



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของการบ่มที่มีต่อการละลายได้ของคอลลาเจน การทำงานของเอนไซม์คาลเพน
และคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์
Effect of post mortem ageing on collagen solubility calpain activity and
meat quality of Boer crossbred goat

นางสาวจันทร์พร เจ้าทรัพย์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของการบ่มที่มีต่อการละลายได้ของคอลลาเจน การทำงานของเอนไซม์คัลเพน
และคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์
Effect of post mortem ageing on collagen solubility calpain activity and
meat quality of Boer crossbred goat

นางสาวจันทร์พร เจ้าทรัพย์

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 138257
วันเดือนปี = 5 ต.ค. 2556

b. 12710398
i.

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ผลของการบ่มที่มีต่อการละลายได้ของคอลลาเจน การทำงานของเอ็นไซม์คาลเพน และคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์

แหล่งเงิน.....เงินรายได้คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม.....

ประจำปีงบประมาณ..... 2556..... จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน..... 100,000.00..... บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย..... 1..... ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2555 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2556.....

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด

ผ.ศ.จันทร์พร...เจ้าทรัพย์...คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาอิทธิพลของการบ่มต่อการละลายได้ของคอลลาเจน การทำงานของเอ็นไซม์คาลเพนและคุณภาพเนื้อของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ จำนวน 10 ตัว น้ำหนักมีชีวิตเฉลี่ย 26.52 ± 3.53 กิโลกรัม ผลการศึกษาพบว่าการบ่มเนื้อไม่มีผลต่อการปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย คอลลาเจนรวม และเปอร์เซ็นต์การละลายได้ของคอลลาเจน ($P > 0.05$) การทำงานของ calpain 1 และ calpain 2 ที่ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายมากกว่าที่บ่มไว้ 14 และ 21 วัน ($P < 0.01$) ที่ระยะการบ่ม 14 และ 21 วัน calpain 1 activity เหลือไม่ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ calpain 2 activity ยังคงเหลืออยู่ 75 และ 62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การบ่มไม่มีอิทธิพลต่อการสูญเสียน้ำหลังการทำละลายน้ำแข็งและหลังการปรุง ($P > 0.05$) การบ่มเนื้อช่วยเพิ่มความนุ่มของเนื้อได้โดยพบว่าคุณค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่บ่มไว้ 21 วัน ต่ำกว่าที่บ่มไว้ 14 และ 21 วัน ($P < 0.01$) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตัดผ่านเนื้อกับลักษณะที่ศึกษาอื่นไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

คำสำคัญ : แพะลูกผสมพันธุ์บอร์ การทำงานของเอ็นไซม์คาลเพน คอลลาเจน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

Research Title: Effect of post mortem ageing on collagen solubility calpain activity and meat quality of crossbred boer goats

Researcher: Assistant Professor Chanporn Chaosap

Faculty: Industrial Education **Department:** Agricultural Education

ABSTRACT

The objectives of this study were to examine effects of post mortem ageing time on collagen solubility, calpain activity and meat quality in *Longissimus dorsi* of crossbred boer goats (n = 10, BW = 26.52 ± 3.53 kg). The results showed that post mortem ageing time had no significant difference (P > 0.05) on the content of soluble collagen, insoluble collagen, total collagen and %soluble collagen. Calpain 1 and calpain 2 showed higher activity at 2 h post mortem than at 14 or 21 d ageing (P < 0.01) while there was no significant difference between at 14 and 21 d ageing (P > 0.05). The activity of calpain 1 at 14 d and 21 d ageing was less than 1% (of at 2 h post mortem). While calpain 2 activity was still high at 14 d (75%) and 21 d ageing (62%). There was no significant effect of post mortem ageing time on thawing loss and cooking loss (P > 0.05). Meat tenderness was improved by post mortem ageing as shear force value at 21 d ageing was significantly lower than at 7 and 14 d ageing (P < 0.01). There was no significant correlation between shear force value and other traits (P > 0.05).

Keywords : crossbred boer goat, calpain activity, collagen, shear force value

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในโครงการ “ผลของการบ่มที่มีต่อการละลายได้ของคอลลาเจน การทำงานของเอ็นไซม์คาลเพนและคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์” นี้ ได้บรรลุผลสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ โดยได้รับความร่วมมือและความช่วยเหลือจาก นักศึกษาปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการเกษตร สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ นางสาว อภิชญา พึ่งสุข ซึ่งได้ให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ คุณเจริญศรี วุฒชกุล เจ้าหน้าที่บริหาร ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร รวมถึงบุคลากรฝ่ายงานนโยบายและแผน และฝ่ายงานการเงินและพัสดุของคณะฯ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยงานและบุคคลที่ได้กล่าวนามมาข้างต้นที่ได้ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือจนโครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

งานวิจัย เรื่อง “ผลของการบ่มที่มีต่อการละลายได้ของคอลลาเจน การทำงานของเอ็นไซม์คาลเพน และคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์” นี้ได้รับเงินวิจัยจากเงินรายได้คณะฯ เป็นจำนวน 100,000 บาท

จันทร์พร เจ้าทรัพย์

เมษายน 2557



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	V
สารบัญภาพ.....	VI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	10
3.1 การเตรียมตัวอย่าง.....	10
3.2 วิธีการทดลอง.....	10
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	15
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	16
4.1 อิทธิพลของการบ่มต่อปริมาณคอลลาเจน.....	16
4.2 อิทธิพลของการบ่มต่อการทำงานของเอนไซม์ calpains.....	16
4.3 อิทธิพลของการบ่มต่อคุณภาพเนื้อ.....	18
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษาต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ.....	19
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	21
เอกสารอ้างอิง.....	22
ภาคผนวก.....	25
ภาคผนวก ก ค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย.....	26
ประวัตินักวิจัย.....	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 อัตราความนุ่มของเนื้อของสัตว์แต่ละชนิดเมื่อบ่มซากไว้ที่ 1 องศาเซลเซียส.....	6
2 จำนวนวันที่เหมาะสมในการบ่มซากเพื่อให้เนื้อนุ่ม.....	6
3 ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดและคอลลาเจนที่ไม่ละลายในกล้ามเนื้อภายหลังจากบ่ม.....	7
4 ส่วนประกอบของโภชนะในเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ.....	8
5 คุณภาพเนื้อของแพะที่พันธุ์และอายุต่างกัน.....	9
6 สูตรอาหารชั้นโปรตีน 12 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้ในการเลี้ยงแพะ ประกอบด้วย.....	10
7 อิทธิพลของการบ่มต่อปริมาณคอลลาเจนของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์.....	16
8 อิทธิพลของการบ่มต่อการทำงานของเอนไซม์ calpains.....	17
9 อิทธิพลของการบ่มต่อการสูญเสีย น้ำ และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ.....	18
10 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษากับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ.....	20



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ห่อหุ้มกล้ามเนื้อ.....	4
2 การเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์ calpain activity และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ.....	5
3 การเปลี่ยนแปลงของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 (μ - calpain) calpain 2 (m - calpain) และ calpastatin ของกล้ามเนื้อ <i>Semimembranosus</i> ของโคในระหว่างการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส.....	5
4 การเปลี่ยนแปลงของเส้นใยกล้ามเนื้อภายหลังการบ่ม.....	6
5 จำนวนแพะที่เลี้ยงในประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 – พ.ศ. 2554.....	7
6 โซโมแกรมของ calpain 1 และ calpain 2 activity ของกล้ามเนื้อสันใน (PM) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) กล้ามเนื้อสันในเทียม (SS) และกล้ามเนื้อใบพาย (IF) ที่เก็บตัวอย่างประมาณ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย (IF0, SS0, LD0, PM0) ตัวอย่างที่บ่มไว้ 14 วัน (IF14, SS14, LD14, PM14) และ 21 วัน (IF21, SS21, LD21, PM21) โดยในแต่ละเจลมีตัวอย่างมาตรฐาน (STD) ซึ่งใช้กล้ามเนื้อสันนอกของแพะหมายเลข 3 ที่เก็บตัวอย่างที่ประมาณ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบระหว่างเจล.....	17
7 การเปลี่ยนแปลงของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 และ 21 วัน เมื่อเทียบกับที่ 2 ชั่วโมงหลังฆ่า.....	18

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจัยสำคัญต่อการตัดสินใจในการเลือกเนื้อของผู้บริโภคคือเรื่องของความนุ่มของเนื้อ โดยผู้บริโภคยินดีที่จะซื้อเนื้อที่มีความนุ่มในราคาที่แพงกว่าเนื้อที่เหนียว (Boleman et al., 1997) แต่อย่างไรก็ตามการผลิตเนื้อให้มีคุณภาพสม่ำเสมอและตรงกับความต้องการของผู้บริโภคนั้นนับว่าเป็นเรื่องยาก เนื่องจากความแปรปรวนขององค์ประกอบภายในกล้ามเนื้อของสัตว์แต่ละตัวหรือแม้แต่ในสัตว์ตัวเดียวกันก็มีความแปรปรวนเกิดขึ้นเนื่องจากกล้ามเนื้อต่างชนิดกัน (Miller et al., 1987) ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อคือโครงสร้างของกล้ามเนื้อว่าอยู่ในระยะหดตัวหรือคลายตัว โดยถ้าอยู่ในสภาวะคลายตัวก็จะมีผลทำให้เนื้อนุ่ม ปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งก็คือปริมาณและคุณภาพของคอลลาเจนที่อยู่ภายในกล้ามเนื้อ (Archile-Contreras et al., 2010) คอลลาเจนเป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เมื่อสัตว์เข้าสู่ระยะโตเต็มวัย โมเลกุลคอลลาเจนที่อยู่ภายในกล้ามเนื้อลายจะมีการต่อเชื่อมกันเป็นร่างแห (cross-linking) เพื่อช่วยพยุงโครงสร้างของกล้ามเนื้อลาย แต่คอลลาเจนที่ต่อเชื่อมกันเป็นร่างแหนี้จะทำให้เนื้อมีความเหนียวเพิ่มขึ้นอย่างมาก

การเปลี่ยนแปลงภายในกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตายนับว่าเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อ โดยโปรตีนที่เป็นโครงสร้างของกล้ามเนื้อจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่อยู่ในเนื้อนั่นเอง มีรายงานว่า การบ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 1 -3 องศาเซลเซียสจะช่วยเพิ่มความนุ่มของเนื้อได้ โดยเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญที่สุดคือ เอนไซม์คาลเพน จะทำการย่อยสลายโปรตีน เช่น โทรโปนิน (troponin) ไตติน (titin) และเดสมิน (desmin) ที่อยู่ในโครงสร้างของกล้ามเนื้อ (Boehm et al., 1998; te Pas et al., 2004) นอกจากนี้ Sylvestre et al (2002) ยังรายงานการสลายตัวของคอลลาเจนว่าอาจเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ matrix metalloproteinase โดยพบสหสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างเอนไซม์ชนิดนี้กับปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายทั้งในเนื้อที่ระยะเวลาหลังสัตว์ตายและหลังผ่านการบ่มไว้ 21 วัน

