวดล้อมต่างๆ ก็จะมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้าย โดยอุณหภูมิที่สูงจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขบวนการไกลโคไลซิส ระยะเวลาของขบวนการไกลโคไลซิสจะมีผลต่อเวลาในการบ่มซากรวมทั้งมีอิทธิพลต่อขบวนการสลายตัวเองโดยเอนไซม์ต่างๆ ดังนั้นในการปรับปรุงความนุ่มควรมีการคำนึงถึงขบวนการไกลโคไลซิสภายหลังจากสัตว์ตาย

เนื่องจากการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อและความเร็วในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง มีผลต่อความนุ่ม โดยการใช้กระแสไฟฟ้าในการกระตุ้นซากก่อนทำการบ่มซาก พบว่า กล้ามเนื้อที่มีความนุ่มเพิ่มขึ้นเมื่อกำลังเนื้อได้รับการใช้กระแสไฟฟ้ากระตุ้นซากร่วมกับทำการบ่มซาก ที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่างในกล้ามเนื้อเท่ากับ 6.1 ที่ 3 ชั่วโมงภายหลังจากสัตว์ตาย เนื่องจากเหตุผลที่การใช้กระแสไฟฟ้ากระตุ้นซากทำให้เนื้อนุ่มขึ้น กระแสไฟฟ้าจะกระตุ้นขบวนการไกลโคไลซิสให้เร็วขึ้น จึงทำให้เนื้อเกิดความนุ่มได้มากกว่ากลุ่มที่มีขบวนการไกลโคไลซิสที่ช้า โดยขบวนการไกลโคไลซิสจะเกิดเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปริมาณ ATP ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อรวมทั้งเกี่ยวข้องกับระดับ  $Ca^{2+}$  ที่อยู่ในภายนอกเซลล์ (intracellular free calcium) (Goll *et al.* 1983 ; Mickelson 1983)

โดยทั่วไปอัตราการเกิดปฏิกิริยาไกลโคไลซิสจะไม่มีผลต่อความยาวของซาร์โคเมอร์ แต่จะเกี่ยวข้องกับชนิดของกล้ามเนื้อ โดยที่พวกกล้ามเนื้อขาว (white type) จะมีโอกาสเกิด cold-shortening ได้น้อยมาก เนื่องจากกล้ามเนื้อประเภทนี้ จะมีปริมาณไมโทคอนเดรียต่ำ และสามารถปรับการทำงานแบบวิธีการไม่ใช้ออกซิเจนได้ดีกว่าพวกกล้ามเนื้อแดง (red type) ซึ่งกล้ามเนื้อกลุ่มนี้จะมีปฏิกิริยาต่อการหดตัวของซาร์โคเมอร์มากกว่ากลุ่มกล้ามเนื้อขาว รวมทั้งองค์ประกอบสัดส่วนของกล้ามเนื้อชนิดต่างๆ ซึ่งจะมีองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อแตกต่างกัน เมื่อทำการวัดการเกิดโปรตีน 30 kDa ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่เกิดจากการสลายตัวของโทรโปนิน-ที พบว่าขบวนการย่อยสลายโปรตีนในกลุ่มที่มีขบวนการไกลโคไลซิสที่เร็ว จะมีการสลายตัวเร็วกว่ากลุ่ม

ที่มีขบวนการไกลโคไลซิสที่ช้า เนื่องจากระดับ pH ในกล้ามเนื้อมีความเหมาะสมต่อการทำงานของ เอนไซม์มากกว่า

#### 2.1.4 การเกิดภาวะการเกร็งตัว

ภาวะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ มีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณ ATP ในกล้ามเนื้อ ในขณะที่สัตว์ถูกฆ่าตายในระยะแรก เส้นใยแอคตินและเส้นใยไมโอซินที่อยู่ในแต่ละซาร์โคเมียร์ ของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดต่างๆจะถูกค้นไม่ให้เข้ามาจับกันได้ เพราะปริมาณ ATP ที่อยู่ในไซโตพลาสซึมยังคงมีปริมาณสูง

เมื่อสัตว์ตายปริมาณของ ATP จะค่อย ๆ ลดลง และเมื่อปริมาณของ ATP ลดลงจนถึงระดับหนึ่งเส้นใยแอคตินและเส้นใยไมโอซิน ก็จะเข้ามาจับกันอย่างถาวร เพราะปริมาณของ ATP ที่มีอยู่ไม่เพียงพอที่จะแยกเส้นใยทั้งสองออกจากกันได้ จึงเกิดเป็นสารประกอบแอคโตไมโอซินที่ไม่สามารถจะดึงให้ยืดตัวออกได้ ปรากฏการณ์นี้จะเป็นจุดเริ่มต้นของขบวนการที่เรียกว่าการเกิดภาวะการเกร็งตัว ดังนั้น เนื้อของสัตว์ที่ได้ในช่วงนี้ถ้านำไปบริโภคจะรู้สึกว่ายืดเหนียวมาก การเกิดภาวะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ จะเกิดขึ้นได้รวดเร็วเพียงใดขึ้นอยู่กับอัตราความเร็วของการลดลงของค่า pH ในกล้ามเนื้อและจะเกิดได้รวดเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิยิ่งสูง ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิยิ่งสูงขึ้น การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตายก็จะเกิดเร็วขึ้นด้วย

#### 2.1.5 การเปลี่ยนแปลงหลังเกิดภาวะการเกร็งตัว

เนื้อสัตว์ที่อยู่ในขณะเกิดภาวะการเกร็งตัว จะมีความเหนียวมาก แต่ในเมื่อผ่านภาวะการเกร็งตัวอย่างสมบูรณ์แล้ว เนื้อนั้นจะนุ่มขึ้น เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงในคุณสมบัติของเซลล์ ซึ่งสารประกอบแอคโตไมโอซินจะค่อยๆแยกออกจากกันบริเวณ Z-line จะเกิดการเสื่อมสลาย (disintegration) ซึ่งเชื่อว่าเป็นปรากฏการณ์ที่เป็นสาเหตุหนึ่งซึ่งทำให้กล้ามเนื้อค่อยๆอ่อนตัวลง นอกจากนี้ในเส้นใยของกล้ามเนื้อขณะมีชีวิต จะมีสารที่ใช้สลายโปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งเก็บไว้ภายในเซลล์ไลโซโซม เรียกว่าเอนไซม์คาเทพซินส์ (cathepsins) เมื่อสัตว์ตายลงและระดับ pH ของเนื้อสัตว์จะลดลงถึง pH 5.3-5.7 เหมาะสมของการทำงานของคาเทพซินส์ เอนไซม์นี้จะรั่วออกมาจากผนังเซลล์ไลโซโซมและจะทำการสลายโปรตีนและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเส้นใยกล้ามเนื้อได้บางส่วน จึงเป็นสาเหตุทำให้เนื้อสัตว์นุ่มขึ้น หลังจากผ่านการเก็บบ่มได้นานขึ้นเอนไซม์คาเทพซินส์จะทำการย่อยสลายโปรตีนได้มากขึ้น โดยเฉพาะในสถานะที่อุณหภูมิสูงและค่า pH ต่ำและพบว่า ในขบวนการไกลโคไลซิสจะเกิดเร็วขึ้นจะทำให้ค่า pH ของเนื้อลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นการเร่งการทำงานของเอนไซม์คาเทพซินส์ จึงเป็นผลให้เนื้อสัตว์มีความนุ่มเพิ่มขึ้น (Moeller *et al.* 1976 , 1977 ; Watanabe *et al.* 1991)

## 2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์

### 2.2.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องก่อนสัตว์ตาย (Ante-mortem factors)

เป็นปัจจัยที่เกิดขึ้นภายในตัวของสัตว์เอง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

#### 2.2.1.1 ชนิดของสัตว์

สัตว์ที่มีขนาดใหญ่เช่น โค-กระบือ จะมีความหนาของกล้ามเนื้อและความเหนียวของเนื้อมากกว่าสัตว์ที่มีขนาดเล็กเช่น สุกร ไก่

#### 2.2.1.2 พันธุ์ของสัตว์

สายพันธุ์ของโคจะให้เนื้อโคที่มีความนุ่มหรือความเหนียวที่ต่างกัน (Graham *et al.* 1959 ; Hendrickson and Moore 1965; Koch 1982) เนื้อโคที่เหนียวจะมีค่าแรงตัดผ่านสูงกว่าเนื้อโคที่นุ่มและพบว่าเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดีย (*Bos Indicus*) ที่สูงขึ้น จะมีผลทำให้ค่าแรงตัดผ่านสูงขึ้น เช่น โคสายพันธุ์ Brahman Nellore และ Sahiwal มีเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดีย 50 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่า เนื้อจะมีความเหนียวมากกว่าเนื้อของโคสายพันธุ์ Jersey Pinzganer South Devon และ Pried Montese ซึ่งจะมีเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดียน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้ จะให้เนื้อที่มีคุณภาพความนุ่มมากกว่าสายพันธุ์อื่น (Caroll *et al.* 1955 ; Crockett *et al.* 1979) ระดับเลือดของโคสายพันธุ์ *Bos indicus* มีอิทธิพลอย่างมากต่อการลดลงของความนุ่มและความแตกต่างในด้านความนุ่ม เนื้อโคที่มีระดับเลือด *Bos indicus* อยู่มากกว่า 25% จะมีอิทธิพลต่อลักษณะต่าง ๆ อย่างมาก ทำให้เนื้อที่ได้มีความนุ่มน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับโคจากสายพันธุ์อื่น (Koch *et al.* 1982)

จากการทดลองของ Wheeler *et al.* (1990) พบว่า กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi จากโคพันธุ์ Brahman จะมีความนุ่มน้อยกว่าโคพันธุ์ Hereford ในทุก ๆ ระยะการบ่ม และเนื้อจากโคพันธุ์ Hereford จะมีความนุ่มเพิ่มขึ้น โดยค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าลดลงอย่างมากที่ระยะการบ่ม 7 และ 14 วัน ส่วนเนื้อจากโคพันธุ์ Brahman จะมีความนุ่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในทุกระยะการบ่ม ยกเว้นที่ระยะ 35 วันความนุ่มจะลดลง และค่าแรงตัดผ่านเนื้อของโคภายในพันธุ์เดียวกันพบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของโคพันธุ์ Brahman มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกระยะการบ่ม ยกเว้นการบ่มที่ 35 วัน ส่วนในโคพันธุ์ Hereford พบความแตกต่างที่ระยะการบ่ม 7 และ 14 วัน ส่วนที่ระยะการบ่มหลังจากนี้จะไม่พบความแตกต่างของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

Johnson *et al.* (1990) รายงานว่า เนื้อจากโคลูกผสม 75% Brahman จะมีความนุ่มน้อยกว่าโคลูกผสม 50% และ 25% Brahman และโคลูกผสม Brahman ทุกระดับเลือดจะมีความนุ่มน้อยกว่าโคพันธุ์ Angus นอกจากนี้ยังพบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อในโคลูกผสม 75% และ 50% Brahman ที่ผ่านการบ่มที่ระยะเวลา 1, 5 และ 10 วัน จะแตกต่างกัน เนื้อโคลูกผสมทุกระดับเลือด และโคพันธุ์ Angus มีแนวโน้มที่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อจะมีค่าลดลงที่ระยะการบ่ม 10 วัน โดยพบว่า โคพันธุ์ Angus

มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงถึง 37% ส่วน โคลูกผสม 25% 50% และ 75% Brahman มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง 27% 9.4% และ 16.7% ตามลำดับ

Koch *et al.* (1988) รายงานว่า โคลูกผสมพันธุ์ *Bos indicus* จะมีความนุ่มน้อยกว่าในโคลูกผสมพันธุ์ *Bos taurus* แม้ว่าเนื่องจากโคลูกผสม *Bos indicus* จะมีระดับของ marbling เท่ากับเนื้อที่ได้จากโคลูกผสม *Bos taurus* ก็ตาม

Dransfield (1994b) รายงานว่า เนื้อโคที่ได้จากโคสายพันธุ์ *Bos indicus* จะมีความนุ่มน้อยกว่าสายพันธุ์ *Bos taurus* โดยพบว่า เนื้อที่ได้จากโคพันธุ์ Tarentaise Pinzgauer Brahman และ Sahiwal มีความนุ่มลดลง 4% 7% 14% และ 20% ตามลำดับเมื่อเทียบกับโคลูกผสม Hereford – Angus ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่า ความเหนียวของเนื้อจะเพิ่มขึ้น หากโคลูกผสมมีระดับเลือดจากโคสายพันธุ์ *Bos indicus* เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับอีกหลายรายงานที่กล่าวว่า เนื้อโคที่ได้จากสายพันธุ์ *Bos indicus* มีความนุ่มน้อยกว่าเนื้อที่ได้จากสายพันธุ์ *Bos taurus* (Carpenter *et al.* 1961 ; Palmer 1963 ;Koch *et al.* 1982 ; Crouse *et al.* 1989 ) นอกจากนี้พันธุกรรมจะมีผลในด้านความนุ่มของเนื้อโคแล้ว องค์ประกอบทางด้านการจัดการและกระบวนการในการผลิตของโรงฆ่าซึ่งจะมีประสิทธิภาพมากกว่า อิทธิพลทางพันธุกรรมเพียงด้านเดียว

#### 2.2.1.3 สารเร่งเนื้อแดง

การใช้สารอาหารกลุ่ม beta-agonist ผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์จะทำให้เนื้อมีความเหนียวขึ้น ทั้งนี้พบว่ามีผลทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อมีพื้นที่หน้าตัดใหญ่ขึ้นกว่าปกติ (Tuma *et al.* 1962 ; Morgan *et al.* 1989 ) รวมทั้งเอนไซม์ calpastatin ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ calpain จะทำงานได้ดียิ่งขึ้น

#### 2.2.1.4 อายุ

อายุของสัตว์มีความเกี่ยวข้องกับต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์แต่เนื่องจากการค้ำนึ่งถึงอายุเพียงอย่างเดียวไม่สามารถสรุปได้อย่างแท้จริง เนื่องจากมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความนุ่ม แต่อย่างไรก็ดีสัตว์ที่มีอายุน้อยโดยปกติจะมีความนุ่มมากกว่าสัตว์ที่มีอายุมาก (Adams and Arthaud 1963 ; Prost *et al.* 1975 ; Bailey and Zobrisky 1996)

#### 2.2.1.5 เพศ

สัตว์เพศผู้ส่วนมากเนื้อจะมีความเหนียวมากกว่าเนื้อของสัตว์เพศเมียและเนื้อของสัตว์เพศผู้ที่ถูกตอนแล้ว โคอเพศผู้ตอนจะมีความนุ่มมากกว่าโคอเพศผู้ไม่ตอน (Doty and Pierce 1961 ; Hendrickson and Mjosest 1964 ; Bailey *et al.* 1966) รวมทั้งอายุของโคในแต่ละช่วงเวลาจะมีผลต่อความนุ่มทั้งนี้จากงานทดลองของ Adams and Arthaud (1963) ซึ่งกล่าวว่า เนื้อโคที่มาจากโคอเพศผู้ที่ตอนและไม่ตอนที่อายุ 300-399 วันจะไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติของค่าแรงตัดผ่าน แต่เมื่ออายุที่ 500-699 วัน จะพบว่าโคอเพศผู้ที่ตอนจะมีความนุ่มมากกว่าโคอเพศผู้ที่ไม่ตอน (Garcia *et al.* 1970)

ส่วนโคสาวเพศเมียในแต่ละช่วงอายุจะมีค่าแรงตัดผ่านที่ใกล้เคียงกับโคเพศผู้ที่ตอน (Field *et al.* 1966 ; Champagne *et al.* 1969 ; Bailey *et al.* 1996 )

#### 2.2.1.6 ชนิดของกล้ามเนื้อ

ชนิดของกล้ามเนื้อของสัตว์ในแต่ละส่วนจะมีความนุ่มที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น ถ้ากล้ามเนื้อบริเวณปลายกระดูกเชิงกรานได้แก่ กล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Bicep femoris และกล้ามเนื้อ Semitendinosus ความนุ่มจะมากกว่ากล้ามเนื้อบริเวณกลางลำตัว ซึ่งได้แก่กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi (Salisbury and Crampton 1960) Christensen *et al.* (1991) ได้รายงานเพิ่มเติมว่า กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ของโคสายพันธุ์อินเดีย จะมีค่าแรงตัดผ่านสูงตามระดับของสายเลือดของ โคสายพันธุ์อินเดียที่สูงขึ้น ค่าแรงตัดผ่านเนื้อจากโคสายพันธุ์ *Bos indicus* ในกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi จะมีค่าสูงกว่าในกล้ามเนื้อชนิดอื่น ๆ ซึ่งหมายความว่า จะมีความนุ่มน้อยกว่าโคชนิดอื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีระดับเลือดของ โคสายพันธุ์ *Bos indicus* ที่สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Christensen *et al.* (1991) พบว่ากล้ามเนื้อ Longissimus dorsi จากโคลูกผสม Brahman มีความเหนียวมากกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่น แต่ขัดแย้งกับ Salisbury and Crampton (1960) ที่กล่าวว่า กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi มีจำนวนของ connective tissue อยู่จำนวนน้อยจึงทำให้มีความนุ่มอยู่มาก Morgan *et al.* (1991) ได้มีจัดลำดับความนุ่มของกล้ามเนื้อแต่ละชนิดได้ ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 การจัดระดับความนุ่มของกล้ามเนื้อชนิดต่าง ๆ

ชนิดของกล้ามเนื้อ		
นุ่มมาก	นุ่มปานกลาง	เหนียว
Psoas major	*Biceps femoris (sirloin)	Deep pectoral
Infraspinatus	Rectus femoris	Latissimus dorsi
Gluteus medius	Adductor	Trapezius
Longissimus dorsi	Semitendinosus	Superficial pectora
Triceps brachii	Semimembranosus	
	*Biceps femoris (round)	

ที่มา : Morgan *et al.* (1991)

Dransfield (1994a) ได้ทดลองหาค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อที่มาจากชิ้นส่วนที่ได้ทำการตัดแต่งในเชิงการค้า ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ค่าแรงตัดผ่านตามชนิดของกล้ามเนื้อหรือชิ้นส่วนที่ตัดแต่งในเชิงการค้า

ชนิดของกล้ามเนื้อ หรือชิ้นส่วน			
นุ่ม	ค่าแรงตัดผ่าน	เหนียว	ค่าแรงตัดผ่าน
Tenderloin steak	5.7	Top round steak	11.7
Top blade steak	6.7	Eye of round steak	10.3
Top loin steak	7.2	Bottom round steak	9.7
Rib roast	7.3	Rump roast	9.5
Rib steak	7.4	Eye of round roast	9.2
Rib eye steak	7.5	Chuck roll steak	9.2
Chuck roll roast	7.6	Chuck tender steak	9.0
Clod roast	7.9	Top round roast	9.0
Round tip roast	7.9	Bottom round roast	8.9

ที่มา : Dransfield (1994a)

ตารางที่ 2.4 การจัดลำดับการยอมรับจากการทดสอบชิมเนื้อของกล้ามเนื้อชนิดต่าง ๆ ของโค

ลำดับ	กลิ่นและรสชาติ	ความนุ่ม	ความชุ่มฉ่ำ
1.	Biceps femoris 7.8	Psoas major 8.5	Serratus ventralis 6.8
2.	Psoas major 7.5	Infraspinatus 7.2	Infraspinatus 6.6
3.	Gluteus medius 7.4	Longissimus lumborum 6.9	Psoas major 5.9
4.	Semimembranosus 7.4	Rectus femoris 6.9	Longissimus lumborum 5.2
5.	Triceps Brachii 7.3	Serratus ventralis 6.5	Pectoralis profundus 5.1
6.	Rectus femoris 7.1	Gluteus medius 5.8	Supraspinatus 5.1
7.	Longissimus lumborum 7.1	Triceps Brachii 5.8	Triceps Brachii 4.9
8.	Serratus ventralis 6.9	Supraspinatus 5.1	Rectus femoris 4.8
9.	Infraspinatus 6.8	Semitendinosus 5.0	Gluteus medius 4.7
10.	Semitendinosus 6.8	Biceps femoris 4.9	Biceps femoris 4.7
11.	Pectoralis profundus 6.7	Semimembranosus 4.0	Semitendinosus 4.2
12.	Supraspinatus 6.6	Pectoralis profundus 3.8	Semimembranosus 4.1

