

การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในกล้ามเนื้อแกะลูกผสมดอร์เปอร์
ในระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน

THE CHANGING OF PROTEIN PATTERN AT DIFFERENT AGING PERIODS IN
DORPER CROSSBRED SHEEP MUSCLE



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-ED-M-241-121

การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในกล้ามเนื้อแกะลูกผสมดอร์เปอร์
ในระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน

THE CHANGING OF PROTEIN PATTERN AT DIFFERENT AGING PERIODS IN
DORPER CROSSBRED SHEEP MUSCLE



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2559

KMITL-2016-ED-M-241-121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE CHANGING OF PROTEIN PATTERN AT DIFFERENT AGING
PERIODS IN DORPER CROSSBRED SHEEP MUSCLE



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURAL EDUCATION
FACULTY OF INDUSTRIAL EDUCATION
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2016

KMITL-2016-ED-M-241-121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2016

FACULTY OF INDUSTRIAL EDUCATION

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในกล้ามเนื้อแกะลูกผสมดอร์เปอร์
เปอร์ในระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน

The Changing of Protein Pattern at Different Aging
Periods in Dorper Crossbred Sheep Muscle

นักศึกษา

นางสาวสุมิตรา โคละทัต

รหัสประจำตัว

56603275

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา

ครุศาสตร์เกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.กัญญา ตันตวิสุทธิกุล

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ผศ.น.สพ.ดร.จำลอง	มิตรชาวไทย	
รศ.ดร.พรรณนิภา	ศิระพิรุฬห์เทพ	
รศ.ดร.กัญญา	ตันตวิสุทธิกุล	
ดร.ภัทรภรณ์	ภัทรรังษัญญ์	
ผศ.ดร.จันทร์พร	เจ้าทรัพย์	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ

22 กรกฎาคม 2559 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ

ณ ห้องเรียนปริญญาเอก คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมรับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ มะโน)

คณบดี คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

วันที่ 21 เดือน ก.ย. พ.ศ. 2559

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในกล้ามเนื้อแกะ

ลูกผสมดอร์เปอร์ในระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน

นางสาวสุมิตรา โคละทัต

นักศึกษา

รหัสประจำตัว

56603275

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา

ครุศาสตร์เกษตร

พ.ศ.

2559

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.กัญญา ตันตวิสุทธิกุล

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ คือ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในกล้ามเนื้อสันสะเอว (*M. longissimus dorsi*, LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (*M. semimembranosus*, SM) ของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ในแต่ละระยะการบ่ม และศึกษาปัจจัยของชนิดกล้ามเนื้อและระยะเวลาการบ่มเนื้อต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ตัวอย่างที่ใช้เป็นกล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (SM) จากแกะลูกผสมดอร์เปอร์กับพื้นเมืองไทย จำนวน 5 ตัว ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 25 กิโลกรัม เลี้ยงด้วยอาหารผสมรวม (TMR) และหญ้าขนสด ภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน นาน 84 วัน จนมีน้ำหนักเข้าฆ่าประมาณ 40 กิโลกรัม ภายหลังจากฆ่าและชำแหละเป็น 2 ซีก เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อแกะทั้ง 2 ชนิด จากซากซีกซ้าย มาตัดแบ่งเป็น 3 ส่วน เท่า ๆ กัน บรรจุในถุงสุญญากาศ จากนั้น นำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิตั้ง 4 องศาเซลเซียส นาน 1, 7 และ 14 วัน เมื่อครบกำหนด นำมาศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริล โดยการแยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (SDS-PAGE) และวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของแถบโปรตีนที่ปรากฏโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Image Lab และตรวจสอบเพื่อยืนยันแถบของโปรตีนด้วยเทคนิค Western blotting ส่วนการศึกษาปัจจัยของชนิดกล้ามเนื้อและระยะเวลาบ่มที่มีต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อทั้ง 2 ชนิด จะใช้สถิติ Two-ways ANOVA without interaction และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test ผลการศึกษา การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนไมโอไฟบริล พบ แถบของโปรตีนทั้งหมด 16 แถบ ปรากฏในกล้ามเนื้อ LD และ SM โดยมีขนาดประมาณ 250, 236, 210, 142, 102, 54, 42, 36, 33, 30, 28, 22, 19, 18, 16 และ 14 kDa ตามลำดับ และผลการตรวจยืนยันด้วยเทคนิค Western blotting พบว่า แอนติบอดีสามารถจับกับแถบโปรตีนที่มีขนาด 37 และ 39 kDa ได้ นอกจากนี้ยังปรากฏแถบโปรตีนที่มีขนาด 28 และ 30 kDa ดังนั้น จึงยืนยันว่าโปรตีนดังกล่าว คือ โปรตีน Troponin-T และเป็นผลผลิตที่เกิดจากการย่อยสลายตัวของโปรตีน Troponin-T ตามลำดับ นอกจากนี้แล้ว แถบโปรตีนที่มีขนาด 28 และ 30 kDa ที่ปรากฏนั้น ในกล้ามเนื้อ SM ปรากฏชัดกว่ากล้ามเนื้อ LD เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อพบว่า ชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มมีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กล่าวคือ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ SM จะน้อยกว่ากล้ามเนื้อ LD โดยมีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่ออ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.40 ± 0.34 และ 6.66 ± 0.34 กิโลกรัม ตามลำดับ และค่าแรงตัดผ่านเนื้อของการบ่มเนื้อที่ 14 วัน จะน้อยกว่าการบ่มเนื้อที่ 1 วัน เฉลี่ยเท่ากับ 5.19 ± 0.41 และ 6.79 ± 0.41 กิโลกรัม ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างจากการบ่มที่ 7 วัน (6.10 ± 0.41 กิโลกรัม) ผลการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยของชนิดกล้ามเนื้อและระยะเวลาการบ่มมีผลต่อการย่อยสลายของโปรตีนโมโอไฟบริล ในกล้ามเนื้อของแกะลูกผสมดอร์เปอร์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่อ||อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	The Changing of Protein Pattern at Different Aging Periods in Dorper Crossbred Sheep Muscle
Student	Miss Sumittra Kolatath
Student ID.	56603275
Degree	Master of Science
Program	Agricultural Education
Year	2016
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Kunya Tuntivisoottikul

ABSTRACT

The purposes of this research were to study the changing of protein pattern in *M. longissimus dorsi* (LD) and *M. semimembranosus* (SM) of Dorper x Thai Native crossbred sheep at different aging periods, and to study the factors of muscle type and aging periods affecting shear force values. The sample were the LD and SM muscles from five crossbred sheep which raised at the initial weight of about 25 kg and fed with TMR and fresh grass under the same environment for 84 days. The animals were slaughtered with the final weight of about 40 kg and their carcasses were dissected into 2 halves. Both LD and SM muscles from the left side of the carcass were cut, and each muscle was divided into 3 pieces in order to age in polyvinyl chloride vacuum bags for 1, 7, and 14 days under 4 °C. The aged muscles at different times were used as samples for studying myofibrillar protein degradation pattern using SDS-PAGE. Molecular weight of the protein bands were analyzed by Image Lab Software. Western blotting technique was used to confirm the specific bands of protein. For studying the factors of muscle type and aging periods affecting shear force values, Two-ways ANOVA without interaction was used. Duncan's new multiple range test was used to compare the means of the factors. The results showed that sixteen bands of the myofibrillar proteins appeared in both SM and LD, which were 250, 236, 210, 142, 102, 54, 42, 36, 33, 30, 28, 22, 19, 18, 16, and 14 kDa, respectively. The result from Western blotting technique found that the antibody could active the protein bands with 37 and 39 kDa and also found the protein bands with 28 and 30 kDa. Therefore, it confirmed that the bands of 37 and 39 kDa and 28 and 30 kDa were Troponin-T protein and the degraded products of Troponin-T protein, respectively. Furthermore, the bands with 28 and 30 kDa in the SM muscle were more clearly than those in the LD. For the study of factors affecting the shear force values, it found that the muscle type and the aging periods had significantly influenced on shear force values ($p < 0.05$). The average shear force value of the SM was less than that of the LD (5.40 ± 0.34 and 6.66 ± 0.34 kg), respectively. The average shear force value of the aging periods at the 14 days was less than that of the 1 day

เอกสารนี้เป็นเอกสารทบทวนเวลาสำหรับการใช้ในเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(5.19 ± 0.41 and 6.79 ± 0.41 kg), respectively but did not differ from the 7 days (6.10 ± 0.41 kg). These results indicated that muscle type and aging periods were factors affecting the degradation of myofibrillar protein in the Dorper crossbred sheep muscle.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และด้วยอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยคำแนะนำและคำปรึกษาจาก รศ.ดร.กัญญา ตันติวิสุทธิกุล อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ทำวิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง และขอขอบพระคุณ ผศ.น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย รศ.ดร.พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ ดร.ภัทรารณณ์ ภัทรรังสฤษฏ์ และ ผศ.ดร.จันทรพร เจ้าทรัพย์ ที่ให้เกียรติมาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณ นางสาวอรพิน จันตะแสง ที่ช่วยอนุเคราะห์ในการสอนวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของรูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE และเทคนิค Western blotting และขอขอบพระคุณ นางสาวณิสา ศิริวงศ์ นางสาวปภาวรินทร์ พยัคเดชาชัย นางสาวนฤมล เจริญนาวิ และนายพิมุกต์ ทิวะรัศน์กุล ที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างเนื้อแกะ และงานวิจัยครั้งนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย เรื่องการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในกล้ามเนื้อของแกะลูกผสมในระยะเวลาบ่มต่าง ๆ ซึ่งได้รับการทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 คณะครุศาสตร์ อุดสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขอบคุณเพื่อนพี่และน้องทุกคนที่เป็นกำลังใจและช่วยเหลือผู้วิจัยมาตลอดประโยชน์และคุณค่าของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบแต่ ผู้มีพระคุณทุกท่านตลอดจนผู้ที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาตลอดจนสมาชิกในครอบครัวทุกท่าน ที่สนับสนุนทุนการศึกษาและคอยเป็นกำลังใจเสมอมา

สุมิตรา โคละทัต

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ชนิดและลักษณะโดยทั่วไปของแก๊ส.....	3
2.2 ชนิดของกล้ามเนื้อ.....	4
2.3 เส้นใยกล้ามเนื้อ (Muscle fiber).....	5
2.4 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย.....	7
2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อ.....	9
2.6 เทคนิคที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์หาคุณภาพของโปรตีน.....	11
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	16
3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	16
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	19
3.3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล.....	22
3.4 สถานที่ทำการทดลอง.....	22
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล.....	23
4.1 ผลการวิจัย.....	23
4.2 วิจารณ์ผล.....	26
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	29
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	29
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่อVIข้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม.....	30
ภาคผนวก.....	33
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี	34
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางสถิติ	39
ประวัติผู้เขียน.....	44



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 การเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์สำหรับการแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ด้วยเทคนิค SDS-PAGE	20
4.1 ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุดของข้อมูลของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ในแต่ละระยะเวลาการบ่ม ที่แตกต่างกัน (กิโลกรัม) ในกล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และ กล้ามเนื้อสะโพก (SM).....	25
4.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Two-ways ANOVA without interaction ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อจากปัจจัยต่าง ๆ	25
4.3 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่กล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (SM).....	25
4.4 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่ระยะเวลาการบ่ม 1, 7 และ 14 วัน.....	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่อ VIII ข้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แกะพันธุ์ดอร์เปอร์ (Dorper).....	3
2.2 แกะพันธุ์พื้นเมืองของไทย.....	4
2.3 การตัดแต่งซากแกะแปนขึ้นสวนขนาดใหญ่.....	5
2.4 โครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	5
2.5 โครงสร้างการเรียงตัวของไมโอไฟลาเมนต์.....	6
2.6 โปรตีนในกลุ่มไมโอไฟลาเมนต์ชนิดบาง.....	7
2.7 การเปลี่ยนแปลงในกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย.....	9
4.1 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อสะโพก (SM) และ กล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) ของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ที่ระยะเวลาการบ่ม 1, 7 และ 14 วันหลังฆ่า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS – PAGE.....	23
4.2 รูปแบบการสลายตัวของโปรตีน Troponin-T ในกล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (SM) ของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ที่ระยะเวลา การบ่ม 1, 7 และ 14 วันหลังฆ่า.....	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และดัดแปลงอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แกะมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ovis aries* เป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีขนาดเล็ก ให้ผลผลิตทั้งเนื้อและขน แกะจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศชนิดหนึ่ง เกษตรกรที่เลี้ยงแกะในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นผู้ที่นับถือศาสนาอิสลาม เลี้ยงแกะเป็นอาชีพเสริม ใช้เงินลงทุนต่ำ เลี้ยงแบบปล่อยให้หากินเองตามธรรมชาติ หรือเลี้ยงควบคู่อยู่กับการประกอบอาชีพหลักของเกษตรกร (พินิจ ร้อยศรี. 2553 : Online)

แกะพันธุ์ดอร์เปอร์ (Dorper) เป็นแกะที่พัฒนาพันธุ์ในช่วงปี ค.ศ. 1940 ในแอฟริกาใต้โดยการผสมข้ามสายพันธุ์ ระหว่างแกะพันธุ์แบลคเฮดเปอร์เซีย (Blackhead Persian) และแกะพันธุ์ดอร์เซทที่มีเขา (Dorset Horn) เป็นแกะเนื้อที่ให้เนื้อคุณภาพสูง ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี ทนแล้ง ลำตัวสีขาว หัวสีดำ ไม่มีเขาเพศผู้มีน้ำหนัก 90-120 กิโลกรัม เพศเมีย 50-80 กิโลกรัม (พินิจ ร้อยศรี. 2553 : Online)

เนื้อแกะเป็นอาหารหลักในบางส่วนของโลกและมีการบริโภคในหลายพื้นที่ และด้านประโยชน์ของเนื้อแกะ คือ มีโปรตีนที่คุณภาพสูง และเป็นแหล่งอุดมด้วยธาตุเหล็กมากกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ ผู้บริโภคมีความต้องการบริโภคเนื้อแกะ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และในประเทศไทยมีการนำเข้าเนื้อแกะจากต่างประเทศ ปีละ 761,852 กิโลกรัมต่อปี (กรมปศุสัตว์. 2550 : Online) จึงแสดงให้เห็นว่าเนื้อแกะยังเป็นที่ต้องการของมนุษย์ เพื่อนำมาประกอบอาหาร พิธีกรรมทางศาสนาของคนมุสลิม และคนที่นับถือศาสนาคริสต์เป็นหลัก ส่วนปัญหาที่พบกับเนื้อแกะในประเทศไทยนั้นคือ ราคาของเนื้อแกะที่มีราคาค่อนข้างสูงกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ และขณะเดียวกันผู้บริโภคเนื้อแกะยังประสบปัญหาเนื้อแกะที่ค่อนข้างเหนียว ไม่นุ่ม และการให้ข้อมูลทางคุณภาพเนื้อเกี่ยวกับเนื้อแกะยังมีน้อย

ความนุ่มของเนื้อ จัดเป็นคุณลักษณะที่สำคัญประการหนึ่งที่ผู้บริโภคได้ให้ความสนใจ โดยความนุ่มของเนื้อนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการทั้งปัจจัยก่อนสัตว์ตายได้แก่ ชนิด พันธุ์ เพศ และอายุสัตว์ ชนิดของกล้ามเนื้อและเส้นใยกล้ามเนื้อ ระดับการสะสมไขมัน รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตาย ซึ่งจะเป็นการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อทั้งสิ้น นอกจากนี้การบ่มเนื้อยังมีผลต่อคุณภาพของเนื้ออีกด้วย