เนื่องจากคอลลาเจนและเอนไซม์คาลเพนมีอิทธิพลอย่างมากต่อความนุ่มของเนื้อ และจากผลการวิจัยดังกล่าวข้างต้นที่รายงานว่า การบ่มเนื้อสามารถช่วยเพิ่มความนุ่มของเนื้อได้ ดังนั้นการวิจัยครั้งจึงมุ่งที่จะทำการศึกษาถึงอิทธิพลของการบ่มที่มีต่อการสลายตัวของคอลลาเจนและต่อการทำงานของเอนไซม์คาลเพน ซึ่งในที่สุดแล้วอาจจะช่วยเพิ่มความนุ่มของเนื้อได้ โดยเนื้อสัตว์ที่จะใช้ในการทดลองครั้งนี้คือเนื้อแพะ เนื่องจากภาครัฐได้ส่งเสริมและสนับสนุนการเลี้ยงแพะให้มีการเลี้ยงเพิ่มขึ้นในหลายพื้นที่ โดยเฉพาะภาคใต้ตอนล่างซึ่งส่วนใหญ่เป็นชาวไทยมุสลิม ที่มีความต้องการบริโภคเนื้อแพะเป็นอาหารและเพื่อประกอบในพิธีกรรมต่างๆ ด้วย เนื่องจากแพะเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก ขยายพันธุ์ได้เร็ว และระยะตั้งท้องสั้น ให้ลูกได้ปีละ 2 ครอก ประมาณ 2 - 8 ตัวต่อปี ใช้พื้นที่ในการเลี้ยงน้อย ทนต่อสภาพอากาศที่ร้อนได้ดี อีกทั้งยังเป็นสัตว์ที่เลี้ยงง่าย นอกจากนี้การบริโภคเนื้อแพะยังมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากเนื้อแพะจัดว่าเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค เพราะเป็นเนื้อที่มีไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่น (ไชยวรรณ, 2551)

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งที่จะทำการศึกษาถึงอิทธิพลของระยะเวลาการบ่มเนื้อที่จะมีผลต่อการเพิ่มการละลายได้ของคอลลาเจน รวมทั้งศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์คาลเพนซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อการเพิ่มความนุ่มของเนื้อ รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแต่ละปัจจัยที่ทำการศึกษาดังกล่าว เพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของเนื้อแพะต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. วิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย และปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดที่ทุกระยะการบ่ม
2. วิเคราะห์การทำงานของเอ็นไซม์คอลเปนที่ทุกระยะการบ่ม
3. วิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา และ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงที่ทุกระยะการบ่ม
4. วิเคราะห์หาค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ทุกระยะการบ่ม
5. หาความสัมพันธ์ระหว่างทุกลักษณะที่ศึกษากับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ จะศึกษาถึงอิทธิพลของการบ่มเนื้อที่อุณหภูมิประมาณ 1-3 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 14 และ 21 วัน ที่มีต่อปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย และปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด การทำงานของเอ็นไซม์คอลเปน เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยทำการศึกษาในกลุ่มเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ เพศผู้ อายุประมาณ 1 ปี น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 25 กิโลกรัม

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

ทำการศึกษาโดยใช้กล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) จากแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ทั้งหมด 10 ตัว เพศผู้ น้ำหนักมีชีวิตเฉลี่ย 26.52 ± 3.53 กิโลกรัม โดยเป็นแพะที่เริ่มเข้าขุนแบบขังคอกเมื่ออายุได้ประมาณ 7-10 เดือน โดยทำการขุนเป็นระยะเวลา 3 เดือน สูตรอาหารข้นที่ให้มีโปรตีน 12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อขุนครบ 3 เดือน แล้วนำเข้าฆ่าที่โรงฆ่าสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม หลังจากที่แพะถูกฆ่าและชำแหละแล้ว ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อ แล้วนำมาบรรจุในถุงสุญญากาศ (vacuum) บ่มที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซลเซียส จนถึงครบ 7 14 และ 21 วัน เมื่อครบเวลาการบ่มจึงนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

- 1) วิเคราะห์หาเอ็นไซม์ calpain activity ด้วย casein zymography (Arther and Mykle, 2000)
- 2) วิเคราะห์หาคอลลาเจน (Hill et al., 1966)
- 3) วัดค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา
- 4) วัดค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง
- 5) วัดความนุ่มของเนื้อด้วยการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ตามวิธีของ Boccard et al. (1981)

รายละเอียดวิธีดำเนินการวิจัย ดังในบทที่ 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำผลการวิจัยครั้งนี้ไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อแพะต่อไป
2. สามารถนำไปใช้ประกอบการเรียนการสอนวิชาการจัดการเนื้อสัตว์ และวิชาเทคโนโลยีการฆ่าสัตว์
3. ผลที่ได้จากการวิจัยสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อการวิจัยต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิด ทฤษฎีหลักของงานวิจัย

การบ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 1-4 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีนในเนื้อสัตว์ โดยเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญคือ calpains นอกจากนี้การบ่มเนื้อช่วยเพิ่มการละลายได้ของคอลลาเจนซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่พบมากในเนื้อ ในที่สุดจะนำไปสู่การเพิ่มความนุ่มของเนื้อนั่นเอง

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

2.2.1 เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและคอลลาเจน (connective tissue and collagen)

เนื้อเยื่อเกี่ยวพันทำหน้าที่เชื่อมโยงยึดเหนี่ยวอวัยวะและโครงสร้างต่าง ๆ ของร่างกายให้อยู่รวมกัน และค้ำจุนร่างกาย เนื้อเยื่อเกี่ยวพันประกอบด้วยเซลล์เรียงกันอยู่ห่างๆ อยู่ในสารระหว่างเซลล์ ที่เรียกว่า matrix หรือ extracellular substance สารระหว่างเซลล์ประกอบด้วยเส้นใย (extracellular fiber) และสารประกอบที่มีลักษณะใสและมีความหนืด (ground substance) เนื้อเยื่อเกี่ยวพันสามารถจัดจำแนกตามเซลล์หรือตามสารระหว่างเซลล์ซึ่งมีความแตกต่างกันมากตั้งแต่ลักษณะเหมือนเจลใสไปจนถึงเส้นใยเหนียวแข็ง เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ห่อหุ้มกล้ามเนื้อ มัดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ตลอดจนเส้นใยกล้ามเนื้อจัดเป็นพวก fibrous และเรียกว่า connective tissue proper ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ 2 ส่วน คือ

1) ground substance เป็นของเหลวชั้นประกอบไปด้วย soluble glycoprotein ซึ่งโดยทั่วไปหมายถึง proteoglycans และยังมีสารที่เป็นสารตั้งต้นของคอลลาเจนและอีลาสติน คือ tropocollagen และ tropoelastin อีกด้วย สาร proteoglycan เกิดขึ้นจากโปรตีนหลักรวมกับ glycoaminoglycans หลายชนิดที่สำคัญคือ hyaluronic acid ซึ่งพบในข้อต่อและในระหว่างเส้นใยของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue fiber) ส่วนอีกชนิดคือ chondroitin sulfate พบในกระดูกอ่อน เอ็น และกระดูก

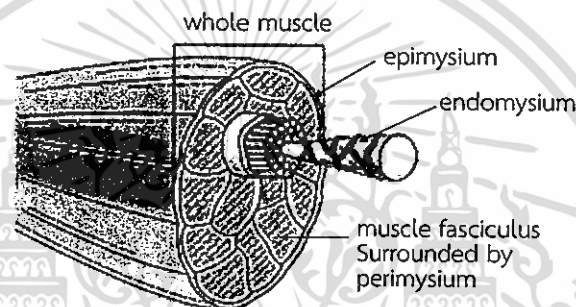
2) extracellular fiber ประกอบด้วย คอลลาเจน อีลาสติน และเรติคูลิน โดยคอลลาเจนเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดในร่างกายสัตว์ โดยสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในร่างกาย คอลลาเจนเป็นโปรตีนโครงสร้างหลักของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและมีอิทธิพลอย่างมากต่อความนุ่มของเนื้อ ไกลซีนเป็นกรดอะมิโนที่พบมากที่สุดในคอลลาเจน ประมาณ 1 ใน 3 ของกรดอะมิโนทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบไฮดรอกซีโปรลีนและไฮดรอกซีไลซีน ในการวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจนนิยมวิเคราะห์หาจากปริมาณของไฮดรอกซีโปรลีน เนื่องจากเป็นส่วนประกอบที่ค่อนข้างคงที่ของคอลลาเจนโดยมีอยู่ประมาณ 13-14 เปอร์เซ็นต์

หน่วยย่อยของเส้นใยคอลลาเจนเรียกว่า tropocollagen ซึ่งประกอบด้วย α - chain 3 ตัว รวมตัวกันเป็น triple helix โดยชนิดของ α - chain ที่มีอยู่อย่างน้อย 19 ชนิด อีกทั้งใน triple helix เองอาจเกิดจากการรวมตัวกันของ α - chain ชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกันก็ได้ ดังนั้นจึงทำให้ได้คอลลาเจนที่ต่างกันอย่างน้อย 12 ชนิดแต่มีบางชนิดที่จะสร้างเป็นเส้นใย (fiber) ที่พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในกล้ามเนื้อลาย คือ type I III IV V และ VII แต่มีเพียง type I และ type III เท่านั้นที่สร้างเป็นเส้นใย เส้นใยคอลลาเจนเกิดจากการรวมตัวกันของ type I และ type III ความสามารถในการละลายได้และความแข็งแรงของเส้นใยคอลลาเจนขึ้นอยู่กับ intermolecular cross - linkages ระหว่างเส้นใย ในสัตว์อายุน้อยจะมีจำนวนเส้นใยและ cross - linkages น้อย จึงทำให้เส้นใยคอลลาเจนไม่แข็งแรงและถูกละลายได้ง่าย (Aberle et al., 2001) ถ้าอยู่ในโครงสร้างกล้ามเนื้อใด ก็จะมี ความแข็งแรงมาก แต่ถ้านำไปต้มคอลลาเจนจะเปลี่ยนเป็นเจลาติน (gelatin) ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ โดยคอลลาเจนที่ละลายได้ (soluble collagen) เป็นโปรตีนคอลลาเจนที่มีการเชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุลคอลลาเจนที่ยังไม่แข็งแรงมากนักจึงสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกตัวและละลายได้เมื่อได้รับความร้อน ส่วนคอลลาเจนที่ไม่ละลาย (insoluble collagen) นั้นจะมีการต่อเชื่อมกันเป็นร่างแหระหว่างโมเลกุลของคอลลาเจนทำให้มีความแข็งแรงมาก เมื่อได้รับความร้อนแล้วยังคงมีปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายเหลืออยู่ภายในเนื้อเยื่อ ซึ่งภายในกล้ามเนื้อนั้นจะมีทั้งคอลลาเจนที่ละลายได้และคอลลาเจนที่ไม่ละลาย ถ้ามีสัดส่วนของคอลลาเจนที่ไม่ละลายอยู่ปริมาณสูงก็จะทำให้เนื้อนั้นมีความเหนียวมากขึ้น (Weston et al., 2002; Torrescanol et al., 2003)