หมายเหตุ 10 = กลิ่นและรสชาติยอมรับมากที่สุด, นุ่มที่สุด, ความชุ่มฉ่ำมากที่สุด

1 = กลิ่นและรสชาติยอมรับน้อยที่สุด, เหนียวที่สุด, ความชุ่มฉ่ำน้อยที่สุด

ที่มา : Dransfield (1994a)

จากตารางที่ 2.4 จะพบว่ากล้ามเนื้อ Psoas major มีความนุ่มสูงสุด เนื่องจากมีปริมาณคอลลาเจนที่สะสมในกล้ามเนื้อต่ำและมีความยาวของซาร์โคเมอร์เฉลี่ยประมาณ 3.46 ไมครอนไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นใยกล้ามเนื้อที่มีความนุ่มจะมีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 40 ไมครอน ความยาวของซาร์โคเมอร์ ประมาณ 3.6 ไมครอน และความหนาของเส้นใยอีลาสติน (elastin) ประมาณ 0.6 ไมครอน ส่วนเส้นใยกล้ามเนื้อที่มีความเหนียว จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 80 ไมครอน ความยาวของซาร์โคเมอร์ ประมาณ 1.8 ไมครอน และความหนาของเส้นใยอีลาสติน (elastin) ประมาณ 4.0 ไมครอน (Koochmaraie *et al.* 1988a)

ในการศึกษาเรื่องความนุ่มส่วนใหญ่จะให้ความสนใจเรื่องของเส้นใยภายในกล้ามเนื้อ Sexton (1967) รายงานว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของมัดสเซล ไฟเบอร์ ในแต่ละชนิดจะใหญ่ขึ้นเมื่อโตเต็มวัย (maturity) โดยศึกษาจากสัตว์ 4 ชนิดคือ กระต่าย สุกร เกะ และโค Koochmaraie *et al.* (1988c) พบว่า เส้นผ่าศูนย์กลางเส้นใย (fiber diameter) ในโคเต็มวัยจะมีขนาดประมาณ 50 เท่า ของขนาดเมื่อแรกเกิด เส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อเพศผู้ จะมีขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย เส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ของกล้ามเนื้อ Semimembranosus ของโค มีค่า 92.4 ไมครอน และพบว่าเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใหญ่จะทำให้ค่าของค่าแรงตัดผ่านสูงขึ้น เนื้อสัตว์ที่มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางเส้นใยเล็ก จะนุ่มกว่าเนื้อสัตว์ที่มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางเส้นใยใหญ่ กล้ามเนื้อ Semitendinosus ที่อยู่ในระยะ pre-rigor จะมีผลทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อ การหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อและค่าแรงตัดผ่านเพิ่มขึ้น

กล้ามเนื้อในส่วนสะโพกเป็นเนื้อที่ค่อนข้างเหนียว เนื่องจากประกอบไปด้วยคอลลาเจนประเภทที่ไม่ละลายรวมทั้งมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเป็นจำนวนมากและเมื่อทำการแยกกล้ามเนื้อแต่ละชิ้นในส่วนสะโพก ได้แก่ กล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Biceps femoris และกล้ามเนื้อ Semitendinosus มาทำการวัดค่าแรงตัดผ่าน พบว่ามีค่าแรงตัดผ่านใกล้เคียงกัน แต่อย่างไรก็ดีโดยทั่วไป Semimembranosus มีค่าแรงตัดผ่านต่ำที่สุด

#### 2.2.1.7 ปริมาณไขมันที่แทรกอยู่ในเส้นใยกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อสัตว์ส่วนที่มีไขมันแทรกอยู่ในเซลล์ของกล้ามเนื้อ จะทำให้เนื้อมีความนุ่มขึ้นเนื่องจากไขมันที่แทรกอยู่ในระหว่างเซลล์นั้น ทำให้แรงยึดระหว่างเซลล์ของกล้ามเนื้อน้อยลง และไขมันเหล่านี้จะทำหน้าที่หล่อลื่น ในขณะที่เคี้ยวเนื้อ ทำให้เกิดความชุ่มฉ่ำภายในปากและรู้สึกว่ามันนุ่มขึ้น ปริมาณไขมันแทรกในเนื้อจากสัตว์ที่มีอายุมากขึ้นอาจมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อ แต่ในสัตว์ที่มีอายุน้อยจะมีไขมันแทรกน้อยปริมาณไขมันแทรกก็จะไม่มีความหมายแต่อย่างใดเลย (ชัยณรงค์ 2529)

#### 2.2.1.8 ความเครียดของสัตว์ก่อนถูกฆ่า

การที่สัตว์เครียดก่อนถูกฆ่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายหลังสัตว์ตายและมีผลต่อคุณภาพของเนื้อนอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของไกลโคเจนที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อสัตว์ถ้ามีปริมาณมากเพียงใด ถ้าหากมีปริมาณมาก การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะลดลงต่ำเนื่องจากการผลิตของกรดแลคติกออกมามาก จะพบว่าปัจจัยในการสะสมไกลโคเจน ในเนื้อสัตว์จะเป็นปัจจัยที่สำคัญของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อ

การลดต่ำลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อเป็นผลเนื่องมาจากความเครียดพบว่าสัตว์ที่เครียดง่ายมักจะชี้ตื่นและมีรูปร่างค่อนข้างอูมไปด้วยกล้ามเนื้อ เช่น สุกร ซึ่งสัตว์พวกนี้เมื่ออยู่ได้สภาวะที่ทำให้เกิดความเครียดต่างๆ จะมีการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกล้ามเนื้อถูกทดลองอย่างรวดเร็วภายใน 1 ชั่วโมง ภายหลังจากสัตว์ตาย ประกอบกับในขณะที่ซากมีอุณหภูมิสูงอยู่แล้ว เนื่องจากมีเมตาบอลิซึม (metabolism) สูง จึงเป็นเหตุให้โปรตีนของกล้ามเนื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพอย่างรุนแรง ทำให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการละลาย ทั้งนี้โปรตีนจะจับตัวกันและเกิดการตกตะกอน ทำให้สูญเสียความสามารถในการจับน้ำ สูญเสียความเข้มข้นของรงควัตถุ ทำให้เนื้อมีสีซีด และมีน้ำไหลซึมออกมานอกกล้ามเนื้อรวมทั้งกล้ามเนื้อจะอ่อนตัวจนเป็นลักษณะเหลวหรือที่เราเรียกว่า PSE (pale soft and exudative) ซึ่งเป็นเนื้อที่ไม่พึงปรารถนาของผู้บริโภค มักจะเกิดขึ้นในสุกร แต่กับกรณีของสัตว์ที่ทนเครียด เช่น โค กระบือ เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะความเครียดต่างๆ ร่างกายสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าสัตว์ที่เครียดง่าย จึงทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อมีค่าสูง โปรตีนของกล้ามเนื้อก็สามารถจับน้ำได้มากกว่าปกติ

## 2.2.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องภายหลังสัตว์ตาย

### 2.2.2.1 ความเป็นกรด-ด่าง

ขบวนการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตายจะพบว่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อคุณภาพความนุ่มของเนื้อ ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อภายหลังสัตว์ตายคือ ความเป็นกรด-ด่างในกล้ามเนื้อซึ่งจะเป็นผลทำให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความนุ่มของเนื้อภายหลังสัตว์ตายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Quali 1984 ; Koohmaraie 1988 ; Dransfield 1996 )โดยปกติค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตายจะมีความผันแปรระหว่าง 5.4-7.2 ตามเหตุผลที่ได้กล่าวมาข้างต้น การที่เนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อสูง จะมีผลเสียต่อคุณภาพเนื้อเช่น มีสีคล้ำ ถูกแบคทีเรียทำลายได้ง่าย รวมทั้งการสูญเสียความน้ำหนัก

ตารางที่ 2.5 ผลของกล้ามเนื้อ Longissimus thoracis ซึ่งได้รับการบ่ม 7 วัน โดยแบ่งกลุ่มโค ตามค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อ

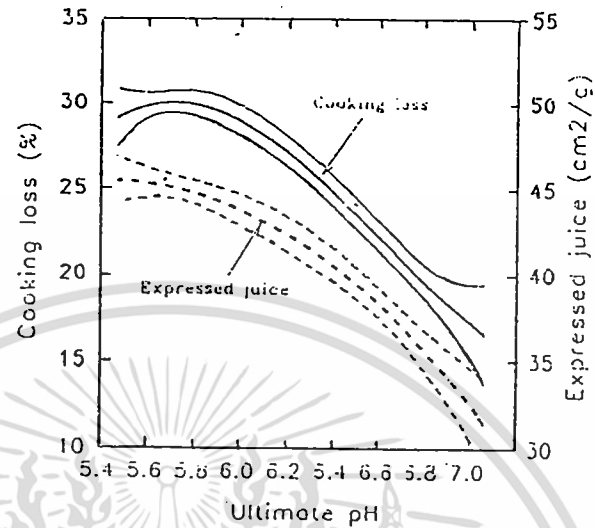
กลุ่ม	pH	ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก./ตร.ซม.)	ความนุ่ม	ความชุ่ม
1	< 5.80	2.4 <sup>a</sup> ±1.4	47.67±9.19 <sup>a</sup>	49.24 <sup>a</sup> ±5.35
2	6.30-5.80	2.9 <sup>b</sup> ±0.5	51.48±4.60 <sup>b</sup>	51.60 <sup>b</sup> ±7.91
3	> 6.30	1.6 <sup>c</sup> ±0.4	66.00±7.66 <sup>c</sup>	62.74 <sup>c</sup> ±4.79

หมายเหตุ 100 = นุ่มมาก 0 = เหนียวมาก

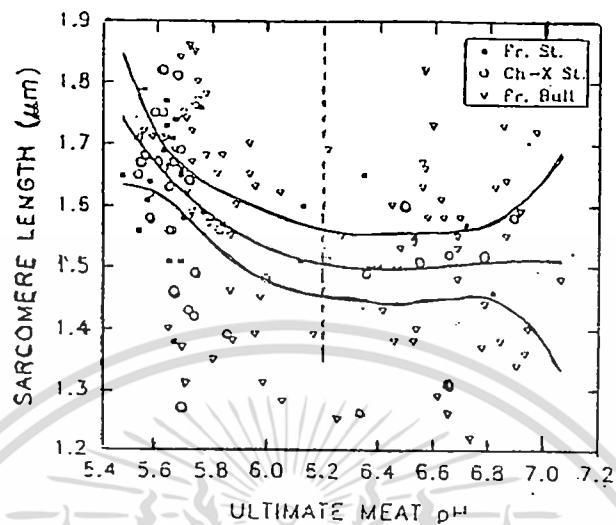
ตัวอักษร ก และ ข ในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

ที่มา : Beltran *et al.* (1996)

จากตารางจะพบว่า ค่าแรงตัดผ่านจะต่ำในกลุ่ม DFD (pH > 6.30) ในขณะที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.30-5.80 และน้อยกว่า 5.80 ขณะที่การวัดผลโดยการชิมพบว่าความนุ่มและความชุ่มฉ่ำของเนื้อโค มีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยพบว่าจะมีความนุ่มและความชุ่มฉ่ำของเนื้อโค ในกลุ่ม DFD มากที่สุด พบว่าถ้าในกล้ามเนื้อที่มีค่า pH สูง จะมีผลทำให้เนื้อมีความนุ่มมากขึ้น โดยเฉพาะถ้า pH มากกว่า 6.0 ซึ่งเป็น pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ calpain I และ II นอกจากนี้ Purchas and Aungsupakorn (1993) ยังพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายในกล้ามเนื้อจะมีความยาวของซาร์โคเมอร์สูงด้วย ซึ่งก็อธิบายได้ว่า เนื้อจะมีความนุ่มมากขึ้น



ภาพที่ 2.1 แสดงความสัมพันธ์ของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อ การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกและความนุ่มโดยการชิม  
 ที่มา : Purchas and Aungsupakorn (1993)



ภาพที่ 2.2 แสดงความสัมพันธ์ของความยาวซาร์โคไมเออร์กับค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้าย  
ที่มา : Purchas and Aungsupakom (1993)

Betran *et al.* (1996) ได้ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับเอนไซม์ของในแต่ละกลุ่มของค่าความเป็นกรด-ด่าง ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 แสดงปริมาณของเอนไซม์ calpain calpastatin และ cathepsin B+L ที่ 2 ชั่วโมงสุดท้ายของกล้ามเนื้อ และ 7 วัน ภายหลังจากสัตว์ตาย ในกล้ามเนื้อ Longissimus thorascis ที่แต่ละกลุ่มของความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อ

เอนไซม์	pH < 5.8	pH 5.8-6.3	pH > 6.3
$\mu$ -calpain* (u/g)	34.8 $\pm$ 15.2 <sup>n</sup>	41.6 $\pm$ 22.0 <sup>n</sup>	39.2 $\pm$ 19.2 <sup>n</sup>
m-calpain* (u/g)	50.8 $\pm$ 18.8 <sup>n</sup>	63.2 $\pm$ 21.6 <sup>n</sup>	59.6 $\pm$ 26.8 <sup>n</sup>
Calpastatin* (u/g)	60.2 $\pm$ 24.7 <sup>n</sup>	69.0 $\pm$ 34.9 <sup>n</sup>	69.9 $\pm$ 22.4 <sup>n</sup>
Cathepsin B+L* (u/g)	0.10 $\pm$ 0.05 <sup>n</sup>	0.104 $\pm$ 0.022 <sup>n</sup>	0.108 $\pm$ 0.053 <sup>n</sup>
m-calpain** (u/g)	16.8 $\pm$ 8.8 <sup>n</sup>	35.4 $\pm$ 17.6 <sup>n</sup>	70.8 $\pm$ 23.2 <sup>v</sup>
Calpastatin** (u/g)	64.7 $\pm$ 29.6 <sup>n</sup>	73.4 $\pm$ 43.5 <sup>n</sup>	58.0 $\pm$ 25.6 <sup>n</sup>
Cathepsin B+L** (u/g)	0.082 $\pm$ 0.046	0.125 $\pm$ 0.076	0.121 $\pm$ 0.062

กำหนดให้ \* = 2 ชั่วโมงภายหลังจากสัตว์ตาย \*\* = 7 วัน ภายหลังจากสัตว์ตาย

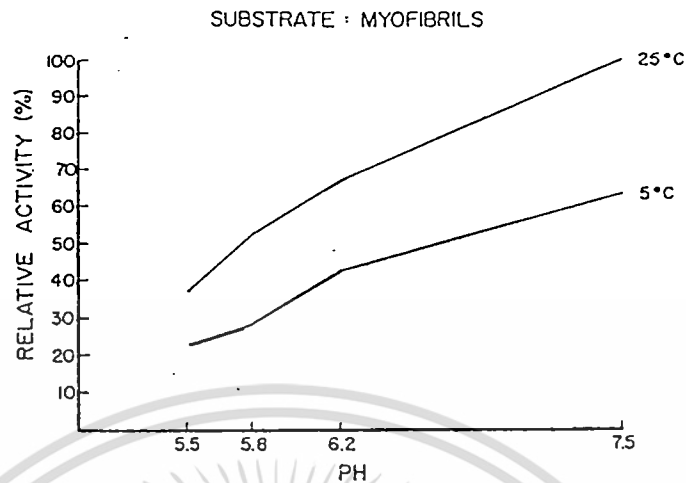
ตัวอักษร ก และ ข ที่อยู่แถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ที่มา : Beltran *et al.* (1996)

จากตารางดังกล่าว พบว่าปริมาณเอนไซม์ในชั่วโมงที่ 2 ภายหลังจากสัตว์ตาย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จะพบความแตกต่างที่ช่วงเวลา 7 วันภายหลังจากสัตว์ตาย โดยพบว่า ในกลุ่มที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างจุดสุดท้าย > 6.3 จะมีปริมาณเอนไซม์ m-calpain สูงสุด ปกติทั่วไปเอนไซม์ m และ  $\mu$  calpain จะทำงานได้ดีในค่าความเป็นกรด-ด่างจุดสุดท้ายที่สูง ดังนั้นในกลุ่ม DFD ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูง จะกระตุ้นให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความนุ่มของเนื้อสัตว์ทำงานได้ดี และยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับการสลายตัวของเนบูลิน โดยพบทั้งกลุ่มที่ค่าความเป็นกรด-ด่างจุดสุดท้าย > 6.3 และค่าความเป็นกรด-ด่างจุดสุดท้าย < 5.8 มีการสลายตัวของโปรตีนเนบูลินได้เร็วกว่ากลุ่มที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างจุดสุดท้าย 6.3-5.8 จะมีความนุ่มมากขึ้น

โดยปกติทั่วไป m-calpain จะทำงานได้ดีในค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 7.0-8.0 และมีประสิทธิภาพเล็กน้อยในการทำงานในช่วง pH 5.5-5.8 และนอกจากนี้ยังต้องการใช้แคลเซียมในการกระตุ้นในปริมาณสูง (Koochmaraie *et al.* 1986)

ในขณะที่  $\mu$ -calpain จะทำงานได้ดีในช่วงของค่าความเป็นกรด-ด่างกว้างกว่า m-calpain ค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีประสิทธิภาพในการทำงานประมาณ 24 % และ 28% ตามลำดับ ณ อุณหภูมิ 5 °C ซึ่งเป็นระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมและพอเพียงต่อการทำให้เนื้อเกิดความนุ่มได้



ภาพที่ 2.3 แสดงประสิทธิภาพของการทำงานของ calpain ที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่างต่างๆ  
ที่มา : Koochmaraie *et al.* (1986)

#### 2.2.2.2 อุณหภูมิในการเก็บรักษาเนื้อ

อุณหภูมิในการเก็บรักษาเนื้อเป็นปัจจัยสำคัญต่อการความนุ่มของเนื้อโค การเก็บรักษาเนื้อวัวที่อุณหภูมิต่ำในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิ 0-15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตั้งแต่ 1 สัปดาห์ขึ้นไป จะทำให้ได้เนื้อที่นุ่มขึ้น เนื่องจากโปรตีนบริเวณ Z-line ในซาร์โคเมอร์ถูกย่อยสลายจึงทำให้เนื้อนุ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันอาจทำให้เกิดปัญหา cold shortening ขึ้นได้หากเก็บในอุณหภูมิและระยะเวลาในการลดอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม (Golightly and Carlin 1972) โดยทั่วไปพบว่า อุณหภูมิที่มีแนวโน้มให้เกิดปัญหาดังกล่าว จะอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส อาจทำให้เกิดปรากฏการณ์ rigor shortening ได้ ซึ่งปรากฏการณ์นี้สามารถเริ่มต้นการเกิดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.0-6.3 และมี ATP อยู่ที่ประมาณ 50 % เมื่อเปรียบเทียบกับในขณะมีชีวิตอยู่ (Berry *et al.* 1971) ซึ่งจะตรงข้ามกับปรากฏการณ์ cold shortening ซึ่งจะเริ่มต้นที่ประมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 และมี ATP ใกล้เคียงกันกับขณะมีชีวิต

เนื้อโคเมื่อถูกเก็บไว้ในห้องเย็นภายหลังถูกฆ่า พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างจะลดลงอย่างช้า แต่ถ้าเก็บเนื้อโคภายหลังถูกฆ่าที่อุณหภูมิสูง จะพบว่า membrane-bound lysosomal เอนไซม์จะถูกปล่อยออกมา ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะทำงานได้ดียิ่งขึ้นเพราะเนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงอย่างรวดเร็วและอุณหภูมิที่สูงพอเหมาะ (Moeller *et al.* 1976, 1977 ; Koochmaraie *et al.* 1986 ; Dransfield 1995 ) กระบวนการการเกิดภายหลังการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อที่อุณหภูมิสูงเนื้อจะมีความนุ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของ  $\mu$ -glucuronidase และ cathepsin ซึ่งเป็นเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นประเภท lysosomal ทั้งสองชนิดที่ทำงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น คาดให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความนุ่มของเนื้อจะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิในช่วงเวลา 2-4 ชั่วโมงแรกภายหลังสัตว์ตาย การเก็บรักษาเนื้อโค ภายใน 3 ชั่วโมงแรกภายหลังสัตว์ตาย ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เนื้อจะมีความนุ่มมากกว่าที่เก็บในอุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส

การทดลองของ Petaja *et al.* (1985) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อภายหลังสัตว์ตายที่เวลาต่างๆกันที่มีต่อการลดลงของค่า pH ดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 แสดงการลดลงของค่า pH ในกล้ามเนื้อที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อภายหลังสัตว์ตายที่เวลาต่างๆกัน