ปัจจุบันการศึกษาวิจัยเรื่องแกะ โดยส่วนใหญ่เน้นทางการจัดการฟาร์มทำให้ข้อมูลทางวิชาการในเชิงลึกถึงระดับชีวโมเลกุลนั้นยังมีไม่มากนักโดยเฉพาะด้านความนุ่มของเนื้อ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงถือว่าเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษาเกี่ยวกับแกะในเชิงลึกด้านคุณภาพเนื้อที่ถูกนำมาบ่มในเวลาที่แตกต่างกันให้เนื้อนุ่มขึ้น ซึ่งข้อมูลด้านความนุ่มของเนื้อและการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนระหว่างการบ่ม สามารถไปใช้ในการตัดสินใจในเรื่องระยะเวลาการบ่มเนื้อ เพื่อลดต้นทุนในการผลิตและผู้บริโภคได้รับประทานเนื้อที่มีคุณภาพด้านความนุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในกล้ามเนื้อ 2 ชนิด คือ กล้ามเนื้อสันสะเอว (*M. longissimus dorsi*, LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (*M. semimembranosus*, SM) ของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ในแต่ละระยะการบ่ม

1.2.2 เพื่อศึกษาปัจจัยของตำแหน่งกล้ามเนื้อและระยะเวลาการบ่มเนื้อต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

ศึกษาค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อและการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในกล้ามเนื้อ 2 ชนิด คือ กล้ามเนื้อสันสะเอวและกล้ามเนื้อสะโพกของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ โดยทำการบ่มที่ระยะ 1, 7 และ 14 วัน โดยใช้เทคนิค SDS – PAGE และตรวจสอบเพื่อยืนยันแถบของโปรตีน ด้วยเทคนิค Western blotting

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในกล้ามเนื้อแต่ละชนิดและแต่ละระยะเวลาการบ่ม

1.4.2 ทราบถึงค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อแต่ละชนิดและแต่ละระยะเวลาการบ่ม

1.4.3 สามารถนำผลการวิจัยครั้งนี้ไปใช้ในการพิจารณาการบ่มในกล้ามเนื้อแกะแต่ละชนิดตามความเหมาะสม

1.4.4 สามารถนำงานวิจัยในครั้งนี้เป็นฐานข้อมูล เพื่อให้คนที่สนใจได้นำมาศึกษาด้านการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในเนื้อแกะ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชนิดและลักษณะโดยทั่วไปของแกะ

แกะ (*Ovis aries*) เป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีขนาดเล็ก ให้ผลผลิตทั้งเนื้อและขน แกะจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศชนิดหนึ่ง เกษตรกรที่เลี้ยงแกะในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นผู้ที่นับถือศาสนาอิสลาม เลี้ยงแกะเป็นอาชีพเสริม ใช้เงินลงทุนต่ำ เลี้ยงแบบปล่อยให้หากินเองตามธรรมชาติ หรือเลี้ยงควบคู่อยู่กับการประกอบอาชีพหลักของเกษตรกร (พินิจ ร้อยศรี. 2553 : Online)

ในการศึกษาครั้งนี้พันธุ์แกะที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย 2 พันธุ์ ได้แก่

1. แกะพันธุ์ดอร์เปอร์ (Dorper) เป็นแกะที่พัฒนาพันธุ์ในช่วงปี ค.ศ. 1940 ในแอฟริกาใต้โดยการผสมข้ามพันธุ์ ระหว่างแกะพันธุ์แบลคเฮด เปอร์เซีย (Blackhead Persian) และแกะพันธุ์ดอร์เซตฮอร์น (Dorset Horn) เป็นแกะเนื้อที่ให้เนื้อคุณภาพสูง ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี ทนแล้ง ลำตัวสีขาว หัวสีดำ ไม่มีเขา เพศผู้มีน้ำหนัก 90-120 กิโลกรัม เพศเมีย 50-80 กิโลกรัม



ภาพที่ 2.1 แกะพันธุ์ดอร์เปอร์ (Dorper)

ที่มา : Dorper Sheep Society of Australia Inc. (2558 : Online)

2. แกะพันธุ์พื้นเมืองของไทย มีลักษณะคล้ายแกะพันธุ์กันตัน ขนมีสีขาวอมดำ หูยาวพอประมาณ หน้าแหลม หางยาวประมาณ 30 เซนติเมตร เพศผู้มีน้ำหนักประมาณ 30 กิโลกรัม เพศเมียประมาณ 25 กิโลกรัม เลี้ยงง่าย ทนทาน หากินเก่ง



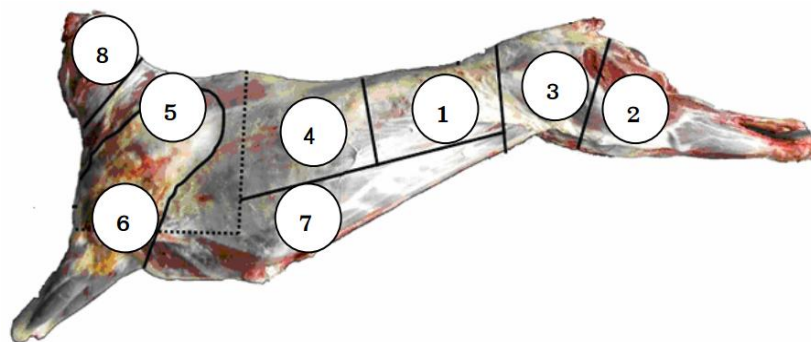
ภาพที่ 2.2 แกะพันธุ์พื้นเมืองของไทย
ที่มา : พินิจ ร้อยศรี (2553: Online)

2.2 ชนิดของกล้ามเนื้อ

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2549 : Online) เนื้อแกะตามมาตรฐานนี้แบ่งออกเป็น 8 ประเภท คือ

1. สันสะเอว (loins) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดผ่านกระดูกสันหลังระหว่างกระดูกซี่โครงซี่ที่ 12 กับซี่ที่ 13 จนถึงกระดูกสันหลัง ขอบสุดท้ายที่ต่อกับส่วนสะโพก (chump)
2. ขาหลัง (hind leg) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดขวางตั้งฉากกับแนวยาวของกระดูกขาหลังที่กระดูกสันหลัง ขอบสุดท้ายต่อกระดูกหาง โดยมีส่วนหัวกระดูกขาหลัง (femur) ขนาดประมาณ 2.5 cm ติดอยู่ด้วย
3. สะโพก (chump) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดผ่านกระดูกสันหลัง ส่วนเอวของขอบสุดท้าย
4. สันซี่โครง (rack) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดตามยาวผ่านกระดูกสันหลัง ระหว่างซี่โครงซี่ที่ 3 และ 4 ถึงซี่โครงซี่ที่ 12 โดยตัดแยกส่วนนอกออก
5. ไหล (shoulder) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดตามยาวจากบริเวณ ส่วนคอต่อกับกระดูกสันหลังถึง กระดูกซี่โครงซี่ที่ 3
6. ขาหน้า (fore leg) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดขาหน้าที่ติดกระดูกใบพายแยกจาก ส่วนไหล่
7. อก (breast) เป็นชิ้นส่วนซึ่งได้จากการตัดตามขวางกระดูกซี่โครง ให้ขนานกับแนวกระดูกสันหลังกว้างประมาณ 1 ใน 3 ของความกว้างของกระดูกอกถึงกระดูกสันหลังให้ติดเนื้อส่วนพื้นทอง
8. คอ (neck) เป็นชิ้นส่วนของเนื้อซึ่งได้จากการตัดแยกผ่านกระดูกส่วนคอต่อกับกระดูกสันหลัง

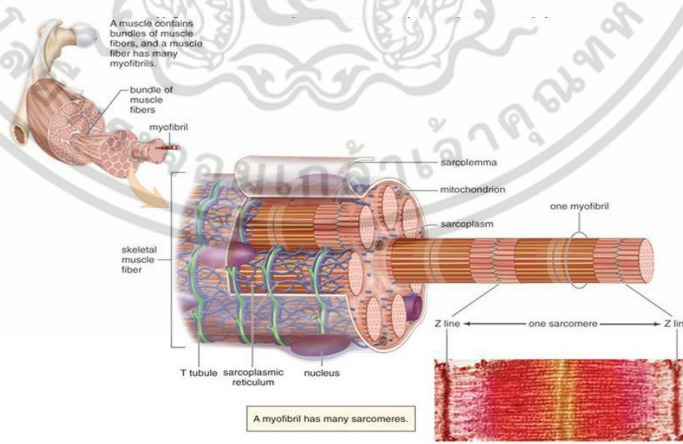
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 การตัดแต่งซากแกะแปนชั้นสวนขนาดใหญ่ (1. สันสะเอว, 2. ขาหลัง, 3. สะโพก, 4. สันซี่โครง, 5. ไหล่, 6. ขาหน้า, 7. อก และ 8. คอ)
ที่มา : มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2549 : Online)

2.3 เส้นใยกล้ามเนื้อ (Muscle fiber)

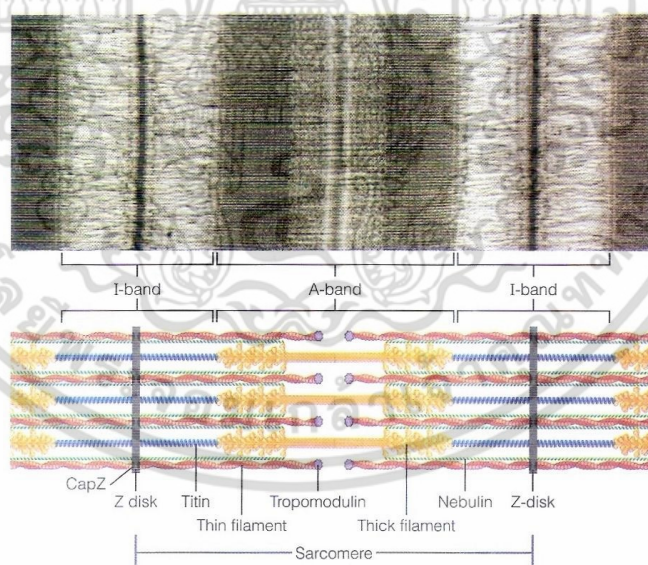
เส้นใยกล้ามเนื้อ (Muscle fiber) หรือเซลล์กล้ามเนื้อ (Muscle cell) เป็นหน่วยโครงสร้างที่สำคัญของกล้ามเนื้อโครงร่าง (Skeletal muscle) เป็นประเภทนิวเคลียส มีรูปร่างเป็นเส้นกลมยาว คล้ายเส้นด้าย ปลายทั้ง 2 ข้างสอบแหลม และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10-100 ไมครอน มีความยาวที่แปรปรวนสูง แต่ส่วนใหญ่จะยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร และยาวไม่เท่ากับความยาวของกล้ามเนื้อทั้งหมด ลักษณะเฉพาะตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อโครงร่าง คือ มีลายปรากฏอยู่ตลอด ปลายดังกล่าวเป็นผลมาจากลายภายในเส้นใยย่อย (Myofibril) โดยภายในแต่ละเส้นใยกล้ามเนื้อจะมีเส้นใยย่อย เรียงตัวตามยาวอัดแน่นกันอยู่อย่างเป็นระเบียบ เส้นใยย่อยเหล่านี้จะมีจำนวนมากถึง 1,000 เส้นต่อ 1 เส้นใยกล้ามเนื้อแสดงในภาพที่ 2.4 (สัญญาชัย จตุรสิทธิ์ธา 2550 : 98)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อ
ที่มา : สัญชัย จตุรสิทธิ์ธา 2550 : 98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัญญาชัย จตุรลิตธา (2550 : 14) กล่าวว่า ไมโอไฟบริล หรือเส้นใยย่อย (Myofibrils) มีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นเส้นใยเล็ก ๆ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.1 ไมครอนเรียงตัวขนานกันไปตามความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อและภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ 1 เส้นจะมีจำนวนของไมโอไฟบริลมากถึง 1,000 เส้น ไมโอไฟบริลแต่ละเส้นจะประกอบขึ้นด้วยมัดของเส้นใยกล้ามเนื้อขนาดเล็กจำนวนมาก ที่เรียกว่าไมโอฟิลาเมนต์ (Myofilament) ซึ่งมีด้วยกัน 2 ชนิด คือ ไมโอฟิลาเมนต์ชนิดหนา (Thick Filament) และไมโอฟิลาเมนต์ชนิดบาง (Thin Filament) โดยเส้นใยทั้ง 2 ชนิด จะวางตัวอยู่ในแนวขนานตามยาวกับไมโอไฟบริล ทำให้เห็นกล้ามเนื้อที่มีลักษณะลายและมีบางส่วนซ้อนกันทำให้เกิดแถบมืดและแถบสว่าง แถบมืดจะมีส่วนที่มืดน้อยกว่าอยู่ตรงกลาง เรียกว่า H band ซึ่งจะถูกแบ่งเป็น 2 ส่วน ด้วยเส้นทึบที่เรียกว่า M-line ส่วนแถบสว่างก็就会被แบ่งเป็น 2 ส่วนเท่า ๆ กัน ด้วยเส้นทึบที่เรียกว่า Z-line ซึ่งโครงสร้างของไมโอไฟบริล จาก Z-line หนึ่งไปยังอีก Z-line หนึ่ง เรียกว่า ซาร์โคเมียร์ (Sarcomere) เส้นเขตพื้นที่ของแต่ละซาร์โคเมียร์ จะพบแถบทึบแสงอยู่บริเวณส่วนกลาง เรียกว่า A-band ซึ่งมาจากคำว่า Anisotope ส่วน แถบโปร่งแสงมีพื้นที่อยู่ข้างละครึ่งของ Z-line เรียกว่า I-band ที่มาจากคำว่า Isotope (ภาพที่ 2.5) บริเวณแถบมืดซาร์โคเมียร์จะมีไมโอฟิลาเมนต์ชนิดหนา (Thick Filament) และในแถบสว่างจะมี ไมโอฟิลาเมนต์ชนิดบาง (Thin Filament) โดยบริเวณที่มืดหรือทึบมากที่สุดของ A-band จะเห็นไมโอฟิลาเมนต์ ทั้ง 2 ชนิดวางซ้อนกันอยู่และบริเวณที่มีความทึบน้อยของ A-band จะพบว่ามีเฉพาะไมโอฟิลาเมนต์ชนิดหนา (Thick Filament) อยู่เท่านั้นเรียกบริเวณนี้ว่า H-zone แสดงในภาพที่ 2.5 (สัญญาชัย จตุรลิตธา 2550 : 69)