ในกล้ามเนื้อจะพบคอลลาเจนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ห่อหุ้มกล้ามเนื้อ 3 ระดับ คือที่ห่อหุ้มกล้ามเนื้อทั้งมัด (whole muscle) เรียกว่า อีพิมิเซียม (epimysium) เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ห่อหุ้มกลุ่มของมัดเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle bundle หรือ fasciculus) เรียกว่า เพอริมิเซียม (perimysium) และที่ห่อหุ้มเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber) เรียกว่า เอนโดมิเซียม (endomysium) ดังภาพที่ 1 (Hemmings and Hopkins (2006) อีพิมิเซียมไม่นับว่าเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ของเนื้อ เนื่องจากถูกแยกออกจากเนื้อได้ง่าย เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีอิทธิพลต่อเนื้อสัมผัสของเนื้อมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์คือเพอริมิเซียม (Light et al., 1985)



ภาพที่ 1 เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ห่อหุ้มกล้ามเนื้อ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Hemmings and Hopkins (2006)

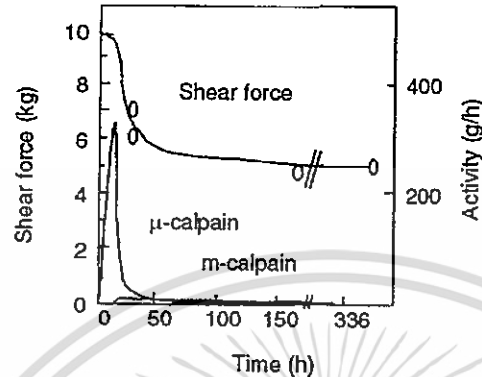
2.2.2 เอ็นไซม์ calpains และความนุ่มของเนื้อ

เอ็นไซม์ Calpains จะทำงานเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} และทำปฏิกิริยาได้ดีในสภาพเป็นกลาง calpain จะมีอยู่ 2 รูปคือ calpain 2 (m - calpain) จะถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} ปริมาณสูง (1 - 2 mM) และ calpain 1 (μ - calpain) จะถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} ปริมาณต่ำ (50 - 100 μ M) เอ็นไซม์นี้จะอยู่บริเวณ z - line การทำงานของ calpain จะทำให้เกิดการแตกหักของ tropomyosin และ titin (connectin) โดยหลังจากการทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนแล้วเอ็นไซม์ calpain จะเกิดการสลายตัว (autolysis) ซึ่ง Kapprell and Goll (1989) อธิบายว่าในสภาพตามธรรมชาติเอ็นไซม์กลุ่มนี้จะอยู่ในรูปที่ไม่ทำงาน (inactive proenzymes) เมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} จะย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ทำให้มีขนาดเล็กลงและเปลี่ยนเป็นรูปที่ทำงานได้ (active form)

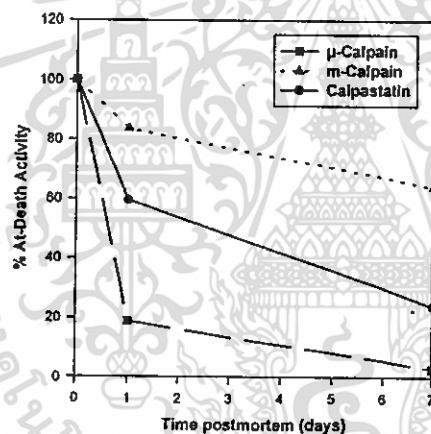
หลังจากสัตว์ตายเมื่อ ATP ถูกใช้จนหมด จากนั้นกระบวนการ rigor mortis จะเริ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้ผนังของซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมและไมโทคอนเดรียไม่สามารถเก็บ Ca^{2+} ไว้ได้ ทำให้ Ca^{2+} ถูกปล่อยออกสู่ซาร์โคพลาสมิกและไปท่วมไมโอไฟบริล (Jeacocke, 1993) ซึ่งปริมาณของ Ca^{2+} ที่เพิ่มขึ้นนี้จะไปกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ calpains มีรายงานผลการทดลองว่า calpain 1 มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้นหลังการบ่มซากไว้มากกว่า calpain 2 โดยปกติเอ็นไซม์กลุ่มนี้เมื่อทำการย่อยสลายโปรตีนแล้วจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง ซึ่งวัดได้จากการลดลงของ activity นั้นเอง จากผลการทดลองของ te Pas et al. (2004) พบว่าค่าแรงตึงตัวของเนื้อลดลงในระหว่าง 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย สอดคล้องกับการลดลงของ calpain 1 activity ในช่วงเวลาเดียวกัน ในขณะที่ calpain 2 activity ที่ค่อนข้างต่ำและลดลงน้อยมากในช่วง 50 ชั่วโมงแรกหลังสัตว์ตาย (ภาพที่ 2) Boehm et al. (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า calpain 1 และ calpastatin มี activity ลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังสัตว์ตาย จากการศึกษาในกล้ามเนื้อสันนอกช่วงอกและกล้ามเนื้อสันในของโคพบว่า calpain 1 activity ลดลง 71 และ 93 เปอร์เซ็นต์ และ calpastatin ลดลง 76 และ 71 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ calpain 2 มี activity ลดลงเพียง 9 และ 27 เปอร์เซ็นต์ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ตามลำดับ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์ calpain activity และค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่มาจาก : te Pas et al. (2004)



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 (μ - calpain) calpain 2 (m - calpain) และ calpastatin ของกล้ามเนื้อ *Semimembranosus* ของโคในระหว่างการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 2 - 4 องศาเซลเซียส ที่มา : Boehm et al (1998)

2.2.3 การบ่มซาก (ageing)

โรงฆ่าสัตว์ที่ได้มาตรฐานนั้น หลังจากการฆ่าและชำแหละซากแล้วจะมีการแช่ซากในห้องเย็นอุณหภูมิประมาณ 3 องศาเซลเซียสทันที เพื่อเป็นการลดอุณหภูมิจากประมาณ 38 องศาเซลเซียสเป็น 10 องศาเซลเซียส และแช่เย็นซากไว้อย่างนี้ประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อให้กระบวนการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อเป็นไปอย่างสมบูรณ์แล้วจึงนำไปตัดแต่งเพื่อส่งตลาดต่อไป การแช่เย็นนั้นนอกจากจะทำให้การหดเกร็งตัวของเนื้อเป็นไปอย่างสมบูรณ์แล้วยังเป็นการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ อีกทั้งทำให้ง่ายในการตัดแต่งซากอีกด้วย การบ่มซากที่ต้องการให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้นนั้นจะต้องมีระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นไปอีก ระยะเวลาในการบ่มซากสัตว์แต่ละชนิดก็ไม่เท่ากัน เช่น ในสุกรจะใช้ระยะเวลาการบ่มสั้นกว่าโค โดยสุกรใช้ระยะเวลาในการบ่มซากที่อุณหภูมิ 1 - 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วันก็เพียงพอ ในขณะที่โคอาจต้องบ่มซากนานถึง 8 - 14 วัน (Warris, 2000; ตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบ่มซากมีผลทำให้เนื้อนุ่มขึ้น เนื่องจากการบ่มซากนั้นทำให้เนื้อมียูมทงูมิและ pH ที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ calpains ที่อยู่ในเนื้อ โดยหลังจากที่ผ่านกระบวนการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อแล้ว แคลเซียมที่อยู่ในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมจะเกิดการรั่วไหลออกมาสู่ซาร์โคพลาสซึม ปริมาณแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นนี้เองจะไปกระตุ้นการทำงานของ เอนไซม์ calpains โดยเฉพาะอย่างยิ่ง calpain 1 ทำให้เกิดการย่อยสลายเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นผลให้เนื้อนุ่มขึ้น

ตารางที่ 1 อัตราความนุ่มของเนื้อของสัตว์แต่ละชนิดเมื่อบ่มซากไว้ที่ 1 องศาเซลเซียส

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

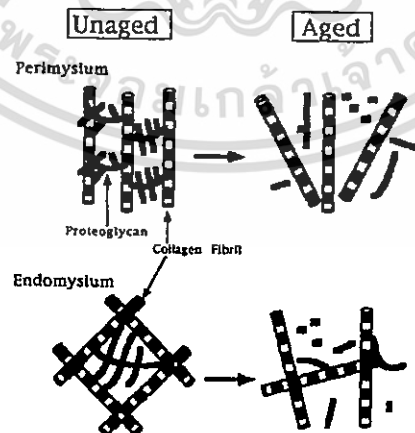
ที่มา : Warris (2000)

ตารางที่ 2 จำนวนวันที่เหมาะสมในการบ่มซากเพื่อให้เนื้อนุ่ม

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

ที่มา : Warris (2000)

การบ่มซากมีผลต่อการแตกตัวของเพอริไมเนียม โดย Nishimura *et al.* (1996) รายงานว่าความแข็งแรงของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะเปลี่ยนแปลงไปอย่างช้า ๆ ระหว่างที่บ่มและจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนหลังการบ่มซากไว้ 14 วันหลังสัตว์ตาย (ภาพที่ 4) เมื่อยืดระยะเวลาการบ่มให้นานขึ้น เนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีการแตกหักมากขึ้นหรือเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) จึงทำให้เนื้อโคมีความนุ่มเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของเส้นใยกล้ามเนื้อภายหลังการบ่ม