อุณหภูมิ และเวลา ในการ เก็บรักษา	เวลาภายหลังสัตว์ถูกฆ่า (ชั่วโมง)									
	2		4		6		4		24	
	x	SD	x	SD	x	SD	X	SD	x	SD
10 °C/4h	6.32	0.36	6.03	0.62	5.95	0.17	5.81	0.17	5.50	0.08
30 °C/4h	6.22	0.24	5.69	0.29	5.61	0.16	5.49	0.14	5.50	0.11
37 °C/4h	5.98	0.31	5.57	0.11	5.51	0.13	5.51	0.13	5.50	0.07
42 °C/4h	6.05	0.37	5.56	0.11	5.52	0.10	5.53	0.11	5.55	0.07

กำหนดให้: X = ค่าเฉลี่ย

SD = standard deviation

ที่มา : คัดแปลงมาจาก Petaja *et al.* (1985)

ผลจากตารางที่ 2.7 แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการรักษาเนื้อและระยะเวลาภายหลังสัตว์ถูกฆ่ามีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อ ทั้งนี้พบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะมีผลทำให้ค่า pH ลดลงเร็วขึ้น และค่า pH ในเนื้อจะลดลงสัมพันธ์กับระยะเวลาภายหลังสัตว์ตายที่เพิ่มขึ้นและจะลดลงเร็วมากยิ่งขึ้นถ้าอุณหภูมิของการเก็บเนื้อสูงมากขึ้น

### 2.2.2.3 การทำให้เนื้อสุก

การทำให้เนื้อสุกโดยการให้ความร้อนจะมีผลต่อการลดขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ คล้ายกับการเกิด cold shortening แต่จุดที่ต่างกันคือการให้ความร้อนจะทำให้ขนาดเส้นใยมีความหนาลด แต่การเกิด cold shortening จะทำให้ความยาวของเส้นใยลดลง การใช้ความร้อน อาจจะทำให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้นหรือลดลง ซึ่งขึ้นอยู่กับเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเส้นใยของกล้ามเนื้อ อันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเนื้อสัตว์ (Purchas 1993) เนื้อสัตว์ที่มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันค่อนข้างมาก เช่นเนื้อสัตว์บริเวณส่วนขาหลัง การทำให้สุกนั้นต้องคำนึงว่าทำอย่างไร

จึงจะทำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันนั้นคลายความเหนียวลงให้มาก ควรใช้วิธีให้ความร้อนชื้น (moist

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

heat) เป็นระยะเวลาานพอสมควรเพราะน้ำเป็นสื่อในการนำความร้อนที่ดี เนื่องจากโปรตีนคอลลาเจนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะถูกทำให้เกิดการแปลงสภาพและถูกไฮโดรไลซ์ให้กลายเป็นเจลาติน (gelatin) ซึ่งเป็นสารประกอบตัวใหม่ที่มีลักษณะกึ่งเหลวกึ่งแข็ง ทำให้ความเหนียวลดลง (Bouton *et al.* 1982)

สำหรับเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันค่อนข้างน้อย เช่น เนื้อบริเวณสันหลัง การทำให้สุกควรคำนึงเสมอว่าจะต้องให้ความเหนียวของเส้นใยกล้ามเนื้อเกิดขึ้นน้อยที่สุด ดังนั้นการทำให้เนื้อสุกควรใช้ความร้อนไม่สูงมากนัก และใช้ระยะเวลาช่วงสั้นๆ จึงเหมาะกับการใช้ความร้อนแห้ง (dry heat) เช่นการย่าง ปิ้ง หรืออบ เพราะอากาศเป็นสื่อในการนำความร้อนที่ไม่ดี ความร้อนจะผ่านทะลุเข้าไปในก้อนเนื้อได้ช้า เพื่อช่วยลดการเปลี่ยนแปลงสภาพโปรตีน ในเส้นใยกล้ามเนื้อให้น้อยลง เนื้อที่ได้จึงนุ่มขึ้น (Caporaso *et al.* 1978)

อุณหภูมิเนื่อก่อนการเริ่มรับประทานมีผลต่อคุณสมบัติของเนื้อเป็นอย่างมาก อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเริ่มต้นรับประทานเนื้อควรอยู่ที่ระดับ 50 °C (Prost *et al.* 1975) เนื่องจากอุณหภูมิที่ระดับดังกล่าว เนื้อโคจะให้กลิ่นและรสชาติที่ดีที่สุด แต่ทั้งนี้งานทดลองของ Harries *et al.* (1963) ซึ่งเปรียบเทียบอุณหภูมิในระดับต่าง ๆ และพบว่าไม่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เนื่องจากค่าแรงตัดผ่านเป็นการวัดจากความหนาของเส้นใยกล้ามเนื้อ แต่ถ้าทำการทดสอบโดยการชิม (panel test) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดในด้านความนุ่ม ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อเนื้อโคมีอุณหภูมิสูงจะทำให้โครงสร้างภายในกล้ามเนื้อเปลี่ยนแปลงไป เช่น ไขมันหรือเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจำพวกเจลาติน ซึ่งเมื่ออยู่ในอุณหภูมิสูง จะอยู่ในสถานะกึ่งของเหลว แต่ถ้าอยู่ในอุณหภูมิต่ำจะอยู่ในสถานะของแข็ง ดังนั้นจะพบความแตกต่างได้ เมื่อมีการทดสอบโดยการชิมทำให้ผู้บริโภคมีความรู้สึกว่เนื้อมีความนุ่มมากขึ้น (Bouton and Harris 1972 )

ในการศึกษาเรื่องความนุ่มส่วนใหญ่จะให้ความสนใจเรื่องของเส้นใยภายในกล้ามเนื้อ เส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อในแต่ละชนิดจะใหญ่ขึ้นเมื่อโตเต็มวัย (maturity) โดยศึกษาจากสัตว์ 4 ชนิดคือ กระต่าย สุกร แกะ และโค Koochmaraie *et al.* (1982) พบว่า เส้นผ่าศูนย์กลางเส้นใย (fiber diameter) ในโคเต็มวัยจะมีขนาดประมาณ 50 เท่า ของขนาดเมื่อแรกเกิด เส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อเพศผู้ จะมีขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย เส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ของกล้ามเนื้อ Semimembranosus ของโค มีค่า 92.4 ไมครอน และพบว่าเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใหญ่จะทำให้ค่าของค่าแรงตัดผ่านสูงขึ้น เนื้อสัตว์ที่มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางเส้นใยเล็ก จะนุ่มกว่าเนื้อสัตว์ที่มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางเส้นใยใหญ่ ยังพบอีกว่ากล้ามเนื้อ Semitendinosus ที่อยู่ในระยะ pre-rigor จะมีผลทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อ การหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อและค่าแรงตัดผ่านเพิ่มขึ้น

### 2.2.2.4 เอนไซม์

ความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อจะอยู่ที่ค่าประมาณ 5.5 ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังจากสัตว์ตาย การสูญเสียพลังงาน ATP ในการที่จะดำเนินขบวนการขนถ่ายอิเล็กตรอน ทำให้ lipoprotein membrane จะถูกเปลี่ยนสภาพไปในระหว่างขบวนการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภาย หลังสัตว์ตาย รวมทั้งโปรตีนกลุ่มหลักได้แก่ เคสมีน โทรโปนิน ที และเป็นส่วนน้อยที่เป็นโปรตีน จำพวกไททิน โทรโปนิน ไอ โทรโปนิน ซี จะปรากฏหลักฐานที่ส่วนปลายของ แอคตินที่อยู่ใน Z-disk จะเกิดรอยแตกในระหว่างมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากสัตว์ตาย ลักษณะรอยเหล่านี้เป็นส่วนที่ อธิบายได้ว่าภายหลังจากสัตว์ตาย การถูกทำลายของโมเลกุลแอคตินรวมทั้งบริเวณรอย Z-disk การ เลื่อนหายไปของ เคสมีน ซึ่งอยู่บริเวณรอบๆ Z-disk จะพบว่าแยกตัวออกตามแนวยาวได้ง่ายขึ้น โดยพบได้ง่ายมากขึ้นเมื่อกล้ามเนื้อได้ผ่านขบวนการบ่มซาก อัตราการสูญเสียของโทรโปนิน ที จะ ไม่มีความสัมพันธ์กันกับการเปลี่ยนแปลงบริเวณ Z-disk แต่จะพบความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายที่ลดลงอย่าง รวดเร็ว (Koochmaraie 1988) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยโปรตีน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม non-lyzosomal และ lyzosomal รายละเอียดดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 ชนิดของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อการย่อยโปรตีนและช่วง pH ที่เหมาะสมในการทำงาน ของเอนไซม์

เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ทำให้เอนไซม์ทำงาน
Non-lyzosomal	
Calcium activated neutral proteinases (CANP)	6.5-8.0
Trypsin-like (serine) proteinase	6.5-8.0
Neutral (thiol) proteinase	6.5-8.0
Alkaline (serine) proteinase Lyzosomal	7.5-10.5
Lyzosomal	
Cathepsin B	3.0-6.0
Cathepsin D	2.5-4.5
Cathepsin H	5.0-7.0
Cathepsin L	3.0-6.0

ที่มา : Koochmaraie (1990)

เอนไซม์ Calcium Activated Neutral Proteinase (CANP) เป็นเอนไซม์ที่ต้องการ แคลเซียมเป็นตัวกระตุ้นในการทำงาน แบ่งเป็น 2 รูปแบบ

1.  $\mu$ CANP ( $\mu$ -calpain) เป็นเอนไซม์ที่ต้องการ  $\text{Ca}^{2+}$  ปริมาณน้อยหรือประมาณ 1-2 mM ในการทำงานได้ มีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า calpain- I (Dayton *et al.* 1981)

2.  $m$ CANP (m-calpain) เป็นเอนไซม์ที่ต้องการ  $\text{Ca}^{2+}$  ปริมาณสูงคือประมาณ 50-100 mM (Penny และคณะ 1985) มีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า calpain – II (Dayton *et al.* 1981)

จากรายงานการทดสอบการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ในหลอดทดลองพบว่า เอนไซม์ calpain สามารถย่อยสลายโทรโปนิน ที เดสมิน ได้ (Goll *et al.* 1963) และรายงานของ เอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยแอคตินและไททิน รวมทั้งเส้นใยกล้ามเนื้ออื่นๆ ได้บ้างแต่ไม่มาก

เอนไซม์ calpain เป็นกลุ่ม cystein proteinase และถูกยับยั้งโดย leupeptin และกลุ่ม chelator ได้แก่ธาตุสังกะสี หรือพวก EDTA จะทำงานได้ดีที่ค่า pH 7.5 แต่ขณะที่ค่า pH ลดลงถึง 5.5 – 5.8 จะยังคงประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ calpain จะเหลือประมาณ 25 %ของที่ได้ปกติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ calpain จะดีในระยะแรกแต่เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อเริ่มลดลง ประสิทธิภาพของเอนไซม์ calpain จะเริ่มลดลงด้วย ซึ่งหลังจากนั้นก็จะจะมีเอนไซม์ชนิดอื่นๆ เข้ามามีบทบาทต่อขบวนการที่ทำให้เนื้อเกิดความนุ่ม

เนื่องจาก calpain เป็นเอนไซม์ซึ่งต้องการ  $\text{Ca}^{2+}$  เข้าไปกระตุ้นการทำงาน ซึ่งสามารถพิสูจน์ได้โดยการฉีด  $\text{Ca}^{2+}$  เข้าไปในเนื้อโคในช่วงก่อนการเกิดสภาวะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (prerigor mortis) พบว่า ไม่สามารถตรวจพบ  $\mu$ -calpain แต่จะพบเอนไซม์ m-calpain และ calpastatin ในระดับต่ำ ซึ่งปกติเราจะไม่พบเอนไซม์ m-calpain อยู่ในกล้ามเนื้อ เนื่องจากระดับความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ไม่พอเพียงที่กระตุ้นให้เอนไซม์ทำงานได้ (Dayton *et al.* 1981)

ความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ในกล้ามเนื้อเป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการทำงานของเอนไซม์ calpain โดยปกติกล้ามเนื้อในระยะพักจะมีความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  อยู่ในระดับ  $10^{-8}$  M (Dayton *et al.* 1981) และเมื่อกกล้ามเนื้อหดตัว ความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  อยู่ในระดับ  $10^{-5}$  M แต่เมื่อภายหลังสัตว์ตาย  $\text{Ca}^{2+}$  จะเพิ่มขึ้นถึงระดับ  $10^{-4}$  M ซึ่งจะเพียงพอในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain (Goll *et al.* 1964) calpastatin เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ calpain โดยทั่วไปการทำงานของเอนไซม์ calpastatin จะถูกทำลายเมื่อประมาณ 3-5 วัน ภายหลังสัตว์ตาย โดยพบว่าเมื่อมีการบ่มซากโคที่ 3 วันและแช่แข็งจะมีเอนไซม์ calpastatin อยู่ในระดับใกล้เคียงกับการบ่มเนื้อโคที่ 6 วัน เนื่องจากเอนไซม์ calpastatin ถูกทำลายไป (Koochmaraie 1996)

cathepsin เป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในกลุ่ม lysosomal enzyme (Koochmaraie 1988) เอนไซม์ cathepsin ที่สำคัญมี 5 ชนิด โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มเอนไซม์ cathepsinB, H และ L เป็น cystein endopeptidase และกลุ่มเอนไซม์ cathepsin D และ E เป็นกรด (acid) หรือ carboxyl endopeptidase

cathepsin H เป็น aminopeptidase ที่ทำงานได้ใกล้เคียงกับ เอนไซม์ cathepsin H จากตับหนู สามารถย่อยสลายไมโอซินได้มากกว่าเอนไซม์ cathepsin B ถึง 5 เท่าไมโอซินจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ cathepsin L ได้ที่ค่า pH 4.2 ส่วนแอคตินถูกย่อยสลายได้ที่ pH 5 โดยมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 30-40 kDA

## 2.3 กรรมวิธีในการตรวจสอบความนุ่มของเนื้อโค

(1) การวัดความยาวซาร์โคเมอร์ กล้ามเนื้อที่เหนียวซาร์โคเมอร์จะมีการหดตัวสั้นกว่ากล้ามเนื้อที่นุ่ม กรรมวิธีนี้มีข้อจำกัดคือการวัดความยาวซาร์โคเมอร์ ควรจะทำภายใน 24 ชั่วโมงภายหลังจากสัตว์ตาย เนื่องจากค่าความยาวซาร์โคเมอร์นั้นสามารถคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากการเกิด cold shortening โดยจะพบความยาวของซาร์โคเมอร์ที่ลดลงผิดปกติเพราะการเกาะซ้อนกันของ M-line , I-band และ thick filament รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของกายภาพและสัณฐานของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและร่างแหเรติคิวลัม (Koothmaraie 1996)

(2) การวัดปริมาณของคอลลาเจนทั้งหมด ถ้ากล้ามเนื้อที่มีปริมาณของคอลลาเจนสูงจะมีผลทำให้เนื้อโคเหนียว ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดในกล้ามเนื้อจะผันแปร ตามชนิดของกล้ามเนื้อ ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงกรรมวิธีในการวัดปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดเป็นดังนี้ในการวัดความนุ่ม โดยเปลี่ยนเป็นการวัดปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้แทนการวัดปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด ซึ่งจะให้ความแม่นยำมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโคที่มีอายุน้อยจะมีคอลลาเจนที่ละลายได้ในปริมาณสูงกว่าโคที่มีอายุมาก ซึ่งเนื้อที่มีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้สูงจะเหนียวน้อยกว่า ปริมาณคอลลาเจนจะไม่ขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์ ในทางกลับกันชนิดของคอลลาเจนจะขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์ (Goll *et al.* 1964) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Culler *et al.* (1978) จะพบว่ากล้ามเนื้อทุกกลุ่มจะมีปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดในระดับที่ใกล้เคียงกันอย่างไร้ความแตกต่างทางสถิติ แต่สิ่งที่น่าสนใจคือ ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในกลุ่มกล้ามเนื้อที่มีความนุ่มจะมีปริมาณสูงสุดและกล้ามเนื้อที่มีความเหนียวจะมีปริมาณต่ำสุดซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Cross *et al.* (1973) ได้กล่าวว่า ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้จะมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของกล้ามเนื้อ ดังนั้นหากการตรวจสอบความนุ่มของเนื้อโคโดยใช้องค์ประกอบทางชีวเคมี ควรใช้ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในการตรวจสอบเพื่อจัดระดับความนุ่มของเนื้อโค

(3) การใช้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เป็นการวัดความนุ่มทางฟิสิกส์โดยการอาศัยแรงกดของใบมีดที่กระทำต่อเนื้อโคซึ่งสุกแล้ว โดยใบมีดจะตัดผ่านตามแนวขวางของเส้นใยกล้ามเนื้อ ถ้าหากค่าแรงตัดผ่านยิ่งสูง ก็แสดงว่ามีความเหนียวมากขึ้นตามการใช้แรงในการตัดเนื้อให้ขาดออกจากกัน

(4.) การวัดการสลายตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ {myofibril fragmentation index (MFI)} เป็น การวัดความนุ่มอีกวิธีหนึ่ง การใช้ความยาวของคลื่นแสงที่ 540 mM กับเส้นใยของกล้ามเนื้อที่ยังคง เหลือจากการสลายตัวแล้วนำค่าที่ได้มา เปรียบเทียบกับมาตรฐานที่ตั้งไว้โดยกำหนดไว้ดังนี้

MFI	60 หรือมากกว่า	=	นุ่มมาก
MFI	50-59	=	ปานกลาง
MFI	ต่ำกว่า 50	=	เหนียว

การวัดค่า MFI เป็นการวัดความนุ่มที่ได้ผลใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุดวิธีหนึ่ง และสามารถลดปัจจัยที่อาจทำให้คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงได้ เช่น การวัดความยาวซาร์โคเมอร์ ซึ่งอาจให้ผลคลาดเคลื่อนเนื่องจากปัจจัยก่อนสัตว์ตาย เช่น กรรมวิธีในการฆ่า หรือ การหดตัวของ กล้ามเนื้อเนื่องจากการลดอุณหภูมิของเนื้ออย่างรวดเร็ว (cold shortening) หรือปริมาณคอลลาเจน ทั้งหมดและปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ (Koochmaraie 1996)

(5) การใช้ electrophoresis 10 % gel sodium dodecyl sulfate polyacrylamide (SDS-PAGE) โดยมีหลักการคือ เมื่อมีการสลายตัวของโปรตีนให้เปลี่ยนเป็นโปรตีนที่มีหน่วยโมเลกุล เล็กลง เป็นกรดอะมิโน หรือ โพลีเปปไทด์ เป็นต้น และเมื่อทำการทดสอบโดยใช้วิธีโครมาโตกราฟี ทำให้การเดินทางของกรดอะมิโนต่างกันไปตามน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งสามารถที่จะตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ใน pH อุณหภูมิ และเวลาต่าง ๆ ได้ โดยการวัดการสลายตัวของ โปรตีนอิสระที่เกิดขึ้น

ถ้าพบ	30	kDA	แสดงว่ามาจากการสลายตัวของโทรโปนิน-ที
ถ้าพบ	44	kDA	แสดงว่ามาจากการสลายตัวของครีเอทีน
ถ้าพบ	55	kDA	แสดงว่ามาจากการสลายตัวของเดสมีน
ถ้าพบ	115	kDA	แสดงว่ามาจากการสลายตัวของไมโอซิน
ถ้าพบ	300-400	kDA	แสดงว่ามาจากการสลายตัวของ Z-line

จากที่กล่าวมาสามารถประยุกต์การตรวจสอบการสลายตัวของโปรตีนชนิดต่าง ๆ ได้ เช่นการตรวจสอบว่า ถ้ากล้ามเนื้อชนิดนั้นเป็นเส้นใยประเภท type II จะเกิด 30 kDA เร็วกว่ากลุ่มอื่น ๆ เนื่องจากเกิดการสลายตัวของโปรตีน (proteolytic degradation) เร็วกว่าในกลุ่มอื่นๆ นั้นเอง หรือ 44 kDA จะเกิดในกลุ่ม type II เร็วกว่ากลุ่ม type I ทั้งนี้เพราะครีเอทีนไคเนส เป็นส่วนประกอบของซาร์โคพลาสมิกโปรตีน ดังนั้น การสลายตัวของครีเอทีนไคเนสจะเร็ว เนื่องจากเกิดขบวนการ ไกลโคไลติกที่เร็วทำให้เกิด ADP และ Pi ในกล้ามเนื้อปริมาณมาก หรือ เดสมีนเป็นสารตั้งต้น (substrate) ที่เหมาะสมต่อเอนไซม์ calpain หรืออีกกรณีหนึ่งคือไมโอซิน จะพบในกลุ่ม type II มากกว่าในกลุ่ม type I และ type II A รวมทั้งการสลายตัวของเนบูลินและไททิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ให้ความแข็งแรงกว่า Z-line ดังนั้น โปรตีนที่กล่าวมาข้างต้น เราสามารถที่จะวัดการสลายตัวได้ จากโปรตีนอิสระชนิดใหม่ที่เกิดขึ้นได้ (Koochmaraie 1996)

