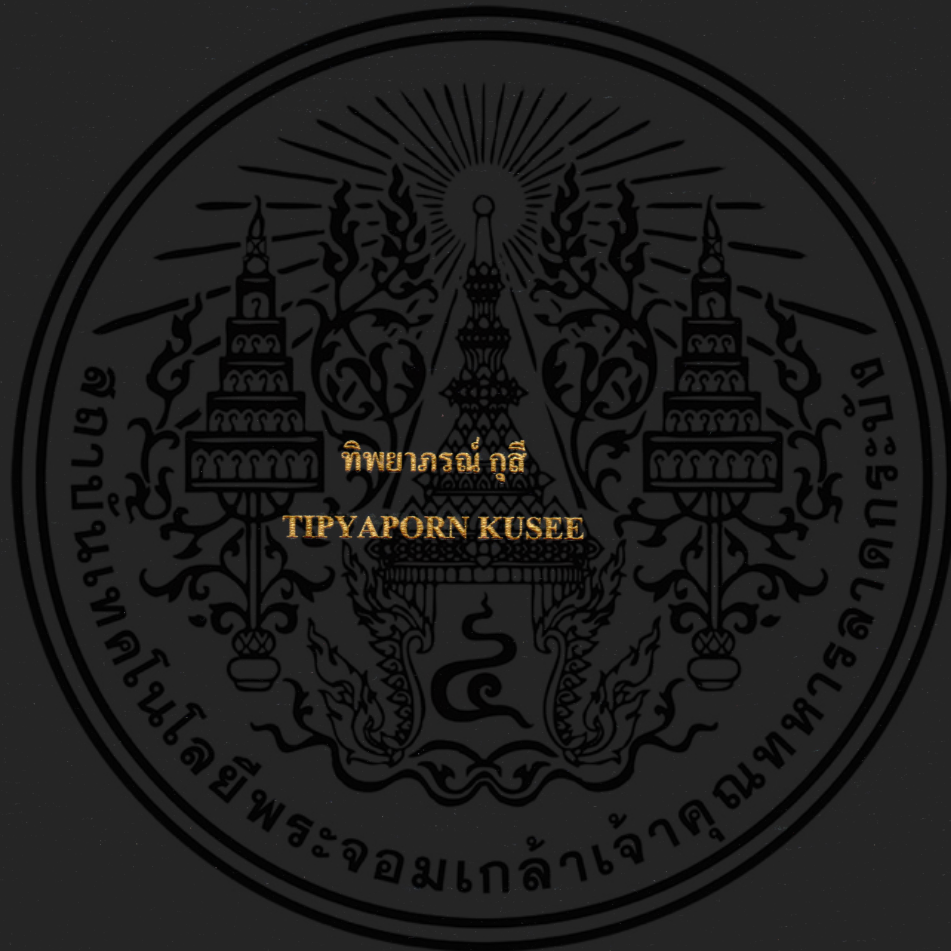


ความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ  
ต่อคุณลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองไทย

RELATIONSHIPS BETWEEN MUSCLE FIBER TYPES AND  
MEAT CHARACTERISTICS OF THAI NATIVE BEEF



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-AG-M-031-198

ความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ  
ต่อคุณลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองไทย

RELATIONSHIPS BETWEEN MUSCLE FIBER TYPES AND  
MEAT CHARACTERISTICS OF THAI NATIVE BEEF



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-AG-M-031-198

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**RELATIONSHIPS BETWEEN MUSCLE FIBER TYPE AND  
MEAT CHARACTERISTICS OF THAI NATIVE BEEF**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL SCIENCE  
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**2015**

**KMITL-2015-AG-M-031-198**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2015**

**FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับไว้ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อต่อคุณลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองไทย  
Relationships between Muscle Fiber Types and Meat Characteristics of Thai Native Beef

นักศึกษา นางสาวทิพยาภรณ์ กุสี

รหัสประจำตัว 53640452

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา สัตวศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.รณชัย สิริทริโกรพงษ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล  
ผศ.ดร.จันทร์พร เจ้าทรัพย์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.กัญญา จิระเจริญรัตน์	
ผศ.น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย	
รศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล	
ผศ.ดร.จันทร์พร เจ้าทรัพย์	
รศ.ดร.รณชัย สิริทริโกรพงษ์	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 23 มิถุนายน 2558

สถานที่สอบ ห้องประชุมคณะเทคโนโลยีการเกษตร (ชั้น 1 ตึกบุญนาค L)

ฉบับนี้รับรองแล้ว

มณฑล เกษมณี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑล เกษมณี)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

วันที่ 21 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อต่อ  
คุณลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองไทย

นักศึกษา

นางสาวทิพยาภรณ์ กุสี

รหัสประจำตัว

53640452

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา

สัตวศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.รณชัย สิทธีไกรพงษ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล

ผศ.ดร. จันทิพร เจ้าทรัพย์

### บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อต่อคุณลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองไทย โดยโคที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ โคพื้นเมืองไทยจากจังหวัดอุบลราชธานีที่เลี้ยงแบบปล่อยหากินตามทุ่งหญ้าธรรมชาติ ไม่ได้เสริมอาหารชั้น อายุประมาณ 2 ปี น้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 150 กิโลกรัม จำนวน 14 ตัว นำเข้าฆ่าและชำแหละซากทำการเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อจากซากซีกซ้าย ได้แก่ กล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*; LD) กล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*; IF) และกล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*; SS) นำตัวอย่างกล้ามเนื้อที่ได้ไปศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ (Myosin heavy chain isoform) ความยาวซาร์โคเมียร์ (sarcomere length) ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber diameter) ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner-Bratzler shear force) ปริมาณไกลโคเจน (glycogen content) ส่วนประกอบทางเคมี (Chemical Composition) และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณลักษณะต่างๆ จากการศึกษาพบว่า MHC-I มีปริมาณสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) ในกล้ามเนื้อ IF พบ MHC-IIa มีปริมาณสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) ในกล้ามเนื้อ IF และ SS ในขณะที่ MHC-IIx มีปริมาณสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) ในกล้ามเนื้อ LD กล้ามเนื้อ IF มีความยาวซาร์โคเมียร์ ( $P<0.01$ ) ยาวกว่ากล้ามเนื้อ SS และ LD ค่าแรงตัดผ่านเนื้อและเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไอน้ำระหว่างทำการละลาย ที่เวลาบ่ม 2 วัน และ 7 วัน กล้ามเนื้อ LD มีค่าสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) ในขณะที่กล้ามเนื้อ IF มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำที่สุด ( $P<0.01$ ) ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างการปรุงสุกกล้ามเนื้อ SS มีค่าสูงสุด ( $P<0.01$ ) ส่วนองค์ประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อพบว่า กล้ามเนื้อ SS และ IF มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) กล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ SS มีเปอร์เซ็นต์เถ้าสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) กล้ามเนื้อ LD มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและเปอร์เซ็นต์ไขมันสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) ส่วนปริมาณไกลโคเจนพบว่ากล้ามเนื้อ LD มีปริมาณไกลโคเจนสูงกว่ากล้ามเนื้อ IF และ SS ( $P<0.01$ ) การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นใยกล้ามเนื้อต่อคุณลักษณะเนื้อพบว่า MHC-I มีสหสัมพันธ์เชิงลบ ( $P < 0.05$ ) กับปริมาณไกลโคเจน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะเวลาการบ่ม 2 วัน ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างทำการละลายที่ระยะเวลาการบ่ม 2 และ 7 วัน และเปอร์เซ็นต์โปรตีน ในขณะที่มีสหสัมพันธ์เชิงบวก ( $P < 0.05$ ) กับเปอร์เซ็นต์ไขมัน และเปอร์เซ็นต์ความชื้น ส่วน MHC-IIa มีสหสัมพันธ์เชิงลบ ( $P < 0.05$ ) กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะเวลาการบ่ม 2 วัน ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างทำการละลายที่ระยะเวลาการบ่ม 2 และ 7 วัน แต่มีสหสัมพันธ์เชิงบวก ( $P < 0.05$ ) กับเปอร์เซ็นต์ไขมัน ในขณะที่เส้นใยกล้ามเนื้อชนิด MHC-IIx มีความสัมพันธ์เชิงลบ ( $P < 0.05$ ) กับเปอร์เซ็นต์ไขมันและเปอร์เซ็นต์ความชื้น แต่พบความสัมพันธ์เชิงบวก ( $P < 0.05$ ) กับปริมาณไกลโคเจน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะเวลาการบ่ม 2 วัน ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างทำการละลายที่ระยะเวลาการบ่ม 2 และ 7 วัน จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า กล้ามเนื้อ LD จะมีคุณลักษณะเป็น Fast type เพราะมีปริมาณเส้นใย MHC-IIx สูง ในขณะที่กล้ามเนื้อ IF มีคุณลักษณะเป็น Slow type เพราะมีปริมาณเส้นใย MHC-I การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ากล้ามเนื้อ IF มีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อ LD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Thesis Title</b>	Relationship between Muscle Fiber Types and Meat Characteristics of Thai Native Beef
<b>Student</b>	Miss Tipyaporn Kusee
<b>Student ID.</b>	53640452
<b>Degree</b>	Master of Science
<b>Program</b>	Animal Science
<b>Year</b>	2015
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Ronachai Sitthiripong
<b>Thesis Co-Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Jutarat Sethakul Asst. Prof. Dr. Chanporn Chaosap