ที่มา : Nishimura *et al.* (1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบ่มซากมีผลทำให้ปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลาย (insoluble collagen) ในกล้ามเนื้อบางชนิดลดลงตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น ดังรายงานของ Failla *et al.* (2008) ที่พบว่าในกล้ามเนื้อ Semitendinosus (ST) ของโคเพศผู้มีปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หลังการบ่มไว้ 8 วัน ในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในกล้ามเนื้อ Longissimus thoracis (LT) ดังตารางที่ 3 สอดคล้องกับ Sylvestre *et al.*, (2002) ซึ่งทดลองในแกะที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วและที่โตช้า พบว่าหลังการบ่มไว้ 21 วัน คอลลาเจนที่ไม่ละลายจะลดลงประมาณ 12 และ 14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

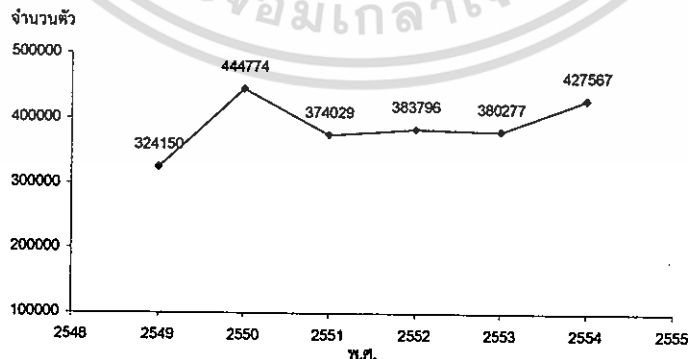
ตารางที่ 3 ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดและคอลลาเจนที่ไม่ละลายในกล้ามเนื้อภายหลังจากบ่ม

Muscle	Total collagen (mg/g)	insoluble collagen %					sig.
		1d	2d	5d	8d	10d	
ST	5.95±0.64	72.3±3.33 ^{ab}	74.7±2.58 ^a	71.1±3.61 ^{ab}	69.4±5.41 ^b	67.5±3.19 ^b	**
LT	4.04±0.49	76.0±7.30	79.1±8.82	76.1±7.92	71.9±8.3	71.6±7.35	ns
sig.	***	ns	*	ns	ns	ns	

^{a,b} ในแถวเดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)
ที่มา : Failla *et al.* (2008)

2.2.4 ปริมาณการเลี้ยงแพะในประเทศไทย

แพะจัดว่าเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย จากประมวลสถิติของกรมปศุสัตว์พบว่าปริมาณการเลี้ยงแพะเนื้อมากกว่าแพะนม โดยในปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยมีปริมาณแพะเนื้อ 394,204 ตัว หรือคิดเป็น 92 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแพะนม 33,363 ตัว คิดเป็น 8 เปอร์เซ็นต์ โดยจำนวนประชากรแพะทั่วประเทศเพิ่มขึ้นอย่างมากจาก 132,845 ตัวในปี พ.ศ. 2542 เป็น 444,774 ตัว ในปี พ.ศ. 2550 แต่ในระหว่าง พ.ศ. 2550 - 2553 พบว่าจำนวนแพะมีแนวโน้มคงที่ประมาณ 380,000 ตัว แต่ในปี พ.ศ. 2554 พบว่าปริมาณแพะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 5) ปัจจุบันเนื้อแพะมีราคาที่สูงกว่าเนื้อสัตว์เศรษฐกิจชนิดอื่น โดยราคาแพะมีชีวิตอยู่ที่ประมาณ 150 -170 บาทต่อกิโลกรัม ในขณะที่เนื้อแพะชำแหละแล้วมีราคาประมาณ 280 บาทต่อกิโลกรัม (จากการสอบถามเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะในเขตจังหวัดนครปฐม) เนื่องจากราคาที่สูงกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นนี้เองอาจเป็นสาเหตุให้ปริมาณการเลี้ยงแพะมีแนวโน้มสูงขึ้น นอกจากนี้แล้วเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะยังกล่าวหาว่าปริมาณการเลี้ยงแพะในปัจจุบันนี้ยังไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาดอีกด้วย ดังนั้นแพะนับว่าเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่น่าสนใจที่รัฐบาลควรส่งเสริมให้มีการเลี้ยงให้มากขึ้น



ภาพที่ 5 จำนวนแพะที่เลี้ยงในประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 – พ.ศ. 2554
ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 การศึกษาเกี่ยวกับคุณภาพของเนื้อแพะ

ลักษณะทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อแพะ เฉลิมขวัญ และคณะ (2552) ศึกษาถึงอิทธิพลของพันธุ์และวิธีการเลี้ยงแพะ โดยเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พื้นเมืองกับลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียน ที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลาโดยให้กินหญ้าอย่างเต็มที่ กับ แบบกึ่งขังคอกคือปล่อยในแปลงหญ้าและเข้าคอกตอนเย็น โดยทั้งสองกลุ่มได้รับอาหารชั้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์และวิธีการเลี้ยงมีผลต่อระดับของคอเลสเทอรอลโดยพบว่าพันธุ์ลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลาที่มีปริมาณคอเลสเทอรอลสูงที่สุด รองลงมาคือแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนที่เลี้ยงแบบกึ่งขังคอก และแพะพื้นเมืองที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลา ส่วนแพะพื้นเมืองที่เลี้ยงแบบกึ่งขังคอกมีระดับคอเลสเทอรอลต่ำที่สุด ($P < 0.05$) ในเรื่องของปริมาณคอเลสเตอรอลนั้นพบว่าแพะพื้นเมืองมีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงกว่าลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนในขณะเดียวกันก็มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อสันนอกสูงกว่าด้วย ปริมาณไขมันนั้นพบว่าวิธีการเลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลาเนื้อสันนอกแพะมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นและโปรตีนสูงกว่าแบบกึ่งขังคอก ($P < 0.05$) แพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนมีเปอร์เซ็นต์ไขมันในเนื้อสันนอกสูงกว่าแพะพื้นเมือง ($P < 0.05$; ตารางที่ 4) นอกจากนี้ เฉลิมขวัญ และคณะ (2552) ยังรายงานว่ามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จัดว่าดีต่อสุขภาพโดยเฉพาะลิโนเลอิก (C18:2) นั้นพบว่ามีในแพะพันธุ์พื้นเมืองสูงกว่าแพะลูกผสม และยังพบว่าการเลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลามีลิโนเลอิกมากกว่าการแบบกึ่งขังคอก รวมทั้งพบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการเลี้ยงและพันธุ์แพะอีกด้วย ($P < 0.05$) Casey (1992) รายงานว่าเนื้อแพะมีปริมาณคอเลสเตอรอล 5 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อสดและมีปริมาณคอเลสเตอรอลที่ละลายได้อยู่ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณคอเลสเตอรอลทั้งหมด ในเรื่องของปริมาณคอเลสเทอรอลในเนื้อแพะที่มีค่าต่ำกว่าเนื้อหมูและเนื้อไก่ดังรายงานของ USDA (2004; ตารางที่ 4) Wattanachant et al (2008) รายงานอิทธิพลของพันธุ์และอายุที่มีต่อคุณภาพเนื้อแพะ โดยพบว่าแพะที่อายุมากจะมีปริมาณคอเลสเตอรอลทั้งหมด ไขมัน ไขมันอิ่มตัว ไขมันไม่อิ่มตัว ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ สูงกว่าแพะอายุน้อย ($P < 0.05$) ในขณะที่แพะอายุน้อยจะมีเนื้อที่อ่อนกว่าแพะอายุมาก ส่วนอิทธิพลของพันธุ์นั้นพบว่าแพะลูกผสมแองโกลนูเบียน X พื้นเมืองไทยถึงแม้จะมีอายุน้อยกว่าแพะลูกผสมซาแนน X พื้นเมืองไทย แต่พบว่ามีค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่สูงกว่า ซึ่งแสดงว่าเนื้อมีความเหนียวกว่านั่นเอง (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของไขมันในเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ

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

ที่มา : USDA Nutrient Database for Standard Reference, (2004)

ตารางที่ 5 คุณภาพเนื้อของแพะที่พันธุ์และอายุต่างกัน

ลักษณะที่ศึกษา	แองโกลนูเบียน X พื้นเมืองไทย		ซาแนน X พื้นเมืองไทย
	1 ปี	3 ปี	7 ปี
pH	6.57±0.05	6.68±0.08	6.62±0.28
ความชื้น (%)	76.61±1.15	77.73±0.25	78.63±0.80
โปรตีน	20.39±1.06	19.02±2.41	17.47±0.80
ไขมัน	1.14±0.12 ^a	2.01±0.94 ^{a,b}	3.16±0.45 ^b
เถ้า	0.45±0.18 ^a	1.16±0.65 ^b	0.57±0.05 ^a
คอลลาเจนทั้งหมด	10.39±0.64 ^a	13.27±0.28 ^b	14.65±0.61 ^c
คอลลาเจนที่ละลายได้ (%ของคอลลาเจนทั้งหมด)	20.27±3.09	20.06±0.31	18.65±0.56
ไมโอโกลบิน (มก/ก)	8.36±1.24	10.31±0.42	10.72±0.55
ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (ก)	3293.20±104.03 ^a	5634.37±320.81 ^b	5490.27±164.01 ^b
เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย ระหว่างการปรุง	27.77±2.62	31.73±4.79	27.39±0.13
สีเนื้อ L*	50.83±2.17 ^a	45.27±4.11 ^{a,b}	40.15±4.63 ^b
a*	3.82±0.50	4.84±1.05	5.28±2.02
b*	8.06±0.59	9.98±1.84	11.14±1.72

^{a,b,c} ในแถวเดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Wattanachant et al (2008)

การศึกษาในเรื่องคุณภาพของเนื้อแพะในเรื่องของความนุ่ม ลักษณะทางกายภาพ ตลอดจนเรื่องขององค์ประกอบทางเคมีนั้นมีการศึกษามากแล้ว แต่ในเรื่องของอิทธิพลของการบ่มที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของคอลลาเจน การเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์คาลเพน และต่อคุณภาพเนื้อนั้นยังไม่มีการศึกษาในประเทศไทย จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาในเรื่องนี้ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาและส่งเสริมการเลี้ยงแพะให้เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทยต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) จากแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ทั้งหมด 10 ตัว เพศผู้ น้ำหนักมีชีวิตเฉลี่ย 26.52 ± 3.53 กิโลกรัม โดยเป็นแพะที่เริ่มเข้าขุนแบบขังคอกเมื่ออายุได้ประมาณ 7-10 เดือน โดยทำการขุนเป็นระยะเวลา 3 เดือน สุนทรอาหารชั้นที่ใช้มีโปรตีน 12 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) เมื่อขุนครบ 3 เดือนแล้วนำเข้ามาที่โรงฆ่าสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม หลังที่แพะถูกฆ่าและชำแหละแล้ว ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อ แล้วห่อด้วยพลาสติกใส ใส่ลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง แล้วนำมาบรรจุในถุงสุญญากาศ (vacuum) บ่มที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซลเซียส จนถึงครบ 7 14 และ 21 วัน เมื่อครบเวลาการบ่มจึงนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์ต่อไป