## 2.4 การปรับความนุ่มของเนื้อสัตว์

### 2.4.1 การใช้ไฟฟ้ากระตุ้น

การใช้กระแสไฟฟ้ากระตุ้นซากโคในปัจจุบันมี 2 ระบบคือ

(1) ระบบที่กระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลต์ต่ำ (low voltage stimulation) ระบบนี้จะใช้กระแสไฟฟ้าโวลต์ต่ำหรือประมาณ 20-29 โวลต์ ซึ่งจะสามารถกระตุ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพภายในระยะเวลาเพียงไม่เกิน 8 นาที หลังจากทำให้สัตว์สลบ ซึ่งเร็วเกินไปและไม่เหมาะในการตัดแต่งซาก

(2) ระบบที่กระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลต์สูง (high voltage stimulation) ระบบนี้จะใช้กระแสไฟฟ้าโวลต์สูงหรือประมาณ 500-700 โวลต์ ซึ่งระบบนี้จำเป็นจะต้องใช้ต้นทุนที่สูงขึ้นกว่าระบบกระตุ้นด้วยกระแสโวลต์ต่ำเพราะต้องมีระบบปลอดภัยเป็นพิเศษ และใช้กระแสไฟฟ้ามาก

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของทั้งสองระบบดังกล่าว พบว่าจะให้ผลที่ไม่แตกต่างกันในลักษณะต่างๆของคุณภาพซากโค แต่ระบบกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลต์ต่ำจะมีประสิทธิภาพดีกว่า ระบบกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลต์สูง ทั้งนี้ระบบการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลต์สูงมีการพัฒนาวิธีการใช้อย่างมากในเวลาต่อมา (Kondos and Taylor 1978)

การใช้กระแสไฟฟ้ากระตุ้นซากโคทั้ง 2 ระบบ มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโคได้เท่าเทียมกัน แต่ระบบการใช้กระแสไฟฟ้าโวลต์สูงจะมีประสิทธิภาพดีกว่าในการปรับปรุงคุณภาพของเนื้อ

กรรมวิธี electrophoresis เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงการย่อยโปรตีน ได้พบว่า โโทรโปนิน-ที จะหายไปและเกิดเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนักโมเลกุล 30 kDA เนื้อสันนอกของซีกที่ได้รับ การกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าจะพบว่ามียอยแตกของเซลล์เนื้อเยื่อเป็นช่วงๆ ตลอดเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งแสดงว่าการกระตุ้น โดยกระแสไฟฟ้าจะเพิ่มความนุ่มของเนื้อโค โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายภาพของกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อสันนอกหลังจากกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทันที จะพบ Z-line เกิดการหดตัวและบริเวณ I-band จะแคบกว่าพวกที่ไม่ได้รับการกระตุ้น ทั้งนี้ความยาวซาร์โคเมอร์จะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ระหว่างเนื้อซึ่งได้รับและไม่ได้รับการกระตุ้น ส่วนพวกที่ได้รับการกระตุ้นแล้ว นำไปเก็บบ่มที่ 2 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะพบว่าบริเวณ Z-line มีการแตกออก ซึ่งไม่พบในเนื้อที่ไม่ได้รับการกระตุ้น (Taylor and Comell, 1985)

ภายหลังจากสัตว์ตาย 24 ชั่วโมง ซีกที่ได้รับการกระตุ้น เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จะพบว่ามียอยแตกและแตกของเซลล์เนื้อเยื่อเป็นช่วงๆ การขาดหายไปของ I-band, A-band หรือ Z-line และการฉีกขาดของเส้นใยฝอยทำให้เกิดที่ว่างบริเวณ Z-line เพราะเนื่องจากเกิด

การทำลายโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยกล้ามเนื้อและการสลายตัวของโปรตีน (autolytic proteolysis) ในเนื้อที่ได้รับการกระตุ้น จึงทำให้เนื้อนุ่มขึ้น

#### 2.4.2 การใช้เอนไซม์จากธรรมชาติในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

การใช้สารต่าง ๆ จากพืชเป็นอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งได้ใช้มานาน เช่น Papain , Ficin และ Bromelain สารเหล่านี้เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนจากพืชธรรมชาติ ซึ่งได้รับความสนใจมากและใช้กันมานาน หรือแม้แต่เอนไซม์ที่ได้รับการผลิตจากเชื้อรา เช่น *Asperigillus oryzae* และ *Aspergillus flavus-oryzae* Papain ถูกนำมาใช้มากกว่า 800 ปี โดยชาวแมกซิกกันอินเดีย ด้วยการใส่ใบมะละกอหรือเนื้อมะละกอดับน้ำย่างจากใบมะละกอใส่ลงไปเนื้อโค (Bouton and Harris 1972 )

#### 2.4.3 การบ่มซาก (aging)

การบ่มซากเป็นวิธีการหนึ่งในการปรับความนุ่มของเนื้อซึ่งเกิดขึ้นหลังจากการเกิดสภาวะ rigor mortis ซึ่งเกิดจากการทำลายของเอนไซม์ในเนื้อ มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังภายในเซลล์ทำให้แอกโตไมโอซินถูกตัดขาด ณ บริเวณ Z-line ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อลดลง จนเป็นเหตุให้เนื้อนุ่ม การเปลี่ยนแปลงทางเคมีนี้ส่วนหนึ่งเนื่องมาจากเอนไซม์เข้าไปย่อยโปรตีนที่บริเวณ Z-line รวมทั้ง M-line และไมโอซิน ตลอดจนพบการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลโดยพบว่าไททิน 1 จะเปลี่ยนเป็นไททิน 2 รวมทั้งมีการสลายตัวของเนบูลิน ซึ่งสามารถตรวจสอบโดยวิธี electrophoresis (SDS-PAGE) (Koochmaraie *et al.* 1987 )

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มซากแบ่งเป็น 2 ระดับ คือ

1. Cold temperature ageing หมายถึง การเก็บซากแขวนไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส
2. High temperature ageing หมายถึง การเก็บซากไว้ที่อุณหภูมิห้องเย็นที่สูงกว่า 5 องศาเซลเซียส

Koochmaraie *et al.* (1986) ได้สรุปผลของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของกล้ามเนื้อที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 2-4 °C จนเกิดความนุ่มจากงานทดสอบต่าง ๆ ดังนี้

1. Z-disk จะเกิดการแยกตัวขึ้น และมีการแยกสลายของเส้นใยกล้ามเนื้อ เนื่องจากการสลายตัวของไททินและเดสมีน
2. เกิดการเลื่อนหายไปของโทรโปนิน ที และเกิด 30 kDA ขึ้นแทนที่
3. เกิดการเลื่อนหายไปของเดสมีนและเกิด 95 kDA ขึ้นมาแทนที่
4. เกิดการเลื่อนหายไปของไททิน 1 กลายเป็นไททิน 2 และเนบูลิน โดยปกติไททินและเนบูลินเป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ สามารถใช้ในการเปลี่ยนแปลงไททิน 1 ให้เป็นไททิน 2 และการสลายตัวของเนบูลินเป็นคัซมีนในการตรวจสอบ

5. โปรตีนหลักที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวไมโอซินและแอกตินจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรากฏการณ์ต่างๆเหล่านี้จะเกิดขึ้นภายหลังจากการบ่มซาก เนื่องจากเอนไซม์ calpain เป็นเอนไซม์หลักในการย่อยสลายโปรตีน Ouali (1984) รายงานว่าในความเป็นจริงแล้วเอนไซม์ calpain สามารถทำงานได้ดีที่ pH 7.8-8.0 แต่เมื่อระดับ pH เปลี่ยนแปลงไปอยู่ที่ระดับ 5.5-5.8 Calpain จะทำงานได้เพียง 24-28 % จากปกติ (Goll *et al.* 1983) ทั้งนี้จะทำให้ค่าความนุ่มที่เกิดขึ้นนั้นยังคงเพิ่มขึ้นได้ เนื่องจากทุก ๆ 1 ซาร์โคเมอร์ใน 250 ซาร์โคเมอร์ ที่เกิดการแยกตัวก็จะสามารถทำให้เกิดความนุ่มได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ Wheeler *et al.* (1993) ได้สรุปกลไกที่ทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อ ดังต่อไปนี้

1. เกิดการปลดปล่อยสารบางอย่างที่อยู่รอบๆของเส้นใยกล้ามเนื้อออกมารอบเซลล์
2. มีการย่อยสลายโปรตีนจำพวกไทพินและเนบูลิน ซึ่งโปรตีนทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นโปรตีนที่คำนวณความแข็งแรงของเส้นใยกล้ามเนื้อ จึงทำให้เนื้อเกิดความนุ่มได้
3. บริเวณ Z-disk มีการสลายตัว อันเนื่องจากการเสื่อมสภาพของเส้นใยกล้ามเนื้อและเป็นที่สังเกตว่าการบ่มซาก จะไม่มีผลต่อแอคตินและไมโอซิน การบ่มซากที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างกัน จะทำให้ผลของความนุ่มต่างกัน ดังผลการทดลองของ ถ้าเก็บเนื้อโคที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 14 วัน จะมีการหดตัวของกล้ามเนื้อมากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 10-15 °C การสลายตัวของไทพิน จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาในการบ่มซากโค รวมทั้งปัจจัยอื่นๆในการทำงาน เช่น ระดับความเป็นกรด-ด่างในเนื้อและการทำงานของสารยับยั้งต่างๆเช่น เอนไซม์ calpastatin รวมทั้งขบวนการไกลโคไลติก ขณะที่ทำการบ่มซาก เนื้อจะเกิดความนุ่มขึ้นโดยค่าของ MFI จะสูงขึ้นและจะมีความสัมพันธ์ในทางเดียวกันกับการพบกรดอะมิโนอิสระพวก ลิวซีน (leucine) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ทรีโอนีน (threonine) เมทไธโอนีน (methionine) และ ไฮโดรโพรลีน (hydroxyproline) ซึ่งค่า MFI จะขึ้นอยู่กับชนิดของกล้ามเนื้อด้วย รวมทั้งเอนไซม์ในแต่ละชนิดจะมีตัวยับยั้งเช่น calpain จะมีเอนไซม์ยับยั้งคือ calpastatin หรือ systatin จะเป็นเอนไซม์ยับยั้งของ cathepsin ในขบวนการบ่มซาก ไม่เพียงแต่การย่อยสลายของโปรตีนเท่านั้น แต่จะมีการเปลี่ยนแปลงคอลลาเจนด้วย เช่นปกติเราจะพบคอลลาเจนที่ละลายได้อยู่ในกล้ามเนื้อประมาณ 4.4 µg/ml ภายหลังสัตว์ตาย 1 ชั่วโมงและเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน จะเพิ่มขึ้นเป็น 10.6 µg/ml ซึ่งคอลลาเจนที่ละลายได้ที่พบดังกล่าวนี้คือ ไฮดรอกซีโปรลีน ซึ่งมาจากการย่อยสลายพันธะ แอลฟา เฮลิก ของคอลลาเจนในระหว่างการบ่มซาก Ertherington (1972) ได้รายงานสาเหตุที่พบว่าเนื้อเกิดความนุ่มขึ้น นอกจากการย่อยสลายของโปรตีนแล้วยังมีเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง Zn<sup>2+</sup> metalloprotease และ collagenases Bailey and Light (1989) กล่าวถึงการทำงานร่วมกันของ calpain และ cathepsin และ Zn<sup>2+</sup> metalloprotease ว่าการทำงานของ calpain และ cathepsin จะ depolymerize collagen ให้เป็นหน่วยเล็กและ Zn<sup>2+</sup> metalloprotease จะทำหน้าที่สลายเกลียวออกหลังจากนั้น cathepsin จะทำการย่อยสลายคอลลาเจนในไลโซโซมอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งจะทำให้เกิด single alpha-helix ในไฮดรอกซีโปรลีนและเกิดกรดอะมิโนอิสระด้วย ยังได้รายงานเพิ่มเติมว่า โดยปกติพบ

ไฮดรอกซีโปรตีนอิสระประมาณ 5.5 % ของไฮดรอกซีโปรตีนทั้งหมดและเมื่อเวลาผ่านไปจะพบไฮดรอกซีโปรตีนอิสระเพิ่มมากขึ้น

เอ็นโดไมเซียม (endomysium) และ (perimysium) เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดที่มีคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบหลักทำหน้าที่ในการหุ้มมัดกล้ามเนื้อให้คงรูป (Ebashi *et al.* 1968) โดยเอ็นโดไมเซียมจะหุ้มรอบเส้นใยของกล้ามเนื้อ ส่วนเพอริไมเซียมจะหุ้มมัดกล้ามเนื้อซึ่งจะลดความแข็งแรงลงเมื่อบ่มซากโคเกิน 21 วัน

#### 2.4.4 การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

ภายหลังสัตว์ตาย ผนังของซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมและไมโทคอนเดรีย จะเกิดการเสื่อมสลายโดยมีเอนไซม์ที่ข่อยโปรตีนที่ต้องอาศัยการกระตุ้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ซึ่งเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า CDP ( $\text{Ca}^{2+}$  dependent protease) เอนไซม์นี้แบ่งได้เป็น 2 รูปแบบ ตามระดับความต้องการ  $\text{Ca}^{2+}$  ในการกระตุ้นคือ calpain-I ต้องการความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ในปริมาณต่ำคือที่ประมาณ 10  $\mu\text{m}$  และ calpain-II ต้องการความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ในปริมาณสูง คือที่ประมาณ 250  $\mu\text{m}$  จึงจะสามารถทำงานได้เต็มประสิทธิภาพ calpain จะพบที่ไซโทซอลและตำแหน่งที่ถูกข่อยสลายมากที่สุดคือ Z-line

สิ่งที่มีผลต่อการทำงาน calpain นอกจากขึ้นอยู่กับความเข้มข้น  $\text{Ca}^{2+}$  แล้วยังขึ้นอยู่กับ pH ในเนื้อและอุณหภูมิ (Whipple and Koohmaraie 1992) ซึ่งการทดลองของ Koohmaraie (1990) พบว่า calpain-I เกิดปฏิกิริยาได้ดีที่สุดที่ค่า pH 7 ที่อุณหภูมิ 5 °C

เนื่องจากว่า calpain-II เป็นเอนไซม์ที่ต้องการความเข้มข้นของแคลเซียมในการกระตุ้นปฏิกิริยาในปริมาณมาก จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่า calpain-I ซึ่ง calpain-II จะเกิดได้ดีหลังจากเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังสัตว์ตาย เพราะว่าผนังของซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมและไมโทคอนเดรียเสื่อมสภาพ จะหลัง  $\text{Ca}^{2+}$  ออกมาซึ่งมีปริมาณมากพอที่จะกระตุ้นการทำงานของ calpain-II โดย calpain-II สามารถทำปฏิกิริยาได้ในสภาพค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำหรือที่ค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายได้

Dransfield (1994b) สรุปในเรื่องของขั้นตอนการเกิดความนุ่มของเนื้อที่เกี่ยวข้องกับเอ็นไซม์ calpain และระดับความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ดังนี้

(1) Initiation calpain ที่อยู่ในสถานะเฉื่อย (innert) จะถูกกระตุ้นด้วยระดับความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากร่างกายใช้พลังงานจนหมด จึงไม่เกิดการยึดหดตัวอีก ทำให้มีปริมาณ  $\text{Ca}^{2+}$  สะสมในซาร์โคพลาสมสูงขึ้นไป ประกอบกับการเสื่อมสภาพของซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมและไมโทคอนเดรีย ซึ่งเป็นแหล่งสะสมแคลเซียมในเซลล์กล้ามเนื้อ จึงปล่อย  $\text{Ca}^{2+}$  ออกมาเพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่อถึงระดับที่มากพอที่จะกระตุ้นให้ calpain เริ่มปฏิกิริยาได้ เป็นการเริ่มขบวนการสร้างความนุ่มในเนื้อ

ละลายแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มมากขึ้น จะทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อโคมากขึ้น ส่วนในด้านรสชาติและความชุ่มฉ่ำของเนื้อโค (Juiciness) พบว่า ถ้ามีการใช้ในปริมาณที่สูงขึ้น ทั้งในด้านความเข้มข้นหรือเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะยิ่งทำให้เนื้อมีกลิ่นและรสชาติไม่พึงประสงค์ (off-flavor) มากขึ้น (Diles *et al.* 1994)

Morgan (1991) ได้สรุปว่า การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในระดับที่สูงจะช่วยลดค่าแรงตัดผ่านได้มากกว่าการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในระดับที่ต่ำ เพียงแต่จะได้รสชาติไม่พึงประสงค์เช่นเดียวกับการทดลองของ Koochmaraie *et al.* (1989) พบว่า เมื่อทำการทดลองโดยใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 3 ระดับคือ 300 150 และ 75 mM พบว่า การใช้ในระดับ 300 mM ได้ผลในการปรับปรุงความนุ่มดีที่สุดในแง่จะพบกลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ (Lansdell *et al.* 1995)

จากการทดลองของ Wheeler *et al.* (1991) สามารถสรุปถึงระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในระดับ 200 และ 250 mM และอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อ (wt/wt) จะเพิ่มความนุ่มของเนื้อโคได้ โดยไม่มีอิทธิพลต่อรสชาติ และกลิ่นไม่พึงประสงค์ เช่นเดียวกับข้อสรุปของ Koochmaraie *et al.* (1990) ; Morgan (1991) ; Wheeler *et al.* (1992)

กล้ามเนื้อโคที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังถูกฆ่า ที่ชั่วโมงที่ 1 จะมีค่าแรงตัดผ่านต่ำสุด เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีด ที่ชั่วโมงที่ 12 และ 24 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wheeler *et al.* (1992) ซึ่งฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในเวลา 30 นาทีภายหลังสัตว์ตาย จะให้ค่าแรงตัดผ่านต่ำกว่าการฉีดที่ชั่วโมงที่ 24 เช่นกัน

ตารางที่ 2.9 อิทธิพลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.3 M ในอัตรา 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อที่มีต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อและค่าการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

ข้อมูลที่ศึกษา	ระยะเวลาที่ฉีดสารละลาย ที่ 30 นาที หลังสัตว์ตาย		ระยะเวลาที่ฉีดสารละลาย ที่ 24 ชั่วโมง หลังสัตว์ตาย	
	ควบคุม	CaCl <sub>2</sub>	ควบคุม	CaCl <sub>2</sub>
ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก.)				
2 วัน	10.32 <sup>nu</sup>	2.95 <sup>n</sup>	11.14 <sup>n</sup>	8.43 <sup>u</sup>
5 วัน	9.95 <sup>nu</sup>	3.35 <sup>n</sup>	11.49 <sup>n</sup>	8.61 <sup>u</sup>
ค่าการสูญเสียน้ำหนักใน ระหว่างการเก็บรักษา (%)				
2 วัน	35.8 <sup>n</sup>	28.2 <sup>u</sup>	34.2 <sup>n</sup>	38.1 <sup>n</sup>
5 วัน	31.7 <sup>nu</sup>	29.3 <sup>n</sup>	35.3 <sup>nu</sup>	38.1 <sup>n</sup>

กำหนดให้ : ตัวอักษร ก , ข และ ค ในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

ที่มา : คัดแปลงจาก Wheeler *et al.* (1992)

กรรมวิธีในการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เพื่อการปรับความนุ่มของเนื้อโคนั้นสามารถทำได้ 2 แบบคือ แบบก่อนการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (pre-rigor) และหลังการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (post-rigor) ซึ่งแบบแรกเหมาะสำหรับการทำร่วมกับการทำชำแหละซากอุ่น (hot-boning) โดยลดขั้นตอนการแช่เย็นซากได้ (Etherington *et al.* 1987) หรือถ้ากรณีการทำหลังการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อควรทำร่วมกับการแช่เย็นซากโค และควรฉีดภายในหลังสัตว์ตายภายใน 24 ชั่วโมง จะทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด (Wheeler *et al.* 1991)

ผลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์พบว่า เนื้อโคจะมีการเปลี่ยนแปลงภายในจุดกายวิภาค ในระหว่างกระบวนการบ่มซากจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ Z-line รวมทั้งมีการสลายของ โทรโปนิน ที, โทรโปนิน ไอ, ซี โปรตีน, แอคโตไมโอซิน ไททิน, เนบูลิน, เดสมิน, คอลลาเจน และ มิวโคโพลีแซคคาไรด์ (Dayton *et al.* 1975)

Takahashi *et al.* (1996) ได้อธิบายถึงการแยกตัวของแอคตินและไมโอซิน ในระหว่างการทำบ่มซาก โดยได้แยกโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนัก 34 kDa จาก โทรโปไมโอซิน ซึ่งโปรตีนนี้ถูกปล่อยมาจากเส้นใยกล้ามเนื้อ มีชื่อว่า ที โทรโปไมโอซิน เมื่อมีความเข้มข้นของ Ca<sup>2+</sup> มากกว่า 10<sup>-5</sup> M Ca<sup>2+</sup> ซึ่งจะเป็นระดับที่มีผลทำให้การยึดเกาะกันของแอคโตไมโอซินเสียหายไป การเพิ่มความเข้มข้นของ Ca<sup>2+</sup> ภายหลังสัตว์ตายจะทำให้เกิดการปลดปล่อย ที โทรโปไมโอซิน ซึ่งจะไปรบ

กวนการยึดเกาะกันของแอกตินและไมโอซิน มีผลทำให้เกิดความนุ่มขึ้นได้ และในส่วนโครงสร้างของ A-band การถูกทำลายของ Z-disk ภายหลังจากสัตว์ตายเป็นผลมาจาก  $Ca^{2+}$  ซึ่งผลที่เกิดขึ้นต่อมาคือ การปลดปล่อย พี โทรโปไมโอซิน ซึ่งไปรบกวนการจับกันของแอกโตไมโอซิน นอกจากนี้ความสัมพันธ์ของ พี โทรโปไมโอซิน และความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่า ความยาวของซาร์โคเมอร์เพิ่มขึ้นจาก 2.6 ไมครอน เป็น 3.4 ไมครอน

โดยทั่วไป Z-disk มีองค์ประกอบ 2 ส่วน คือ ส่วนที่มีลักษณะเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อ (Z-filament) และส่วนที่มีรูปทรงไม่แน่นอน (amorphous matrix) ในส่วนที่มีลักษณะเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อ จะมี แอลฟา-แอกตินินเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการคำนวณโครงสร้างที่ทำให้เกิดความแข็งแรง (Takahashi *et al.* 1996)

เอนไซม์ calpain จะมีบทบาทในการเปลี่ยนแปลงของไมโอไฟบริลเป็นผลทำให้เกิดการย่อยสลายของ Z-line ซึ่งจะมีการปลดปล่อย แอลฟา-แอกตินิน (alpha-actinin) และการย่อยสลายของ troponin T และ I รวมทั้ง desmin, tropomyosin, titin C-protein การให้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จึงเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของ calpain ซึ่งจะทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อโค ซึ่งแอลฟา-แอกตินิน จะไม่ถูกย่อยสลายในระหว่างการบ่มซาก แต่จะพบว่ามียธิพลบางอย่างในการทำให้เกิดการรวมตัวของ แอลฟา-แอกตินินกับ Z-(Koochmarai *et al.* 1988b)

การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์จะมีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (drip loss) เนื่องจากเป็นการเพิ่มปริมาณของเหลวเข้าสู่กล้ามเนื้อ ดังนั้นการที่ จะพบว่ามี การเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา มีความสัมพันธ์ ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-holding capacity) ของกล้ามเนื้อในแต่ละชนิด รวมทั้งวิธีการในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Lansdell *et al.* 1995) ซึ่งสอดคล้องต่อรายงานของ Wheeler *et al.* (1993) ที่กล่าวว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ให้เข้าสู่กล้ามเนื้อมากที่สุดควรทำการ ฉีดขนานและในทิศทางเดียวกันกับเส้นใยกล้ามเนื้อ ส่วนระดับความเข้มข้นของสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา โดย Boleman *et al.* (1993) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา โดยทำการศึกษาในกล้ามเนื้อ Semimembranosus พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับ 200 250 และ 300 mM ไม่มี ความแตกต่างกันของเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและเมื่อทำการศึกษา เพิ่มเติมของอิทธิพลของระยะเวลาที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย พบว่า เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาจะสูงขึ้นเมื่อทำการฉีดสารละลายแคลเซียม คลอไรด์ภายหลังสัตว์ตายนานขึ้น กล่าวคือ เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในชั่วโมงที่ 1 6 และ 24 ภาย หลังสัตว์ตาย พบว่าในชั่วโมงที่ 24 จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูง สุดรองลงมาคือที่ 6 และ 1 ชั่วโมงตามลำดับ

จะให้ผลแตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก Wheeler *et al.* (1991) กล่าวว่าการศึกษาละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ซึ่งสอดคล้องต่องานทดลองของ Morgan *et al.* (1991) ที่ได้ทำการศึกษาระบายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 300 mM 10% wt/wt และทำการบ่มเนื้อโคที่ 17 และ 14 วันโดยทำการทดสอบในกล้ามเนื้อ Semimembranosus และ longissimus dorsi ผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกระหว่างชนิดกล้ามเนื้อรวมทั้งการบ่มเนื้อโคที่ระยะวันต่างๆซึ่งขัดแย้งต่องานทดลองของ Morris *et al.* (1997) ที่พบว่าการบ่มซากโคที่นานขึ้น จะมีผลต่อการลดลงของการกักเก็บน้ำในเนื้อทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกลดลง ในขณะที่ Boleman *et al.* (1993) กล่าวว่าการศึกษาละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก แต่จะพบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกจะสูงขึ้นตามระยะเวลาที่นานขึ้นในการศึกษาระบายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย โดยพบว่าการศึกษาระบายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย ที่ 24 ชั่วโมงจะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกสูงกว่าในชั่วโมงที่ 6 ทั้งนี้สามารถอธิบายได้จากเมื่อสัตว์ตาย โปรตีนต่างๆในกล้ามเนื้อจะเริ่มสลายตัวโดยเฉพาะโกลบูลาร์โปรตีนซึ่งมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ ทำให้ความสามารถในการกักเก็บน้ำลดลง Koohmaraie *et al.* (1990) พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก จะมีหลายปัจจัยที่ทำให้เกิดความแตกต่างได้ เช่น ชนิดของสัตว์ โดยพบว่า ในเนื้อแกะการศึกษาระบายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก แต่จะพบได้ในเนื้อโค รวมทั้งยังพบเพิ่มเติมว่าระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

## บทที่ 3

### การวิเคราะห์ข้อมูล

#### 3.1 การทดลองที่ 1

การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดที่มีผลต่อความนุ่มของกล้ามเนื้อทั้ง 5 ชนิด คือกล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps กล้ามเนื้อ Semitendinosus กล้ามเนื้อ Supraspinatus และกล้ามเนื้อสันนอก Longissimus dorsi

ความเข้มข้นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ทดลองมี 4 ระดับ 0 200 250 และ 300 mM โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อในปริมาณ 5% (wt/wt) และระยะเวลาที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 12 ภายหลังจากสัตว์ตาย แล้วนำมาทดสอบคุณภาพของเนื้อโคคือ คุณภาพความนุ่มของเนื้อ โดยพิจารณาจากค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

##### 3.1.1 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

1. อิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0 200 250 และ 300 mM ในอัตรา 5% (wt/wt) พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์สูงขึ้นทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง กล่าวคือที่ระดับความเข้มข้น 300 250 200 และ 0 mM จะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อดังนี้ 8.84 9.04 9.70 และ 10.00 กก. ตามลำดับ ทั้งนี้เนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นระดับ 300 และ 250 mM มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 200 mM ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1

2. อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0 200 250 และ 300 mM ในอัตรา 5% (wt/wt) พบว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 300 250 200 และ 0 mM มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเท่ากับ 3.84 3.75 3.96 และ 3.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 3.1

3. อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0 200 250 และ 300 mM พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น 0 200 250 และ 300 mM จะมีการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกดังนี้ 36.52 36.09 39.73 และ 38.05 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ถึงแม้ว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกมีระดับความเข้มข้น 250 และ 300 mM จะสูงกว่าเมื่อเทียบกับระดับความเข้มข้น 0 และ 200 mM ก็ตาม ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

ข้อมูลที่ศึกษา	ความเข้มข้น (mM)			
	0	200	250	300
ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก.)	10.00 <sup>n</sup>	9.70 <sup>n</sup>	9.04 <sup>u</sup>	8.84 <sup>u</sup>
การสูญเสียน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา (%)	3.25 <sup>u</sup>	3.96 <sup>n</sup>	3.75 <sup>n</sup>	3.84 <sup>n</sup>
การสูญเสียน้ำหนัก ในระหว่างการทำให้สุก (%)	36.52	36.09	39.73	38.05

ตัวอักษร ก และ ข ในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

### 3.1.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

#### 1. อิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าการฉีดชั่วโมงที่ 12 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) กล่าวคือค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มที่ฉีด ณ ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 12 เท่ากับ 9.10 และ 9.69 กก. ตามลำดับ ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2

#### 2. อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 12 ภายหลังสัตว์ตายไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.81 และ 3.59 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2

#### 3. อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

ระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 12 ภายหลังสัตว์ตายไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 35.74

และ 39.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2 อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มแสดงให้เห็นว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ชั่วโมงที่ 6 มีแนวโน้มทำให้มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกน้อยกว่าการฉีดสารละลายดังกล่าวในชั่วโมงที่ 12

ตารางที่ 3.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

ข้อมูลที่ทำการศึกษา	ระยะเวลาในการฉีดภายหลังสัตว์ตาย	
	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง
ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก.)	9.10 <sup>a</sup>	9.69 <sup>a</sup>
การสูญเสียน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา (%)	3.81	3.59
การสูญเสียน้ำหนัก ในระหว่างการทำให้สุก (%)	35.74	39.46

ตัวอักษร ก และ ข ในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

### 3.1.3 อิทธิพลของชนิดของกล้ามเนื้อซึ่งได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

1. อิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ จากตารางที่ 3.3 แสดงให้เห็นว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps กล้ามเนื้อ Semitendinosus กล้ามเนื้อ Supraspinatus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi มีค่าเท่ากับ 9.08 8.82 9.97 8.59 และ 10.51 กก. ตามลำดับ ทั้งนี้พบว่ากล้ามเนื้อ Longissimus dorsi มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงที่สุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกล้ามเนื้อชนิดอื่น ยกเว้นกล้ามเนื้อ Supraspinatus ซึ่งมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำสุด

2. อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา จากตารางที่ 3.3 แสดงให้เห็นว่าการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps กล้ามเนื้อ Semitendinosus กล้ามเนื้อ Supraspinatus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi มีค่าเท่ากับ 3.47 3.41 2.80 5.12 และ 3.70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งพบว่า กล้ามเนื้อ Semitendinosus มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาต่ำสุด ส่วนกล้ามเนื้อ Supraspinatus มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงสุด ซึ่งแตกต่างจากกล้ามเนื้ออื่นๆอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

3. อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ผลการทดลองพบว่า การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกของกล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ

Gluteobiceps กล้ามเนื้อ Semitendinosus กล้ามเนื้อ Supraspinatus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีค่าเท่ากับ 37.43 36.74 37.22 36.78 และ 39.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 3.3 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

ข้อมูลที่ศึกษา	ชนิดของกล้ามเนื้อ				
	TR	BR	ER	FF	LD
ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก.)	9.08 <sup>กข</sup>	8.82 <sup>กข</sup>	9.97 <sup>กข</sup>	8.59 <sup>ข</sup>	10.51 <sup>น</sup>
การสูญเสียน้ำหนัก ในระหว่างการเก็บรักษา (%)	3.47 <sup>ข</sup>	3.41 <sup>ข</sup>	2.81 <sup>น</sup>	5.12 <sup>น</sup>	3.70 <sup>ข</sup>
การสูญเสียน้ำหนัก ในระหว่างการทำให้สุก (%)	37.43	36.74	37.22	36.78	39.84

ตัวอักษร ก, ข และ ค ในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

- TR = top round (*M. semimembranosus*)
- BR = bottom round (*M. gluteobiceps*)
- ER = eye round (*M. semitendinosus*)
- FF = false filet (*M. supraspinatus*)
- LD = loin (*M. longissimus dorsi*)

3.1.4 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

จากตารางที่ 3.4 แสดงให้เห็นว่าไม่มีอิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และกล้ามเนื้อแต่ละชนิดที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ทั้งนี้พบว่า กล้ามเนื้อแต่ละชนิดที่ได้รับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้นในทุกระดับความเข้มข้น จะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง

ตารางที่ 3.4 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด (กก.)

กล้ามเนื้อ	ความเข้มข้น (mM)				ค่าเฉลี่ย
	0	200	250	300	
Semimembranosus	10.11	9.11	8.55	8.54	9.08
Gluteobiceps	9.31	9.79	8.32	7.88	8.82
Semitendinosus	10.74	10.10	9.66	9.38	9.97
Supraspinatus	9.12	8.74	8.24	8.23	8.59
Longissimus dorsi	10.71	10.73	10.44	10.18	10.51
ค่าเฉลี่ย	10.00	9.70	9.04	8.85	9.39

3.1.5 อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

จากตารางที่ 3.5 ในกล้ามเนื้อ Semimembranosus และกล้ามเนื้อ Supraspinatus การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 12 ทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่าการฉีดในชั่วโมงที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับกล้ามเนื้อ Semitendinosus และ กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Gluteobiceps ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 12 มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าในชั่วโมงที่ 6 แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 3.5 อิทธิพลร่วมระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก.)

กล้ามเนื้อ	ระยะเวลาในการฉีด		ค่าเฉลี่ย
	ชั่วโมงที่ 6	ชั่วโมงที่ 12	
Semimembranosus	8.50 <sup>ก</sup>	9.66 <sup>ข</sup>	9.08 <sup>ab</sup>
Gluteobiceps	9.34 <sup>ค</sup>	8.31 <sup>ง</sup>	8.82 <sup>ab</sup>
Semitendinosus	9.63 <sup>ด</sup>	10.32 <sup>ฉ</sup>	9.97 <sup>ab</sup>
Supraspinatus	7.64 <sup>จ</sup>	9.54 <sup>ช</sup>	8.59 <sup>b</sup>
Longissimus dorsi	10.42 <sup>ฉ</sup>	10.61 <sup>น</sup>	10.51 <sup>a</sup>
ค่าเฉลี่ย	9.10 <sup>ว</sup>	9.69 <sup>ข</sup>	9.40

- ตัวอักษร ก ข ค และ ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- ตัวอักษร x และ y ในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )
- ตัวอักษร a และ b ในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

### 3.1.6 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

จากตารางที่ 3.6 แสดงให้เห็นว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่า ที่ทุกระยะเวลาของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นจะทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีแนวโน้มลดลง

ตารางที่ 3.6 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กก.)

ความเข้มข้น (mM)	ระยะเวลาในการฉีด		ค่าเฉลี่ย
	ชั่วโมงที่ 6	ชั่วโมงที่ 12	
0	9.75	10.24	10.00
200	9.82	10.12	9.70
250	8.62	9.46	9.04
300	8.75	8.94	8.85
ค่าเฉลี่ย	9.10	9.69	9.40

### 3.1.7 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

จากตารางที่ 3.7 แสดงให้เห็นว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้พบว่า กล้ามเนื้อชนิดต่างๆ ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 200 250 และ 300 mM มีแนวโน้มในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับความเข้มข้น 0 mM

ตารางที่ 3.7 อิทธิพลร่วมของความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

กล้ามเนื้อ	ความเข้มข้น (mM)				ค่าเฉลี่ย
	0	200	250	300	
Semimembranosus	2.64	3.89	3.70	3.63	3.47
Gluteobiceps	2.93	3.80	3.51	3.42	3.41
Semitendinosus	2.57	2.89	2.68	3.07	2.81
Supraspinatus	4.79	5.35	5.25	5.07	5.12
Longissimus dorsi	3.31	3.87	3.63	3.98	3.70
ค่าเฉลี่ย	3.25	3.96	3.75	3.84	3.70

3.1.8 อิทธิพลร่วมของระยะเวลาที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด

จากตารางที่ 3.8 แสดงให้เห็นว่าไม่มีอิทธิพลร่วมของระยะเวลาและชนิดของกล้ามเนื้อที่มีต่อมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้พบว่ากล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps และกล้ามเนื้อ Supraspinatus ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 6 มีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่าในชั่วโมงที่ 12 ในขณะที่กล้ามเนื้อ Semitendinosus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi มีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาในชั่วโมงที่ 12 สูงกว่าในชั่วโมงที่ 6

ตารางที่ 3.8 อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด

กล้ามเนื้อ	ระยะเวลาในการฉีด		ค่าเฉลี่ย
	ชั่วโมงที่ 6	ชั่วโมงที่ 12	
Semimembranosus	3.79	3.15	3.47
Gluteobiceps	3.73	3.10	3.41
Semitendinosus	2.59	3.03	2.81
Supraspinatus	5.29	4.94	5.12
Longissimus dorsi	3.62	3.76	3.70
<b>ค่าเฉลี่ย</b>	<b>3.81</b>	<b>3.59</b>	<b>3.70</b>

3.1.9 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

จากตารางที่ 3.9 แสดงให้เห็นว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้พบว่าที่ทุกระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ยว่นที่ระดับความเข้มข้น 200 mM ที่ได้รับการฉีดในชั่วโมงที่ 6 มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเมื่อเปรียบเทียบกับต่อการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 12

ตารางที่ 3.9 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

ความเข้มข้น	ระยะเวลาในการฉีด		ค่าเฉลี่ย
	ชั่วโมงที่ 6	ชั่วโมงที่ 12	
0	3.24	3.26	3.25
200	4.13	3.79	3.96
250	3.91	3.60	3.75
300	3.94	3.73	3.84
<b>ค่าเฉลี่ย</b>	<b>3.81</b>	<b>3.59</b>	<b>3.67</b>

### 3.1.10 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

จากตารางที่ 3.10 แสดงให้เห็นว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและชนิดกล้ามเนื้อต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ทั้งนี้พบว่ากล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ได้รับความเข้มข้น 0 mM มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้น 200 250 และ 300 mM ในขณะที่กล้ามเนื้อ Semitendinosus ที่ได้รับความเข้มข้นที่ 0 mM มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้น 200 250 และ 300 mM ส่วนกล้ามเนื้อ Supraspinatus ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 mM มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 250 mM แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 3.10 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

กล้ามเนื้อ	ความเข้มข้น (mM)				ค่าเฉลี่ย
	0	200	250	300	
Semimembranosus	34.53	38.39	38.13	38.39	37.43
Gluteobiceps	34.07	37.36	39.03	37.36	36.74
Semitendinosus	40.40	36.54	34.84	36.54	37.22
Supraspinatus	38.45	36.97	38.68	36.97	36.78
Longissimus dorsi	35.17	40.99	48.00	40.99	39.84
ค่าเฉลี่ย	36.32	38.05	39.73	38.05	37.60

### 3.1.11 อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการนึ่งสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

จากตารางที่ 3.11 แสดงให้เห็นว่าไม่มีอิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการนึ่งสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อที่ทำการทดสอบที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ทั้งนี้พบว่า ที่ระยะเวลาในการนึ่งสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกต่ำกว่า ณ ชั่วโมงที่ 12 ในทุกชนิดกล้ามเนื้อที่ทดสอบ

ตารางที่ 3.11 อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดกล้ามเนื้อ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

กล้ามเนื้อ	ระยะเวลาในการฉีด		ค่าเฉลี่ย
	ชั่วโมงที่ 6	ชั่วโมงที่ 12	
Semimembranosus	37.07	37.80	37.43
Gluteobiceps	36.46	37.02	36.74
Semitendinosus	34.98	39.46	37.22
Supraspinatus	32.48	41.08	36.78
Longissimus dorsi	37.71	41.97	39.84
<b>ค่าเฉลี่ย</b>	<b>35.74</b>	<b>39.46</b>	<b>37.60</b>

3.1.12 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

จากตารางที่ 3.12 แสดงให้เห็นว่าไม่มีอิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกทั้งนี้พบว่า ที่ระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกต่ำกว่าการฉีด ณ ชั่วโมงที่ 12 ในทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบ

ตารางที่ 3.12 อิทธิพลร่วมของระดับความเข้มข้นและเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