### ABSTRACT

The objective of this study was to determine the relationship between muscle fiber types and meat characteristics of Thai native beef cattle. Fourteen 2-years old Thai native bulls from Ubon Rachathani Province were used in this study. The animals were grazed on communal lands without supplementation and were then slaughtered when they achieved a BW of 150 kg. *Longissimus dorsi* (LD), *Infraspinatus* (IF) and *Supraspinatus* (SS) muscle from left carcasses were collected to evaluate muscle fiber type, sarcomere length, muscle fiber diameter, Warner-Blatzer shear force, glycogen content and chemical composition. The correlation of muscle fiber types and meat characteristics were examined. The results showed that band intensity of MHC I was significant highest in IF ( $P<0.01$ ). The band intensity of MHC-IIa was significant highest ( $P<0.01$ ) in IF and SS muscle. While MHC-IIx band intensity was significant highest ( $P<0.01$ ) in LD muscle. IF had longer sarcomere length than SS and LD muscle ( $P<0.01$ ). Shear force value and % thawing loss of 2-d and 7-d aging were significantly highest in LD muscle ( $P<0.01$ ), whereas IF muscle had significantly lowest shear force value ( $P<0.01$ ). Cooking loss was significantly highest percentage in SS muscle ( $P<0.01$ ). For chemical composition, moisture was significantly highest percentage in SS and IF muscle ( $P<0.01$ ). Ash content was significantly highest percentage ( $P<0.01$ ) in LD and SS muscle. Fat content was significantly highest percentage in LD muscle ( $P<0.01$ ). Glycogen content was significantly higher in LD than IF and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SS muscle ( $P < 0.01$ ). MHC-I had a negative correlation with glycogen content, shear force value at 2-d aging ( $P < 0.05$ ), drip loss at 2-d and 7-d aging and protein content, while had a positive correlation with moisture and fat content ( $P < 0.05$ ). MHC-II-a had a negative correlation ( $P < 0.05$ ) with shear force value at 2-d aging, drip loss at 2-d and 7-d aging and fat content. MHC-IIx had a negative correlation ( $P < 0.05$ ) with moisture and fat content while had a positive correlation with glycogen content, shear force value at 2-d aging and thawing loss at 2-d and 7-d aging ( $P < 0.05$ ). In conclusion, LD muscle could be defined as fast muscle type because it contained the highest MHC-IIx fiber, whereas IF muscle could be defined as slow muscle type because it contained the highest MHC-I fiber. This study demonstrated that IF muscle was more tender than LD muscle.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณต่อ รศ.ดร.รณชัย ลิทธิไกรพงษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ควบคุมวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ ผศ.ดร. จันทพร เจ้าทรัพย์ อาจารย์ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการวิจัย รวมทั้งกรุณาตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ตลอดจนให้ประสบการณ์ที่ดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.กัญญา จิระเจริญรัตน์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ กรุณาใช้เวลาตรวจสอบและให้คำแนะนำตลอดจนชี้แนะให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณต่อ ผศ.ดร.สมพร ดวนใหญ่ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลตัวอย่าง

ขอขอบคุณรุ่นพี่ รุ่นน้องนักศึกษาปริญญาโท ปริญญาเอก เพื่อนๆ ที่ให้กำลังใจ และความช่วยเหลือ ในระหว่างการทำวิจัยด้วยดีเสมอมา รวมถึงบุคลากรภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และบุคลากรภาควิชาครุศาสตร์เกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์แก่ผู้วิจัย

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างยิ่งสำหรับ นายณรงค์ฤทธิ์ กุลี (บิดา) นาง กนกพร กุลี (มารดา) ที่สนับสนุนทุนการศึกษา ตลอดจนพี่สาวและ สมาชิกทุกคนในครอบครัว กุลี ที่ให้ความช่วยเหลือ และคอยเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยตลอดมา ประโยชน์และคุณค่าทั้งปวงของ วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอบแต่ ผู้มีพระคุณทุกท่าน ตลอดจนผู้ที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิด ประโยชน์ต่อไป

ทิพยาภรณ์ กุลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต่อVอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์.....	2
1.3 สถานที่ดำเนินการ.....	2
1.4 ขั้นตอนการศึกษา.....	3
1.5 ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 โคพื้นเมืองไทย (thai native beef).....	4
2.2 ชนิดกล้ามเนื้อ (muscle type).....	5
2.3 ลักษณะโครงสร้างของกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle).....	6
2.4 โครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber structure).....	7
2.5 ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber type).....	13
2.6 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	15
2.6.1 ไมโอซิน (myosin).....	15
2.6.2 การจำแนกโดยวิธี histochemistry.....	18
2.6.3 การจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดรูปแบบของ myosin heavy chain (MHC) โดยวิธี electrophoresis.....	20
2.7 ปริมาณไกลโคเจน (glycogen content).....	24
2.8 ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber diameter).....	25
2.9 ซาร์โคเมอร์ (sarcomere).....	26
2.10 ความนุ่มของเนื้อ (meat tenderness).....	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่อVIอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.11 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (water holding capacity).....	29
2.12 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อกับคุณภาพเนื้อ.....	30
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....</b>	<b>32</b>
3.1 สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง.....	32
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี.....	32
3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	33
3.3.1 กระบวนการฆ่า.....	33
3.3.2 การเก็บตัวอย่าง.....	33
3.3.3 การศึกษาคุณลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	36
3.3.3.1 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดย electrophoresis.....	36
3.3.3.2 การวัดขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	38
3.3.3.3 การวัดความยาวซาร์โคเมอร์.....	39
3.3.3.4 การวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ.....	39
3.3.3.5 การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อโค.....	40
3.3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจน.....	40
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	41
<b>บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย.....</b>	<b>42</b>
4.1 ผลของการศึกษาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ โดย electrophoresis.....	42
4.2 ผลของการศึกษาขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อและความยาวซาร์โคเมอร์.....	45
4.3 ผลของการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อโคและปริมาณไกลโคเจน.....	46
4.4 ผลของการศึกษาค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุก และ การสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลาย.....	48
4.5 ความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา.....	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่อ VII ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	55
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	55
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	56
บรรณานุกรม.....	57
ภาคผนวก.....	68
ภาคผนวก ก.....	69
ภาคผนวก ข.....	78
ภาคผนวก ค.....	84
ประวัติผู้เขียน.....	85

# สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้า

2.1 ค่าเฉลี่ยที่ได้จากค่าแรงตัดผ่านเนื้อและความยาวของซาร์โคเมอร์ในกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	6
2.2 คุณสมบัติของเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	14
2.3 การเรียกชื่อชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	23
2.4 แอนติบอดี 3 ชนิด ที่เฉพาะเจาะจงกับ MHC แต่ละชนิด.....	23
2.5 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ ในโคขุนพันธุ์พื้นเมือง (N) และ ลูกผสมบราห์มัน x พื้นเมือง (BN).....	26
3.1 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจล.....	38
4.1 ชนิดของ Myosin heavy chain ในกล้ามเนื้อ 3 ชนิด ของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดอุบลราชธานี (N = 14).....	44
4.2 ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ และ ความยาวซาร์โคเมอร์ในกล้ามเนื้อ 3 ชนิด ของโคพื้นเมืองในเขต จังหวัดอุบลราชธานี (N = 14).....	45
4.3 ส่วนประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อ 3 ชนิด ของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดอุบลราชธานี (N = 14) .....	47
4.4 เปรียบเทียบค่าปริมาณ โทชนะ ในกล้ามเนื้ออกกล้ามเนื้อสันนอก ( <i>Longissimus dorsi</i> ; LD) กล้ามเนื้อใบพาย ( <i>Infraspinatus</i> ; IF) กล้ามเนื้อสันในเทียม ( <i>Supraspinatus</i> ; SS) .....	47
4.5 ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายน้ำแข็ง ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุก และค่าแรง ตัดผ่านของเนื้อ (Thawing loss, Cooking loss, Warner-Bratzler shear force) ระยะเวลาบ่ม 2 และ 7 วัน ในกล้ามเนื้อ 3 ชนิด ของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดอุบลราชธานี (N = 14).....	49
4.6 ความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา.....	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต่อ IX ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างกล้ามเนื้อโครงร่าง.....	7
2.2 โครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	8
2.3 ซาร์โคเมอร์.....	10
2.4 ลักษณะของไมโอซินฟิลาเมนต์ชนิดหนา.....	11
2.5 โปรตีนในกลุ่มไมโอฟิลาเมนต์ชนิดบาง.....	12
2.6 ตำแหน่งโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของคอสตาเมียร์ในกล้ามเนื้อลาย.....	13
2.7 โครงสร้างโมเลกุลของเส้นใยหนา (thick filament) .....	16
2.8 แสดงการทำงานร่วมกันของ myosin และ actin.....	16
2.9 MYH genes ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ผลิตโปรตีนและชนิดกล้ามเนื้อที่พบ.....	17
2.10 การวิเคราะห์ด้วยวิธี histochemistry อาศัยการทำงานของ mATPase.....	19
2.11 การวิเคราะห์ด้วยวิธี histochemistry โดยอาศัยการทำงานของ SDH.....	20
2.12 Myosin heavy chain (MHC) isoform ในกล้ามเนื้อ โค โดยวิธี electrophoretic separation of MHC isoforms (1) กล้ามเนื้อ <i>Longissimusthoracic</i> (2) กล้ามเนื้อ <i>Supraspinatus</i> .....	20
2.13 วิธี electrophoresis ของกล้ามเนื้อ RA ( <i>Rectus abdominis</i> ) จากตัวอย่างโค 13 ตัว เปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อมาตรฐาน <i>Cutaneus trunci</i> (ที่มีเพียง fast MHC-IIa และ MHC-IIx) และ <i>Masseter</i> (มีเพียง MHC-I).....	21
2.14 การแยกชนิดของ myosin heavy chain ในกล้ามเนื้อ LT ( <i>Longissimus thoracic</i> ) ของโค.....	21
2.15 ชนิดของ myosin heavy chain ของโค โตเต็มวัย แยกโดยวิธี electrophoresis ในกล้ามเนื้อ M ( <i>Masseter</i> ) D ( <i>Diaphragm</i> ) Ld ( <i>Longissimus dorsi</i> ) Ecr ( <i>Extensor carpi-radialis</i> ) P ( <i>Pectoralis</i> ) Rb ( <i>Retractor bulbi</i> ) Ri ( <i>Rectus lateralis</i> ).....	22
2.16 การวิเคราะห์ด้วย western blotting ใช้ antibodies ที่เฉพาะเจาะจง โดย mAb 5B9 ทำปฏิกิริยากับ MHC-I pAb A1 ทำปฏิกิริยากับ MHC-I และ IIa mAb S48F4 ทำปฏิกิริยากับ MH-IIx และ Iib กล้ามเนื้อ LT1 ( <i>Longissimus thoracic</i> ที่ไม่มี MHC-IIb) LT2 ( <i>Longissimus thoracic</i> ที่มี MHC-IIb) Di ( <i>Diaphragm</i> ) Ma ( <i>Masseter</i> ) CT ( <i>Cutaneus trunci</i> ).....	24
3.1 โคที่ใช้ในการทดลอง.....	32
3.2 ตัวอย่างซากโคซีกซ้ายแสดงตำแหน่งกล้ามเนื้อตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษา.....	34
3.3 ตำแหน่งของการแบ่งเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อเพื่อทำการวิเคราะห์.....	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

4.1 รูปแบบที่แสดงออกของ Myosin Heavy Chain (MHC) แยกด้วยเทคนิค electrophoresis โคตัวที่ 1.....42



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มา

ในปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าทดลองเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านความนุ่มของเนื้อ เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อความนุ่มของเนื้อ ได้แก่ พันธุ์ เพศ อายุ ชนิดของกล้ามเนื้อ ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อ รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย โดยองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อ ตำแหน่งของเส้นใยกล้ามเนื้อ และความหนาแน่นของเส้นเลือดฝอยนั้นเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการทางชีวเคมีทั้งก่อน และ หลังสัตว์ตาย จึงส่งผลต่อคุณภาพเนื้อ ซึ่งชนิดของกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน จะประกอบด้วยชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน (Pette and Staron. 1990) ซึ่งความหลากหลายของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อจะมีความสัมพันธ์กับ ขนาด สี กลไกโคเจน และ ไบมีน (Klont *et al.* 1998) และหนึ่งในโปรตีนที่มีมากที่สุดของโปรตีนในกล้ามเนื้อ คือ ไมโอซิน (myosin) ซึ่งประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย คือ ไมโอซินเฮฟวี่เชน (myosin heavy chain ; MHC) และ ไมโอซินไลท์เชน (myosin light chain ; LC) ซึ่งในกล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดนั้นพบว่า MHC มีอยู่หลายรูปแบบ (isoform) ได้มีการระบุไว้ในกล้ามเนื้อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอีกหลายชนิด (Fry *et al.* 1994) โดยทั่วไปในกล้ามเนื้อลายพบประมาณ 4 isoform คือ MHC-I, MHC-IIa, MHC-IIb และ MHC-IIc ขึ้นอยู่กับชนิดสัตว์และชนิดของกล้ามเนื้อ เช่น ในกล้ามเนื้อ medial gastrocnemius (น่อง) ของหนู (Talmadge and Roy.1993) กล้ามเนื้อสันนอกของหมู (Ryu and Kim. 2005) และกล้ามเนื้อสันนอกของแกะ (Peinado *et al.* 2004) ที่พบทั้ง 4 ชนิด

ในการแยกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อนั้นสามารถใช้แยกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อได้ในกล้ามเนื้อของสัตว์หลายชนิด โดยวิธีในการจำแนกประเภทชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อว่าด้วยเทคนิค histochemistry เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการจัดประเภทของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งเส้นใยกล้ามเนื้อที่ถูกจำแนกได้มี 3 ชนิด คือ slow-oxidative หรือ type I, fast-oxido-glycolytic หรือ type IIA และ fast glycolytic type IIX หรือ type IIB แต่เนื่องจากว่าหลักการของเทคนิคนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์ค่อนข้างนานและต้องใช้ความชำนาญในการจำแนกประเภทเส้นใยตามความเข้มของสีข้อมในการตรวจสอบ ดังนั้นในปัจจุบันจึงเลือกนำเอาเทคนิคอื่นๆมาใช้เพื่อจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ เป็นต้นว่า การแบ่งตาม รูปแบบการแสดงออกของ MHC ซึ่งแบ่งโดยใช้แอนติบอดีที่เฉพาะเจาะจงกับ MHC หรือ ใช้หลักการ electrophoresis (SDS-Page) ในการจำแนกรูปแบบของ MHC โดย Jones *et al.* (1999) พบว่าการแบ่งชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อตามหลักการ histochemistry มี