ตารางที่ 6 สุนทรอาหารชั้นโปรตีน 12 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้ในการเลี้ยงแพะ ประกอบด้วย

วัตถุดิบอาหารสัตว์	น้ำหนัก (กก.)
มันเส้น	31.35
กากปาล์มเนื้อในธรรมดา	25.00
กากปาล์มพิเศษ (สกัดน้ำมัน)	25.00
ข้าวโพดป่น	5.00
กากน้ำตาล	10.00
กระดุกป่น	1.00
กำมะถัน	0.15
เกลือ	1.00
ฟอสฟอรัส	0.50

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 วิเคราะห์ calpain activity ด้วย casein zymography (Arther and Mykle, 2000)
สารเคมี

1) Extraction buffer

50 mM Tris/HCl pH 7.5

5 mM EDTA

2) Gel sample buffer

2 ml glycerol

1.25 ml 1 M Tris/HCl

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

make to 10 ml with distilled water

add few grains of Bromophenol blue

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) Casein solution

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

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

4) Gel solutions

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

- 2M Tris-HCl, pH 8.8

- 1M Tris-HCl, pH 6.8

- Ammonium Persulphate (Sigma, UK)

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

5) Electrophoresis buffer (5 x stock):

125 mM Tris base

625 mM glycine

5 mM EDTA pH 8.3

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

6) Ca²⁺ incubation buffer

50 mM Tris/HCl pH 7.0

5 mM CaCl₂

10 mM DTT

7) Fixing solution

10% (v/v) acetic acid

8) Staining solution

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

9) Destain solution

10% (v/v) acetic acid

การเตรียม non reducing gel

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

การสกัดโปรตีน

ทำการสกัดโปรตีนจากตัวอย่างกล้ามเนื้อใบพาย (IF, Infraspinatus) สันนอก (LD, Longissimus dorsi) สันใน (PM, Psoas major) และสันในเทียม (SS, Supraspinatus) โดยเก็บตัวอย่างหลังสัตว์ตายประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วเก็บไว้ที่ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส โดยชั่งเนื้อตัวอย่าง 1 กรัม แล้วเติม extraction buffer ลงไป 3 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer (Ika, Germany) ที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centurion, UK) ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เก็บสารละลายส่วนใส 200 μ l และเติม sample buffer 200 μ l ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัด calpain activity ด้วยวิธี casein zymography ทันที เก็บสารละลายส่วนใส 20 μ l ผสมกับ 0.1 M NaOH 900 μ l จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C ก่อนนำไปวัดความเข้มข้นของโปรตีนต่อไป

การทำอิเล็กโตรโฟรีซิส แบบ Native PAGE

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนใส่ตัวอย่างลงไปบนเจล จะต้องทำการ pre run ก่อนเป็นเวลา 30 นาที โดยเจลอยู่ในชุด อิเล็กโตรโฟรีซิสที่มี running buffer อยู่และต้องทำการใส่เครื่องแยกโปรตีนลงในกล่องโฟอร์มที่มีน้ำแข็ง หล่อเย็นตลอดเวลา จากนั้นต่อขั้วบวก (Anode) เข้ากับ Chamber ล่างและขั้วลบ (Cathod) เข้ากับ Chamber บน และเปิดสวิทซ์ของเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 125 โวลท์ เมื่อครบ 30 นาทีแล้วปิดสวิทซ์ก่อนแล้วใช้ไมโครปิเปตค่อยๆ ใส่ตัวอย่าง 6 ไมโครลิตรลงไปในเจล แล้วทำการ run ต่อโดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 125 โวลท์ ประมาณ 4 ชั่วโมง หรือหลังจากเห็น Bromophenol blue หลุดออกจากเจลให้ run ต่อไปอีกประมาณ 1 ชั่วโมง

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

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

การวัดความเข้มข้นของโปรตีน

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

3.2.2 วิเคราะห์หาปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

วิธีการวิเคราะห์หาค่าคอลลาเจนที่ละลายได้ และคอลลาเจนที่ไม่ละลาย (soluble and insoluble collagen) ดัดแปลงจากวิธีการของ Hill (1966)

สารเคมี

- 1) NaCl
- 2) $CaCl_2 \cdot 2H_2O$
- 3) KCl
- 4) Trisodium citrate
- 5) Citric acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 6) Sodium acetate
- 7) Chloramine T
- 8) Acetate/citrate buffer
- 9) *p*-dimethylamino-benzaldehyde
- 10) 60% perchloric acid
- 11) Isopropanol
- 12) Hydroxyproline
- 13) Paraffin oil

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่าง

- 1) ชั่งตัวอย่างเนื้อ 0.95 กรัม เติม ¼ Ringer solution 5 มิลลิลิตร
- 2) Homogenized ที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที
- 3) ต้มใน Water bath ที่อุณหภูมิ 77°C เป็นเวลา 60 นาที
- 4) ปั่นเหรียญที่ 4,000 รอบ/นาที ที่ 4°C เป็นเวลา 20 นาที
- 5) แยกส่วนที่เป็น supernatant (ส่วนใส) และ pellet (ส่วนที่ตกตะกอน) ใส่ใน test tube

การย่อย

- 1) นำหลอดทดลองที่มีส่วนใส มาเติม 12N HCl 4 มิลลิลิตร และ test tube ส่วนที่ตกตะกอน มาเติม 6 N HCl 8 มิลลิลิตร
- 2) นำหลอดทดลองจากข้อ 1 ไปย่อยใน Oil bath ที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) นำสารละลายที่ได้จากการย่อยในข้อ 2 ไปทำให้ใสโดยเติมผงถ่าน (Activated carbon) แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง และปรับ pH ให้ได้ประมาณ 6.5 – 7.0 จากนั้นนำไปปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

การหาปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน

- 1) ดูดสารละลายที่ได้จากขั้นตอนการย่อย มาตัวอย่างละ 4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติม Chloramine T reagent หลอดละ 2 มิลลิลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที
- 2) เติม Color reagent 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปให้ความร้อนใน Water bath ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาให้นำไปผ่านน้ำประมาณ 2-3 นาที
- 3) นำไปหาค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 558 nm

การทำ Standard Hydroxyproline

Stock hydroxyproline : Hydroxyproline 25 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

Working standard hydroxyproline : ดูด Stock hydroxyproline มา 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใน Volumetric flask

ในการทำการภาพมาตรฐานใช้ Working standard hydroxylproline 2.5, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิกรัม ซึ่งจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5, 1, 2, 3 และ 4 ไมโครกรัมของ hydroxyproline ต่อ มิลลิกรัม

$$\text{ปริมาณคอลลาเจน mg/g ของเนื้อสด} = \frac{c \times f \times 7.25}{1000 \times w}$$

c = ความเข้มข้นของ hydroxyproline

f = จำนวนเท่าของการเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อย

w = น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.3 การวิเคราะห์หาความนุ่มของเนื้อ

1) หลังทำการบ่มเนื้อไว้ที่ 1-3 องศาเซลเซียสจนครบ 7 วันแล้ว นำเนื้อไปแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการทำการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อให้นำเนื้อไปทำการละลายน้ำแข็งในห้องเย็นอุณหภูมิ 1-3 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง โดยทำการชั่งน้ำหนักก่อนและหลังละลายน้ำแข็งเพื่อนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหลังละลายน้ำแข็ง จากนั้นทำการตัดชิ้นเนื้อส่วนนอกเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดประมาณ 2 x 3 นิ้วหนา 1 นิ้ว

2) นำก้อนเนื้อบรรจุในถุงสุญญากาศ แล้วนำไปต้มด้วยเครื่อง Water Bath (Memmert WB-14, Germany) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อเท่ากับ 70 ประมาณ 30 นาที โดยทำการชั่งน้ำหนักก่อนและหลังต้มเพื่อนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง

3) จากนั้นนำถุงพลาสติกที่บรรจุเนื้อไปทำให้เย็นจนเท่าอุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำไหลผ่านถุงพลาสติกที่บรรจุเนื้อประมาณ 2 ชั่วโมง

4) นำเนื้อที่เย็นแล้วมาทำการตัดตามความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยมีขนาดพื้นที่หน้าตัด 1 ตารางเซนติเมตรและยาวประมาณ 1 นิ้ว แล้วนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ การโดยตัดขวางตามเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเครื่อง Tensile tester model 101 (Instron, USA)

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS โดยทำการวิเคราะห์ดังนี้

1) วิเคราะห์อิทธิพลของการบ่มต่อการทำงานของเอนไซม์ calpains ปริมาณคอลลาเจน การสูญเสียน้ำหลังการละลายน้ำแข็งและหลังการปรุง รวมทั้งต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยใช้ Proc Mix ซึ่งปัจจัยคงที่ที่ศึกษาคือระยะเวลาการบ่มคือ 2 ชั่วโมงหลังฆ่า 14 วัน และ 21 วัน สำหรับการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ calpains ระยะเวลาการบ่ม 2 7 และ 14 วันสำหรับการศึกษาปริมาณคอลลาเจน และที่ระยะเวลาการบ่ม 7 14 และ 21 วันสำหรับการศึกษาการสูญเสียน้ำและค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ส่วนปัจจัยสุ่มคือสัตว์แต่ละตัว ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (LSM) ของปัจจัยต่างๆ โดยใช้ PDIF

2) วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยใช้ Pearson correlation ในโปรแกรมสำเร็จรูป SAS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 อิทธิพลของการบ่มต่อปริมาณคอลลาเจน

ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าปริมาณคอลลาเจน ทั้งคอลลาเจนที่ละลายได้ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย คอลลาเจนรวม และเปอร์เซ็นต์คอลลาเจนที่ละลายได้ของกล้ามเนื้อสันนอกที่ผ่านการบ่มไว้ 2 7 และ 14 วัน ไม่ต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) Kannan et al (2002) รายงานว่าเนื้อสันนอกของแพะสเปนเพศเมียอายุ 8 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 25 กิโลกรัม มีปริมาณคอลลาเจนเฉลี่ย 5.96 มิลลิกรัม/กรัม (เนื้อแห้ง) และพบว่าการบ่มไว้ 0 4 8 และ 12 วันไม่มีอิทธิพลต่อการละลายได้ของคอลลาเจน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองครั้งนี้ สอดคล้องกับ Kannan et al (2006) ที่ทดลองในแพะซาเนนเพศผู้ตอน อายุ 10 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30.7 กิโลกรัม พบว่าการละลายได้ของคอลลาเจนของเนื้อสันนอกที่บ่มไว้ 1 3 และ 6 วันไม่ต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามการบ่มซากมีผลต่อการละลายได้ของคอลลาเจนในกล้ามเนื้อแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน กล้ามเนื้อบางชนิดที่ผ่านการบ่มแล้วจะมีการละลายได้ของคอลลาเจนเพิ่มขึ้น ดังรายงานของ Failla et al. (2008) ที่พบว่าในกล้ามเนื้อ Semitendinosus (ST) ของโคเพศผู้มีปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หลังการบ่มไว้ 8 วัน ในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในกล้ามเนื้อ Longissimus thoracis (LT)