ความเข้มข้น	ระยะเวลาในการฉีด		ค่าเฉลี่ย
	ชั่วโมงที่ 6	ชั่วโมงที่ 12	
0	34.34	38.71	36.52
200	33.69	40.18	36.09
250	39.01	40.46	39.73
300	35.92	40.18	38.05
<b>ค่าเฉลี่ย</b>	<b>35.74</b>	<b>39.46</b>	<b>37.60</b>

### 3.2 การทดลองที่ 2

ศึกษาประสิทธิภาพของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 250 mM ในอัตรา 5 % wt/wt เข้าไปในกล้ามเนื้อ 5 ชนิดของซากโคซีกซ้ายดังนี้คือ กล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps กล้ามเนื้อ Semitendinosus กล้ามเนื้อ Supraspinatus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi แล้วนำไปเก็บ(บ่มเนื้อ)ที่อุณหภูมิ 7°C ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน คือ 1 3 และ 5 วัน ทำการเปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อชนิดเดียวกันจากซีกขวาแต่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยใช้ระยะเวลาในการบ่มและอุณหภูมิเช่นเดียวกันแล้วนำมาทดสอบคุณภาพของเนื้อโค 3 ด้าน ได้แก่ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

#### 3.2.1 อิทธิพลที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด

##### 3.2.1.1 กล้ามเนื้อ Semimembranosus

กล้ามเนื้อ Semimembranosus ที่ได้รับการบ่มที่ระยะเวลาที่นานขึ้นทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง โดยพบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะการบ่มที่ 1 3 และ 5 วันเท่ากับ 8.07 7.70 และ 6.19 กก. ตามลำดับซึ่งความแตกต่างดังกล่าวมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) และกลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยพบว่ามีค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดและฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เท่ากับ 8.43 และ 6.21 กก. ตามลำดับ

อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโค พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Semimembranosus ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระยะการบ่ม 1 3 และ 5 วันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่พบว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่บ่มนาน 5 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากลุ่มที่บ่มนาน 1 และ 3 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และพบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระยะการบ่มเนื้อ 5 วันไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ทุกระยะเวลาการบ่ม ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.13

ตารางที่ 3.13 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Semimembranosus

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	6.05 <sup>u</sup>	10.09 <sup>n</sup>	8.07 <sup>a</sup>
3	6.06 <sup>u</sup>	8.80 <sup>n</sup>	7.70 <sup>a</sup>
5	5.97 <sup>u</sup>	6.42 <sup>u</sup>	6.19 <sup>b</sup>
ค่าเฉลี่ย	6.21 <sup>x</sup>	8.43 <sup>y</sup>	7.32

- ตัวอักษร ก และ ข แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

- ตัวอักษร x และ y ในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

- ตัวอักษร a และ b ในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

### 3.2.1.2 กล้ามเนื้อ Gluteobiceps

กล้ามเนื้อ Gluteobiceps ที่ได้รับการบ่มที่ระยะเวลาที่นานขึ้นทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง โดยพบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะการบ่มที่ 1 3 และ 5 วันเท่ากับ 7.50 7.47 และ 6.07 กก.ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) และกลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์จะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยพบว่ามีค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดและฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เท่ากับ 7.95 และ 6.08 กก.ตามลำดับ

อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโค พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Gluteobiceps ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระยะการบ่ม 1 3 และ 5 วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ แต่พบว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์บ่มนาน 5 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากลุ่มที่บ่มนานวันที่ 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และพบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระยะการบ่มเนื้อ 5 วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ทุกระยะเวลาการบ่ม ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.14

ตารางที่ 3.14 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Gluteobiceps

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	5.63 <sup>u</sup>	9.37 <sup>n</sup>	7.50 <sup>a</sup>
3	6.33 <sup>u</sup>	8.61 <sup>n</sup>	7.47 <sup>a</sup>
5	6.27 <sup>u</sup>	5.87 <sup>u</sup>	6.07 <sup>b</sup>
ค่าเฉลี่ย	6.08 <sup>x</sup>	7.95 <sup>y</sup>	7.01

- ตัวอักษร ก และ ข แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- ตัวอักษร x และ y ในแนวนอน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )
- ตัวอักษร a และ b ในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

### 3.2.1.3 กล้ามเนื้อ Semitendinosus

กล้ามเนื้อ Semitendinosus การฉีดหรือไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยมีค่าเท่ากับ 8.74 และ 8.56 กก. ตามลำดับ แต่พบว่าเนื้อที่ระยะการบ่ม 3 และ 5 วันซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.98 และ 8.20 กก. ตามลำดับ มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากลุ่มที่บ่มนาน 1 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งเท่ากับ 9.77 กก. แต่ไม่มีความแตกต่างในค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะการบ่ม 3 และ 5 วัน และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสองต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ดังผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 3.15

ตารางที่ 3.15 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Semitendinosus

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	9.54	10.01	9.77 <sup>a</sup>
3	8.48	7.89	7.98 <sup>b</sup>
5	8.62	7.79	8.20 <sup>b</sup>
ค่าเฉลี่ย	8.74	8.56	8.65

- ตัวอักษร a และ b ในแนวดิ่ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ )

#### 3.2.1.4 กล้ามเนื้อ Supraspinatus

กล้ามเนื้อ Supraspinatus ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 8.00 และ 10.28 กก. ตามลำดับ ส่วนระยะการบ่มเนื้อโคที่นานขึ้นมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ ) โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะการบ่ม 1 วันสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 10.26 และรองลงมาคือ เนื้อที่ระยะการบ่ม 3 และ 5 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 9.28 และ 7.87 กก. ตามลำดับ และไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสองต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.16

ตารางที่ 3.16 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Supraspinatus

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	9.24	11.27	10.26 <sup>a</sup>
3	7.87	10.69	9.28 <sup>b</sup>
5	6.88	8.87	7.87 <sup>c</sup>
ค่าเฉลี่ย	8.00 <sup>x</sup>	10.28 <sup>y</sup>	9.14

- ตัวอักษร a b และ c ในแนวดิ่ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ )

- ตัวอักษร x และ y ในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ )

### 3.2.1.5 กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi

กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 5.68 และ 7.83 กก.ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาการบ่มเนื้อโคไม่มีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยมีแนวโน้มค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะเวลาการบ่ม 1 วันจะสูงที่สุดและรองลงมาคือ ที่ 3 และ 5 วัน ตามลำดับ

อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ ในกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ในกลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ การบ่มเนื้อที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงตามระยะเวลาการบ่มเนื้อที่เพิ่มขึ้น ( $P < 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่บ่มนาน 5 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่บ่มนาน 1 วัน ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ ในตารางที่ 3.17

ตารางที่ 3.17 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโคต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	5.46 <sup>a</sup>	8.78 <sup>n</sup>	7.12
3	5.63 <sup>a</sup>	7.72 <sup>b</sup>	6.67
5	5.97 <sup>a</sup>	6.98 <sup>n</sup>	6.47
ค่าเฉลี่ย	5.68 <sup>x</sup>	7.83 <sup>y</sup>	6.76

- ตัวอักษร ก ข ค และ ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- ตัวอักษร x และ y ในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

### 3.2.2 อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

#### 3.2.2.1 กล้ามเนื้อ Semimembranosus

กล้ามเนื้อ Semimembranosus ที่ได้รับการฉีดหรือไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา โดยพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเท่ากับ 3.17 และ 2.93 ตามลำดับและกล้ามเนื้อ Semimembranosus

ที่มีระยะเวลาการบ่ม 5 วัน มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่าระยะเวลาการบ่ม 1 และ 3 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) โดยพบว่ามีค่าเท่ากับ 2.42 2.80 และ 3.94 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาการบ่มที่ 1 3 และ 5 วันตามลำดับ ทั้งนี้ความแตกต่างที่ระยะเวลาการบ่มที่ 1 และ 3 วัน มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างการบ่ม 1 และ 3 วัน

อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคพบว่า กล้ามเนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระยะเวลาการบ่ม 1 วัน มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 2.77 และ 2.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่การบ่มที่ระยะเวลา 3 และ 5 วันไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างการฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และในเนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาที่ระยะเวลาการบ่ม 1 และ 3 วันแต่มีค่าต่ำกว่าที่ระยะเวลาการบ่มที่ 5 วัน ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์พบว่ามีค่าแตกต่างกันทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มเนื้อเพิ่มขึ้น ( $P<0.05$ ) ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.18

ตารางที่ 3.18 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคต่อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Semimembranosus

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	2.77 <sup>h</sup>	2.07 <sup>h</sup>	2.42 <sup>b</sup>
3	2.70 <sup>h</sup>	2.90 <sup>h</sup>	2.80 <sup>b</sup>
5	4.04 <sup>h</sup>	3.83 <sup>h</sup>	3.94 <sup>a</sup>
ค่าเฉลี่ย	3.17	2.93	3.05

- ตัวอักษร ก ข และ ค แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )
- ตัวอักษร a b และ c ในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ )

### 3.2.2.2 กล้ามเนื้อ Gluteobiceps

กล้ามเนื้อ Gluteobiceps ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ พบว่าไม่มีผลต่อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ส่วนกล้ามเนื้อ Gluteobiceps ที่มีการเก็บบ่มที่นานขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) และไม่มี

อิทธิพลร่วมของการฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.19

ตารางที่ 3.19 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Gluteobiceps

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	2.44	2.26	2.35 <sup>c</sup>
3	2.70	2.73	2.71 <sup>b</sup>
5	3.93	3.98	3.96 <sup>a</sup>
ค่าเฉลี่ย	3.02	2.99	3.01

- ตัวอักษร a b และ c ในแนวนั่ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ )

### 3.2.2.3 กล้ามเนื้อ Semitendinosus

กล้ามเนื้อ Semitendinosus ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่ากล้ามเนื้อที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ ) ส่วนการบ่มเนื้อ โคที่นานขึ้นมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ )

อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคพบเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาในกลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในวันที่ 1 และ 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ในขณะที่ในวันที่ 5 ของกลุ่มดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) แต่ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์จะพบว่า เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการบ่มเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.20

ตารางที่ 3.20 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Semitendinosus

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	3.09 <sup>u</sup>	2.13 <sup>i</sup>	2.61 <sup>b</sup>
3	3.02 <sup>u</sup>	2.84 <sup>h</sup>	2.93 <sup>b</sup>
5	4.01 <sup>n</sup>	4.00 <sup>n</sup>	4.00 <sup>a</sup>
ค่าเฉลี่ย	3.37 <sup>x</sup>	2.99 <sup>y</sup>	3.18

- ตัวอักษร ก ข ค และ ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- ตัวอักษร x และ y ในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )
- ตัวอักษร a, b และ c ในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

#### 3.2.2.4 กล้ามเนื้อ Supraspinatus

กล้ามเนื้อ Supraspinatus ที่ได้รับการบ่มที่นานขึ้นมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโคพบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาในกลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในวันที่ 1 และ 3 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่ในวันที่ 5 ของกลุ่มดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์จะพบว่า เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการบ่มเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับการฉีดและไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระยะการบ่ม 3 และ 5 วัน ยกเว้นที่ระยะการบ่ม 1 วัน จะพบว่ากลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ( $P < 0.05$ ) ดังผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 3.21

ตารางที่ 3.21 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโคที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Supraspinatus

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	2.77 <sup>u</sup>	2.09 <sup>u</sup>	2.43 <sup>c</sup>
3	2.95 <sup>v</sup>	2.89 <sup>v</sup>	2.92 <sup>b</sup>
5	3.65 <sup>n</sup>	3.84 <sup>n</sup>	3.74 <sup>a</sup>
ค่าเฉลี่ย	3.12	2.94	3.03

- ตัวอักษร ก ข ค และ ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )
- ตัวอักษร a b และ c ในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

### 3.2.2.5 กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi

การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาและกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ได้รับการบ่มที่นานขึ้นมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) และไม่พบอิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโคต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.22

ตารางที่ 3.22 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโคที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi

เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
	ฉีด	ไม่ฉีด	
1	2.77	2.42	2.60 <sup>c</sup>
3	2.92	2.96	2.94 <sup>b</sup>
5	3.71	3.96	3.84 <sup>a</sup>
ค่าเฉลี่ย	3.13	3.11	3.12

- ตัวอักษร a b และ c ในแนวดิ่ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

### 3.2.3 อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

กล้ามเนื้อทั้ง 5 ชนิดยกเว้นกล้ามเนื้อ Semitendinosus ที่ได้รับการฉีดและไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และมีการบ่มเนื้อโคที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ทั้งนี้กล้ามเนื้อ Semitendinosus ที่ได้รับการบ่ม 1 วันมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกสูงกว่าเนื้อที่บ่มนาน 3 และ 5 วัน อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ดังผลการทดลองที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.23

ตารางที่ 3.23 อิทธิพลร่วมของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาในการบ่มเนื้อโค ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกของกล้ามเนื้อทั้ง 5 ชนิด

กล้ามเนื้อ	เวลา (วัน)	แคลเซียมคลอไรด์		ค่าเฉลี่ย
		ฉีด	ไม่ฉีด	
Semimembranosus	1	37.84	34.18	36.01
	3	35.74	37.53	36.64
	5	32.92	29.88	31.40
	ค่าเฉลี่ย	35.50	33.87	34.68
Gluteobiceps	1	38.06	34.09	36.08
	3	31.30	37.54	34.42
	5	32.64	35.52	34.08
	ค่าเฉลี่ย	34.00	35.72	34.86
Semitendinosus	1	40.09	32.92	36.51 <sup>a</sup>
	3	36.23	30.52	33.37 <sup>b</sup>
	5	33.18	34.58	33.88 <sup>b</sup>
	ค่าเฉลี่ย	36.50	32.67	34.56
Supraspinatus	1	37.10	35.39	36.25
	3	35.47	33.99	34.73
	5	30.50	36.27	33.39
	ค่าเฉลี่ย	34.36	35.22	34.79
Longissimus dorsi	1	34.58	34.29	34.44
	3	34.87	35.23	35.05
	5	29.44	33.64	31.54
	ค่าเฉลี่ย	32.96	34.39	33.67

-- ตัวอักษร a และ b ในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

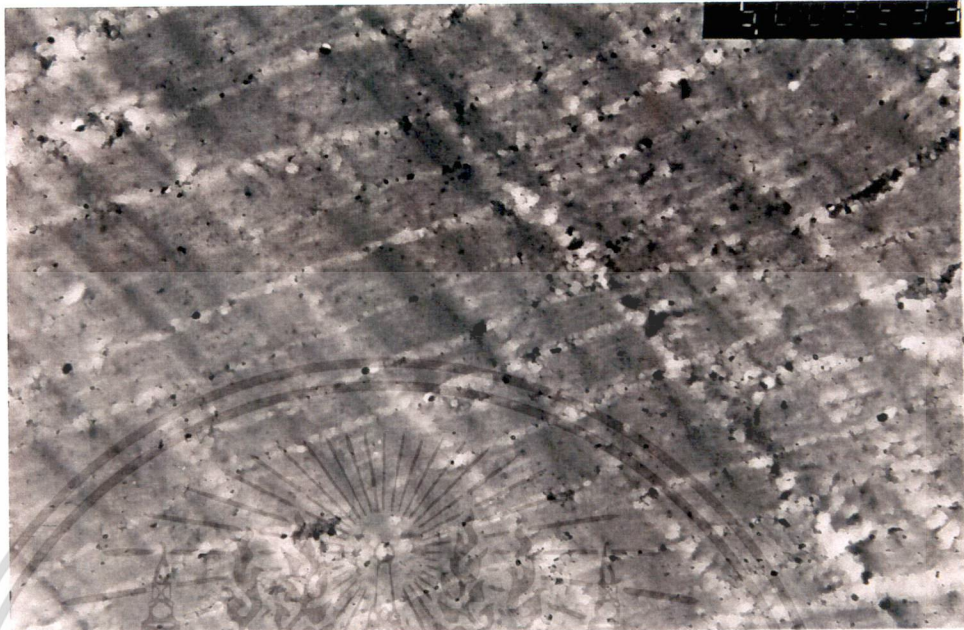
ตารางที่ 3.24 แสดงข้อมูลค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยของกล้ามเนื้อโคชนิดต่างๆ ในชั่วโมงที่ 6 และ 12 ภายหลังจากสัตว์ตาย จากโคทดลอง จำนวน 10 ตัว

ชนิดกล้ามเนื้อ	ระดับ pH	
	6 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
<i>Semimembranosus</i>	5.80	5.60
<i>Gluteobiceps</i>	5.70	5.68
<i>Semitendinosus</i>	5.50	5.50
<i>Supraspinatus</i>	5.60	5.55
<i>Longissimus dorsi</i>	5.80	5.65

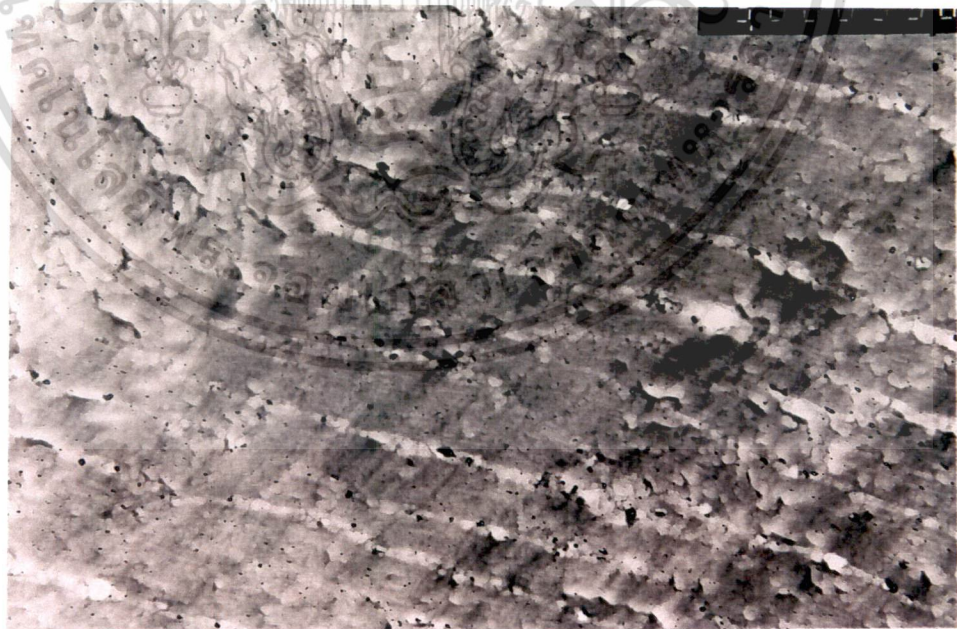
กล้ามเนื้อโคในแต่ละชนิดจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างในกล้ามเนื้อภายหลังจากสัตว์ตาย จากตารางที่ 3.24 จะพบว่ากล้ามเนื้อ *Semitendinosus* และกล้ามเนื้อ *Supraspinatus* มีการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างเร็วกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่นๆ โดยพบว่ากล้ามเนื้อ *Semitendinosus* กล้ามเนื้อ *Supraspinatus* มีค่าความเป็นกรด-ด่างในชั่วโมงที่ 6 ใกล้เคียงกับชั่วโมงที่ 24 ในขณะที่กล้ามเนื้อ *Semimembranosus* กล้ามเนื้อ *Gluteobiceps* และกล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* มีค่าความเป็นกรด-ด่างในชั่วโมงที่ 6 เท่ากับ 5.80 5.60 5.70 และในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 5.68 5.80 และ 5.65 ตามลำดับ

#### 3.2.4 อิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อโครงสร้างกล้ามเนื้อทางจุลกายวิภาค

กล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ระดับ 250 mM และทำการบ่มที่วันที่ 1 และ 5 (ภาพที่ 3.1 และ 3.2) พบว่า โครงสร้างภายในกล้ามเนื้อเปลี่ยนไป โดย Z-line สลายไปเห็นไม่ชัดเจน ซึ่งคล้ายกับโครงสร้างภายในกล้ามเนื้อที่ได้รับการบ่มเพียงอย่างเดียวที่ 5 วัน (ภาพที่ 3.5) ส่วนกล้ามเนื้อที่ไม่ได้รับการฉีดละลายแคลเซียมคลอไรด์ และทำการบ่มที่ 1 (ภาพที่ 3.3) และ 3 วัน (ภาพที่ 3.3- 3.4) พบว่า โครงสร้างภายในกล้ามเนื้อยังคงเป็นปกติ โดยยังคงเห็น Z-line ได้ชัดเจน