ความสัมพันธ์กับการแบ่งตามชนิดรูปแบบของ MHC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการแยกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อนั้นสามารถใช้แยกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อได้ในกล้ามเนื้อของสัตว์หลายชนิด

การศึกษาอิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณภาพเนื้อมีการศึกษาอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ ซึ่งในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นโคพื้นเมืองไทยยังไม่ปรากฏว่ามีการทำการศึกษา ดังนั้น จึงควรพิจารณาทำการศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อในโคพื้นเมืองไทย รวมทั้ง ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อในโคพื้นเมืองไทยกับลักษณะทางคุณภาพเนื้ออื่นๆ ทั้งนี้เพื่อหาเอกลักษณ์ของเนื้อโคพื้นเมืองไทย ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาเชิงลึกต่อไป รวมทั้งข้อมูลที่ไ้จะมีประโยชน์ต่อการส่งเสริมการบริโภคนเนื้อโคพื้นเมืองไทย ซึ่งเป็นการช่วยเหลือเกษตรกรผู้เลี้ยงโคพื้นเมืองในประเทศไทยต่อไป

## 1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อศึกษาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อของโคพื้นเมืองไทย
- 1.2.2 ศึกษาคุณลักษณะทางคุณภาพเนื้อโคพื้นเมืองไทย
- 1.2.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อกับลักษณะทางคุณภาพเนื้อของโคพื้นเมืองไทย

## 1.3 สถานที่ดำเนินการ

- 1.3.1 ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.2 ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.3 ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.4 ห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลทางสัตว์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.5 ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.6 โรงฆ่าสัตว์เทศบาลอำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.4 ขั้นตอนการศึกษา

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อและคุณลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองไทยสามารถแบ่งการศึกษาออกได้ดังนี้

1.4.1 ศึกษาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ความยาวซาร์โคเมอร์ ปริมาณไกลโคเจน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อ (โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า) ในกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimusdorsi*; LD) กล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*; IF) และกล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*; SS) ของโคพื้นเมือง

1.4.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อและคุณลักษณะเนื้อที่ทำการศึกษา

## 1.5 ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย

ระยะเวลา 12 เดือน

## 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบถึงชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ความยาวซาร์โคเมอร์ ปริมาณไกลโคเจน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ และ ส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อ (โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า) ในกล้ามเนื้อแต่ละชนิด ของโคพื้นเมืองไทย

1.6.2 ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ และคุณลักษณะเนื้อที่ทำการศึกษา ของโคพื้นเมืองไทย

1.6.3 สามารถนำข้อมูลการวิจัยในครั้งนี้ไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาวิจัยคุณภาพของเนื้อโคพื้นเมืองในเชิงลึก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 โคพื้นเมืองไทย (thai native beef)

โคพื้นเมือง หมายถึง โคซึ่งอยู่ในเมืองไทยมานานแล้ว อาจเป็น โคซึ่งอยู่ในท้องถิ่นแต่เดิม หรือโคซึ่งนำมาจากที่อื่นนานมาแล้ว หรือโคที่เกิดจากการผสมข้ามอย่างใดอย่างหนึ่งซึ่งไม่อาจจะแยกแยะ เข้ากับโคพันธุ์โคพันธุ์หนึ่งได้ ซึ่งโคที่มีอยู่ในท้องถิ่นก็เรียกว่าโคที่จำแนกไม่ได้และมีถิ่นกำเนิดในเมืองไทยจึงเรียกว่า "โคพื้นเมือง" (จรัญ จันทลักษณ์, 2515)

โคพื้นเมืองได้มีการเลี้ยงดูมาเป็นเวลานานแล้ว แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดในสายพันธุ์ดั้งเดิม และประวัติความเป็นมาในอดีต โคพื้นเมืองจะมีความแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาคของประเทศ โคพื้นเมืองจัดอยู่ใน โคกลุ่ม โคอินเดีย (*Bos indicus*) เป็นโคที่เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยซึ่ง มีขนาดค่อนข้างเล็ก มีขนสั้นเกรียน ลำตัวเป็นสีน้ำตาลแกมแดง แต่อาจมีสีแตกต่างกันไปหลายสี เช่น ดำ แดง น้ำตาล เหลือง เป็นต้น หน้าผากแคบ ตะโพนกเล็ก เหนียงคอและหนังใต้ท้องไม่มากนัก ใบหูเล็กกางขนานกับลำตัวมี นิ้วยเปรี๊ยะ ตีนตกลอยง่าย รักฝูง จดจำฝูงได้ดี มีความแข็งแรงทนทานและอดทนมาก ทนทานต่อโรคพยาธิและ แมลงรบกวน และทนต่อสภาพดินฟ้าอากาศได้ดี เลี้ยงง่ายหากินเก่งไม่เลือกอาหาร มีความสามารถใช้อาหารคุณภาพต่ำ แต่มีลักษณะด้อยคือ การเจริญเติบโตต่ำ

โคพื้นเมืองในประเทศไทย สามารถแบ่งออกตามลักษณะรูปร่างภายนอก ตามภูมิภาคและวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงได้ 4 สายพันธุ์ คือ โคพื้นเมืองอีสาน โคพื้นเมืองภาคเหนือ (โคขาวลำพูน) โคพื้นเมืองภาคใต้ (โคชน) โคพื้นเมืองภาคกลาง (โคลาน) (รูปโคแสดงในภาพผนวกที่ 1-4) โดยโคที่นำมาทำการศึกษาครั้งนี้คือ โคพื้นเมืองอีสาน เป็นโคที่มีการเลี้ยงกระจายอยู่ทั่วไป โดยพบมากตามแนวชายแดนแถบจังหวัดอุบลราชธานี สุรินทร์ ศรีสะเกษ อำนาจเจริญ มุกดาหาร นครพนม และหนองคาย เป็นโคที่มีรูปร่างเล็ก ใบหน้ายาว หน้าผากแคบ ตาขนาดปานกลาง จมูกแคบ เขาสั้นจนถึงยาวปานกลางและมีลักษณะตั้งขึ้น ลำคอบางยาว ใต้คอกมีเหนียงแต่เล็กกว่าโคอินเดีย และมีเหนียงสะดือสั้น มีโหนก ขายาวบอบบาง ลำตัวป่องตรงกลาง บั้นท้ายลาดลงเล็กน้อย โคนหางสูง ขนสั้นเกรียนและมีสีนวล เหลือง ดำ น้ำตาล และดำ เขาและกีบเท้ามีสีดำ น้ำหนักแรกเกิดประมาณ 14-16 กิโลกรัม น้ำหนักหย่านมเมื่ออายุเฉลี่ย 200 วันประมาณ 78 กิโลกรัม น้ำหนักเมื่ออายุ 1 ปีประมาณ 95 กิโลกรัม น้ำหนักโตเต็มที่เพศผู้ประมาณ 350-450 กิโลกรัม เพศเมีย 230-260 กิโลกรัม อายุเมื่อให้ลูกตัวแรก 31 เดือน (สมมาตร และคณะ, 2547; สวัสดิ์ และคณะ, 2542)

## 2.2 ชนิดกล้ามเนื้อ (muscle type)

กล้ามเนื้อแต่ละมัดตามจุดต่างๆ ของร่างกายมีหน้าที่ในร่างกายแตกต่างกัน จึงทำให้มีคุณสมบัติแตกต่างกัน การยืดหดตัวของกล้ามเนื้อจะทำให้เกิดการเคลื่อนไหวของร่างกาย ดังนั้น กล้ามเนื้อมัดใดมีกิจกรรมน้อยก็จะมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อที่ต้องทำงานหนัก เช่น กล้ามเนื้อสันใน (*Psoas major*) และกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) ทำหน้าที่เพียงพยุงโครงร่างเท่านั้น จึงนุ่มกว่ากล้ามเนื้อสะโพก (*Bicep femoris*) และกล้ามเนื้อไหล่ (*Infraspinatus*) (สัญญาชัย จตุลิตทรา. 2551)