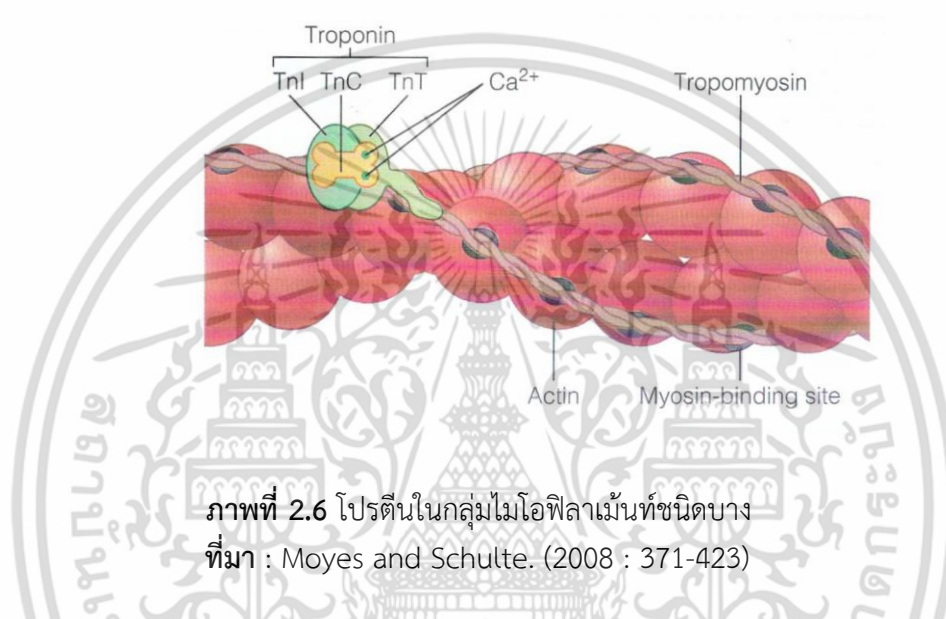


ภาพที่ 2.5 โครงสร้างการเรียงตัวของไมโอฟิลาเมนต์
ที่มา : Moyes and Schulte. (2008 : 371-423)

ไมโอฟิลาเมนต์ชนิดบาง ประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด ได้แก่ โปรตีนแอกติน (actin) โทรโปไมโอซิน (tropomyosin) และโทรโปนิน (troponin) โดยโปรตีน actin มีโครงสร้าง 2 แบบ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

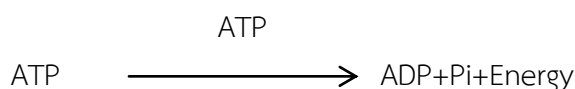
โปรตีน G-actin (globulin actin) มีลักษณะเป็นก้อนกลมอยู่ในสภาพโมเลกุลเดี่ยว และโปรตีน F-actin (fibrous actin) เป็นโครงสร้างของโปรตีน G-actin ต่อกันเป็นเป็นสายยาว โดยที่ F-actin 2 เส้นจะม้วนตัวเข้าหากันเป็นลักษณะเกลียวเชือก ส่วนโปรตีน troponin ประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย คือ โปรตีนโทรโปนิน ไอ (troponin-I; Tn-I) มีขนาด 24 kDa โปรตีน โทรโปนิน ซี (troponin-C; Tn-C) มีขนาด 18 kDa และ โปรตีนโทรโปนิน ที (troponin-T; Tn-T) มีขนาด 39 และ 37 kD มีหน้าที่จับกับ Ca^{2+} เพื่อการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อและโปรตีน tropomyosin มีลักษณะเป็นเส้นพันอยู่กับ G-actin และวางตัวตามลักษณะเกลียวเชือกและอยู่ในร่องของ F-actin แสดงในภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 โปรตีนในกลุ่มไมโอไฟลาเมนต์ชนิดบาง
ที่มา : Moyes and Schulte. (2008 : 371-423)

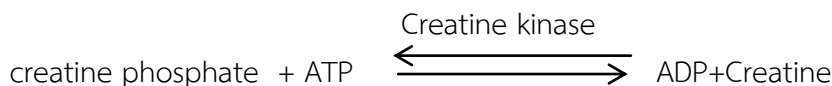
2.4 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย

สัญชัย จตุรสิทธา (2550 : 154) กล่าวว่า การเปลี่ยนแปลงภายในกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตาย (postmortem change) เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นภายหลังสิ้นสุดขั้นตอนการทำให้สัตว์ตาย ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในกล้ามเนื้อ ความสามารถในการทำหน้าที่ต่างๆ ของกล้ามเนื้อจะสูญเสียไปที่ละน้อย เมื่อเวลาผ่านไปกล้ามเนื้อจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อสัตว์โดยสมบูรณ์ โดยการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ภายหลังสัตว์ตายนี้จะมีผลอย่างมากต่อลักษณะทางคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในขั้นสุดท้าย การพยายามรักษาสมดุลควมมีชีวิตของกล้ามเนื้อจะดำเนินขึ้นทันทีหลังกระบวนการเอาเลือดออกจากร่างกายสัตว์เพื่อที่จะพยายามรักษาสภาพต่างๆ ในขณะที่มีชีวิตอยู่ จำเป็นต้องอาศัยพลังงานจำนวนมาก พลังงานเหล่านี้ได้มาจากการสลายสารประกอบ adenosine triphosphate (ATP) โดยเอนไซม์ ATPase ในไซโตพลาสซึม (cytoplasm)



เมื่อสัตว์ตายแล้ว กระบวนการสร้าง ATP ในสภาพปกติจะหยุดชะงัก ดังนั้นปริมาณ ATP ที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สะสมไว้จึงถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็ว จำเป็นต้องหาพลังงานอื่นมาทดแทนส่วนที่ถูกใช้ไป แหล่งแรกที่นำมาใช้คือ การแลกเปลี่ยนกลุ่มฟอสเฟตระหว่าง creatine phosphate กับ adenosinediphosphate (ADP) โดยเอนไซม์ creatine kinase



กระบวนการนี้เกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ เพราะว่า creatine phosphate มีปริมาณจำกัดจึงถูกใช้อย่างรวดเร็ว ไกลโคเจน (glycogen) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สะสมในกล้ามเนื้อจะถูกนำมาใช้ย่อยสลายโดยมีเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้องหลายขั้นตอน เพื่อให้ได้พลังงานในรูปแบบ ATP ออกมาทดแทนส่วนที่ถูกใช้ไป กระบวนการนี้เรียกว่าไกลโคไลซิส (glycolysis) ซึ่งถ้ายังมีออกซิเจนเพียงพอในกล้ามเนื้อก็จะเกิดกระบวนการไกลโคไลซิสโดยใช้ออกซิเจน (aerobic glycolysis)



เนื่องจากการขจัดเลือดออกจากร่างกายในการฆ่าสัตว์ ปริมาณออกซิเจนที่เข้าไปในเซลล์กล้ามเนื้อจะลดลงอย่างรวดเร็ว ยังผลให้เกิดกระบวนการย่อยสลายไกลโคเจนแบบไม่ใช้ออกซิเจน เรียกว่ากระบวนการไกลโคไลซิสโดยไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic glycolysis) เกิดขึ้นทดแทน



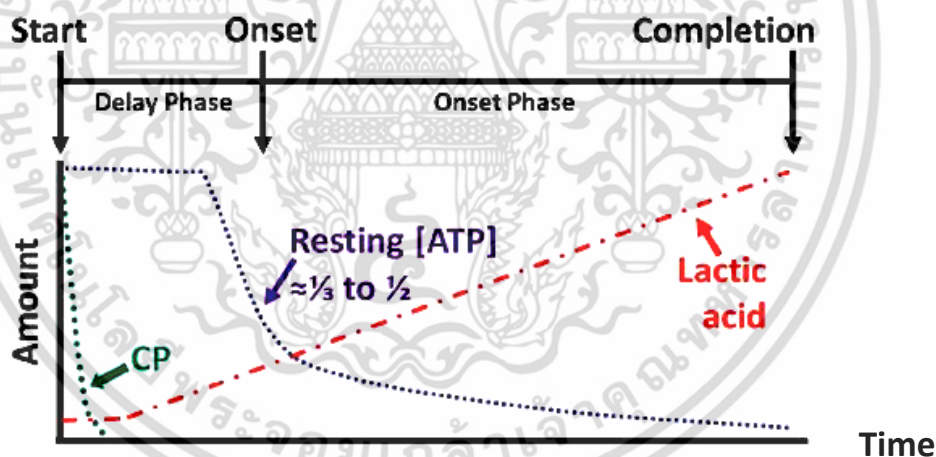
กระบวนการสุดท้ายนี้เรียกว่า กระบวนการไกลโคไลซิสภายหลังสัตว์ตาย (post-mortem glycolysis) ซึ่งเมื่อมีการสลายไกลโคเจน จะได้พลังงานออกมานั้นคือ ATP รวมทั้งกรดแลคติก ซึ่งจะสะสมไว้ในกล้ามเนื้อ

เมื่อ ATP ลดลงจนมีพลังงานน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ ของพลังงานเริ่มต้น cross bridge ของ thick และ thin filament ซึ่งส่งผลให้กล้ามเนื้อหดตัวจับกันแน่นขึ้น กรดแลคติกที่เกิดขึ้นจะไปเร่งกระบวนการ glycolysis ให้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังนั้นการเกิดกระบวนการนี้จะมีการสะสมกรดขึ้นภายในกล้ามเนื้อ ทำให้ค่าความเป็นกรด - ต่างของกล้ามเนื้อลดลง เมื่อความเป็นกรด - ต่าง ลดลงต่ำกว่า 6.0-6.5 ปฏิกิริยา glycolysis จะเกิดขึ้นได้แบบช้าลงมาก เพราะในกล้ามเนื้อที่มีความเป็นกรดสูงนั้น จะมีผลให้การทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการ glycolysis ถูกยับยั้ง การสังเคราะห์ ATP หยุดกล้ามเนื้อสามารถหดและคลายตัวได้อีกต่อไป เนื่องจากไม่มีพลังงานมาใช้ได้เพียงพอ

กรดแลคติกที่สะสมในกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น จะเร่งการสลายไกลโคเจนให้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ค่า pH ลดลง จนถึงจุดที่จะไม่ลดลงอีกต่อไป จุดนี้เรียกว่าจุด ultimate pH (pHu) มีค่าประมาณ 5.3-5.5 โดยกล้ามเนื้อที่มีความเป็นกรดสูงนั้นจะส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการไกลโคไลซิส ทำให้การสังเคราะห์พลังงานลดลง กล้ามเนื้อไม่สามารถหดและคลายตัวได้อีกเนื่องจากไม่มีพลังงานเพียงพอ กล้ามเนื้อจะเข้าสู่ภาวะเกร็งตัวอย่างถาวร (rigor mortis) ซึ่งเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล (2539 : 68) ได้อธิบายขั้นตอนการเกิดกระบวนการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ ภายหลังจากสัตว์ตาย โดยเริ่มจากแคลเซียมถูกขับออกจากซาร์โคพลาสมิกรีติคิวลัมเข้าสู่ซาร์โคพลาสซึม ในสภาวะปกติจะมีการดูดกลับของแคลเซียมเข้าสู่ซาร์โคพลาสมิกรีติคิวลัม ภายหลังจากสัตว์ตายเมื่อพลังงานหมดลงแคลเซียมจะไม่ถูกดูดกลับ ทำให้แคลเซียมเข้าไปจับกับ troponin-C กระตุ้นการทำงานของ myosin ATPase ทำให้เกิดการเคลื่อนตัวเข้าหากันของแอกตินและไมโอซิน ประกอบกับขาด Mg-ATP ที่ทำให้เกิดการเคลื่อนตัวของแอกตินและไมโอซิน ทำให้เกิดการ cross-linkage ที่เกาะกันแน่น ส่งผลให้ซาร์โคเมียร์สั้นลง ซึ่งปรากฏการณ์ที่เกิดภายหลังจากสัตว์ตาย (ภาพที่ 2.7) แบ่งออกได้ 3 ขั้นตอน คือ

1. delay phase เป็นระยะที่มีการเคลื่อนตัวของแอกตินและไมโอซินอย่างอิสระ มีการยึดและหดตัวของซาร์โคเมียร์ การดูดเข้า-ออกของแคลเซียมระหว่างเซลล์ปกติ พลังงานสะสม creatin phosphate และ ATP ยังมีอยู่
2. onset or rapid phase เป็นระยะที่มีความสามารถในการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อลดลงอย่างรวดเร็ว ไม่พบการดูดเข้า-ออกของแคลเซียม พลังงานสะสมในรูปของ creatin phosphate และ ATP หมดไป
3. completion phase เป็นระยะที่ไม่มีการยึดตัวของกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อเกิดการหดเกร็งตัว อย่างถาวร เป็นระยะเริ่มมีการทำงานของเอนไซม์ในเนื้อ พร้อมกับเข้าสู่ระยะการเน่าเสียของเนื้อ



ภาพที่ 2.7 การเปลี่ยนแปลงในกล้ามเนื้อภายหลังจากสัตว์ตาย
ที่มา : Moyes and Schulte. (2008 : 371-423)

2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อ

ความนุ่มของเนื้อ เป็นลักษณะสำคัญที่บ่งบอกถึงคุณภาพของเนื้อ และมีผลอย่างยิ่งต่อความพึงพอใจของผู้บริโภค รวมทั้งการตัดสินใจซื้อหรือบริโภคซ้ำอีกครั้ง โดยความนุ่มเป็นอีกปัจจัยหนึ่งของความอร่อย (วัชรวิทย์ มีหนองใหญ่ 2557 : 443) ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อแกะ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เพศ

เพศมีอิทธิพลต่อความนุ่ม คือ ในแกะที่มีอายุเท่ากัน เนื้อแกะเพศผู้ไม่ตอนจะมีความนุ่มน้อยกว่าเนื้อแกะเพศผู้ตอน (Beermann et. al. 1995 : 2493-2503) เนื่องจากฮอร์โมนเพศผู้จะไปกระตุ้นให้คอลลาเจนในเพศผู้มีปริมาณเพิ่มขึ้นส่งผลให้เนื้อในเพศผู้ไม่ตอนเหนียวกว่าเพศผู้ตอน แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างความนุ่มเพศผู้ตอนกับเพศเมีย

2. อายุและน้ำหนัก

แกะที่อายุและน้ำหนักมากเนื้อจะมีความเหนียว นั่นหมายถึงแกะที่อายุมากเนื้อจะเหนียวมากขึ้น อายุของแกะมีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่าน แกะที่อายุน้อยส่วนใหญ่จะมีความนุ่มมากกว่าเนื่องจากมีคอลลาเจนที่ละลายในน้ำได้สูงกว่า แกะที่มีอายุมาก (Matthews and Ford 2012 : 1-33)

Young and Braggins (1993 : 213-222) ได้ศึกษากล้ามเนื้อ semimembranosus ของแกะลูกผสม ในอายุที่แตกต่างกัน พบว่า คอลลาเจนที่ไม่ละลายเพิ่มขึ้นตามอายุของสัตว์ และคอลลาเจนที่ละลายน้ำได้มีปริมาณสูงในสัตว์ที่อายุน้อย และพบว่า เนื้อแกะอายุ 2 เดือน มีความนุ่มมากกว่าเมื่อเทียบกับเนื้อแกะอายุ 10 เดือน ความแตกต่างของความนุ่มขึ้นอยู่กับระยะเวลาการบ่ม เนื่องจากการทำงานของโปรตีน โปรติเอส ซึ่ง Pringle et. al. (1993 : 636) กล่าวว่าน้ำหนักซากมีผลต่อความนุ่มอย่างมีนัยสำคัญ