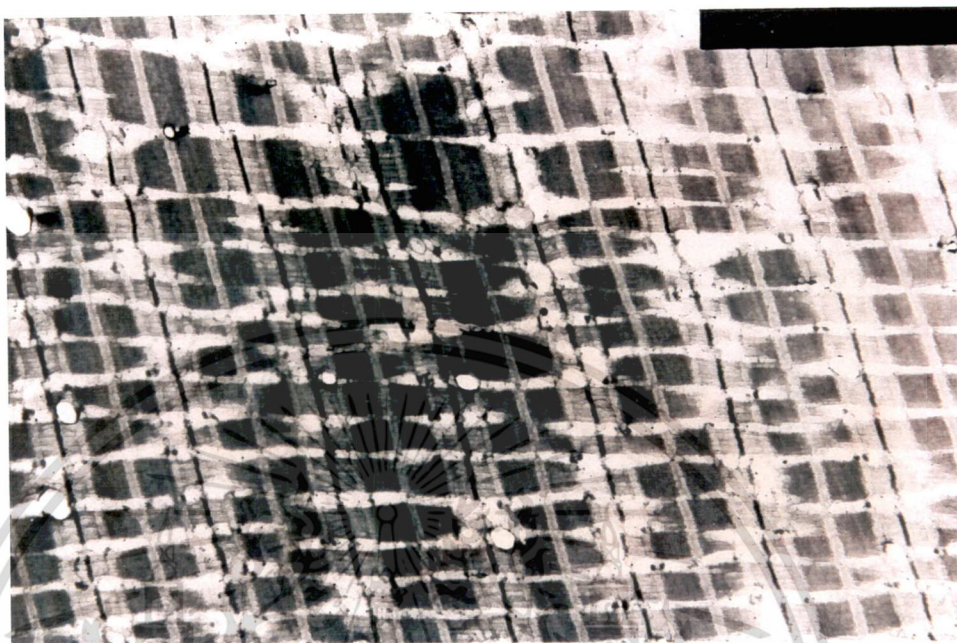


ภาพที่ 3.1 Electron micrograph กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และบ่มที่ 1 วัน

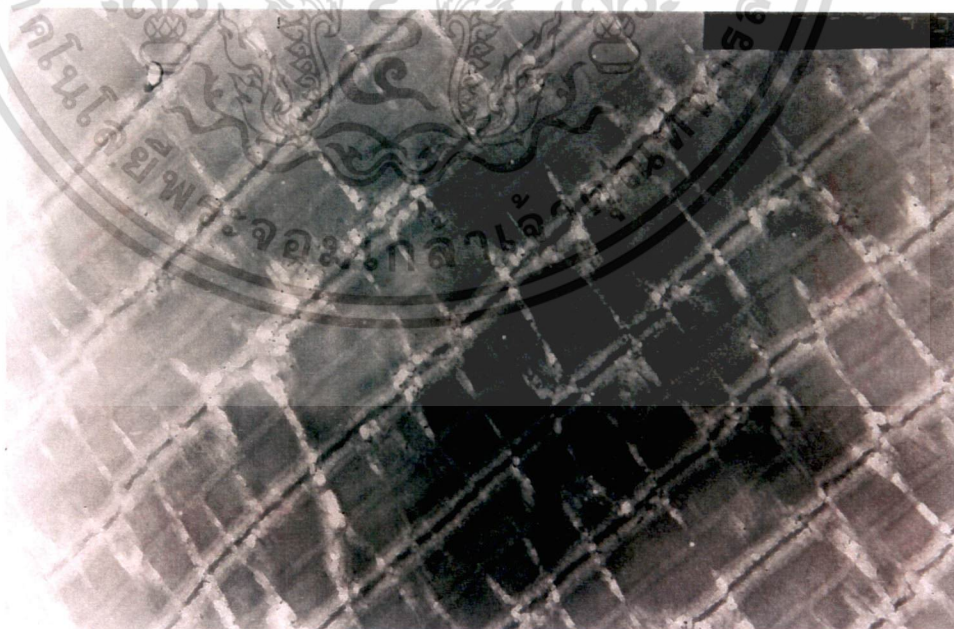


ภาพที่ 3.2 Electron micrograph กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียม

คลอไรด์และบ่มที่ 5 วัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

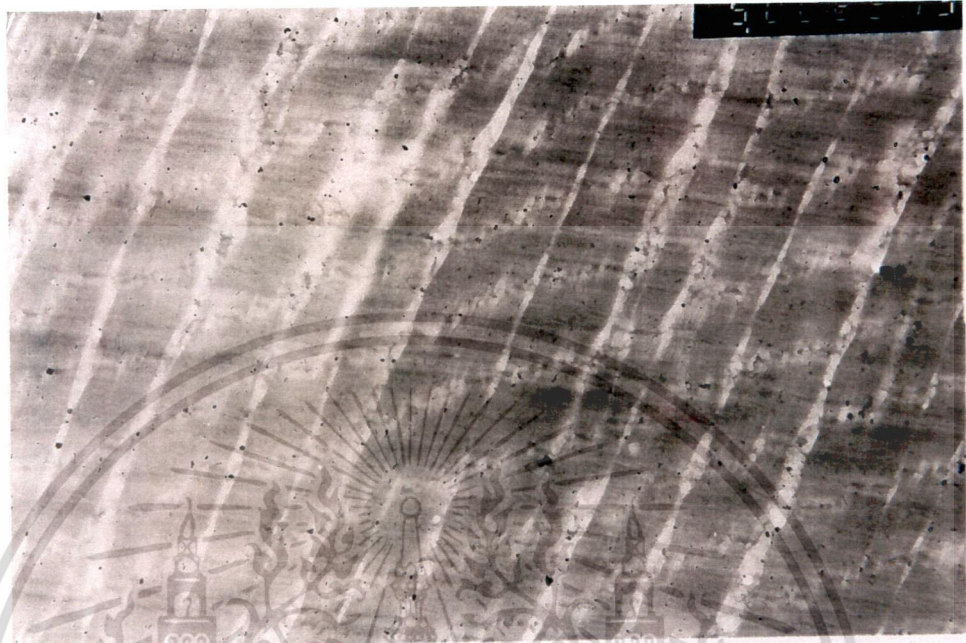


ภาพที่ 3.3 Electron micrograph กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์และบ่มที่ 1 วัน



ภาพที่ 3.4 Electron micrograph กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์และบ่มที่ 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ห้ามการนำออกนอกระบบเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.5 Electron micrograph กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลาย  
แคลเซียมคลอไรด์และบ่มที่ 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

# วิจารณ์ผลการทดลอง

### 4.1 การทดลองที่ 1

#### 4.1.1 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

##### 4.1.1.1 อิทธิพลที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

การศึกษาการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อโค พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์สูงขึ้น มีแนวโน้มของการลดลงของค่าแรงตัดผ่านเนื้อโดยพบการลดลงมากที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 300 mM ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Wheeler *et al.* (1993) ที่พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เพิ่มมากขึ้นมีผลต่อการลดลงของค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ทั้งนี้การลดลงของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ มีผลมาจากเนื้อโคมีความนุ่มมากขึ้น เนื่องจากการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์เป็นการเพิ่ม  $Ca^{2+}$  จากภายนอก (exogenous source) ทำให้กระตุ้นเอนไซม์ calpain-I และ II (Koochmaraie *et al.* 1989) โดยเมื่อทำการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในระดับต่าง ๆ 4 ระดับคือ 0 200 250 และ 300 mM พบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อที่ได้รับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในระดับ 250 และ 300 mM ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้และ 200 mM พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ นอกจากนี้ผลการทดลองยังสอดคล้องต่อรายงานของ Koochmaraie *et al.* (1990) ; Morgan (1991) ; Wheeler *et al.* (1992) ที่ได้สรุปว่าระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในระดับ 200 และ 250 mM ในอัตรา 5% ของน้ำหนักเนื้อโค (wt/wt) เพิ่มความนุ่มของเนื้อโคได้

จากผลการทดลองนี้อธิบายได้ว่า การเพิ่มระดับ  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเข้าสู่กล้ามเนื้อโคเป็นการทำให้ calpain ที่อยู่ในสถานะเฉื่อย (inert) จะถูกกระตุ้นด้วยระดับความเข้มข้นของ  $Ca^{2+}$  ที่เพิ่มสูงขึ้น จนถึงระดับหนึ่ง ก็จะกระตุ้นให้ calpain เริ่มปฏิกิริยาได้เป็นการเริ่มขบวนการสร้างความนุ่มของเนื้อโค ดังนั้นระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะโดยปกติภายหลังสัตว์ตายเอนไซม์ calpain-II ไม่สามารถทำงานได้ ถ้าไม่มีแหล่งแคลเซียมจากภายนอก ทำให้เอนไซม์นี้อยู่ในสถานะเฉื่อย และหมดสภาพการทำงานไป ดังนั้น ถ้าให้ระดับ  $Ca^{2+}$  ไม่สูงพอ ก็จะไม่สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain-II ได้ (Cottin *et al.* 1991)

ดังนั้น จึงสามารถอธิบายได้ว่าระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 200 mM ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ  $Ca^{2+}$  พอเพียงในการกระตุ้นเอนไซม์ calpain-II ได้

#### 4.1.1.2 อิทธิพลที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

ผลการศึกษาพบว่าเนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ทุกระดับความเข้มข้นมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาไม่ต่างกัน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาต่ำที่สุด ทั้งนี้อธิบายได้น้ำหนักที่สูญเสียนั้นคือน้ำจากสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ฉีดเข้าไป ซึ่งโปรตีนในเนื้อไม่สามารถดูดซับไว้ได้ เนื่องจากความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อต่ำ ซึ่งมีเหตุผลที่สนับสนุนได้คือ จากการวัดค่า pH ในกล้ามเนื้อที่ทำกรทดลองภายหลังสัตว์ตายที่ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 12 พบว่า ค่าเฉลี่ยของ pH เท่ากับ 5.64 ซึ่งจัดได้ว่าเป็นค่า ultimate pH หรือค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้าย ซึ่งที่จุดนี้ โปรตีนในเนื้อสัตว์จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำที่สุด (จุฑารัตน์ 2540) ดังนั้นน้ำจากสารละลายที่ถูกฉีดเข้าไปในเนื้อ จึงเป็นการเพิ่มน้ำหนักเริ่มต้นของเนื้อในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักและเมื่อน้ำดังกล่าวไม่สามารถถูกดูดซับไว้ในเนื้อได้ ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักด้วย

#### 4.1.1.3 อิทธิพลที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Morris *et al.* 1977 ที่พบว่าการใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ทั้งนี้การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกเกิดขึ้นเนื่องจากโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการอุ้มน้ำถูกทำลาย เนื่องจากความร้อนที่ทำให้เนื้อสุก

#### 4.1.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีผลต่อการลดลงของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยพบว่าเมื่อฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 6 ภายหลังสัตว์ตาย พบว่าการลดลงของค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 12 การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตายโดยเร็วที่สุด จะมีผลต่อความนุ่มของเนื้อโคมากที่สุด โดยพบว่าเมื่อฉีดในชั่วโมงที่ 1 จะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาอื่น ๆ ที่นานขึ้นภายหลังสัตว์ตาย (Koochmaraie *et al.* 1990)

จากผลการทดลองดังกล่าวอธิบายได้ว่า เอนไซม์ calpain-I ที่ถูกกระตุ้นด้วย  $Ca^{2+}$  จะทำงานได้ดีในระยะแรกและสูญเสียความสามารถในการทำงานเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาภายหลังสัตว์ตายที่นานขึ้น ดังนั้นเมื่อทำการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 6 ภายหลังสัตว์ตาย จึงมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าในชั่วโมงที่ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากผลการทำงาน

ของเอนไซม์ calpain-I สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพในช่วงเวลาที่ 6 มากกว่าในช่วงเวลาที่ 12 (Wheeler *et al.* 1992)

#### 4.1.3 อิทธิพลของชนิดของกล้ามเนื้อ

##### 4.1.3.1 อิทธิพลที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

จากการศึกษาพบว่า กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงที่สุดในขณะที่กล้ามเนื้อ Supraspinatus มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำที่สุด ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ Morgan *et al.* (1991) ที่จัดว่ากล้ามเนื้อ Longissimus dorsi มีความนุ่มมาก แต่ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากเนื้อที่ทำการทดสอบในการศึกษาครั้งนี้มาจากโคลูกผสมพันธุ์เรดซินดีและโคพื้นเมือง ซึ่งโคทั้ง 2 พันธุ์จัดอยู่ในประเภทโคพันธุ์อินเดีย ทั้งนี้ Christensen *et al.* (1991) รายงานว่า เนื้อโคที่ระดับเลือดโคพันธุ์อินเดียสูงขึ้น ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi จะสูงกว่าในกล้ามเนื้อชนิดอื่น

##### 4.1.3.2 อิทธิพลที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาพบว่ากล้ามเนื้อ Supraspinatus มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงที่สุดในขณะที่กล้ามเนื้อ Semitendinosus มีค่าต่ำที่สุด เหตุผลที่สามารถอธิบายได้อาจเป็นเพราะกล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อแตกต่างกัน ได้แก่ เส้นใยกล้ามเนื้อ Type I Type II หรือ Type IIA Type IIB ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการใช้ออกซิเจนในเซลล์ของกล้ามเนื้อ ซึ่งจะมีผลต่ออัตราการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในกล้ามเนื้อและอาจมีผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในเนื้อสัตว์ได้ในเวลาต่อมา แต่เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ข้อมูลที่ได้ทำการศึกษายังไม่สามารถอธิบายถึงเหตุผลของความแตกต่างที่ได้พบจากการศึกษาครั้งนี้ และจากการตรวจสอบเอกสารของนักวิจัยอื่นๆเท่าที่ได้ค้นคว้ามาก็ไม่สามารถที่จะอธิบายผลการทดลองครั้งนี้ได้

#### 4.1.4 อิทธิพลร่วมของระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และชนิดของกล้ามเนื้อต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

จากการศึกษาพบว่า อิทธิพลของกล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทางด้านค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยพบว่ากล้ามเนื้อทั้ง 5 ชนิด ยกเว้นกล้ามเนื้อ Gluteobiceps ให้ผลตอบสนองต่อสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ กล้ามเนื้อ Semimembranosus และกล้ามเนื้อ Supraspinatus การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในช่วงเวลาที่ 6 มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าในช่วงเวลาที่ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนกล้ามเนื้อ Semitendinosus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ถึงแม้ว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่ก็มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อในช่วงเวลาที่ 6 ต่ำกว่าในช่วงเวลาที่ 12 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Wheeler *et al.* (1992) ที่กล่าวว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตายโดยเร็วที่สุดจะเกิดผลดีต่อการปรับความนุ่มได้มากที่สุด ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ calpain แต่กล้ามเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gluteobiceps มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับกล้ามเนื้อชนิดอื่นๆ อาจสันนิษฐานได้ว่าการใช้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อเพียงอย่างเดียวเพื่ออธิบายความนุ่ม-เหนียวอาจไม่ใช่ตัวแทนที่สมบูรณ์ในการบอกระดับความนุ่ม-เหนียวของเนื้อได้ดีพอ เนื่องจากเอนไซม์ calpain มีผลต่อโครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อ แต่บางครั้งพบว่า องค์ประกอบภายในของกล้ามเนื้ออื่นๆ ก็มีผลต่อความนุ่มได้ เช่น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดอื่นๆ ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าแรงตัดผ่านเนื้อได้ (Koochmaraie *et al.* 1990)

## 4.2 การทดลองที่ 2

### 4.2.1 อิทธิพลของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

จากผลการศึกษาพบว่า กล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps กล้ามเนื้อ Semitendinosus และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อชนิดเดียวกันที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Koochmaraie *et al.* (1988a) ที่กล่าวว่า การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์สามารถปรับความนุ่มของเนื้อโคได้เนื่องจากการเพิ่ม  $\text{Ca}^{2+}$  จากภายนอกทำให้เอนไซม์ calpain-II สามารถทำงานได้ ในขณะที่กล้ามเนื้อ Supraspinatus ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของค่าแรงตัดผ่านเนื้อระหว่างการฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ผลดังกล่าวอาจเนื่องจากองค์ประกอบภายในของกล้ามเนื้อแตกต่างจากกล้ามเนื้อชนิดอื่นทำให้การตอบสนองต่อสารละลายแคลเซียมคลอไรด์แตกต่างกันรวมทั้งสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีผลต่อการสลายโปรตีนของเส้นใยกล้ามเนื้อเท่านั้น แต่ไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือองค์ประกอบอื่นๆ (Koochmaraie *et al.* 1990)

จากผลการศึกษาพบว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาในกล้ามเนื้อทุกชนิดยกเว้นกล้ามเนื้อ Supraspinatus ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lansdell *et al.* (1995) ซึ่งกล่าวว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลโดยตรงต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาแต่อาจมีผลทางอ้อมได้ ทั้งนี้เนื่องจากการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เป็นการเพิ่มปริมาณของเหลวในกล้ามเนื้อโดยตรง ดังนั้นการที่เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงขึ้น อาจเนื่องมาจากความสามารถในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อซึ่งมีอิทธิพลจากปัจจัยอื่นๆ เช่น การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ลดลงจนถึงจุดต่ำสุด (ultimate pH) เร็วกว่าปกติซึ่งจะทำให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำและมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาได้

จากผลการศึกษาพบว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกในกล้ามเนื้อทุกชนิดนั้น ไม่น่าจะสอดคล้องกับรายงานของ Koochmaraie *et al.* (1988a) ที่กล่าวว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีผลต่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือองค์ประกอบอื่นๆ (Koochmaraie *et al.* 1990) อย่างไรก็ตาม การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์อาจมีผลต่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือองค์ประกอบอื่นๆ (Koochmaraie *et al.* 1990) อย่างไรก็ตาม การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์อาจมีผลต่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือองค์ประกอบอื่นๆ (Koochmaraie *et al.* 1990) อย่างไรก็ตาม การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์อาจมีผลต่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือองค์ประกอบอื่นๆ (Koochmaraie *et al.* 1990)

Morris *et al.* (1997) ซึ่งกล่าวว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ไม่มีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

#### 4.2.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการบ่มเนื้อ

จากผลการศึกษาพบว่า ในกล้ามเนื้อทุกชนิดยกเว้นกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi เมื่อทำการบ่มนานขึ้นมีผลทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง เนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์ไลโซไซม์ซึ่งอยู่ภายในกล้ามเนื้อ มีผลทำให้เกิดการสลายโปรตีนภายในกล้ามเนื้อ ในขณะที่กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคทั้ง 3 ระยะ คือที่ 1 3 และ 5 วัน ไม่มีผลต่อการลดลงของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ อาจเนื่องจากกล้ามเนื้อ โคที่ทำการทดลองนี้เป็น โคที่มีสายเลือดอินเดียทำให้เป็นกล้ามเนื้อที่มีความเหนียวเป็นพิเศษ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Christensen *et al.* (1991) ที่กล่าวว่า กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ของโคสายพันธุ์อินเดียจะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงตามระดับของสายเลือดโคสายพันธุ์อินเดียที่สูงขึ้น

จากผลการศึกษาพบว่ากล้ามเนื้อทุกชนิดมีผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกัน โดยพบว่าระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคที่นานขึ้นมีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้เนื่องจากระยะเวลาที่นานขึ้นมีผลต่อคุณสมบัติในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Morris *et al.* (1997)

จากผลการศึกษาพบว่ากล้ามเนื้อทุกชนิดยกเว้นกล้ามเนื้อ Semitendinosus ไม่มีความแตกต่างกันของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกเมื่อมีการเก็บรักษาที่นานขึ้น ส่วนสาเหตุที่พบว่ากล้ามเนื้อ Semitendinosus มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกสูงในวันที่ 1 อาจเนื่องจากกล้ามเนื้อนี้มีการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงในวันที่ 1 จึงมีผลต่อเนื่องทำให้มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกสูงเช่นกัน