Dransfield (1994) กล่าวว่า ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อมีอิทธิพลอย่างยิ่งต่อคุณภาพของเนื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านของความนุ่ม จากการทดลองของ Rhee *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาความนุ่มของเนื้อโค ด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัสและการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อของโคลูกผสม Charolais x MARC III (Meat Animal Research Center: MARC) จากกล้ามเนื้อ 11 ชนิด จากโคอายุ 14-16 เดือน จำนวน 13 ตัว ได้แก่ กล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*), กล้ามเนื้อสันใน (*Psoas major*), กล้ามเนื้อสัน สะโพก (*Gluteus medius*), กล้ามเนื้อสะโพกพับใน (*Semimembranosus*), กล้ามเนื้อสะโพกพับนอก เนื้อหางจรเข้ (*Adductor*), กล้ามเนื้อสะโพกพับนอกเนื้อจรเข้ (*Biceps femoris*), กล้ามเนื้อสะโพกเนื้อหมอน (*Semitendinosus*), กล้ามเนื้อสะโพกเนื้อลูกมะพร้าว (*Rectus femoris*), กล้ามเนื้อไหล่ (*Triceps brachii*), กล้ามเนื้อไหล่ส่วนเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*), กล้ามเนื้อไหล่เนื้อสันในเทียมที่ติดอยู่กับกระดูกใบพาย (*Supraspinatus*) จากการศึกษาพบว่ากล้ามเนื้อ *Psoas major* มีความนุ่มมากที่สุด และรองลงมาคือ กล้ามเนื้อ *Infraspinatus* (ตารางที่ 2.1)

นอกจากนี้ยังพบว่าความยาวของซาร์โคเมอร์ของกล้ามเนื้อ *Psoas major* ยาวมากที่สุด และความยาวรองลงมาคือกล้ามเนื้อ *Triceps brachii*, *Infraspinatus*, *Rectus femoris* และ *Semitendinosus* ซึ่งมีความยาวซาร์โคเมอร์ยาวมากกว่า 2 ไมโครเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shackelford *et al.* (1995) พบว่า กล้ามเนื้อ *Psoas major* และ *Infraspinatus* ของโคลูกผสมพันธุ์เฮียร์ฟอร์ดเองกัศและบราห์มันมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่น ( $p < 0.05$ ) และ Dransfield (1994) พบว่ากล้ามเนื้อ *Psoas major* มีความนุ่มสูงสุด เนื่องจากมีปริมาณคอลลาเจนที่สะสมในกล้ามเนื้อต่ำและมีความยาวซาร์โคเมอร์เฉลี่ยประมาณ 3.4 ไมครอน

ตารางที่ 2.1 แสดงค่าเฉลี่ยที่ได้จากค่าแรงตัดผ่านเนื้อและความยาวของซาร์โคเมอร์  
ในกล้ามเนื้อแต่ละชนิด

ชนิดกล้ามเนื้อ	ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม)	ความยาวซาร์โคเมอร์ (ไมครอน)
<i>Psoas major</i>	2.95 <sup>g</sup>	2.94 <sup>a</sup>
<i>Infraspinatus</i>	3.27 <sup>f</sup>	2.25 <sup>c</sup>
<i>Rectus femoris</i>	3.86 <sup>c</sup>	2.19 <sup>d</sup>
<i>Biceps femoris</i>	3.87 <sup>c</sup>	1.81 <sup>h</sup>
<i>Triceps brachii</i>	3.98 <sup>c</sup>	2.41 <sup>b</sup>
<i>Longissimus</i>	3.99 <sup>c</sup>	1.80 <sup>h</sup>
<i>Semitendinosus</i>	4.29 <sup>d</sup>	2.12 <sup>e</sup>
<i>Gluteus medius</i>	4.44 <sup>cd</sup>	1.66 <sup>i</sup>
<i>Semimembranosus</i>	4.64 <sup>bc</sup>	1.80 <sup>h</sup>
<i>Adductor</i>	4.73 <sup>ab</sup>	1.90 <sup>g</sup>
<i>Supraspinatus</i>	4.95 <sup>a</sup>	1.94 <sup>f</sup>

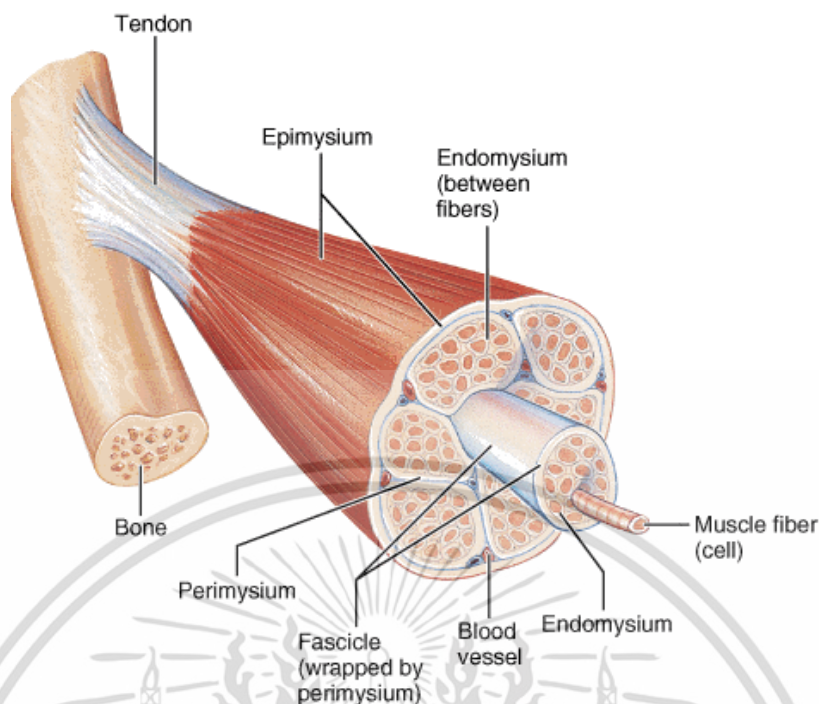
a,b,c,d,e,f,g,h,i = ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ที่มา: คัดแปลงจาก Rhee *et al.* (2004)

### 2.3 ลักษณะโครงสร้างของกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle)

โดยทั่วไปกล้ามเนื้อโครงร่างจะมีอยู่ในซากสัตว์ประมาณ 35-65 เปอร์เซ็นต์ เมื่อก่ลาวถึงเนื้อสัตว์อย่างรวมๆ จึงหมายถึงกล้ามเนื้อโครงร่างเป็นส่วนใหญ่

กล้ามเนื้อโครงร่างส่วนมากจะติดอยู่กับกระดูกโดยตรง แต่ก็มีบางส่วนอยู่กับเส้นเอ็น (ligament) กระดูกอ่อนและหนัง กล้ามเนื้อทั้งก้อนถูกห่อหุ้มอยู่ด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียกว่า เอพิไมเซียม (epimysium) และก้อนเนื้อจะประกอบขึ้นด้วยมัดกล้ามเนื้อ (muscle bundle) ซึ่งห่อหุ้ม ด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเพอริไมเซียม (perimysium) และภายในมัดกล้ามเนื้อแต่ละมัด ประกอบด้วยเซลล์กล้ามเนื้อหรือเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber) จำนวนมากแต่ละเซลล์มีเนื้อเยื่อเอ็นโดไมเซียม (endomysium) ห่อหุ้มอยู่ นอกจากนี้ภายในเซลล์กล้ามเนื้อประกอบด้วยเส้นใยเล็กๆ เรียกว่า ไมโอไฟบริล (Myofibril) จำนวนมากเรียงขนานตามความยาวของมัดกล้ามเนื้อ (สุจิตรา เลิศพฤกษ์, 2535; จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2539)