สัญชัย จตุรสิทธา (2550 : 75) กล่าวว่า สัตว์ที่มีอายุมากขึ้นเนื้อจะมีความเหนียวเพิ่มขึ้นเนื่องจากปริมาณ intramolecular และ intermolecular cross-linkage เพิ่มขึ้นและมีความแข็งแรงมากขึ้น จึงทำให้เนื้อมีความเหนียวกว่าสัตว์ที่อายุน้อย โดยสัตว์ที่มีอายุมากขึ้นนั้น ถึงแม้ว่าปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ปริมาณของ intermolecular cross-links ภายในเส้นใยย่อยของคอลลาเจนมีเพิ่มมากขึ้น

3. ชนิดของกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อแต่ละชนิด มีความนุ่มที่ต่างกัน โดย Martínez-Cerezo et. al. (2005: 571-578) กล่าวว่า กล้ามเนื้อ semitendinosus (ST) มีความนุ่มที่จะไม่ต้องบ่มหรือบ่มเพียงแค่ 1-2 วัน ก็เพียงพอแต่กล้ามเนื้อ semimembranosus (SM) และ gluteo biceps (GB) จะต้องใช้ระยะเวลาการบ่มนาน 8-16 วัน จึงจะทำให้เนื้อนุ่มได้เท่ากับกล้ามเนื้อ ST

4. ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ เส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด (fine texture) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อเล็ก และเส้นใยกล้ามเนื้อหยาบ (coarse texture) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่กว่า เนื้อที่มีความนุ่มไม่เหนียว จะเป็นเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด ซึ่งความละเอียดหรือหยาบของเส้นใยกล้ามเนื้อขึ้นอยู่กับอายุ ชนิดสัตว์ และชนิดของกล้ามเนื้อ (ฉันทวัฒน์ อาชวาคม 2552 : 17)

5. เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีบทบาทต่อความนุ่มของเนื้อ 2 ประการ คือ ประการแรกเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเป็นเนื้อเยื่อชนิดหนึ่งของร่างกาย โดย ชนิดของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ได้แก่ 1) Collagen 2) Elastin 3) Reticulin ซึ่งส่งผลให้เนื้อมีความนุ่มลดลง กล้ามเนื้อที่อยู่ในตำแหน่งที่มีการเคลื่อนไหว

ของกล้ามเนื้อมาก จะส่งผลทำให้มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากขึ้นและมีความนุ่มของเนื้อลดลง ประการที่ 2 ของกล้ามเนื้อที่แข็งแรงส่งผลให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากขึ้นและมีความนุ่มของเนื้อลดลง ประการที่ 2 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การละลายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเมื่อได้รับความร้อน การปรุงอาหารที่ให้ความร้อนอย่างช้าๆ ส่งผลให้คอลลาเจนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเกิดการละลายทำให้เนื้อนุ่มขึ้น การละลายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันช่วยให้เนื้อนุ่มมากขึ้น ในสัตว์ที่มีอายุมากจะมี cross-link ภายในคอลลาเจนมากกว่าสัตว์ที่มีอายุน้อย ทำให้สัตว์ที่มีอายุมากมีการละลายของคอลลาเจนน้อยกว่าสัตว์ที่อายุน้อย ทำให้สัตว์ที่มีอายุมากมีความนุ่มน้อยกว่าสัตว์ที่มีอายุน้อย (สไบพร มะเตือ 2557 : 15)

6. ความยาวซาร์โคเมียร์

ความยาวซาร์โคเมียร์จะสั้นลงเมื่อก้ามเนื้อเกิดการหดเกร็งตัว โดยโปรตีนแอคตินและไมโอซินที่เป็นองค์ประกอบหลักของซาร์โคเมียร์จับกันขณะที่เกิดการหดเกร็งตัวของก้ามเนื้อ ภายหลังสัตว์ตาย ซาร์โคเมียร์หดสั้นลงจะส่งผลต่อความนุ่มของเนื้อ ความยาวของซาร์โคเมียร์ได้รับอิทธิพลจากชนิดของก้ามเนื้อในระหว่างการเกิดกระบวนการหดเกร็งตัวของก้ามเนื้อ (rigor mortis) การยืดก้ามเนื้อหรือการแขวนซากจะช่วยให้ซาร์โคเมียร์ยาวขึ้น และอุณหภูมิขณะเกิดการหดเกร็งตัว โดยการให้ความเย็นก่อนการหดเกร็งตัวก้ามเนื้อ (cold pre-rigor) ส่งผลให้ซาร์โคเมียร์หดสั้นลงเนื่องจากความเย็น กระบวนการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์ (proteolytic degradation) ในก้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย ส่งผลทำให้เกิดการแตกตัวของซาร์โคเมียร์ภายหลังการปรุงสุก (สไบพร มะเตือ 2557 : 16)

7. ปริมาณไขมันแทรก

อิทธิพลจากไขมันแทรก (intramuscular fat) ภายในก้ามเนื้อ ซึ่งไขมันจะช่วยลดปริมาณโปรตีนต่อหน่วยของเนื้อ โดยจะลดความหนาแน่นของโปรตีน ส่งผลทำให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังชี้ให้เห็นว่าไขมันที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์ของก้ามเนื้อ หรือภายในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน จะช่วยลดแรงที่ใช้ในการตัดเนื้อ นอกจากนี้ไขมันยังเป็นตัวเชื่อมระหว่างเส้นใยก้ามเนื้อ เพิ่มการรับรู้ความนุ่มของเนื้อ (สไบพร มะเตือ 2557 : 16)

8. การบ่ม

การบ่มเนื้อแกะที่อุณหภูมิต่ำเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อเพิ่มความนุ่ม โดยกระบวนการ tenderisation ซึ่งความนุ่มจะลดลงด้วยระยะเวลาการบ่ม กล่าวคือ ส่วนใหญ่จะมีประสิทธิภาพในช่วงแรกของ tenderization เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ธรรมชาติที่อยู่ภายในเนื้อด้วยการทำให้โครงสร้าง myofibrillar แตกตัว และ Matthews and Ford (2012 : 1-33) รายงานว่า การบ่มเนื้อ longissimus dorsi ของแกะ ที่ 1 องศาเซลเซียส น้น 80 เปอร์เซ็นต์ ของ กระบวนการเกิดเนื้อนุ่ม(tenderization) จะเกิดขึ้นในช่วง 7.7 วัน หลังการฆ่า และการบ่มเนื้อแกะนานถึง 10 วัน ไม่ต่างจากการบ่ม 7 วัน

2.6 เทคนิคที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์หาคุณภาพของโปรตีน

การวิเคราะห์คุณภาพของโปรตีน สามารถกระทำได้ 2 เทคนิค (สายทิพย์ ซาปาวิ. 2555 : Online) ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Affinity Chromatography

เป็นเทคนิคที่ใช้คุณสมบัติทางชีวภาพที่จำเพาะของโปรตีนในการแยกโปรตีน เพราะโปรตีนมีโครงสร้างในสามมิติที่จำเพาะ โปรตีนบางชนิดจึงจับกับสารบางอย่างได้อย่างจำเพาะ โปรตีนประเภทนี้สามารถแยกได้โดยนำสารที่จะจับกับโปรตีนมาต่อกับอนุภาคของเจลด้วยพันธะโควาเลนต์ แล้วจึงจึงบรรจุเข้าหลอดแก้วสำหรับโครมาโตกราฟี โปรตีนที่สามารถจับกับสารจำเพาะได้ก็จะคงค้างอยู่ในหลอดแก้ว ส่วนโปรตีนอื่นๆที่ไม่สามารถจับกับสารจำเพาะได้ก็จะถูกชะออกมา เมื่อชะล้างโปรตีนตัวอื่นๆหมดแล้ว จึงชะโปรตีนที่ต้องการด้วยสารละลายจำเพาะ ซึ่งจะทำให้โปรตีนนั้นมาจับกับสารละลายจำเพาะแทนก็จะทำให้ทราบว่าโปรตีนชนิดใด (สายทิพย์ ซาปาวิ. 2555 : Online)

2. SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS - PAGE)

หลักการของ SDS - PAGE คือ เทคนิคที่ใช้อิเล็กโตรโฟรีซิสช่วยหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่ทำให้โปรตีนเคลื่อนที่ไปตามน้ำหนักโมเลกุลโดยผ่านสนามไฟฟ้า โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากจะเคลื่อนที่ช้ากว่าโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย

SDS (Sodium Dodecyl Sulphate) คือ สารที่ไปจับกับโปรตีนในอัตราส่วนโดยน้ำหนักคงที่ นอกจากนี้ SDS จะทำให้โปรตีนเสียสภาพเปลี่ยนสภาพจากทรงกลมไปอยู่ในสภาพที่เหยียดตรง ดังนั้นการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าของโปรตีนจึงเป็นการเคลื่อนที่โดยอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลโดยจะเป็นการเคลื่อนที่จากขั้วไฟฟ้าลบไปสู่ขั้วไฟฟ้าบวกซึ่งสามารถหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนได้จากระยะการเคลื่อนที่ของโปรตีนที่ต้องการทราบน้ำหนักโมเลกุลกับโปรตีนมาตรฐาน

PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) คือการแยกโปรตีนโดยใช้รูพรุนของ Polyacrylamide gel และรูพรุนจะแปรผกผันกับความเข้มข้นของ Acrylamide ในส่วนผสมของเจล คือถ้าความเข้มข้นของ Acrylamide ต่ำขนาดของรูพรุนจะใหญ่ซึ่งเหมาะสำหรับแยกโปรตีนที่มีขนาดใหญ่และถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ Acrylamide ให้สูงขึ้นขนาดรูพรุนจะเล็กลงเหมาะสำหรับแยกโปรตีนขนาดเล็กการแยกโปรตีนส่วนใหญ่ใช้เจลที่มีความเข้มข้นของ Acrylamide อยู่ในช่วงร้อยละ 5 - 15 ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสม (สายทิพย์ ซาปาวิ. 2555 : Online)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อในแกะมีการศึกษาในต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ส่วนในประเทศไทยยังไม่มีรายงานมาก่อน จะพบแต่ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนดังกล่าวในสัตว์ชนิดอื่นๆ เท่านั้น ได้แก่

กันยา ต้นติวิสุทธิกุล (2554 : บทความย่อ) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อของแพะในระยะเวลายบต่างๆ โดยมีตัวอย่างเป็นแพะลูกผสมเพศเมีย มีน้ำหนักมีชีวิตประมาณ 25-30 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อไหล่บ่มเนื้อทั้ง 2 ส่วนภายใต้สุญญากาศ ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 1, 7, 14 และ 21 วัน เมื่อครบแล้วกำหนดแล้วนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริล โดยใช้เทคนิค SDS - PAGE และค่าแรงตัดผ่าน ผลการศึกษาพบว่า 1. การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อ ที่การบ่ม 1 วัน พบแถบโปรตีนที่มีขนาด 212, 102, 86, 71, 58, 56, 50, 44, 40, 36, 35, 31, 26, 24, 22, 18 และ 16 kDa ตามลำดับ และแถบโปรตีนขนาด 26 และ 24 kDa จะปรากฏชัดในกล้ามเนื้อไหล่ (*M.Infraspinatus*, IF) ในทุกระยะการบ่ม ซึ่งในกล้ามเนื้อสันนอกจะปรากฏชัดในวันที่ 1 ของการเอกสารถึงเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ผ่านการพิจารณาใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ่ม ส่วนแถบโปรตีน 31 kDa นั้นจะปรากฏชัดในกล้ามเนื้อสันนอกรอกกว่ากล้ามเนื้อไหล่ 2. ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดของค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อสันนอกเมื่อทำการบ่มที่ 1, 7, 14 และ 21 วัน คือ 9.22–17.88, 6.15–7.68, 5.19–13.83 และ 4.24–9.82 กิโลกรัม ตามลำดับส่วนในกล้ามเนื้อไหล่ เท่ากับ 4.28–9.48, 5.29–7.82, 3.19–8.73 และ 3.50–7.13 กิโลกรัม ตามลำดับ 3 ชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มเนื้อมีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กล่าวคือ ค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้อสันนอกต่ำกว่ากล้ามเนื้อไหล่และเนื้อแพะที่บ่มถึง 14 และ 21 วันจะมีค่าแรงตัดผ่านน้อยกว่ากล้ามเนื้อที่มีการบ่ม 1 วัน ส่วนการบ่มเนื้อที่ 14 วันไม่ต่างจากเนื้อที่บ่ม 7 วัน และการบ่มเนื้อที่ 21 วัน

จุฑารัตน์เศรษฐกุล และ คณะ (2554 : 73) ได้ทำการศึกษาคูณภาพเนื้อโคขุนที่มาจากแม่โคนมคัดทิ้งต่างอายุ 3, 4 และ 5 ปีที่ระยะเวลาการบ่มเนื้อแตกต่างกัน (1, 7, 14, 21 และ 30 วัน) โดยใช้แม่โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียน ระดับเลือด 68.75 เปอร์เซนต์ขึ้นไป น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 355 ± 6.31 กิโลกรัม ที่ถูกคัดทิ้งจากฟาร์มเนื่องจากมีปัญหาความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ หรือให้ผลผลิตน้ำนมต่ำผลการศึกษาด้านองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อ พบว่า อายุไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อ และปริมาณคอลลาเจนทั้งปริมาณของคอลลาเจนที่ละลายได้ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย และคอลลาเจนทั้งหมดในเนื้อ ด้านคุณภาพเนื้อ พบว่า อายุมีผลต่อค่าความสว่าง (Lightness : L^*) ของเนื้อสันนอกในแม่โคอายุ 5 ปี ซึ่งมีค่า L^* ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับแม่โคอายุ 4 และ 3 ปี ($p < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 37.77, 41.16 และ 40.49 ตามลำดับเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก (cooking loss) ในกลุ่มแม่โคอายุ 4 ปี มีค่าน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มแม่โคอายุ 5 ปี และ 3 ปี ($p < 0.05$) ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner-Bratzler shear force; WBSF) ในกลุ่มแม่โคอายุ 5 ปี มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มแม่โคอายุ 3 และ 4 ปี ($p < 0.05$) สอดคล้องกับความเข้มข้นของโปรตีน Troponin-T (28-30kDa) ของแม่โคอายุ 5 ปี มีค่าน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับแม่โคอายุ 3 และ 4 ปี สำหรับระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกันมีผลให้ค่า L^* และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการทำให้สุกมีค่าเพิ่มขึ้นแต่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาการบ่มของเนื้อเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ไม่พบอิทธิพลรวมระหว่างอายุที่เข้าฆ่าและระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกันต่อคุณภาพเนื้อที่ได้ศึกษา