#### 4.2.3 อิทธิพลร่วมของการฉีดหรือไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และเวลาในการบ่มเนื้อ

จากผลการศึกษาพบว่ากล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Gluteobiceps และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และทำการบ่มเนื้อ โคที่ระยะเวลาต่าง ๆ มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อใกล้เคียงกับการบ่มเนื้อ โดยไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระยะเวลาการบ่ม 5 วัน และจากภาพ Electron Micrograph กล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และทำการบ่มเนื้อ โคที่ระยะเวลา 1 วัน และ 5 วัน และกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และทำการบ่มเนื้อ โคที่ระยะเวลา 5 วัน แสดงให้เห็นการสลายตัวของ Z-line ส่วนภาพ Electron Micrograph ซึ่งเป็นกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และทำการบ่มเนื้อ โคที่ระยะเวลา 1 วัน และ 3 วัน ซึ่งยังพบโครงสร้างภายในกล้ามเนื้อปกติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Wheeler *et al.* (1991) ที่กล่าวว่าการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์สามารถลดระยะเวลาในการบ่มเนื้อ โคลงได้

ในที่กล้ามเนื้อ Semitendinosus และกล้ามเนื้อ Supraspinatus พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิ

พลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ / ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่พบในกล้ามเนื้อดังกล่าวมีการลดลงอย่างรวดเร็วภายในเวลา 6 ชั่วโมง อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เอนไซม์ calpain ไม่สามารถทำงานได้ดีเนื่องจากภาวะความเป็นกรด-ด่างไม่เหมาะสมถึงแม้ว่าจะมีการเพิ่มแหล่ง  $Ca^{2+}$  จากภายนอก

จากผลการศึกษาพบว่ากล้ามเนื้อ Gluteobiceps และกล้ามเนื้อ Longissimus dorsi ทั้งที่ ได้รับและไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีความแตกต่างกันของเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่กล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Semitendinosus และกล้ามเนื้อ Supraspinatus ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงขึ้นตามระยะเวลาบ่มที่นานขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการบ่มเพียงอย่างเดียวโดยไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ทั้งนี้เนื่องจากกล้ามเนื้อที่ได้รับ การบ่มนานขึ้นจะสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำสูงขึ้น ดังนั้นการเพิ่มปริมาณสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อจะเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา มากขึ้น

## บทที่ 5

# สรุปและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุป

การศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการวัดผลของค่าแรงตัดผ่านเนื้อหรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ การวัดค่าความนุ่มของเนื้อ พบว่า สารละลายแคลเซียมคลอไรด์สามารถลดค่าแรงตัดผ่านเนื้อโคได้ โดยการใช้ระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์สูงขึ้นสามารถลดค่าแรงตัดผ่านเนื้อได้มากขึ้น พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในระดับ 250 และ 300 mM ทำให้มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อได้ต่ำสุดและเมื่อทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงประสิทธิภาพในการทำงานของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยทำการผันแปรเวลาในการฉีดพบว่า เมื่อทำการฉีดในชั่วโมงที่ 6 ให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อได้ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับทำการฉีดในชั่วโมงที่ 12 นอกจากนี้ยังศึกษาอิทธิพลร่วมของการบ่มซากร่วมกับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อ จะพบว่าเนื้อโคที่มีการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มไม่จำเป็นต้องมีการบ่มเนื้อ เมื่อทำการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์แล้วทำการบ่มเนื้อโคไว้ในระยะเวลาต่างๆพบว่า ไม่มีมีความแตกต่างของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ไม่ว่าจะในวันที่ 1 3 หรือ 5 ในขณะที่เดียวกันค่าแรงตัดผ่านเนื้อจะมีค่าใกล้เคียงเทียบเท่ากับการบ่มเนื้อโคเพียงอย่างเดียว 5 วัน

จากการศึกษาความนุ่มของเนื้อโคแต่ละชนิดกล้ามเนื้อต่างๆที่ทำการศึกษาพบว่า ส่วนใหญ่จะตอบสนองต่อการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ กล้ามเนื้อทุกชนิดยกเว้นกล้ามเนื้อ Semitendinosus มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มที่ได้รับการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับการบ่มซากโคเพียงอย่างเดียว

ในการศึกษาผลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาพบว่า กล้ามเนื้อโคที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในระดับ 200 250 และ 300 มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่ากลุ่มควบคุม (ระดับ 0 mM) ส่วนระยะเวลาในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในชั่วโมงที่ 6 และ 12 ไม่มีผลความแตกต่างกันของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่ชนิดของกล้ามเนื้อโคที่ได้รับการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน โดยกล้ามเนื้อ Semimembranosus กล้ามเนื้อ Semitendinosus และ กล้ามเนื้อ Supraspinatus ที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงกว่ากล้ามเนื้อชนิดเดียวกันที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ในขณะเดียวกันกล้ามเนื้อโคทั้ง 5 ชนิดที่ทำการศึกษาพบว่า ทั้งกลุ่มที่ได้รับการและไม่ได้รับการฉีดสาร  
เอกสารนี้ ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายแคลเซียมคลอไรด์มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาที่สูงขึ้นเมื่อมีการบ่มที่นานขึ้น

ในการศึกษาผลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกพบว่า ชนิดของกล้ามเนื้อ ระยะเวลาในการจืดและความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรได้มีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องอัตราการลดลงของค่า pH ในกล้ามเนื้อแต่ละชนิด โดยเริ่มภายหลังสัตว์ตาย 1 ชั่วโมงจนถึง ultimate pH ในกล้ามเนื้อแต่ละชนิด และควรได้มีการตรวจสอบเอกสารของนักวิจัยอื่น ๆ ในเรื่องชนิด (type) ของเส้นใยกล้ามเนื้อในแต่ละชนิดของกล้ามเนื้อ เพื่อนำมาอธิบายเพิ่มเติมในเรื่องความนุ่ม-เหนียวของเนื้อที่แตกต่างกัน

2. ผลจากการศึกษาครั้งนี้ควรได้มีการนำไปปรับใช้กับการปรับความนุ่มของเนื้อโคขุนในประเทศไทย โดยทำร่วมกับการชำแหละซากอ่อน ซึ่งทำได้โดยการจืดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อภายหลังการชำแหละซาก นำไปลดอุณหภูมิของเนื้อในห้องเย็น (0-4 °C) ก่อนที่จะนำเนื้อบรรจุในถุงพลาสติกภายใต้สภาวะสุญญากาศก่อนนำไปจำหน่าย

3. ควรได้มีการศึกษาในระดับเอนไซม์ จะทำให้ทราบถึงการทำงานที่แท้จริงของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่ม เนื่องจากการทดลองนี้ใช้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็นตัวแทนในการวัดความนุ่มเป็นการวัดทางกลของกล้ามเนื้ออาจไม่ตรงความเป็นจริงนักเนื่องจาก  $Ca^{2+}$  มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในส่วนของโปรตีนในเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ไม่มีผลต่อองค์ประกอบอื่นของกล้ามเนื้อ

## บรรณานุกรม

- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540. การจัดการโรงฆ่าสัตว์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ. 260 น.
- ชัยณรงค์ คันทพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 276 น.
- ณรงค์ จิ่งสมานญาติ. 2529. หลักการและเทคนิค กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 212 น.
- โสภา สอนดี. 2538. เอกสารประกอบคำสอน สรีรวิทยาทางสัตวแพทย์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร. 64 น.
- อมรา มลิตา และคณะ. 2532. สรีรวิทยาเบื้องต้น. สำนักพิมพ์อักษรเจริญทัศน์ กรุงเทพมหานคร. 347 น.
- Adums , C. H. and Arthaud V. H. 1963. "Influence of Sex and Age Differences on Tenderness of Beef." *J. Anim. Sci.* 22 : 1112-1121.
- Bailey , A. J. 1972. "The Basis of Meat Texture." *J. Sci. Food Agric.* 23 : 995-1004.
- Bailey , C. M. *et al.* 1996. "Quality Factors of the Longissimus dorsi of Young Bulls and Steers." *J. Anim. Sci.* 25 : 504-522.
- Beltran , J. A. *et al.* 1997. "Effect of Stress-induced High Post-mortem pH on Protease Activity and Tenderness of Beef." *Meat Sci.* 45: 201-207.
- Bendall , J. R. and Wismer-Persen , J. 1962. "Some Properties of the Fibrillar Proteins of Normal and Watery Pork Muscle." *J. Food Science.* 27 : 144-156.
- Berry , B. W. *et al.* 1971. "Effect of Freezing Method , Length of Frozen Storage and Cookery from the Thawed or Frozen State on Palatability Characteristics of Pork." *J. Anim. Sci.* 32 : 636-660.
- Bodwell , C.E. *et al.* 1966. "Post-mortem Changes in Muscle". *J. Food Science.* 31 : 1-14.
- Bouton , P. E. and Harris , P. V. 1972. "A Comparison of Some Objective Methods Used to Assess Meat Tenderness." *J. Food Sci.* 37 : 218-230.
- Bouton , P. E. *et al.* 1982. "The Effect of Temperature and Ultimate pH on the Increase in Meat Toughness Resulting from Restraint During Cooking." *Meat Sci.* 6 : 235-241.
- Caporaso , F. 1978. "A Simple Technique for Maintaining Temperature of Cooked Meat Samples Prior to Sensory Evaluation." *J. Food Sci.* 43 : 228-242.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Carroll , F. D. *et al.* 1955. "Brahman-Hereford Crossbreds and Herefords Gams Carcass Yields and Carcass Differences." *J. Anim. Sci.* 14 : 1-14.
- Carpenter, J.W.*et al.* 1961. "Slaughter and Carcass Characteristics of Brahman and Brahman-Shorthorn Crossbred Steers." *J. Animm. Sci.* 20:336.
- Champagne , J. R. *et al.* 1969. "Feedlot Performeence and Carcass Characteristics of Young Bulls and Streers Castrated at Four Ages." *J. Anim. Sci.* 29 : 887-892.
- Christensen, K. L. *et al.* 1991. "The Effect of Breed of Sire and Age at Feeding on Muscle Tenderness in the Beef Chuck." *J. Anim. Sci.* 69:3673.
- Crockett , J. R. *et al.* 1979. "Feedlot and Carcass Characteristics of Calves Sired by Continental , Brahman and Brahman Derivative Sires in Subtropical Florida." *J. Anim. Sci.* 49 :900-909.
- Crouse, J.D. *et al.* 1989. "Comparisons of *Bos indicus* and *Bos taurus* Inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability." *J. Anim. Sci.* 67:2661.
- Culler , R. D. *et al.* 1978. "Relationship of Myofibril Fragmentation Index to Certain Chemical Physical and Sensory Characteristics of Bovine Longissimus Muscle." *J. Food Sci.* 43 : 1177-1180.
- Dayton , W. R. *et al.* 1981. "The Role of Muscle Proteolytic Enzymes in Degradation of the Myofibril." *Proc. Recip. Meat Conf.* 34 : 17-20.
- Diles , J. J. B. *et al.* 1994. "Calcium Chloride Concentration Injection and Aging Period Effects on Tenderness , Sensory and Retail Colour Attributes of Loin Steaks from Mature Cows. *J. Anim. Sci.* 72 : 2017-2021.
- Doty , D. M. and Pierce , J. C. 1961. "Beef Muscle Characteristics as Related to Carcass Grade , Carcass Weight and Degree of Aging." *U.S.D.A. Tech. Bull.* 1231-1235.
- Dransfield, E. 1994a. "Optimisation of Tenderisatio , Aging and Tenderness." *Meat Sci.* 36:105-121.
- Dransfield , E. 1994b. "Modelling Post-Mortem Tenderisation-V : Inactivation of Calpains." *Meat Sci.* 37 : 391-409.
- Dransfield , E. 1996. "Calpains from Thaw Rigor Muscle." *Meat Sci.* 43 : 311-320.
- Ebashi , S. *et al.* 1968. "Troponin-I Preporation and Physiological Function." *J. Biochem.* 64 : 465-472.
- Etherington , D. J. *et al.* 1987. "Relationship between Tenderising and the Levels of Cathepsin-B Cathepsin-L, Calpain-I, Calpain-II and Beta-glucuronidase." *Meat Sci.* 20 : 1-15.

- Field , R. A. *et al.* 1970. "Labile Collagen from Epimysial and Intramuscular Connective Tissue as Related to Warner-Bratzler Shear Values." **J. Agric. Food Chem.** 18 : 280-288.
- Garcia , E. *et al.* 1970. "Sex , Sire and Physiological Factors Affecting Muscle Protein Solubility and Other Characteristics." **J. Anim. Sci.** 31 : 42-48.
- Golightly , M. B. *et al.* 1972. "Relation of Precooking Method and Length of storage at 0° F to Turkey Roasts." **J. Research.** 47 : 61-65.
- Goll , D. E. *et al.* 1963. "Age-Associated Changes in Bovine Muscle Composition. The Isolation and Properties of a Collagenous Residue from Bovine Muscle." **J. Food Sci.** 28 : 503-510.
- Goll , D. E. *et al.* 1964. "Age-Associated Change in Bovine Muscle Connective Tissue. 3. Rate of Solubilization at 100 °C." **J. Food Sci.** 29 : 622-630.
- Goll , D. E. *et al.* 1983. "Role of Muscle Proteinases in Maintenance of Muscle Integrity and Mass." **J. Food Biochem.** 7 : 137-142.
- Graham , P. P. *et al.* 1959. "The Effect of Nutrition and Age of Beef Steers on the Cooking and Eating Characteristics of Meat." **J. Anim. Sci.** 18 : 1475-1479.
- Harries , J. M. *et al.* 1963. "Studies of Beef Quality. 1. Development of a System for Assess Palatability." **J. Sci. Food Agric.** 14 : 501-510.
- Hendrickson , R. L. and Moore , R. E. 1965. "Effect of Animal Age on the Palatability Factor of Beef." **J. Anim. Sci.** 24 : 292-300.
- IRRISTAT VERSION 3/93.** 1992. International Rice Research Institute.
- Johnson, D.D. *et al.* 1990. "Effect of Percentage Brahmand and Angus Breeding , Age-season of Feeding and Slaughter End-point on Meat Palatability and Muscle Characteristics." **J. Anim. Sci.** 68:1980-1986.
- Keendall , T. L. *et al.* 1963. "Effect of pH and Ionic Strength on Bovine m-Calpain and Calpastin Activity." **J. Anim. Sci.** 71 : 96-104.
- Koch , R. M. *et al.* 1982. "Characterization of Biological Types of Cattle (Cycle III). II. Carcass Composition , Quality and Palatability. **J. Anim. Sci.** 54 : 35-41.
- Kondos, A. C. and Taylor , D. G. 1978. "Electrical Stimulating and Temperature on Biochemical Changes in Beef Muscle," **Meat Sci.** 19 : 207-216.
- Koohmaraie , M. S. 1988. "The Role of Endogenous Proteases in Tenderness." **Proc. Recip. Meat Conf.** 41 : 89-93.

- Koohmaraie , M. S. 1990. "Quantification of Calcium Dependent Protease Activities by Hydrophobic and Ion-exchange Chromatography." **J. Anim. Sci.** 68 : 659-663.
- Koohmaraie , M. S. 1996. "Biochemical Factors Regulation the Toughening and Tenderization Process of Meat." **Meat Sci.** 43 193-201.
- ✓ Koohmaraie , M. S. *et al.* 1986. Effect of Low-Calcium-Requiring Calcium Activated Factor on Myofibrils under Varying pH and Temperature Conditions." **J. Food Sci.** 51 : 28-32.
- Koohmaraie , M. S. *et al.* 1987. "Effect of Postmortem Storage on Calcium Dependent Proteases their Inhibitor and Myofibril Fermentation." **Meat Sci.** 19 : 187-192.
- Koohmaraie , M. S. *et al.* 1988a. "Factor Associated with the Tenderness of Three Bovine Muscle." **J. Food Sci.** 53 : 407-415.
- Koohmaraie , M. S. *et al.* 1988b. "Acceleration of Postmortem Tenderization in Ovine Carcasses Through Activation of Ca<sup>++</sup> Dependent Proteases." **J. Food Sci.** 53 : 1638-1641.
- Koohmaraie , M. S. *et al.* 1988c. "Role of Ca<sup>++</sup> Dependent Proteases and Lysosomal Enzymes in Postmortem Changes in Bovine Skeletal Muscle." **J. Food Sci.** 53 : 1253-1257.
- Koohmaraie , M. S. *et al.* 1989. "Acceleration of Postmortem Tenderization in Ovine Carcasses Through Infution of Calcium Chloride : Effect of Concentration and Ionic Strength." **Meat Sci.** 67 : 934-942.
- Koohmaraie , M. S. *et al.* 1990. "Acceleration of Postmortem Tenderization in Lamb and Brahman-cross Beef Carcasses Through Infusion of Calcium Chloride." **J. Anim. Sci.** 68 : 1278-1283.
- Lansdell , T. L. 1995. "Postmortem Injection of Calcium Chloride Effects on Beef Quality Traits." **J. Anim. Sci.** 73 : 1735-1740.
- Mickelson , J. R. 1983. "Calcium Transport by Bovine Skeletal-Muscle Mitochondria and Its Relationship to Post-Mortem Muscle." **Meat Sci.** 9 : 205-229.
- Moeller , P. W. *et al.* 1976. "Effect of High Temperature Conditioning on Subcellular Distribution and Level Lysosomal Enzymes." **J. Food Sci.** 42 : 510-520.
- Moeller , P. W. *et al.* 1977. "High Temperature Effect on Lysosomal Enzyme Distribution and Fragmentation of Bovine Muscle." **J. Food Sci.** 42 : 510-518.
- Morgan , J. B. *et al.* 1989. "Muscle Protein Turnover and Tenderness in Broiler Chickens Fed Cimaterol." **J. Anim. Sci.** 67 : 112-118.

- Morgan , J. B. *et al.* 1991. "Using Calcium Chloride Injection to Improve Tenderness of Beef from Mature Cows. *J. Anim. Sci.* 68 : 4469-4476.
- Ouali , A. 1984. "Sensitivity to Ionic Strength of Mg-Ca-Enhanced ATPase Activity as an Index of Myofibrillar Ageing in Beef." *Meat Sci.* 11 : 79-88.
- Palmer, A.Z. 1963. "Relation of age, breed , sex and feeding practices on beef and pork tenderness." *In:Proc. Meat Tenderness Symp.*, Campbell Soup Co., Camden, NJ. P.161.
- Petaja , E. *et al.* 1985. "Effect of Post-mortem Temperature on Beef Tenderness." *Meat Sci.* 12 : 145-154.
- Prost , E. 1975. "Quality Characteristics of Bovine Meat. II. Beef Tenderness in Relation to Individual Muscles Age and Sex of Animals and Carcass Quality Grade." *J. Anim. Sci.* 41 : 541-547.
- Purchas , R. W. and Aungsupakorn , R. 1993. "Further Investigations into the Relationship Between Ultimate pH and Tenderness for Beef Samples from Bulls and Steers." *Meat Sci.* 34 : 163-178.
- Salisbury, G.W. and Crampton, E. W. 1960. "The Science of Meat and Meat Products." W.H. Freeman and Company., U.S.A. p.219.
- Takahashi , K. 1996. "Structural Weakening of Skeletal Muscle Tissue During Post-Mortem Ageing of Meat : the Non-Enzymatic Mechanism of Meat Tenderization." *Meat Science.* 43 : 67-80.
- Taylor , D. G. and Cornell , J. G. 1985. "The Effects of Electrical Stimulation and Ageing on Beef Tenderness." *Meat Sci.* 12 : 243-251.
- Tuma , H. J. *et al.* 1962. "Influence of Marbling and Animal Age on Factors Associated with Beef Quality." *J. Anim. Sci.* 21 : 848-852.
- Watanabe, A. *et al.* 1991. "Effects of Pithing on pH , Creatine Phosphate and ATP-related Compounds of Beef Psoas major and Longissimus dorsi Muscle" *Meat Sci.* 29 : 221-228.
- Wheeler , T. L. *et al.* 1991. "Effects of Calcium Chloride Injection and Hot Boning on the Tenderness of Round Muscle." *J. Anim. Sci.* 69 : 4871-4875.
- Wheeler , T. L. *et al.* 1992. "The Effect of Postmortem Time of Injection and Freezing on the Effectiveness of Calcium Chloride for Improving Beef Tenderness." *J. Anim. Sci.* 70 : 3451-3457.

- Wheeler, T.L. *et al.* 1990. "Mechanisms Associated with the Variation in Tenderness of Meat from Brahman and Hereford Cattle." **J. Anim. Sci.** 68 :4206-4220.
- Wheeler , T. L. *et al.* 1993. "Effects of Postmortem Injection Time , Injection Level , and Concentration of Calcium Chloride on Beef Quality Traits." **J. Anim. Sci.** 71 : 2965-2974.
- Whipple , G. and Koohmaraie , M. 1992. "Freezing on Beef Tenderness and Calpastatin Activity." **J. Anim. Sci.** 70 : 3081-3085.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้