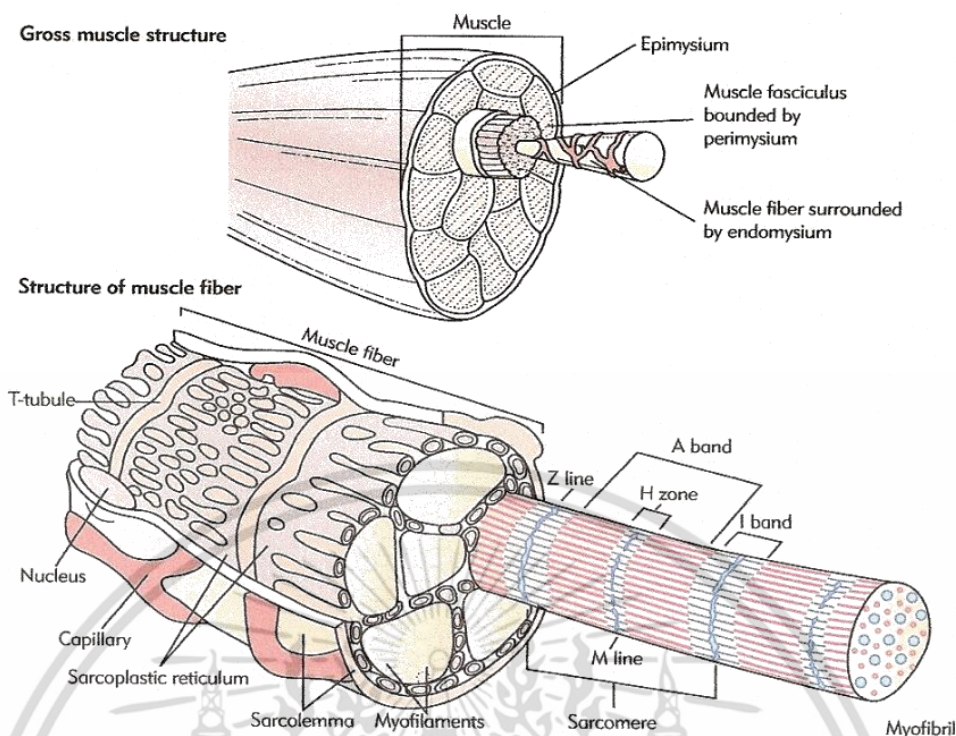
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างกล้ามเนื้อโครงร่าง

ที่มา: Anonymous. (2015a)

## 2.4 โครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber structure)

เซลล์เป็นหน่วยของสิ่งมีชีวิตที่อาจแตกต่างกันไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ทั้งในแง่รูปร่าง ขนาดและโครงสร้าง องค์ประกอบพื้นฐานของเซลล์ประกอบไปด้วยนิวเคลียส ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่อยู่ในมวลของไซโทพลาสซึม กล้ามเนื้อโครงร่างเป็นกล้ามเนื้อส่วนใหญ่ที่มนุษย์นำมาบริโภค มีจำนวนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ประกอบกันขึ้นมาจากเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber) หรือเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง มีรูปร่างเป็นเส้นกลมยาวคล้ายเส้นด้าย ปลายทั้งสองแหลมและมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 10-100 ไมครอน (0.01-0.1 มิลลิเมตร) ความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละเซลล์อาจแตกต่างกันมาก โดยทั่วไปจะไม่ถึงกับยาวเท่ากับ ความยาวของกล้ามเนื้อทั้งมัด แต่ส่วนใหญ่จะยาวประมาณ 1-40 มิลลิเมตร ลักษณะเฉพาะตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อโครงร่างคือมีความลายปรากฏอยู่ โดยตลอดความยาวดังกล่าวเป็นผลมาจากความลายภายในเส้นใยย่อย (myofibril) โดยภายในแต่ละเส้นใยกล้ามเนื้อจะมีเส้นใยย่อยเรียงตัวตามยาวอัดแน่นอยู่อย่างเป็นระเบียบ เส้นใยย่อยเหล่านี้อาจมีจำนวนมากถึง 1,000 เส้นต่อเส้นใยกล้ามเนื้อ 1 เซลล์ (สุจิตรา เลิศพฤกษ์, 2535) ดังแสดงในภาพที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อ

ที่มา: Hopkins (2005)

โครงสร้างและหน้าที่ของเส้นใยกล้ามเนื้อ มีดังนี้

1. ซาร์โคเลมมา (sarcolemma) คือ เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ทำหน้าที่ในการห่อหุ้มเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งซาร์โคเลมมาจะอยู่ภายใต้ชั้นเอนโดไมซิซึม เส้นใยแต่ละเส้นจะแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน โดยเยื่อหุ้มบาง ๆ ที่หุ้มเส้นใยประกอบไปด้วยชั้นบาง ๆ 4 ชั้นแต่ละชั้นจะหนาประมาณ  $100 \text{ \AA}$  ถึง  $500 \text{ \AA}$  องค์ประกอบทางเคมีของเยื่อหุ้มเส้นใยประกอบไปด้วยโคเลสเตอรอล (cholesterol) และฟอสโฟลิพิด (phospholipids) พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) และโปรตีนเยื่อหุ้มเส้นใยนี้มีความสมบัติยืดหยุ่นได้ดีและมีเส้นประสาทมาเชื่อมเข้ายังเส้นใยกล้ามเนื้อที่บริเวณเยื่อหุ้มเส้นใยเพื่อส่งสัญญาณจากสมองมายังเส้นใยกล้ามเนื้อ

2. ซาร์โคพลาสซึม (sarcoplasm) คือสารประกอบจำพวก colloid ที่มีส่วนประกอบเป็นน้ำ เม็ดไขมัน ไรโบโซม (ribosome) สารประกอบไนโตรเจน และสารอนินทรีย์อื่นๆ

3. นิวเคลียส (nucleus) เซลล์ของกล้ามเนื้อจะมีนิวเคลียสอยู่ด้วยกันหลายนิวเคลียส ซึ่งอยู่บริเวณใต้ผิวของซาร์โคเลมมามีหน้าที่ คือ การรักษาเสถียรภาพของยีน (gene) ต่างๆและทำการควบคุมการทำงานต่างๆ ของเซลล์โดยผ่านการแสดงออกของยีน (gene expression)

4. ซาร์โคพลาสซึมิกเรติคูลัม (sarcolemmic reticulum; SR) ทำหน้าที่เป็นตัวกักเก็บ และปล่อย  $\text{Ca}^{2+}$  เพื่อควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อ ซาร์โคพลาสซึมิกเรติคูลัม เป็นโครงสร้างที่มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะเป็นระบบข่ายใยของเนื้อเยื่อและท่อต่างๆ ซึ่งแผ่ตัวเองออกคล้ายตาข่าย โดยท่อต่างๆจะขนานไปตามแนวของเส้นใยย่อย เป็นระบบท่อที่สานเป็นโครงข่ายโดยหุ้มโดยรอบเส้นใยย่อยแต่ละเส้น ซึ่งแต่ละท่อจะมีช่องทะลุออกบนผิวของซาร์โคเลมมา พอดี และที่ผิวของซาร์โคพลาสมิครีติคูลัม จะเป็นแหล่งที่เก็บของ  $Ca^{2+}$  ขณะที่กล้ามเนื้อของสัตว์อยู่ในเวลาพักตัว

5. ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) คือ โครงสร้างที่มีลักษณะเป็นรูปร่างริแบนๆ แขนงลอยอยู่ในซาร์โคพลาสมิซึม ไมโทคอนเดรียมีความสำคัญอย่างมากกับการทำงานของกล้ามเนื้อ เพราะเป็นแหล่งที่รวบรวมพลังงานจากสารอาหาร และแจกจ่ายพลังงานให้แก่เซลล์ในรูปของ ATP (Adenosine triphosphate) โดยผ่านทางกระบวนการที่ใช้ออกซิเจน (aerobic metabolism) มีโครงสร้างที่มีรูปร่างเป็นแท่งรูปร่างริแบน มีความยาวแตกต่างกันไป ประกอบด้วยเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ชั้นนอกทำหน้าที่ควบคุมปริมาณและชนิดของสารที่เข้าออกจากไมโทคอนเดรีย ชั้นในเป็นห้องเล็กๆ หยักไปหยักมาซึ่งช่วยเพิ่มพื้นที่ในการทำงานเรียกว่าคริสตี (cristae) พบในที่ว่างระหว่างเส้นใยย่อยได้เยื่อหุ้มเส้นใย และมักอยู่ตามบริเวณใกล้เส้น Z-line จะพบไมโทคอนเดรียหนาแน่นเป็นพิเศษในเซลล์ที่กำลังเจริญเติบโตหรือเพิ่งเกิดใหม่ ๆ และในเซลล์ที่มีปฏิกิริยาเคมีเกิดขึ้นมากๆ ไมโทคอนเดรียทำหน้าที่ในการเก็บรักษาพลังงานจากอาหาร โดยผ่านทางวัฏจักรเครบส์แล้วจึงแปรสภาพไปเป็นพลังงานในรูปสารให้พลังงานสูง (adenosine triphosphate, ATP) โดยกระบวนการ phosphorylation สาร ATP นี้จะเป็นตัวการสำคัญที่ช่วยในปฏิกิริยาชีวเคมีต่างๆ ภายในไมโทคอนเดรียจะมีสารย่อย (enzymes) ชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายหลายชนิดด้วยกัน

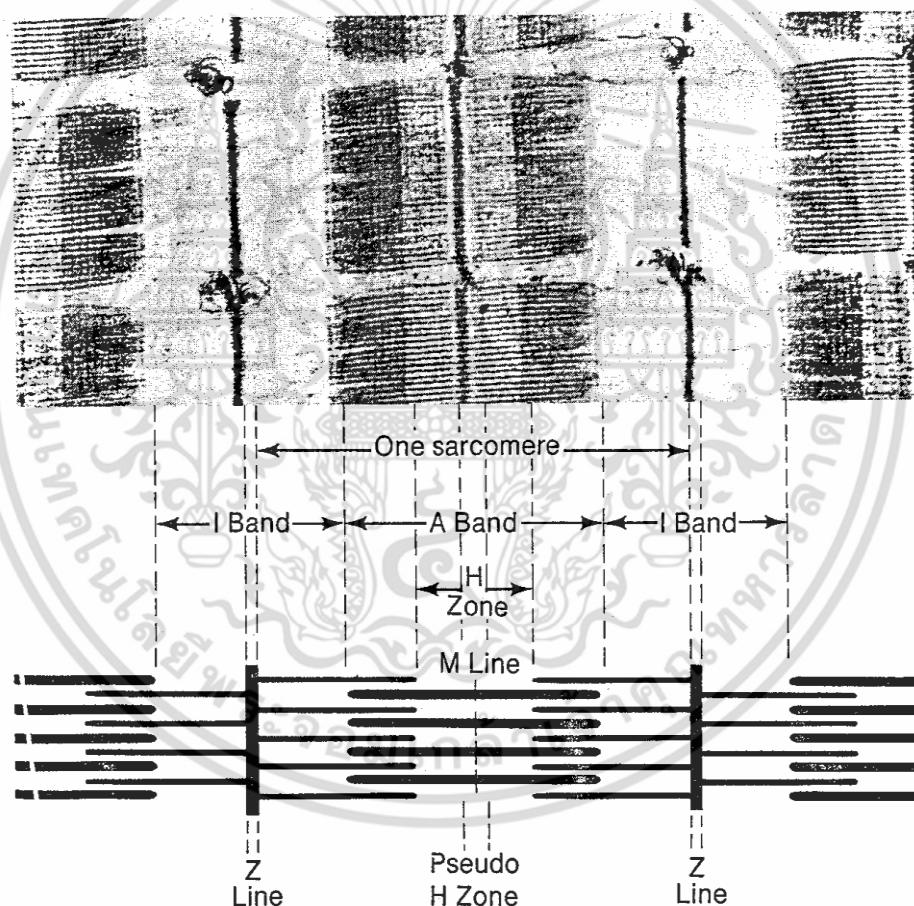
6. กอลจิ คอมเพลกซ์ (golgi complex) คือ โครงสร้างที่มีรูปร่างท่อต่างๆ ส่วนมากมักพบอยู่ในซาร์โคพลาสมิซึมใกล้นิวเคลียสเป็นโครงสร้างที่มีรูปร่างเป็นท่อต่างๆ ขนานกันเป็นกลุ่ม ซ้อนเรียงกันเป็นชั้น อาจเห็นเป็น 5 ถึง 8 ชั้น หน้าที่ของมันคือรวบรวมผลิตผลจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ของเส้นใยกล้ามเนื้อ เช่น โปรตีน ฮอร์โมน เอนไซม์และไลปิดให้เป็นกลุ่มก้อน เพื่อเก็บรักษาเอาไว้ใช้ประโยชน์ต่อไป โดยจะมีการปล่อยสารนี้ออกนอกเซลล์เส้นใยกล้ามเนื้อ

7. ไลโซโซม (lysosome) มีลักษณะเหมือนถุงเล็กๆ แขนงลอยอยู่ในซาร์โคพลาสมิซึม ภายในจะมีเอนไซม์มากมายหลายชนิด

8. ไมโอไฟบริล (myofibrils) หรือเส้นใยย่อย ทำหน้าที่โดยตรงในการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อ โครงสร้างมีลักษณะเป็นเส้นใยเล็กๆ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ  $1 \times 10^{-5}$  เซนติเมตร เรียงตัวขนานกันไปตามความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อ ภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ 1 เส้น อาจมีจำนวนของ เส้นใยย่อยสูงถึง 1,000 - 2,000 เส้น หรือมากกว่านี้ ซึ่งไมโอไฟบริลเป็นส่วนที่มีความสำคัญในการทำงานของกล้ามเนื้อ ซึ่งเส้นใยย่อยแต่ละเส้นประกอบด้วยฟิลาเมนต์ (filament)

ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ ไมโอฟิลาเมนต์ชนิดหนา (thick filament) ที่เรียกว่า ไมโอซิน (myosin) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และไมโอไฟลาเมนต์ชนิดบาง (thin filament) ที่เรียกว่า แอคติน (actin) (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529) โดยไมโอซินจะเรียงตัวตามความยาวของเส้นใยและแอคติน (actin) วางเรียงซ้อนสลับกันไปทำให้เกิดแถบมืดกับแถบสว่าง ดังนั้นเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จึงมองเห็นกล้ามเนื้อที่มีลักษณะเป็นลายพบแถบโปร่งแสง เรียกว่า I-band (Isotropic band) และแถบทึบแสงเป็นการเรียงตัวของ actin และ myosin ซ้อนกันอยู่เรียกว่า A-band (anisotropic band) ภายในแถบโปร่งแสงหรือ I-band จะพบเส้นแบ่งกึ่งกลางระหว่าง I-band ทั้ง 2 ข้าง เรียกว่า Z-line ซึ่งโครงสร้างของไมโอไฟบริลจาก Z-line หนึ่งไปยังอีก Z-line หนึ่งเรียกว่า ซาร์โคเมียร์ (sarcomere) (ภาพที่ 2.3) ส่วนแถบทึบแสงหรือ A-band จะพบแถบที่มีคั่นน้อยกว่าอยู่ตรงกลาง เรียกว่า H-zone ซึ่งจะถูกแบ่งส่วน ด้วยเส้นทึบที่เรียกว่า M-line (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2539)



ภาพที่ 2.2 ซาร์โคเมียร์

ที่มา : Aberle *et al.* (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบของโปรตีนไมโอไฟลาเมนต์ประกอบด้วย