อรพิน พิมพ์สมแดง (2553 : บทคัดย่อ) ได้ทำการศึกษารูปแบบการย่อยสลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อและกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์กลุ่มคาลเปนในกล้ามเนื้อสันนอก (*M. longissimusdorsi*) ของกวางรูซ่าหลังการฆ่า โดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อจากกวางจำนวน 10 ตัว มาตัดแบ่งเป็น 6 ส่วนเท่าๆ กัน บรรจุในสภาพถุงสุญญากาศและบ่มที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ตามระยะเวลาหลังการฆ่า 1, 3, 5, 7, 14 และ 21 วัน เมื่อวิเคราะห์ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (WBSF) พบว่าการบ่มเนื้อหลังการฆ่ามีผลทำให้เนื้อนุ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยค่า $p < 0.01$ โดยเนื้อที่ผ่านการบ่ม 1 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 9.01 ± 0.83 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร และเมื่อบ่มถึง 21 วัน มีค่าเท่ากับ 4.34 ± 0.10 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์รูปแบบการสลายตัวของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อโดยการแยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (SDS-PAGE) พบว่าแถบโปรตีนที่มีขนาด 37-39 kDa มีความเข้มลดลงขณะที่แถบโปรตีนขนาด 29-30 kDa ปรากฏความเข้มเพิ่มขึ้น เมื่อบ่มนานขึ้นและเมื่อตรวจสอบยืนยันด้วยเทคนิค Western blotting พบว่าโปรตีนดังกล่าวเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด troponin-T และเมื่อศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ μ -calpain m-calpain พบว่าเอนไซม์ μ -calpain มีปริมาณลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากวันที่ 1 ถึง 14 หลังการฆ่า ขณะที่เอนไซม์ m-calpain ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 21 วันหลังการฆ่า เมื่อวิเคราะห์ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ พบว่า เอนไซม์ μ -calpain มีกิจกรรมการทำงานลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติด้วยค่า $p < 0.01$ โดยมีค่าเท่ากับ 1.496 ± 0.423 ถึง 0.194 ± 0.278 หน่วยต่อกรัมของเนื้อในวันที่ 1 ถึง 21 หลังการฆ่า ขณะที่ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ m-calpain และ calpastatin มีค่าลดลงเล็กน้อย ($p > 0.05$) โดยกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ m-calpain มีค่าเท่ากับ 22.880 ± 9.642 ถึง 16.954 ± 8.340 หน่วยต่อกรัมของเนื้อ และกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ calpastatin มีค่าเท่ากับ 9.934 ± 2.365 ถึง 6.820 ± 2.960 หน่วยต่อกรัมของเนื้อ ส่วนค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตัดผ่านเนื้อกับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ μ -calpain, m-calpain และ calpastatin มีค่าเท่ากับ 0.915, 0.758 และ 0.462 ตามลำดับ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ยืนยันได้ว่าในเนื้อกวางรูซ่า เอนไซม์ μ -calpain เป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เนื้อมีความนุ่มเมื่อเทียบกับเอนไซม์ m-calpain and calpastatin และทำให้ทราบว่าการบ่มกล้ามเนื้อสันนอกของเนื้อกวางรูซ่าเพียง 14 วันหลังการฆ่า น่าจะเพียงพอและยังช่วยลดต้นทุนในการผลิตลงอีกด้วย

Hopkins and Thompson (2001 : 1-12) ได้ศึกษาการย่อยสลายของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อของโคและแกะ โดยการใช้ SDS-PAGE พบว่า โปรตีน titin, nebulin, troponin-T, desmin, filamin และ vinculin มีอัตราการย่อยสลายที่แตกต่างกันระหว่างการเก็บรักษาเนื้อภายหลังสัตว์ตาย

Martinez-Cerezo (2005 : 571-578) ศึกษาเกี่ยวกับผู้บริโภครับกับความชอบโดยรวมของเนื้อแกะ จากกล้ามเนื้อ 3 ตำแหน่ง คือ กล้ามเนื้อ *semitendinosus* (ST), *semimembranosus* (SM) และ *gluteo biceps* (GB) ทั้งชายและหญิง ของแกะเพศผู้ 180 ตัว กล้ามเนื้อดังกล่าวมาจากแกะพันธุ์ที่เลี้ยงในสเปน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ Rasa Aragonesa (พันธุ์พื้นเมืองให้เนื้อ) พันธุ์ Churra (พันธุ์พื้นเมืองให้นม) และ พันธุ์ Spanish Merino ฆ่าที่น้ำหนัก 10-12, 20-22, และ 30-32 กิโลกรัม ตามลำดับ โดยเก็บกล้ามเนื้อแยกแต่ละตำแหน่งบรรจุสุญญากาศ แล้วนำไปบ่มที่ 1, 2, 4, 8 และ 16 วัน โดยให้ผู้บริโภคประเมินความนุ่ม, คุณภาพรสชาติและความชอบโดยรวม ผลการศึกษา พบว่า พันธุ์, น้ำหนักเข้าฆ่าและการบ่ม มีผลต่อความนุ่ม, รสชาติและความชอบโดยรวมของผู้บริโภค ($P < 0.05$) และพบว่า พันธุ์ Churra มีคะแนนความเหนียวมากที่สุด ในขณะที่แกะพันธุ์ Spanish Merino มีความนุ่มที่สุด ที่น้ำหนักเข้าฆ่า 20-22 กิโลกรัม แต่ไม่ต่างจากน้ำหนักเข้าฆ่าที่ 10-12 กิโลกรัม กล้ามเนื้อที่มาจากแกะที่มีน้ำหนักมากที่สุด (30-32 กิโลกรัม) จะเหนียวที่สุด และกล้ามเนื้อจากแกะที่มีน้ำหนักน้อยสุดจะนุ่มที่สุดและพบว่า กล้ามเนื้อ SM และ GB มีความเหนียวมากกว่ากล้ามเนื้อ ST โดยสามารถทำให้กล้ามเนื้อทั้ง 2 ตำแหน่งมีความนุ่มด้วยการบ่ม แกะที่มีน้ำหนักน้อยที่สุดจะมีรสชาติดีกว่า และโดยทั่วไปแล้วไม่จำเป็นต้องบ่ม ผู้บริโภคชอบเนื้อแกะที่มีน้ำหนัก 10-12 กิโลกรัม ในทุกพันธุ์ (เพราะมีเนื้อนุ่มที่สุดและมีรสชาติดีที่สุด) และบ่มในระยะเวลาานานกว่า (4-6 วัน) โดยรวมแล้วกล้ามเนื้อ ST จะมีลำดับความชอบดีที่สุดในด้านการบ่มน้อยที่สุด และกล้ามเนื้อ GB ในด้านบ่มนานที่สุด

ฉันทวัฒน์ อาชวาคม (2552 : 24) ศึกษาการย่อยสลายของโปรตีน troponin-T และความนุ่มของเนื้อโคกำแพงแสนและเนื้อโคพื้นเมืองในระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน โดยใช้ตัวอย่างเนื้อกล้ามเนื้อ longissimus dorsi ตัดแบ่งเป็น 5 ชิ้น และนำไปบ่มตามระยะเวลา ที่ 1, 7, 14, 21 และ 30 วัน โดยแบ่งไปศึกษาค่าแรงตัดผ่าน และวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีน troponin-T ด้วยเทคนิคเอกสารถ่ายเป็นเอกสารถ่ายสแกนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Western blotting และ Hedrick et. al. (1993) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในเนื้อจากการสลายของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ คือ โปรตีน titin, nubilin, desmin และ troponin-T ในขณะที่โปรตีน actin และ myosin ซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญในการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อไม่ถูกย่อยสลายเหมือนกับโปรตีนชนิดอื่นๆ ซึ่ง Koochmaraie (1994 : 93-104) รายงานว่า ผลจากการสลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย จะเกิดการย่อยสลายของโปรตีน titin, nubilin, และ desmin ซึ่งทำให้เกิดการแตกตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ ส่วนการย่อยสลายของโปรตีน troponin-T ที่พบโดยการปรากฏของ polypeptide ขนาด 30 kDa ซึ่งมีส่วนทำให้แรงตึงของเส้นใยกล้ามเนื้อลดลง และยังพบ polypeptide จากการสลายของโปรตีนขนาดใหญ่ที่ 95 kDa และผลผลิตจากการสลายของ troponin-T ขนาด 27 kDa โดยการปรากฏของ polypeptide ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้น และ Ho et. al. (1994 : 369-375) ได้ทำการทดลองการสลายตัวของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อและการปรากฏของ polypeptide ขนาด 30 kDa ในระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 3, 7, 14, และ 28 วัน ภายหลังสัตว์ตาย สามารถยืนยันได้ว่าเป็นการสลายของโปรตีน troponin-T ด้วยเทคนิค western blotting โดยพบ polypeptide ขนาด 30 kDa ในวันที่ 3 จนถึงวันที่ 28 ของการบ่มเนื้อภายหลังสัตว์ตาย

Colin et. al. (2015 : 32-37) รายงานว่า ความนุ่มของเนื้อเป็นสิ่งสำคัญ อย่างไรก็ตาม Sørheim et. al. (2001 : 79-85) กล่าวว่าความผันแปรของความนุ่มมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค มี 3 ปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์ คือ 1) ความเหนียวของเนื้อที่เกี่ยวกับปริมาณของคอลลาเจน 2) อัตราการเกิดความนุ่ม ระหว่างการบ่ม (Hopkins and Geesink, 2009 : 149-173) และ 3) การหดตัวของกล้ามเนื้อในช่วงแรกของ rigor mortis ซึ่งจะเกิด 2 กระบวนการที่ตรงข้ามกัน คือ การเกิดความเหนียว และ การเกิดความนุ่ม เกิดขึ้นในช่วงการบ่มภายหลังสัตว์ตาย (Hopkins and Thompson, 2001 : 1-12) Young and Braggins (1993 : 213-222) ได้ศึกษาปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อ semimembranosus ของแกะลูกผสมที่มีอายุต่างกัน พบว่า ปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายน้ำจะเพิ่มขึ้นตามอายุของสัตว์ และปริมาณคอลลาเจนที่ละลายน้ำ มีมากในแกะที่มีอายุน้อย และในการสลายตัวของโครงสร้างของโปรตีนกล้ามเนื้อในระหว่างการบ่ม เป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์ proteinases (Koochmaraie, 1996 : 193-200; Koochmaraie and Geesink, 2006 : 34-43) โดยแคลเซียมเป็นตัวกระตุ้นเอนไซม์ proteinases (calpains) โดยเฉพาะ μ -calpain ส่วนใหญ่จะทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อในช่วงการบ่ม การย่อยสลายของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อจะนำไปสู่การทำให้ myofibrils คลายตัวลง ดังนั้นจึงทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มมากขึ้น

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 อุปกรณ์และสารเคมีในการสกัดโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

3.1.1.1 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบดิจิทัล
- เครื่องบดละเอียด (รุ่น minipimer MR 430 HC, Moulinex, France)
- เครื่อง homogenizer (Ultra tarrax, Germany)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (รุ่น Centurion K2R Series)
- หลอด Centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร
- Micro Pipette ขนาด 1000, 500 ไมโครลิตร (Gilson, France), ขนาด 20 ไมโครลิตร (Brand, Germany)
- Pipette Tip
- แท่งแก้วคนสาร
- ปีกเกอร์ ขนาด 250, 100, 80 มิลลิลิตร
- มีด
- กรรไกร
- เขียง
- ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิที่ - 20 องศาเซลเซียส

3.1.1.2 สารเคมี

- Sucrose (Ajax Finechempty Ltd)
- Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA) (Bio Basic, Canada)
- Tris (Bio-Rad, U.S.A)
- Imidazole (Bio Basic, Canada)
- Sodium dodecyl sulfat (SDS) (Bio Basic, Canada)
- 2-mercaptoethanol (MCE) (Acros, U.S.A)
- Hydrochloric acid (HCl) (Merck, Germany)
- Potassium chloride (KCl) (Merck, Germany)
- น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

3.1.2 อุปกรณ์ในการวัดความเข้มข้นโปรตีน

3.1.2.1 อุปกรณ์

- หลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (รุ่น SmartSpec™ Plus, Bio-Rad, U.S.A)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.2 สารเคมี

- น้ำยาวัดโปรตีน (ชุด Bio-Rad Protein Assay, Bio-Rad, U.S.A)
- Bovine serum albumin (BSA) (Bio-Rad, U.S.A)
- น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

3.1.3 อุปกรณ์ในการเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์

3.1.3.1 อุปกรณ์

- เตรียมชุดการเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์ (Bio Rad, U.S.A)

3.1.3.2 สารเคมี

- 30% acrylamide/bis solution (29:1) (Bio Rad, U.S.A)
- Sodium dodecyl sulfate (SDS) (Bio Basic, Canada)
- Tris (Bio Rad, U.S.A)
- 2-mercaptoethanol (MCE) (Acros, U.S.A)
- Tetramethylethylenediamine (TEMED) (Bio Rad, U.S.A)
- Ammoniumpersulfate (APS) (Bio Rad, U.S.A)
- Isopropanol (Bio Basic, Canada)
- น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

3.1.4 อุปกรณ์ในการแยกแถบโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

3.1.4.1 อุปกรณ์

- เครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า (รุ่น mini-PROTEAN[®] Tetra Cell, 4-Gel System, Bio Rad, U.S.A)
- เครื่องถ่ายภาพเจล (รุ่น Gel Doc[™] EZ Imager, Bio Rad, U.S.A)

3.1.4.2 สารเคมี

- โปรตีนมาตรฐาน (PageRuler Precision Plus Protein Dual Color standards marker, Bio Rad, U.S.A)
- Bromophenol blue (Bio Basic, Canada)
- Glycerol (Amresco)
- 2-Mercaptoethanol (MCE) (Acros, U.S.A)
- Glycine (Bio Rad, U.S.A)
- Tris (Bio Rad, U.S.A)
- Sodium dodecyl sulfate (SDS) (Bio Basic, Canada)
- น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

3.1.5 อุปกรณ์ในการย้อมเจล Staining Solution

3.1.5.1 อุปกรณ์

- กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 10 x 10 เซนติเมตร ใส่เจล
- เครื่องเขย่า (Mini Rocker, Bio Rad, U.S.A)

3.1.5.2 สารเคมี

- Methanol (Merck, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Acetic acid (Merck, Germany)
- Coomassie blue R-250 (Bio Rad, U.S.A)
- น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

3.1.6 อุปกรณ์ในการล้างเจล Destaining Solotion

3.1.6.1 อุปกรณ์

- กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 10 x 10 เซนติเมตร ใส่เจล
- เครื่องเขย่า (รุ่น Mini Rocker, Bio Rad, U.S.A)

3.1.6.2 สารเคมี

- Methanol (Merck, Germany)
- Acetic acid (Merck, Germany)
- น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

3.1.7 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์โปรตีน Troponin-T ด้วยเทคนิค Western blotting

3.1.7.1 อุปกรณ์

- เครื่องย้ายโปรตีน (รุ่น Mini Trans-Bio[®] Electrophoretic Transfer Cell, Bio Rad, U.S.A)
- แผ่นเมมเบรน polyvinylidenedifluoride (PVDF membrane) (Amersham, bioscience, U.K)
- Filter paper ขนาด 7.5 x 10 เซนติเมตร (Bio Rad, U.S.A)
- กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 10 x 10 เซนติเมตร ใส่แผ่นเมมเบรน
- คีมคีบ Forcep
- แท่งแก้วตัวแอล Spreader

3.1.7.2 สารเคมี

- Sodium chloride (NaCl) (Fisher Chemical)
- Potassium chloride (KCl) (Merck, Germany)
- Di-sodium hydrogen phosphat (Na_2HPO_4) (Ajax Finechempty Ltd)
- Potassium dihydrogen phosphat (KH_2PO_4) (Ajax Finechempty Ltd)
- หางนมผง
- Tween 20 % (Research Organics)
- Tris (Bio Rad, U.S.A)
- Glycine (Bio Rad, U.S.A)
- Methol (Merck, Germany)
- TMB substrate (3,3',5,5'-tetramethyl-benzidine) (Sigma, U.S.A)
- Anti-troponin T (Clone JLT-12) (Sigma, U.S.A)
- Anti-mouse IgG conjugated with horseradish peroxidase (Sigma, U.S.A)
- น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.8 อุปกรณ์ในการวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ ได้แก่