ตารางที่ 7 อิทธิพลของการบ่มต่อปริมาณคอลลาเจนของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์

Trait ¹	LSM ± SE			P value
	2 d	7 d	14 d	
SC (mg/g)	0.38±0.09	0.49±0.09	0.42±0.09	0.703
IC (mg/g)	4.23±0.60	5.45±0.57	5.73±0.54	0.150
TC (mg/g)	4.60±0.60	5.83±0.57	6.15±0.54	0.128
PS	9.83±1.56	6.28±1.47	6.70±1.39	0.248

¹SC (soluble collagen) = คอลลาเจนที่ละลายได้; IC (insoluble collagen) = คอลลาเจนที่ไม่ละลาย;

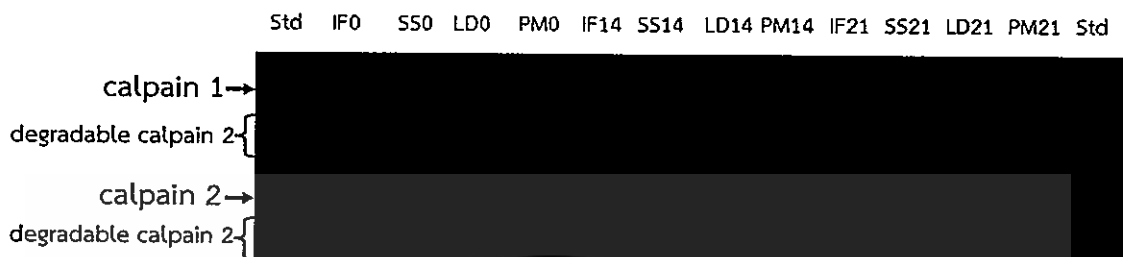
TC (total collagen) = ปริมาณคอลลาเจนรวม; PS (% soluble collagen) = เปอร์เซนต์คอลลาเจนที่ละลายได้

4.2 อิทธิพลของการบ่มต่อการทำงานของเอนไซม์ calpains

การทำงานของเอนไซม์ calpains ในการทดลองครั้งนี้วิเคราะห์โดยอาศัยเทคนิคทางอิมมูโนโพรบิซึส แบบ native gel ซึ่งวัดการทำงานของเอนไซม์ calpains จากความเข้มของแถบสว่างที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายโปรตีนเคซีนในเจลอะครีลาไมด์ ถ้าเกิดแถบสว่างมากแสดงว่าเอนไซม์ calpains ทำงานมากด้วย จากภาพที่ 6 แถบสว่างบนสุดของเจลเกิดจากการย่อยสลายโปรตีนเคซีนของเอนไซม์ calpain 1 และ พบว่าแถบสว่างของตัวอย่างที่เก็บประมาณ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายมีความสว่างมากที่สุด ได้แถบสว่างที่เกิดจากการย่อยสลายของ calpain 1 พบว่ามีแถบสว่างเล็กๆ เกิดขึ้น ซึ่งเกิดจากชิ้นส่วนของ calpain 1 ที่สลายตัวแล้วแต่ยังสามารถทำการย่อยสลายโปรตีนได้ ในส่วนของ calpain 1 พบว่าที่การบ่ม 15 และ 21 วันไม่พบแถบสว่างที่เกิดจากการทำงานของ calpain 1 แล้ว แต่ยังพบแถบสว่างเล็กๆ ที่เกิดจากชิ้นส่วนที่สลายตัวจาก calpain 1 ในส่วนของ calpain 2 นั้นพบว่าในตัวอย่างที่เก็บ 2 ชั่วโมงหลังฆ่ามีแถบสว่างเกิดขึ้นเพียงแถบเดียว และหลังจากบ่ม 14 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21 วัน ก็ยังปรากฏแถบสว่างที่เกิดจากการทำงานของ calpain 2 นี้อยู่แต่มีขนาดเล็กลงและขณะเดียวกันก็พบว่ามีแถบสว่างเล็กๆ ที่เกิดจากชิ้นส่วนที่สลายตัวจาก calpain 2 เกิดขึ้น

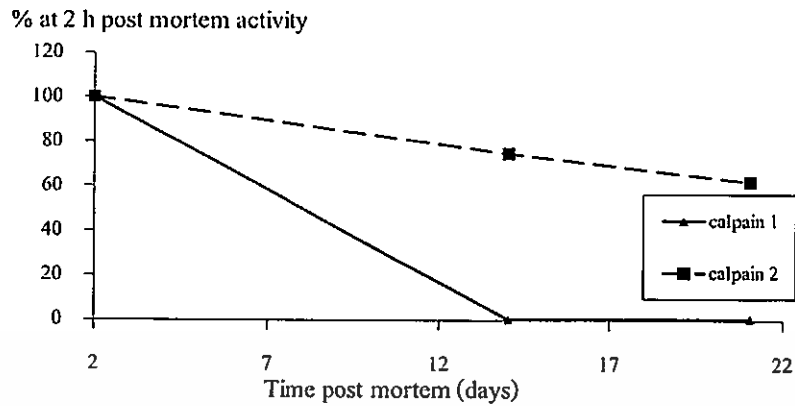


ภาพที่ 6 ไซโมแกรมของ calpain 1 และ calpain 2 activity ของกล้ามเนื้อสันใน (PM) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) กล้ามเนื้อสันในเทียม (SS) และกล้ามเนื้อใบพาย (IF) ที่เก็บตัวอย่างประมาณ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย (IF0, SSO, LD0, PM0) ตัวอย่างที่บ่มไว้ 14 วัน (IF14, SS14, LD14, PM14) และ 21 วัน (IF21, SS21, LD21, PM21) โดยในแต่ละเจรมิตัวอย่างมาตรฐาน (STD) ซึ่งใช้กล้ามเนื้อสันนอกของแพะหมายเลข 3 ที่เก็บตัวอย่างที่ประมาณ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบระหว่างเจล (ในรายงานนี้จะนำเสนอเฉพาะผลของกล้ามเนื้อสันนอก)

อิทธิพลของการบ่มมีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ calpains โดยพบว่า calpain 1 ที่เวลาประมาณ 2 ชั่วโมงหลังฆ่ามีความเข้มข้นของแถบสว่างที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนเคซีนในเจลอะครีลาไมด์ของเอ็นไซม์ calpain 1 มากที่สุด ($P < 0.01$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเอ็นไซม์นี้มีการทำงานมากคือทำการย่อยโปรตีนได้มากนั่นเอง ในขณะที่หลังการบ่มเนื้อไว้ 14 และ 21 วัน นั้นพบว่าเอ็นไซม์ calpain 1 สามารถย่อยสลายโปรตีนได้น้อยมาก ส่วน calpain 2 พบว่าที่ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายมีการทำงานมากกว่าเนื้อที่บ่มไว้ 14 และ 21 วัน ($P < 0.01$) และพบว่าการทำงานของ calpain 2 ของเนื้อที่บ่มไว้ 14 และ 21 วันไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8) การทำงานของ calpain 1 หลังจากบ่มเนื้อไว้ 14 วันเหลือไม่ถึง 1 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับที่ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ในขณะที่ calpain 2 หลังการบ่มเนื้อไว้ 14 และ 21 วันยังสามารถทำงานได้ถึง 75 และ 62 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 7) ตารางที่ 8 อิทธิพลของการบ่มต่อการทำงานของเอ็นไซม์ calpains

Trait	LSM ± SE			P value
	2 h	14 d	21 d	
calpain 1 activity ¹	1.01 ^a ± 0.02	0.003 ^b ± 0.03	0.005 ^b ± 0.03	<0.0001
calpain 2 activity ¹	1.22 ^a ± 0.10	0.91 ^b ± 0.10	0.75 ^b ± 0.10	0.0098

¹ ค่าความเข้มข้นของแถบสว่างที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนเคซีนในเจลอะครีลาไมด์ของเอ็นไซม์ calpains



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของ activity ของเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 และ 21 วัน เมื่อเทียบกับที่ 2 ชั่วโมงหลังฆ่า

ผลการทดลองครั้งนี้พบการลดลงของการทำงานของเอนไซม์คาลเพนทั้ง calpain 1 และ calpain 2 ในระหว่างการบ่มเนื้อ แต่พบว่า calpain 1 ลดลงอย่างรวดเร็วและที่ระยะการบ่ม 14 วันมีการทำงานของเอนไซม์เหลือไม่ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ calpain 2 ภายหลังจากการบ่มไว้ 14 และ 21 วันยังสามารถทำงานได้ถึง 75 และ 62 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับที่ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย สอดคล้องกับ Nagaraj et al (2002) ที่รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของแพะที่บ่มไว้ 20 วัน จะมี activity ของ calpain 1 และ calpain 2 ลดลง 85 และ 34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Koochmaraie et al (2002) รายงานว่า calpain 1 มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อมากกว่า calpain 2 ซึ่งโดยปกติเอนไซม์กลุ่มนี้เมื่อทำการย่อยสลายโปรตีนแล้วจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง ซึ่งวัดได้จากการลดลงของ activity นั้นเอง ดังผลการทดลองของ te Pas et al (2004) ที่พบการลดลงของ calpain 1 activity สอดคล้องกับการลดลงของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ในขณะที่ calpain 2 มี activity ที่ค่อนข้างต่ำและลดลงน้อยมากในช่วง 50 ชั่วโมงแรกหลังสัตว์ตาย Boehm et al (1998) พบว่า calpain 1 มี activity ลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังสัตว์ตาย โดยพบว่ากล้ามเนื้อสันนอกช่วงอกและกล้ามเนื้อสันในของโคมี calpain 1 activity ลดลง 71 และ 93 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ calpain 2 มี activity ลดลงเพียง 9 และ 27 เปอร์เซ็นต์ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ตามลำดับ