- เครื่องบรรจุสุญญากาศ
- ถุงสุญญากาศชนิด polyvinyl chloride
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Germany)
- เครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (รุ่น Hounsfield S-Series)
- มีด
- เขียง

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 ขั้นตอนเตรียมตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อสันสะเอว (*M. longissimusdorsi*) และกล้ามเนื้อสะโพก (*M. semimembranosus*) จากแกะลูกผสมดอร์เปอร์กับพื้นเมืองไทย จำนวน 5 ตัว ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 25 กิโลกรัม เลี้ยงด้วยอาหารผสมรวม Total Mixed Ration (TMR) และหญ้าขนสด วันละ 5 กิโลกรัมต่อตัวในสภาพแวดล้อมเดียวกันนาน 84 วัน จนมีน้ำหนักเข้าฆ่าประมาณ 40 กิโลกรัม ภายหลังจากฆ่าและชำแหละเป็น 2 ซีก เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อแกะทั้ง 2 ชนิด จากซากซีกซ้าย มาตัดแบ่งเป็น 3 ส่วน เท่า ๆ กัน บรรจุในถุงสุญญากาศ จากนั้น นำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1, 7 และ 14 วัน เมื่อครบกำหนด นำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริล โดยใช้เทคนิค SDS – PAGE และศึกษาปัจจัยชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาบ่มที่มีต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ต่อไป

3.2.2 การวิเคราะห์โปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

3.2.2.1 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

(1) ทำการสกัดโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยทำการบด ตัวอย่างเนื้อแกะที่ผ่านการบ่มที่ระยะเวลา 1, 7 และ 14 วันหลังชำ ด้วยเครื่องบดละเอียด แล้วชั่งตัวอย่างละ 2.5 กรัม

(2) นำมาบดในสารละลาย STE buffer ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง homogenizer ที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที

(3) ทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

(4) เก็บตะกอนแล้วเติมสารละลาย TE buffer ปริมาตร 25 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

(5) นำส่วนของตะกอนที่ได้ มาเติมสารละลาย 0.15 M KCl ปริมาตร 25 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อีกครั้งหนึ่ง

(6) นำส่วนของตะกอนที่ได้มาเติมสารละลาย buffer solution ปริมาตร 30 มิลลิลิตรคนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ข้ามคืนแล้วนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(7) เก็บสารละลายส่วนใสซึ่งเป็นส่วนของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรตีน ตามวิธีการของ *Claeys et. al.* (1995: 177-193)

3.2.2.2 ขั้นตอนการวัดความเข้มข้นโปรตีน

(1) เจือจางน้ำยาวัดโปรตีน Bio-Rad Protein Assay ในสัดส่วนน้ำยาวัดโปรตีน 1 ส่วนต่อน้ำกลั่น 4 ส่วน จากนั้นทำกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยเจือจาง Bovine Serum Albumin (BSA) ให้มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

(2) นำสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตัวอย่างละ 10 ไมโครกรัม ผสมกับน้ำยา วัดโปรตีนที่เจือจางแล้ว 500 ไมโครกรัม สำหรับการวัดตัวอย่างโปรตีน ให้นำตัวอย่างโปรตีนที่สกัดได้ ตัวอย่างละ 10 ไมโครกรัมผสมกับน้ำยาวัดโปรตีนที่เจือจางแล้ว 500 ไมโครกรัม

(3) ผสมสารละลายให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรโดยใช้น้ำกลั่น เป็น blank

(4) นำค่าการดูดกลืนแสงของ BSA ที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวณ สมการถดถอยเชิงเส้น $y = ax \pm b$ โดยค่า y เป็นค่าการดูดกลืนแสง และค่า x เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย BSA และทำการคำนวณความเข้มข้นของโปรตีนตัวอย่างได้จากสมการถดถอย เชิงเส้นของกราฟมาตรฐาน ตามลำดับ

3.2.2.3 ขั้นตอนการเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์

(1) เตรียมชุดการเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์สำหรับเครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า ตามคู่มือของบริษัท จากนั้นทำการเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์ ดังสารในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การเตรียมเจลพอลิอะคริลาไมด์สำหรับการแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเทคนิค

SDS-PAGE		
สารเคมี	12 % separating gel (ml)	5 % stacking gel (ml)
1.5 M Tris/HCl, pH 8.8	5.0	-
0.5 M Tris/HCl, pH 6.8	-	2.5
30% acrylamide/bis solution (29:1)	8.0	1.7
10% SDS	0.2	0.1
10% APS	0.1	0.06
TEMED	0.02	0.01
น้ำกลั่น	6.8	5.7
ปริมาตร (ml)	20	10

(2) ทำการผสมสารทั้งหมดให้เข้ากันโดย APS และ TEMED ให้ใส่เป็นตัวสุดท้ายพยายามอย่าให้เกิดฟองอากาศ หลังจากเทชั้น separating gel ใช้ปิเปตดูด isopropanol ลงบนชั้น separating gel ทันที เพื่อให้ผิวหน้าด้านบนเรียบ ทิ้งไว้เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นจึงเท stacking gel แล้วใส่หัว ปล่อยให้แข็งประมาณ 2 ชั่วโมง จึงสามารถนำเจลมาใช้ได้

3.2.2.4 ขั้นตอนการแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเทคนิค SDS-PAGE

(1) ทำการแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเทคนิค SDS-PAGE ด้วยเครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก *Ho et. al.* (1997: 366-376)

(2) จากนั้นนำตัวอย่างโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ผสมกับ loading buffer ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

(3) ทำการหยอดโปรตีนตัวอย่างหุลุมละ 15 ไมโครกรัม โดยเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน PageRuler Precision Plus Protein Dual Color standards marker หลังจากนั้นทำการแยกโปรตีนโดยใช้ running buffer เป็นตัวพากระแสไฟฟ้า 80 โวลต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 15 นาที

(4) เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดนำเจลไปย้อมสีใน staining solution และเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ที่ไว้ค้างคืน

(5) จากนั้นนำเจลไปล้างใน destaining solution และเขย่าด้วยเครื่องเขย่า เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง หรือจนกว่าโปรตีนส่วนเกินจะถูกล้างออกจนหมด

(6) นำเจล SDS-PAGE ไปถ่ายรูปด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนต่อไป

3.2.2.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์โปรตีน Troponin-T ด้วยเทคนิค Western blotting

(1) ทำการแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ตามวิธีการในข้อ 3.2.2.4 แต่ไม่ต้องนำเจลไปย้อมให้นำมาวิเคราะห์โปรตีน Troponin-T ด้วยเทคนิค Western blotting ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก *Ho et. al.* (1997 : 366-376)

(2) ย้ายโปรตีนจากเจล SDS-PAGE ลงสู่แผ่นเมมเบรน PVDF membrane โดยก่อนการย้ายโปรตีนให้ทำการตัดแผ่นเมมเบรน ให้มีขนาด 7 x 10 เซนติเมตร โดยให้ครอบคลุมโปรตีนที่มีขนาดตั้งแต่ 17-55 kDa สังเกตจากโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบกับน้ำหนักโมเลกุล

(3) หลังจากนั้นจึงทำการย้ายโปรตีนจากเจล SDS-PAGE ลงสู่แผ่นเมมเบรน PVDF ด้วยเครื่องย้ายโปรตีนโดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ 350 มิลลิแอมแปร์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้ transfer buffer เป็นตัวพากระแสไฟฟ้า

(4) จากนั้นนำแผ่นเมมเบรนมาแช่ใน blocking solution เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

(5) นำแผ่นเมมเบรนแช่ในแอนติบอดี ตัวที่ 1 คือ Anti-troponin T (Clone JLT-12) ที่เจือจางด้วย blocking solution ในอัตราส่วน 1:7,500 ในการจับโปรตีน Tn-T ที่ไว้ค้างคืน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

(6) นำเมมเบรนมาล้างด้วย washing solution 4 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

(7) นำเมมเบรนมาแช่ในแอนติบอดีตัวที่ 2 คือ Anti-mouse IgG conjugated with horseradish peroxidase ที่เจือจางด้วย blocking solution ในอัตราส่วน 1:7,500 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งแอนติบอดีตัวที่ 2 นี้มีความจำเพาะกับแอนติบอดีตัวที่ 1

(8) จากนั้นล้างแผ่นเมมเบรนด้วย washing solution 4 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

(9) ตรวจสอบผลการทำปฏิกิริยาโดยใช้ TMB substrate (3,3' 5,5'-tetramethylbenzidine) เพื่อให้เห็นแถบสีน้ำเงินของโปรตีน ที่ไว้เวลานาน 5 นาที หยุดปฏิกิริยา ด้วยน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ

(10) จากนั้นนำแผ่นเมมเบรนไปถ่ายรูปด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล Gel Doc เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนต่อไป

3.2.3 ขั้นตอนการวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ

1. ทำการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อโดยนำตัวอย่างเนื้อแกะ ที่ครบระยะเวลาบ่มที่ 1, 7 และ 14 วันหลังฆ่า มาตัดแต่งเอาพังผืดและไขมันออก
2. ตัดชิ้นเนื้อเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า กว้าง x ยาวเท่า ๆ กัน หนา 2.5 เซนติเมตร ใส่ในถุงสุญญากาศชนิด polyvinyl chloride แล้วทำการไล่อากาศออกด้วยเครื่องบรรจุสุญญากาศ
3. นำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส วัดอุณหภูมิใจกลางเนื้อให้ได้ 70-75 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จึงนำถุงที่ใส่ชิ้นเนื้อไปลดอุณหภูมิโดยการใช้น้ำไหลผ่าน ให้ใจกลางเนื้อ มีอุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส
4. ตัดชิ้นเนื้อตามแนวยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อให้มีขนาด กว้าง x ยาว x หนา เท่ากับ 1 x 1 x 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตัวอย่างละ 3-6 ชิ้น (ทั้งนี้เนื่องจากกล้ามเนื้อตัวอย่างมีขนาดเล็กมาก จึงไม่สามารถตัดชิ้นเนื้อออกได้เป็น 10 ชิ้น) แล้วนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ ด้วยเครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ Hounsfield S-Series โดยกำหนดหน่วยเป็นกิโลกรัม ตามวิธีการของ *Boccard et al.* (1981 : 385-397)

3.3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การเปลี่ยนแปลงของโปรตีน จะพิจารณาจากความเข้มข้นและการคงอยู่ของแถบโปรตีนในเจลที่ปรากฏด้วยโปรแกรม Image Lab จากเครื่องถ่ายภาพเจล Gel Doc ส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ โดยการใช้วิธี F-test แบบ Two-ways ANOVA without interaction โดยมีตัวแปรต้น คือ ชนิดของกล้ามเนื้อ 2 ชนิด (กล้ามเนื้อสันสะเอวและกล้ามเนื้อสะโพก) และระยะเวลาในการบ่ม 3 ระดับ (1, 7 และ 14) ส่วนตัวแปรตาม คือ ค่าแรงตัดผ่าน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test

3.4 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลทางสัตว์ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์เนื้อสัตว์ และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ แขนงวิชาเทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์ สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

4.1 ผลการวิจัย

4.1.1 การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในกล้ามเนื้อสันสะเอวและกล้ามเนื้อสะโพกในแต่ละระยะเวลาบ่มต่างๆ

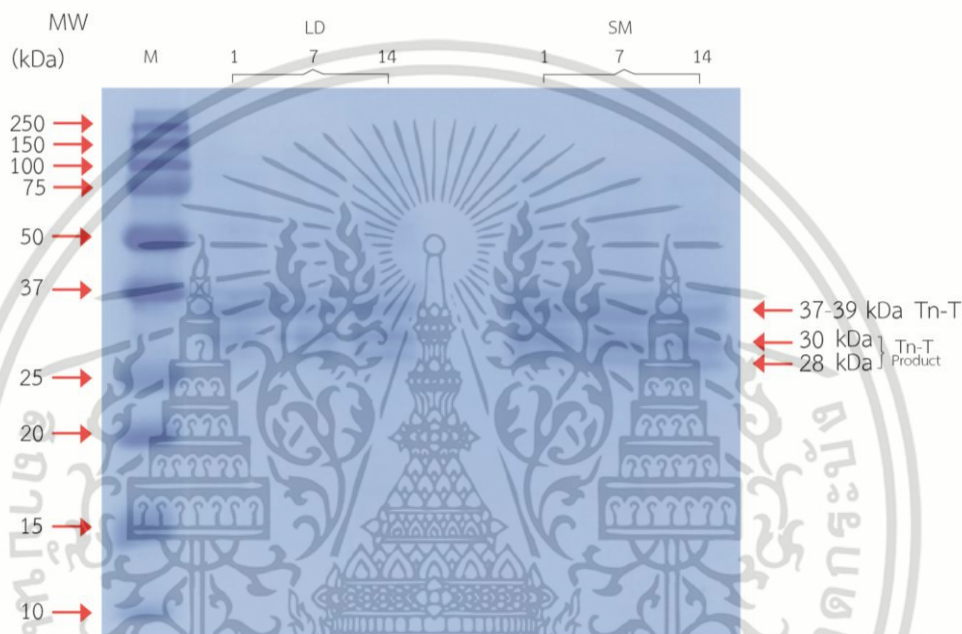
ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในกล้ามเนื้อสันสะเอว (*M. longissimus dorsi*, LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (*M. semimembranosus*, SM) ของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ในแต่ละระยะการบ่มที่ 1, 7 และ 14 วันหลังฆ่า พบว่า ภายหลังจากการแยกโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเทคนิค SDS-PAGE ปรากฏแถบของโปรตีนทั้งหมด 16 แถบ ปรากฏในกล้ามเนื้อ LD และ SM โดยมีขนาดประมาณ 250, 236, 210, 142, 102, 54, 42, 36, 33, 30, 28, 22, 19, 18, 16 และ 14 kDa ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 รูปแบบการสลายตัวของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ ในกล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (SM) ของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ที่ระยะเวลาการบ่ม 1, 7 และ 14 วันหลังฆ่า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

Lane M คือ โปรตีนมาตรฐาน (Bio Rad, U.S.A) ลูกศรชี้ด้านขวามือแสดงขนาดของโปรตีนที่สัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลเมื่อเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน

เมื่อตรวจยืนยันด้วยเทคนิค Western blotting พบว่า แอนติบอดีสามารถจับกับแถบโปรตีนที่มีขนาด 37 และ 39 kDa ได้ นอกจากนี้ยังปรากฏแถบโปรตีนที่มีขนาด 28 และ 30 kDa ดังนั้น จึงยืนยันว่าโปรตีนดังกล่าว คือ โปรตีน Troponin-T และเป็นผลผลิตที่เกิดจากการย่อยสลายตัวของโปรตีน Troponin-T ตามลำดับ นอกจากนี้แล้ว แถบโปรตีนที่มีขนาด 28 และ 30 kDa ที่ปรากฏนั้น ในกล้ามเนื้อ SM จะปรากฏชัดกว่ากล้ามเนื้อ LD ทุกระยะการบ่ม ในวัน 14 ของการบ่มจะปรากฏแถบโปรตีนขนาด 28 kDa ในกล้ามเนื้อ SM ชัดที่สุด ดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 รูปแบบการสลายตัวของโปรตีน Troponin-T ในกล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (SM) ของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ที่ระยะเวลาการบ่ม 1, 7 และ 14 วันหลังฆ่า วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Western blot Lane M คือ โปรตีนมาตรฐาน (Bio Rad, U.S.A) ลูกศรชี้ด้านขวามือแสดงขนาดของโปรตีนที่สัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุลเมื่อเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน

4.1.2 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

ค่าเฉลี่ยของข้อมูลของค่าแรงตัดผ่านเนื้อในแต่ละระยะเวลากการบ่มที่แตกต่างกัน (กิโลกรัม) ในกล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (SM) แสดงให้เห็นในตารางที่ 4.1 และผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Two-ways ANOVA without interaction ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุดของข้อมูลของค่าแรงตัดผ่านเนื้อในแต่ระยะเวลาการบ่ม ที่แตกต่างกัน (กิโลกรัม) ในกล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (SM)

กล้ามเนื้อ	ระยะเวลาการบ่ม	N	ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด
เนื้อสันสะเอว (LD)	1	5	7.33	1.38	10.34	4.05
	7	5	6.84	1.61	11.94	3.28
	14	5	5.81	1.70	8.87	3.13
เนื้อสะโพก (SM)	1	5	6.24	1.32	12.72	3.58
	7	5	5.37	0.85	9.12	3.60
	14	5	4.58	1.02	7.65	2.63

SD = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Two-ways ANOVA without interaction ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อจากปัจจัยต่าง ๆ

Source	Type III SS	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.75(a)	3	8.25	4.90	.008
Intercept	1089.62	1	1089.62	647.44	.000
muscle	11.98	1	11.98	7.12	.013
age	12.77	2	6.39	3.79	.036
Error	43.75	26	1.68		
Total	1158.13	30			
Corrected Total	68.51	29			

ผลจากการวิจัย พบว่า ปัจจัยด้านตำแหน่งของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปัจจัยกล้ามเนื้อที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่าน พบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ SM จะน้อยกว่ากล้ามเนื้อ LD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.40 ± 0.34 และ 6.66 ± 0.34 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่กล้ามเนื้อสันสะเอว (LD) และกล้ามเนื้อสะโพก (SM)

ชนิดของกล้ามเนื้อ	ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
กล้ามเนื้อสันสะเอว (LD)	$6.66 \pm 1.60^{\text{ก}}$
กล้ามเนื้อสะโพก (SM)	$5.40 \pm 1.22^{\text{ข}}$

^{กข} อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ส่วนปัจจัยด้านระยะเวลาการบ่มต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ พบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของการบ่มเนื้อที่ 14 วัน จะน้อยกว่าการบ่มเนื้อที่ 1 วัน เฉลี่ยเท่ากับ 5.19 ± 0.41 และ 6.79 ± 0.41 กิโลกรัม ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างจากการบ่มที่ 7 วัน (6.10 ± 0.41 กิโลกรัม) ($P < 0.05$) แสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม) ที่ระยะเวลาการบ่ม 1 7 และ 14 วัน

อายุการบ่ม (วัน)	ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	$6.79 \pm 1.40^{\text{ก}}$
7	$6.10 \pm 1.44^{\text{กข}}$
14	$5.19 \pm 1.47^{\text{ข}}$

^{กข} อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.2 วิจารณ์ผล

ผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่า การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในกล้ามเนื้อสันสะเอวและกล้ามเนื้อสะโพกในแต่ละระยะเวลาบ่มต่างๆ จะปรากฏ แลบบของโปรตีนทั้งหมด 16 แลบบ ปรากฏทั้งในกล้ามเนื้อ LD และ SM โดยแลบบโปรตีนที่มีขนาดใหญ่จะโดยปรากฏแลบบโปรตีนที่มีขนาด 210 และ 42 kDa และมีการย่อยสลายของโปรตีนขนาด 37-39 kDa และ 28-30 kDa สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sazili et. al. (2004 : 17-25) ซึ่งใช้เทคนิค Western blotting ปรากฏแลบบโปรตีนที่สำคัญ คือ โปรตีน myosin heavy chain ขนาด 250-205 kDa และ actin ขนาด 45-42 kDa ในกล้ามเนื้อ LD และ Schiaffino and Reggini (1996 : 371-423) รายงานว่า myosin (มีอยู่ประมาณ 45 % ของโปรตีนกล้ามเนื้อและเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างที่สำคัญในกล้ามเนื้อ) มีการย่อยสลายน้อยมากเมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส และกล่าวว่า myosin และ actin มีความคงทน ภายใต้การบ่มเนื้อหลังฆ่าในห้องเย็นปกติ ส่วน Hedrick et. al. (1993) รายงานว่า การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนจากการสลายของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ คือ โปรตีน titin, nubilin, desmin และ troponin-T ในขณะที่โปรตีน actin และ myosin ซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญในการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อไม่ถูกย่อยสลายเหมือนกับโปรตีนชนิดอื่นๆ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแลบบโปรตีนขนาด 210 และ 42 kDa ของการศึกษานี้เป็น myosin และ actin

สำหรับแลบบโปรตีนที่มีขนาด 37-39 kDa และ 28-30 kDa นั้น เมื่อตรวจสอบยืนยันด้วยเทคนิค Western blotting พบว่า แอนติบอดีสามารถจับกับแลบบโปรตีนที่มีขนาด 37-39 kDa และ 28-30 kDa ได้ โดยแลบบดังกล่าวปรากฏในกล้ามเนื้อ SM ชัดกว่ากล้ามเนื้อ LD ยืนยันว่าโปรตีนดังกล่าวคือ โปรตีน Troponin-T และเป็นผลผลิตที่เกิดจากการย่อยสลายตัวของโปรตีน Troponin-T จากรายงานของ อรพิน พิมพ์สมแดง (2553 : 42) ได้ทำการศึกษารูปแบบการย่อยสลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อในเนื้อกวางรูซ่า พบว่า แลบบโปรตีนที่มีขนาด 37-39 kDa มีความเข้มข้นลดลงขณะที่แลบบโปรตีนขนาด 29-30 kDa ปรากฏความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เมื่อบ่มนานขึ้นและเมื่อตรวจสอบยืนยันด้วยเทคนิค Western blotting พบว่าแลบบโปรตีนที่มีขนาด 37-39 คือ troponin-T และภายหลังการบ่มที่เพิ่มขึ้นแลบบโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดดังกล่าวมีความเข้มลดลงและขณะเดียวกันปรากฏแถบโปรตีนขนาด 29-30 kDa มีความเข้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ดังนั้น โปรตีนขนาด 29-30 kDa จึงเป็นผลผลิตจากการย่อยสลายของโปรตีน troponin-T จะเห็นได้ว่าการศึกษาครั้งนี้ ปรากฏแถบโปรตีนที่มีขนาด 28-30 kDa มีความเข้มลดลง และปรากฏเข้มมากขึ้นในกล้ามเนื้อ SM และ Huff-Lonergan et. al. (1996 : 993-1008) รายงานว่าการย่อยสลายของ troponin-T จะปรากฏในช่วง 30 kDa เกิดจากการย่อยสลายของ troponin-T ซึ่งมีในการลดลงของความเหนียว และ เส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่ง Ho et. al. (1994 : 369-375) กล่าวว่า การสลายตัวของโปรตีน เส้นใยกล้ามเนื้อและการปรากฏของ polypeptide ขนาด 30 kDa ในระยะเวลาการบ่มเนื้อที่ 1, 3, 7, 14 และ 28 วัน จากภายหลังสัตว์ตาย สามารถยืนยันได้ว่าเป็นการสลายของโปรตีน troponin-T ด้วยเทคนิค Western blot โดยพบ polypeptide ขนาด 30 kDa ในวันที่ 3 จนถึงวันที่ 28 ของการบ่มจากภายหลังสัตว์ตาย และ Huff-Lonergan et. al. (1996 : 993-1008) รายงานว่า โปรตีนขนาด 32 kDa ที่ปรากฏการเป็นผลผลิตการย่อยสลายของ troponin-T ที่ปรากฏในตัวอย่างมีส่วนเกี่ยวข้องกับค่าแรงตัดผ่านที่ลดลง Dransfield (1994 : 289-315) กล่าวว่าปริมาณการย่อยสลายโปรตีน troponin-T มีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อ เช่นเดียวกับ Koochmaraie and Geesink (2006 : 34-43) ที่กล่าวว่า เมื่อมีการย่อยสลายโปรตีนดังกล่าวมากขึ้นจะทำให้มีความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ พบว่า ชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มมีผลต่อค่าแรงตัดผ่าน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ กัญญา ตันตวิสุทธิกุล (2557 : 37) ได้ศึกษา กล้ามเนื้อสันสะเอวและกล้ามเนื้อสะโพกของแกะลูกผสมดอร์เปอร์ และแกะลูกผสมซานต้าอีนัส รายงานว่า ชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มมีผลต่อค่าแรงตัดผ่าน คือ ชนิดของกล้ามเนื้อมีอิทธิพลต่อคุณค่าทางการบริโภค ได้แก่ ค่าสี ความอุ่มน้ำของเนื้อ และการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง ($P < 0.05$) กล่าวคือ เนื้อที่สามารถอุ่มน้ำได้น้อย เมื่อนำมาปรุงอาหารทำให้น้ำออกมาจากเนื้อในปริมาณมาก พบว่า กล้ามเนื้อสะโพกสามารถอุ่มน้ำได้ดีกว่ากล้ามเนื้อสันสะเอว มีค่าเท่ากับ 0.56 ± 0.04 และ 0.43 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงในกล้ามเนื้อสะโพกเท่ากับ 38.15 ± 0.88 และ ในกล้ามเนื้อสันสะเอวเท่ากับ 40.60 ± 0.88 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อ และพบว่า ความยาวซาร์โคเมียร์ในกล้ามเนื้อสะโพกยาวกว่ากล้ามเนื้อสันสะเอว มีค่าเท่ากับ 1.76 ± 0.03 และ 1.72 ± 0.03 ตามลำดับ ซึ่ง สไบพร มะเตือ (2557 : 16) ได้กล่าวว่า ความยาวซาร์โคเมียร์จะสั้นลงเมื่อกกล้ามเนื้อเกิดการหดเกร็งตัว โดยโปรตีนแอคติน และไมโอซินที่เป็นองค์ประกอบหลักของซาร์โคเมียร์ จับกันขณะที่เกิดการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย ซาร์โคเมียร์หดสั้นลงจะส่งผลต่อความนุ่มของเนื้อ ความยาวของซาร์โคเมียร์ได้รับอิทธิพลจากชนิดของกล้ามเนื้อในระหว่างการเกิดกระบวนการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (rigor mortis) แต่ผลการศึกษาครั้งนี้แตกต่างจาก Sazili et. al. (2004 : 17-25) ที่ได้รายงานว่าการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อแกะ โดยกล้ามเนื้อ LD มีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาครั้งนี้ที่กล้ามเนื้อ SM จะมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อ LD ทั้งนี้เนื่องจากแกะกลุ่มตัวอย่างมีการเลี้ยงขุนแบบขังคอกในพื้นที่จำกัดจึงทำให้ร่างกายมีการเคลื่อนไหวน้อย แกะที่เลี้ยงในงานวิจัยนี้ได้รับอาหารชั้น TMR และหญ้าชั้นสด ในขณะที่ Sazili et. al. (2004 : 17-25) ได้รับอาหาร เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต หญ้าถั่ว ถั่วเหลือง น้ำมันพืช และวิตามินต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิจัยในครั้งนี้ ผลการศึกษาระยะเวลาการบ่มมีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของการบ่มเนื้อที่ 14 วัน จะน้อยกว่าการบ่มเนื้อที่ 1 วัน แต่ไม่แตกต่างจากการบ่มที่ 7 วัน ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Colin et. al. (2015 : 32-37) ที่ได้รายงานว่าอายุการบ่มเนื้อแกะมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.001$) ค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงสุด (เหนียว) ในวันที่ 1 (21.7-57.6 กิโลกรัม) และต่ำสุด (นุ่มมาก) ในวันที่ 14 (16.3-37.4 กิโลกรัม) และการที่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อในแต่ละระยะเวลาการบ่มที่เพิ่มขึ้น จะมีค่าลดลงนั้น เหตุผลเนื่องมาจากระหว่างการบ่มเนื้อเกิดกระบวนการย่อยสลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อโดยเอนไซม์ที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ โดยภายหลังสัตว์ตาย เอนไซม์เหล่านี้จะเข้าย่อยสลายโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของกล้ามเนื้อ มีผลทำให้โครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อถูกทำลายและแรงยึดระหว่างโครงสร้างต่างๆ ลดลงและเมื่อนำชิ้นเนื้อที่ผ่านการบ่มมาทำการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ จึงพบว่า มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง (เนื้อมีความนุ่มเพิ่มขึ้น) ทั้งนี้ Boleman et. al. (2004 : 185-190) พบว่าค่าแรงตัดผ่านของกล้ามเนื้อ ST และ SM ของแกะขึ้นกับระยะเวลาการบ่ม ตั้งแต่ 5 วันถึง 15 วัน เช่นเดียวกับผลการวิจัยในครั้งนี้ ที่พบว่า การบ่มเนื้อที่ 7 วันก็เพียงพอ เนื่องจากมีความนุ่มไม่แตกต่างจากการบ่มที่ 14 วัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษานี้สรุปได้ว่า

1. การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในกล้ามเนื้อสันสะเอวและกล้ามเนื้อสันสะโพกในแต่ละระยะเวลาบ่มต่าง ๆ พบ แถบของโปรตีนทั้งหมด 16 แถบ โดยมีขนาดประมาณ 250, 236, 210, 142, 102, 54, 42, 36, 33, 30, 28, 22, 19, 18, 16 และ 14 kDa ตามลำดับเมื่อตรวจยืนยันด้วยเทคนิค Western blotting พบว่ามีการย่อยสลายของโปรตีน troponin-T มีขนาด 37 และ 39 kDa และ troponin-T product มีขนาด 28 และ 30 kDa เป็นนอกรากนี้แล้ว แถบโปรตีนที่มีขนาด 28 และ 30 kDa ที่ปรากฏนั้น ในกล้ามเนื้อ SM จะปรากฏชัดกว่ากล้ามเนื้อ LD

2. ผลการศึกษานี้มีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อพบว่า ปัจจัยด้านชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อโดยค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อ SM จะน้อยกว่ากล้ามเนื้อ LD ส่วนปัจจัยด้านระยะเวลาการบ่มต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อพบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของการบ่มเนื้อที่ 14 วัน จะน้อยกว่าการบ่มเนื้อที่ 1 วัน แต่ไม่แตกต่างจากการบ่มที่ 7 วัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะดังนี้

1. ในการวิจัยครั้งนี้ได้จำแนกโปรตีนเพียงชนิดเดียว คือ troponin-T ดังนั้นควรทำการจำแนกแถบโปรตีนทุกแถบที่พบในการทดลอง

2. กล้ามเนื้อที่แตกต่างกันอาจจะมีปริมาณเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ดังนั้นในการศึกษาศึกษาที่ต่อยอดจึงควรศึกษาการทำงานของ calpain และ calpastatin เพื่อให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างการสลายของโปรตีน troponin-T และศึกษาปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อ