4.3 อิทธิพลของการบ่มต่อคุณภาพเนื้อ

ผลการทดลองครั้งนี้พบว่า การบ่มเนื้อไว้ 7 14 และ 21 วัน มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหลังละลายน้ำแข็ง และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหลังการปรุงไม่ต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) การบ่มเนื้อ มีผลต่อการเพิ่มความนุ่มของเนื้อ โดยพบว่า การบ่มเนื้อไว้ 21 วัน ช่วยเพิ่มความนุ่มของเนื้อได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยพบว่า เนื้อที่บ่มไว้ 21 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าเนื้อที่บ่มไว้ 7 และ 14 วัน ในขณะที่การบ่มเนื้อไว้ 7 หรือ 14 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 9 อิทธิพลของการบ่มต่อการสูญเสียน้ำ และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

Trait	(LSMeans \pm SE)			P value
	7 d	14 d	21 d	
thawing loss (%)	8.38 \pm 0.84	9.92 \pm 0.88	9.96 \pm 0.81	0.198
cooking loss (%)	22.97 \pm 1.15	18.82 \pm 1.22	21.31 \pm 1.09	0.051
shear force (kg)	4.16 ^a \pm 0.15	4.52 ^a \pm 0.16	3.47 ^b \pm 0.13	<0.0001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองครั้งนี้พบว่าระยะเวลาการบ่มเนื้อไม่มีอิทธิพลต่อการสูญเสีย น้ำของเนื้อ ทั้งในรูปของ เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหลังการละลายน้ำแข็ง และเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำระหว่างการปรุง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kouakou et al (2005) ที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำระหว่างการปรุงในเนื้อสันนอกของแพะพันธุ์อัลไพน์ อายุ 6 เดือน น้ำหนัก 18 กิโลกรัม ที่ผ่านการบ่มไว้ 1 7 และ 13 วัน Kannan et al (2006) รายงานว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำระหว่างการปรุงของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะเพศผู้ ตอนพันธุ์ชาแนล อายุ 10 เดือน ที่ผ่านการบ่มไว้ 1 3 และ 6 วันไม่แตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ Teixeira et al (2011) พบว่ากล้ามเนื้อสันนอกของแพะพันธุ์เชอรานาอายุ 5 – 9 ปี น้ำหนัก 16 – 24 กิโลกรัม ที่ผ่านการบ่มไว้ 3 และ 5 วันมีความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อไม่ต่างกันทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตาม Nagaraj et al (2006) ทดลองในแพะเพศผู้ตอนน้ำหนัก 10 -12 กิโลกรัม พบการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำ (drip loss) ตามระยะเวลาการบ่มที่มากขึ้น โดยที่ระยะเวลาการบ่ม 1 วัน มีการสูญเสีย น้ำ ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระยะเวลา 21 วันมีการสูญเสีย น้ำ ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลองครั้งนี้พบว่า การบ่มเนื้อไม่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อ โดยพบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะเวลาการบ่ม 21 วัน มีค่าต่ำกว่าระยะอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ในขณะที่การบ่มเนื้อไว้ 7 หรือ 14 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างกันทางสถิติ อิทธิพลของการบ่มต่อความนุ่มของเนื้อแพะนั้นมีผลการศึกษาที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากพันธุ์แพะที่ศึกษา ชนิดกล้ามเนื้อ รวมทั้งระยะเวลาการบ่มที่ต่างกัน กลุ่มที่ไม่พบอิทธิพลของการบ่มต่อความนุ่มของเนื้อสันนอกของแพะ ดังรายงานของ Kannan et al (2002) รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของแพะเพศเมียอายุ 8 เดือน ที่ผ่านการบ่มไว้ ระหว่าง 0 4 8 และ 12 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างกันทางสถิติ แต่พบว่ากล้ามเนื้อ Semimembranosus ที่บ่มไว้เพียง 4 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าที่ไม่ผ่านการบ่ม Kannan et al (2006) พบว่าการบ่มเนื้อสันนอกของแพะพันธุ์ชาแนลไว้ 1 3 และ 6 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างกันทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่พบอิทธิพลของการบ่มต่อความนุ่มของเนื้อแพะ คือ Gadiyaram et al (2008) รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ อายุ 12 เดือน น้ำหนัก 35.6 กิโลกรัม ที่ผ่านการบ่มไว้ 4 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าที่บ่มไว้ 1 วัน ($P < 0.05$) แต่ ในขณะที่ Kouakou et al (2005) กล้ามเนื้อสันนอกของแพะพันธุ์อัลไพน์อายุ 6 เดือนที่ผ่านการบ่มเนื้อไว้ 7 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (5.29 กก) ต่ำกว่าที่บ่มไว้ 1 วัน (3.78 กก; $P < 0.05$) สอดคล้องกับ Teixeira et al (2011) ที่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะอายุ 5 – 9 ปี ที่ระยะเวลาการบ่ม 5 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าที่บ่มไว้ 3 วัน ($P < 0.01$) Kadim et al (2003) พบว่าเนื้อแพะที่บ่มไว้ 6 วัน (4.5 – 5.4 กิโลกรัม) มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่า ($P < 0.05$) ที่บ่มไว้ 1 วัน (7.2 - 7.7 กิโลกรัม) โดยระบุว่ากล้ามเนื้อสันนอกมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง 31 เปอร์เซ็นต์หลังการบ่มไว้ 6 วัน

4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษาต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

การศึกษาครั้งนี้พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของเอนไซม์ calpains ปริมาณคอลลาเจน รวมทั้งการสูญเสีย น้ำหลังการละลายน้ำแข็งหรือหลังการปรุงกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังตารางที่ 10

สหสัมพันธ์ระหว่าง calpain activity กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในการศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kouakou et al (2005) ในแพะพันธุ์อัลไพน์ อายุ 6 เดือน ในขณะที่ Veiseth-Kent et al (2010) ทดลองในกล้ามเนื้อสันนอกของโค ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง calpain 1 activity กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ แต่พบสหสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติระหว่าง calpastatin ซึ่งเป็นโปรตีนที่ยับยั้งการทำงานของ calpains กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ การศึกษาครั้งนี้พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคอลลาเจนทั้งคอลลาเจนที่ละลายได้ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย และคอลลาเจนรวมกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งขัดแย้งกับ Arguello et al (2005) ที่รายงานสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณคอลลาเจนกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($r = 0.30, P < 0.05$) แต่ไม่พบนัยสำคัญของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ การศึกษาครั้งนี้พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างการสูญเสียน้ำกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งขัดแย้งกับ Arguello et al (2001) ที่ทำการศึกษาในลูกแพะน้ำหนัก 10 กิโลกรัม พบสหสัมพันธ์เชิงลบระหว่างความสามารถในการจับน้ำของเนื้อกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($r = -0.53, P < 0.01$) เช่นเดียวกับ Arguello et al (2005) ที่รายงานสหสัมพันธ์เชิงลบระหว่างความสามารถในการจับน้ำของเนื้อกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($r = -0.43, P < 0.01$)

ตารางที่ 10 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษากับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

Trait	r (P-value)
calpain 1 activity	-0.22 (0.500)
calpain 2 activity	0.10 (0.756)
soluble collagen	0.21 (0.412)
Insoluble collagen	-0.08 (0.775)
Total collagen	-0.02 (0.942)
% soluble collagen	0.39 (0.138)
% Thawing loss	0.14 (0.487)
% Cooking loss	0.12 (0.563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาอิทธิพลของการบ่มที่ระยะเวลาแตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน การทำงานของเอนไซม์คาลเพน และคุณภาพเนื้อ ของกล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ที่เริ่มเข้าขุนแบบชังคอกเป็นเวลา 3 เดือนเมื่ออายุได้ประมาณ 7-10 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 26.52 ± 3.53 กิโลกรัม ผลการศึกษาสรุปได้ดังนี้

5.1 การบ่มเนื้อไว้ 2 7 และ 14 วันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคอลลาเจนทั้งคอลลาเจนที่ละลายได้ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย คอลลาเจนรวม และเปอร์เซ็นต์การละลายได้ของคอลลาเจน

5.2 ระยะเวลาการบ่มเนื้อไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ calpains โดยพบว่าที่ระยะการบ่ม 14 วัน calpain 1 activity เหลือไม่ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ แต่ calpain 2 activity ยังคงเหลืออยู่ 62 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะการบ่ม 21 วัน

5.3 การบ่มเนื้อไว้ 7 14 และ 21 วันไม่มีอิทธิพลต่อการสูญเสียน้ำหลังการทำละลายน้ำแข็งและหลังการปรุง

5.4 การบ่มเนื้อไว้ 21 วันช่วยเพิ่มความนุ่มของเนื้อได้

5.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคอลลาเจน calpain activity รวมทั้งการสูญเสียน้ำหลังการละลายน้ำแข็งและหลังการปรุงกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาถึงอิทธิพลของการบ่มต่อคาลปาสเตตินซึ่งเป็นโปรตีนที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คาลเพน และมีรายงานว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความนุ่มของเนื้อ
2. เนื่องจากข้อจำกัดของปริมาณเนื้อตัวอย่างที่มีน้อยทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนที่ระยะการบ่ม 21 วัน ซึ่งจากผลการทดลองครั้งนี้พบว่าที่การบ่ม 21 วันมีค่าแรงต่ำกว่าที่ 7 และ 14 วัน จึงควรศึกษาเพิ่มเติมว่าการบ่ม 21 วันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคอลลาเจนหรือไม่

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. (2554) ข้อมูลสถิติปศุสัตว์. ค้นเมื่อ 1 พฤษภาคม 2555, จาก http://www.dld.go.th/ict/th/index.php?option=com_content&view=section&id=10&Itemid=60
- ไชยวรรณ วัฒนจันทร์. 2551. บทสังเคราะห์เรื่องการเลี้ยงแพะของประเทศไทยและของภาคใต้ [แพะที่ไม่ใช่ (คนเลี้ยง) แพะรับบาป]. เอกสารนำเสนอในการประชุมสัมมนา เรื่อง “เชื่อมโยงงานวิจัยเพื่อรับใช้การพัฒนาจังหวัด : ความท้าทายที่สตูล”. ณ โรงเรียนอนุบาลรุ่งทิพย์ อ.เมือง จ.สตูล. วันที่ 21 กรกฎาคม 2551.
- เฉลิมขวัญ สุขนิยมไชยวรรณ วัฒนจันทร์ เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์. 2552. ผลของพันธุ์และระบบการเลี้ยงแพะที่มีต่อลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อ. ว วิทยา เทคโนโลยี มนส 28(4) : 424-433.
- Aberle, E. D., Forrest, J. C., Gerrard, D. E., Mills, E. W., Hedrick, H. B., Judge, M. D., and R. A. Merkel. 2001. Principles of Meat Science (4th ed.). Dubuque, IA: Kendall/Hunt.
- Archile-Contreras, A.C., I.B. Mandell, and P.P., Purslow. 2010. Disparity of dietary effects on collagen characteristics and toughness between two beef muscles. Meat Science 86 : 491-497.
- Argüello, A., J. Capote, R. Ginés and J.L. López. 2001. Effects of the rearing system on meat quality in young kids. Production systems and product quality in sheep and goats . Zaragoza : CIHEAM, p. 41 -44.
- Arguello, A., N. Castro, J. Capote, M. Solomon. 2005. Effects of diet and live weight at slaughter on kid meat quality. Meat Science 70 : 173-179.
- Arther, J.S.C., and Mykles, L. 2000. Calpain Zymography with casein or fluorescein isothiocyanate casein. In Calpain methods and protocols. Edited by J. S. ELce. Humana Press Inc., Totowa, NJ. 343 p.
- Boccard, R., L. Buchter, E. Casteels, E. Cosentino, E. Dransfield, D.E. Hood, R.L. Joseph, D.B. MacDougall, D.N. Rhodes, B.J. Tinbergen and C. Touraille. 1981. Procedures for measuring meat quality characteristics in beef productions experiments. Lives. Prod. Sci. 8: 385-397.
- Boehm, M.L., Kendall, T.L., Thompson, V.F., and Goll, D.E. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. Journal of Animal Science 76, 2415-2434
- Boleman, S.J., S.L. Boleman, R.K. Miller, J.R. Taylor, H.R. Cross, T.L. Wheeler, M. Koohmaraie, S.D. Shackelford, M.F. Miller, R.L. West, D.D. Johnson, and J.W. Savell. 1997. Consumer Evaluation of Beef of Known Categories of Tenderness. Journal of Animal Science 75 : 1521-1524.
- Casey N.H. 1992. Goat meat in human nutrition. In V International Conference on Goats, March 1992. p. 581-598.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Failla, S., Juárez, M., Vincenti, F., Ballico, S., Mormile, M. and González, S.F. 2008. Changes in meat quality characteristics of two beef muscles during ageing. II: tenderness and myofibrillar degradation. [Online] Available: <http://www.icomst.helsinki.fi/ICoMST2008/CD%20Papers>. [09/08/2011]
- Gadiyaram, K.M., Kannan, G., Pringle, T.D., Kouakou, B., McMillin, K.W., and Park Y.W. 2008. Effects of postmortem carcass electrical stimulation on goat meat quality characteristics. *Small Rumin. Res.* 78 : 106-114.
- Hemmings, H. C. and Hopkins, P. M. (2006). *Foundations of Anesthesia: Basic Sciences for Clinical Practice* (2nd ed.). London: Mosby Elsevier.
- Hill F. 1966. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. *Journal of Food Science* 31 : 161-166.
- Jeacocke, R. E. 1993. The concentrations of free magnesium and free calcium ions both increase in skeletal muscle fibres entering rigor mortis. *Meat Science* 35(1) : 27-45.
- Kadim, I.T., O. Mahgoub, D. S. Al-Ajmi, R. S. Al-Maqbaly, N.M. Al-Saqri and A. Ritchie. 2003. An evaluation of the growth, carcass and meat quality characteristics of Omani goat breeds. *Meat Science* 66: 203- 210.
- Kannan, G., Chawan, C.B., Kouakou, B., Gelaye, S., 2002a. Influence of packaging method and storage time on shear value and mechanical strength of intramuscular connective tissue of chevon. *J. Anim. Sci.* 80, 2383-2389.
- Kannan, G., Gadiyaram, K.M., Galipalli, S., Carmichael, A., Kouakou, B., Pringle, T.D., McMillin, K. W and Gelaye, S. 2006 "Meat Quality in goats as influenced by dietary protein and energy levels and -postmortem aging" *Small Rumin.Res.*61: 45-52.
- Kapprell H.P. and D.E. Goll. 1989. Effect of Ca²⁺ on binding of the calpains to calpastatin. *J. Biol. Chem.* 264 : 17888-17896.
- Koohmaraie, M., M. P., Kent, S.D., Shackelford, E. Veiseth and T.L., Wheeler. 2002. Meat tenderness and muscle growth: Is there any relationship. *Meat Science* 62 : 345-352.
- Kouakou, B., Gelaye, S., Kannan, G., Pringle, T.D., Amoah, E.A., 2005. Blood metabolites, meat quality and muscle calpain-calpastatin activities in goats treated with low doses of recombinant bovine somatotropin. *Small Rumin. Res.* 57, 203-212.
- Light, N. D., A. E. Champion, C. Voyle, and A. J. Bailey. 1985. The role of epimysial, perimysial and endomysial collagen in determining texture in six bovine muscles. *Meat Science* 13:137-149.
- Miller, M. F., H. R., Cross, J. D., Crouse and T. G., Jenkins. 1987. Effect of feed energy intake on collagen characteristics and muscle quality of mature cows. *Meat Science* 21(4) : 287-294.

- Nagaraj, N.S., Anilakumar, K.R., Santhanam, K., 2002. Changes in the calpain-calpastatin and cathepsin (B, B + L, H and D) during postmortem storage of goat muscles. *J. Food Biochem.* 26, 75-89.
- Nagaraj N.S., K.R. Anilakumar & Santhanam, K. 2006. Biochemical and physicochemical changes in goat meat during post mortem aging. *Journal of Muscle Foods* 17 : 198-213.
- Nishimura, T., Hattori, A. and Takahashi, K. 1996. Relationship between Degradation of Proteoglycans and Weakening of the intramuscular connective tissue during post-mortem ageing of beef. *Meat science* 42 : 251-260.
- Sylvestre MN, Balcerzak D, Feidt C, Baracos VE, Brun and J. Bellut. 2002. Elevated rate of collagen solubilization and postmortem degradation in muscles of lambs with high growth rates: possible relationship with activity of matrix metalloproteinases. *Journal of Animal Science* 80(7) : 1871-8.
- te Pas, M.F., Visscher, A.H., and de Greef, K.H. 2004. Molecular genetic and physiologic background of the growth hormone-IGF-I axis in relation to breeding for growth rate and leanness in pigs. *Domestic Animal Endocrinology* 27: 287-301.
- Teixeira, A., E. Pereira, and E.S. Rodrigues. 2011. Goat meat quality. Effects of salting, air-drying and ageing processes. *Small Ruminant Research* 98 : 55–58.
- Torrescano, G., Sánchez-Escalante, A., Giménez, B., Roncalés, P. and Beltrán, J.A. 2003. Shear values of raw samples of 14 bovine muscles and their relation to muscle collagen characteristics. *Meat Science* 64 : 85–91.
- Veiseth-Kent E., K. Hollung, R. Ofstad, L. Aass, and K.I. Hildrum. 2010. Relationship between muscle microstructure, the calpain system, and shear force in bovine *longissimus dorsi* muscle. *J. Anim Sci.* 88(10) : 3445-3451.
- Warriss, P.D. 2000. *Meat Science: An Introductory Text*. CAB International, Wallingford, UK.
- Wattanachant S., T. Sornprasitt and Y. Polpara. 2008. Quality characteristics of raw and canned goat meat in water, brine, oil and Thai curry during storage. *Songklanakarin Journal Science Technology* 30 (Suppl.1) : 41-50.
- Weston A.R., R.W. Rogers, Pas and T.G. Althen. 2002. The role of collagen in meat tenderness. *The professional animal scientist* 18 : 107-111.
- USDA. (2004). *Nutrient database for standard reference, release 16*. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

ภาคผนวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินงานโครงการวิจัย

รายการค่าใช้จ่าย	งบดำเนินงาน (บาท)
ค่าวัสดุ - ค่าสารเคมี	73,090.89
ค่าใช้สอย - ค่าจ้างเหมาวิเคราะห์ตัวอย่าง	26,909.11
รวมทั้งสิ้น	100,000.00



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

- ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ผศ. จันทรพร เจ้าทรัพย์
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Assist. Prof. Chanporn Chaosap
- หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)
สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร คณะ ครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลขที่ 1 ซอย
ฉลองกรุง 1 แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520 โทรศัพท์ 02-3298000-99 ต่อ 3699 โทรสาร 02-3264496-8
ต่อ 104
E-mail kcchanpo@kmitl.ac.th

3. ประวัติการศึกษา

ปีจบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา/วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษาและประเทศ
2535	ตรี	วทบ. / วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	สัตวบาล	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย
2538	โท	วทม. / วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)	วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย
2553	เอก	PhD / Doctor of Philosophy (Animal Science)	Animal Production	Nottingham university ประเทศอังกฤษ

- ประสบการณ์งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และ/หรือที่ผ่านมา ทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพ
ในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

4.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว:

ชื่อผลงานวิจัย	ปีที่พิมพ์	การเผยแพร่	แหล่งทุน	สถานภาพการทำวิจัย
1.การศึกษาคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อของไก่พื้นเมืองและไก่กระทรง	2549	สัมมนาวิชาการวารสารวิชาการ	เงินรายได้ ปีงบประมาณ 2548	หัวหน้าโครงการ 65 %
2. การศึกษาคุณภาพเนื้อสุกรพื้นเมืองของไทยสุกรป่า และสุกรลูกผสมสายพันธุ์ยุโรป	2549	สัมมนาวิชาการ	เงินรายได้ ปีงบประมาณ 2548	ผู้ร่วมโครงการ 30 %
3. การศึกษาการทำงานของเอ็นไซม์คาลเพนในเนื้อแพะ	2554	สัมมนาวิชาการ	เงินรายได้ ปีงบประมาณ 2554	หัวหน้าโครงการ 60 %
4. อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณภาพเนื้อแพะ	2555	สัมมนาวิชาการ	เงินรายได้ ปีงบประมาณ 2555	หัวหน้าโครงการ 100 %
5. ผลของการบ่มที่มีต่อการละลายได้ของคอลลาเจน การทำงานของเอ็นไซม์คาลเพนและคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์ยุโรป	2556	สัมมนาวิชาการ	เงินรายได้ ปีงบประมาณ 2556	หัวหน้าโครงการ 100 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 งานวิจัยที่กำลังทำ:

ชื่อแผนงานวิจัยและ/หรือโครงการวิจัย	แหล่งทุน	สถานภาพการทำวิจัย	ร้อยละผลสำเร็จ
การศึกษาคุณลักษณะของเนื้อเปิดพันธุ์เซอวีลเลย์ที่มีการเลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทรา	เงินรายได้ ปีงบประมาณ 2557	หัวหน้าโครงการ 100 %	50
การศึกษามลของการใช้ Improvac ต่อคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อสุกร	บริษัท โซเอทิส ประเทศไทย จำกัด	หัวหน้าโครงการ 70 %	30



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้