3. ผลจากการวิจัยกล้ามเนื้อสะโพกมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อสันสะเอว ดังนั้น หากผู้บริโภคต้องการเลือกที่มีความนุ่มจึงแนะนำให้เลือกกล้ามเนื้อสะโพก และเกษตรกรควรต้องการเพิ่มความนุ่มของเนื้อด้วยการบ่มจึงเสนอแนะให้บ่มในเบื้องต้นเพียง 7 วัน ก็เพียงพอและควรทำการศึกษการบ่มน้อยกว่า 7 วัน เช่น การบ่มวันที่ 3 และ 5 วัน เพื่อให้ทราบว่ามีความนุ่มที่แตกต่างไปจากการบ่ม 7 วัน หรือไม่

บรรณานุกรม

- กรมปศุสัตว์. 2550. การนำเข้าเนื้อสัตว์ แสดงเป็นรายประเทศต้นทางปี 2550 [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.dld.go.th/th/>.
- กันยา ตันตวิสุทธิกุล. 2554. “รายงานการวิจัยการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนไมโอไฟบริลในกล้ามเนื้อของแพะในระยะเวลาการบ่มต่างๆ.” กรุงเทพฯ : สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 37 น.
- กันยา ตันตวิสุทธิกุล. 2557. “การศึกษาคุณภาพเนื้อของแกะลูกผสม : รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์.” กรุงเทพฯ : สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 48 น.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2539. **วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ขั้นสูง**. เอกสารประกอบการสอน วิชาวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ขั้นสูง. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร. 60 น.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, อัทม์ ภูแจ้ง, ศวรรณกมล น้อยดี, มยุรินทร์ รักษ์ทอง และ ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ. 2554. “คุณภาพเนื้อของแม่โคนมคัดทิ้งขุนต่างอายุและต่างระยะเวลาการบ่มเนื้อ” **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**. 29 (3-2) : 73-83.
- ฉันทวิวัฒน์ อาชวาคม. 2552. “การสลายตัวของโปรตีน Troponin-T และความนุ่มของเนื้อโคก่าแพงแสนและเนื้อโคพื้นเมืองที่ระยะเวลาการบ่มต่างกัน.” วิทยาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร. บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- พินิจ ร้อยศรี. 2553. **แกะพันธุ์เนื้อที่สามารถเลี้ยงได้ในประเทศไทย**. [online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.dld.go.th/lsns_nsw/images/stories/sheep2new.pdf.
- มนตรี จุฬารัตนพล และประหยัด โกมารทัต. 2530. **ชีวเคมี**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล. 589 น.
- วัชรวิทย์ มีหนองใหญ่. 2557. “ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อโค.” **วารสารแก่นเกษตร** 42 (3) : 443-452 น.
- สัญญาชัย จตุรสิทธิ์ธา. 2550. **การจัดการเนื้อสัตว์**. พิมพ์ครั้งที่ 4. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์มิ่งเมือง. 170 น.
- สายทิพย์ ซาปาวิ. 2555. **เทคนิคอิเล็กทรอนิกส์กับงานวิจัยด้านวัคซีน**. [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.gpo.or.th/rdi/html/rdinewsyr19no2/6.pdf>.
- สไบพร มะเตือ. 2557. “อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อระบบเอนไซม์คาลเพน ปริมาณคอลลาเจน และคุณภาพเนื้อโคพื้นเมืองไทย.” วิทยาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อรพิน พิมพ์สมแดง. 2553. “การย่อยสลายโปรตีนและกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์กลุ่มคาลเพนในกล้ามเนื้อสันนอกของกวางรูซ่า (*Cervus timorensis*) หลังการฆ่า.” วิทยาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร. บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Beerman, D.H., Robinson, T.F., and Hogue, D.E. 1995. "Impact of composition manipulation on lean lamb production in the United States." **Journal of Animal Science**. 73 : 2493-2502.
- Boccard, R., Buchter, I., Casteels, M., Cosentino, E., Dransfield, E., and Hood, D.E. 1981. "Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments." **Lives. Prod. Science**. 8 : 385-397.
- Boleman, C.T., McKenna, D.R., Ramsey, W.S., Peel, R.K., and Savell, J.W. 2004. "Influence of feeding vitamin D₃ and ageing on the tenderness of four lamb muscles." **Meat Science**. 67 : 185-190.
- Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B., and Demeyer, D. 1995. "Quantitation of beef myofibrillar protein by SDS-PAGE." **Meat Science**. 39 : 177-193.
- Colin, S.P., Geesink, G.H., Oddy, V.H., and Hopkins, D.L. 2015. "Explaining the variation in lamb longissimus shear force across and with in ageing periods using protein degradation, sarcomere length and collagen characteristics." **Meat Science**. 105 : 32-37.
- Dorper Sheep Society of Australia Inc. 2558. **Dorper Sheep breed**. [Online]. Available : www.dorper.com.au.
- Dransfield, E. 1994. "Tenderness of meat, poultry and fish." In Pearson, A. M., and Dutson, T.R. *Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Product*. London : Blackie Academic and Professional. 289-315.
- Hedrick, H.B., Aberle, E.D., Forrest J.C., Judge M.D., and Merkel R.A. 1993. "Principles of Meat Science. 3rd ed." Kendall/Hunt Publ.Co., Iowa.
- Ho, C.Y., Stromer, M.H., and Robson, R.M. 1994. "Identification of 30 kDa polypeptide in post mortem skeletal muscle as a degradation product of troponin-T." **Biochimie**. 76 : 369-375.
- Ho, C.Y., Stromer, M.H., Rousek, G., and Robson, R.M. 1997. "Effects of electrical stimulation and post mortem storage on changes in titin, nebulin, troponin-T and muscle ultrastructure in *Bos indicus* crossbreed cattle." **Journal of Animal Science**. 75 : 366-376.
- Hopkins, D.L., and Thompson, J.M. 2001. "The relationship between tenderness, proteolysis, muscle contraction and dissociation of actomyosin." **Meat Science**. 57 : 1-12.
- Hopkins, D.L., and Geesink, G.H. 2009. "Protein degradation post mortem and tenderisation." In : Du, M., and McCormick, J.R. (Eds.), **Applied muscle biology and meat science**. 149-173.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Huff-Loneragan, E., Mitsuhashi, T., Beekman, D.D., Parrish, F.C., Olson, D.G., and Robson, R.M. 1996. "Proteolysis of specific muscle structural proteins by mu-calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle." **Journal of Animal Science**. 74 : 993-1008.
- Koohmaraie, M. 1994. "Muscle proteinases and meat ageing." **Meat Science**. 36 : 93-104.
- Koohmaraie, M. 1996. "Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat." **Meat Science**. 43 : 193-201.
- Koohmaraie, M., and Geesink, G. 2006. "Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system." **Meat Science**. 74 : 34-43.
- Martinez-Carezo, S., Sanudo, C., Medel, I., and Olleta, J.L. 2005. "Breed, slaughter weight and ageing time effects on sensory characteristics of lamb." **Meat Science**. 69 : 571-578.
- Matthews, K.R., and Ford, L. 2012. "Review of published literature and unpublished research on factors influencing lamb quality." **Agriculture and Horticulture Development Board**. 1-33.
- Moyes, C.D., and Schulte, P.M. 2008. "Molecular diversity of myofibrillar proteins : Gene regulation and functional significance." **Physiological Reviews**. 76 : 371-423.
- Pringle, T.D., Calkins, C.R., Koohmaraie, M., and Jones, S.J. 1993. "Effects over time of feeding a adrenergic agonist to wether lambs on animal performance, muscle growth, endogenous muscle proteinase activities, and meat tenderness." **Journal of Animal Science**. 71 : 636.
- Sazili, A.Q., Parr, T., Sensky, P.L., Jones, S.W., Bardsley, R.G., and Buttery, P.J. 2004. "The relationship between slow and fast myosin heavy chain content, calpastatin and meat tenderness in different ovine skeletal muscles." **Meat Science**. 69 : 17-25.
- Schiffino, S., and Reggini, C. 1996. "Molecular diversity of myofibrillar protein : gene regulation and functional significance." **Physiological Reviews**. 76 : 371-423.
- Sørheim, O., Idland, J., Halvorsen, E.C., Frøystein, T., Lea, P., and Hildrum, K. I. 2001. "Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of *M. longissimus dorsi*." **Meat Science**. 57 : 79-85.
- Young, O.A., and Braggins, T.J. 1993. "Tenderness of ovine *semimembranosus*: Is collagen concentration or solubility the critical factor." **Meat Science**. 35 : 213-222.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารเคมีในการสกัดโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

(1) STE solution, pH 7.6

Sucrose	0.25 M
EDTA	1 mM
Tris base	0.05 M
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	
เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส	

(2) TE solution, pH 7.6

Tris	0.05 M
EDTA	1 mM
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	
เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส	

(3) KCl solution

KCl	0.15 M
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	
เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส	

(4) Buffer solution

Imidazole	0.01 M
SDS	2 % (w/v)
2 – Mercaptoethanol	2 % (v/v)
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	
เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส	

การเตรียมสารเคมีในการวัดความเข้มข้นโปรตีน

(1) Standard BSA 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 mg/ml

BSA 1 mg/ml = BSA 10 mg : Distilled water 10 ml ----(1)
BSA 0.8 mg/ml = ดูด (1) มา 800 μ l : Distilled water 200 μ l
BSA 0.6 mg/ml = ดูด (1) มา 600 μ l : Distilled water 400 μ l
BSA 0.4 mg/ml = ดูด (1) มา 400 μ l : Distilled water 600 μ l
BSA 0.2 mg/ml = ดูด (1) มา 200 μ l : Distilled water 800 μ l
BSA 0.1 mg/ml = ดูด (1) มา 100 μ l : Distilled water 900 μ l

(2) น้ำยาวัดโปรตีน Bio-Rad Protein Assay 100 ml

น้ำยาวัดโปรตีน Bio-Rad Protein Assay	25 ml
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	75 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารเคมีในการแยกแอมป์โปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อ

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

Tris	365 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	700 ml

ละลาย Tris ในน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อจากนั้นปรับ pH ให้เป็น 8.8 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

(2) Tris 1.5 M pH 8.8 (1L)

Tris 3 M pH 8.8	500 ml
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	500 ml

(3) Tris 0.5M pH 6.8 (1L)

Tris	60.6 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	700 ml

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

(4) 10 % SDS (10 ml)

SDS	1 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	10 ml

(5) 10 % Ammonium persulphate solution ; APS (1 ml) (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

Ammonium persulphate	0.1 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	1 ml

(6) 1 % Bromophenol blue (10 ml)

Bromophenol blue	0.01 g
น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	10 ml

(7) Loading buffer (15 ml)

น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	5,500 μ l
0.5M Tris – HCl pH 6.8	1,900 μ l
10 % SDS	3,000 μ l
100 % Glycerol	1,500 μ l
0.1 % Bromophenol blue	3,000 μ l
2 – Mercaptoethanol	75 μ l

(8) 10X Running buffer (1L)

Glycine	144 g
Tris-base	30 g
SDS	10 g

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

การเตรียมสารเคมีในการย้อมเจล Staining solution

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

น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	1,000 ml
Methanol	800 ml
Acetic acid	200 ml
Coomassie blue R-250	2 g
เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส	

การเตรียมสารเคมีในการล้างเจล Destaining solution

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

น้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ	1,000 ml
Methanol	800 ml
Acetic acid	200 ml
เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส	

การเตรียมสารเคมีในการวิเคราะห์โปรตีน Troponin-T ด้วยเทคนิค Western blotting

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

Tris-base	3.03 g
Glycine	14.4 g
Methanol	200 ml

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

(2) 10x Phosphate buffer saline (PBS) (1L) (137 mM NaCl, 2.7 mM 10 mM Na_2HPO_4 , 2 mM KH_2PO_4)

NaCl	80 g
KCL	20 g
Na_2HPO_4	14.4 g
KH_2PO_4	2.4 g

ละลายส่วนผสม ในน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 7.4 ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อให้ครบ 1,000 ml เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

(3) Blocking buffer (1x PBS, 3 % หางนมผง) (100 ml)

หางนมผง	3 g
---------	-----

ละลายหางนมผง ใน 1x PBS ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส

(4) Washing buffer (1x PBS, 0.05 % Tween 20 %) (1L)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tween 20 % 500 ul
ละลาย Tween 20 % ใน 1x PBS ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml เก็บในตู้เย็น 20 องศาเซลเซียส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข 1 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้านค่าแรงตัดผ่านเนื้อในแต่ระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน

Descriptive Statistics

Dependent Variable: sf

m	a	Mean	Std. Deviation	N
1.00	1.00	6.2400	1.32299	5
	7.00	5.3660	.84793	5
	14.00	4.5780	1.02121	5
	Total	5.3947	1.22359	15
2.00	1.00	7.3320	1.37887	5
	7.00	6.8360	1.61130	5
	14.00	5.8080	1.69821	5
	Total	6.6587	1.59392	15
Total	1.00	6.7860	1.39791	10
	7.00	6.1010	1.44003	10
	14.00	5.1930	1.47156	10
	Total	6.0267	1.53703	30

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sf

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.754 ^a	3	8.251	4.903	.008
Intercept	1089.621	1	1089.621	647.437	.000
m	11.983	1	11.983	7.120	.013
a	12.771	2	6.386	3.794	.036
Error	43.757	26	1.683		
Total	1158.133	30			
Corrected Total	68.511	29			

a. R Squared = .361 (Adjusted R Squared = .288)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. m

Estimates

Dependent Variable: sf

m	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1.00	5.395	.335	4.706	6.083
2.00	6.659	.335	5.970	7.347

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: sf

(I) m	(J) m	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-1.264*	.474	.013	-2.238	-.290
2.00	1.00	1.264*	.474	.013	.290	2.238

Based on estimated marginal means

* . The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: sf

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	11.983	1	11.983	7.120	.013
Error	43.757	26	1.683		

The F tests the effect of m. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

2. a

Estimates

Dependent Variable: sf

a	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1.00	6.786	.410	5.943	7.629
7.00	6.101	.410	5.258	6.944
14.00	5.193	.410	4.350	6.036

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: sf

(I) a	(J) a	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	7.00	.685	.580	.248	-.508	1.878
	14.00	1.593*	.580	.011	.400	2.786
7.00	1.00	-.685	.580	.248	-1.878	.508
	14.00	.908	.580	.130	-.285	2.101
14.00	1.00	-1.593*	.580	.011	-2.786	-.400
	7.00	-.908	.580	.130	-2.101	.285

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Univariate Tests

Dependent Variable: sf

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	12.771	2	6.386	3.794	.036
Error	43.757	26	1.683		

The F tests the effect of a. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

Post Hoc Tests

a

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sf

	(I) a	(J) a	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	1.00	7.00	.6850	.58017	.248	-.5076	1.8776
		14.00	1.5930*	.58017	.011	.4004	2.7856
	7.00	1.00	-.6850	.58017	.248	-1.8776	.5076
		14.00	.9080	.58017	.130	-.2846	2.1006
	14.00	1.00	-1.5930*	.58017	.011	-2.7856	-.4004
		7.00	-.9080	.58017	.130	-2.1006	.2846

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

\Homogeneous Subsets

sf

a	N	Subset	
		1	2
Duncan ^{a,b} 14.00	10	5.1930	
7.00	10	6.1010	6.1010
1.00	10		6.7860
Sig.		.130	.248

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.683.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวสมิตรา โคละทัต
วัน-เดือน-ปีเกิด	19 ตุลาคม 2532
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 39 หมู่ 13 แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10510
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2550 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสตรีศรีนครบุตรบำเพ็ญ เขตมีนบุรี จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปีการศึกษา 2555 สำเร็จการศึกษา ครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้