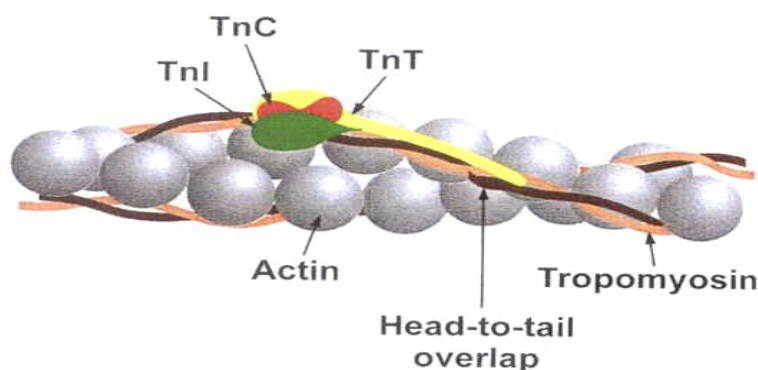
1. ไมโอซิน (myosin) เป็นโปรตีนที่สำคัญของไมโอไฟลาเมนต์ชนิดหนา (thick filament) แต่เส้นจะประกอบขึ้นจากโปรตีนไมโอซิน (myosin) ประมาณ 400 โมเลกุล รวมกันในลักษณะเป็นมัดใหญ่ โมเลกุลของโปรตีนไมโอซินมีประมาณร้อยละ 45 ของโปรตีนไมโอไฟบริล มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 520 กิโลดัลตัน ลักษณะเป็นเส้นยาวประมาณ 1.5 ไมโครเมตร มีรูปร่างโมเลกุลดังแสดงในภาพที่ 2.4 ประกอบด้วยส่วนหัว (head region) ของโมเลกุลเป็นส่วนของโปรตีนทรงกลม (globular protein) ซึ่งในส่วนนี้มีเอนไซม์ ATPase ที่สามารถทำปฏิกิริยากับแอกตินได้ในขณะกล้ามเนื้อหดตัว ทั้ง 2 ส่วนนี้สามารถทำให้เกิดการเคลื่อนไหวได้ และยังสามารถตัดให้ขาดจากกันได้ โดยเอนไซม์ปาเปน (papain) และ ทริปซิน (trypsin) (จุฬารัตน์ เศรษฐกุล, 2539) และส่วนหาง (tail region) ของโมเลกุลเรียกว่า ส่วนท่อน (rod) ในส่วนหางนี้มีโซ่พอลิเปปไทด์เหมือนกัน 2 โซ่ รวมกันเป็นโครงสร้างเกลียวแอลฟา ( $\alpha$ -helical structure)



ภาพที่ 2.4 ลักษณะของไมโอซินฟิลาเมนต์ชนิดหนา

ที่มา : Anonymous. (2015b)

2. แอกติน (actin) เป็นส่วนประกอบของไมโอไฟลาเมนต์ชนิดบาง (thin filament) มีประมาณ ร้อยละ 20 ของโปรตีนไมโอไฟบริล มีรูปร่างคล้ายเม็ดถั่วที่มีขนาดเท่ากันเรียงต่อกัน (ภาพที่ 2.5) โมโนเมอร์ของแอกตินเรียกว่า globular actin หรือ จี-แอกติน (G-actin) และจะเรียงตัวกันเป็นโครงสร้างแบบ double helical structure เรียกว่า fibrous actin หรือ เอฟ-แอกติน (F-actin) แอกตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 42-48 กิโลดัลตัน ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 374-375 ตัว ไมโอไฟลาเมนต์ของ F-actin มีบริเวณเฉพาะที่จะไปจับกับส่วนหัวของไมโอซิน เรียกว่า myosin binding site (Foegeding *et al.* 1996) และมีร่องสำหรับโปรตีน troponin และ tropomyosin ใช้ยึดเกาะส่วนใหญ่แล้ว thin myofilament เป็นองค์ประกอบอยู่ใน I-band และอาจปะปนในส่วน A-band ได้ โดยเฉพาะในขณะที่ยืดกล้ามเนื้อหดตัว



ภาพที่ 2.5 โปรตีนในกลุ่มไมโอไฟลาเมนต์ชนิดบาง

ที่มา: Bárány and Bárány (2002)

3. โทรโปไมโอซิน (tropomyosin) มีประมาณร้อยละ 5 ของโปรตีนไมโอไฟบริล มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 68 กิโลดัลตัน มีลักษณะเป็นเส้นยาวคล้ายส่วนหางของไมโอซิน โทรโปไมโอซินจะวางพาดอยู่บนร่องที่เกิดจากการบิดเป็นเกลียวของแอกติน โดยแต่ละโมเลกุลของโทรโปไมโอซินยาวประมาณ 7 โมเลกุลของแอกติน (Foegeding *et al.* 1996)

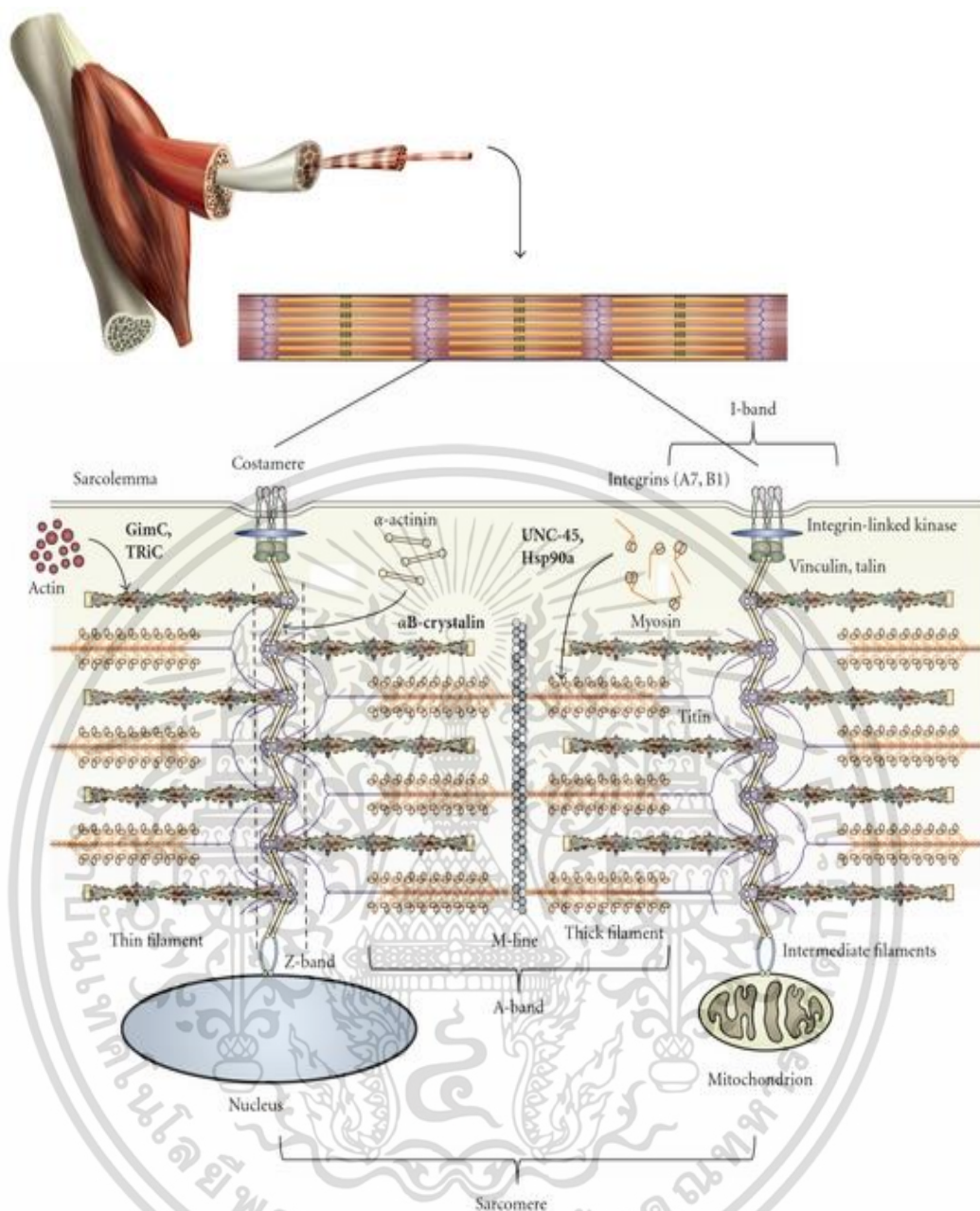
4. โทรโปนิน (Troponin) เป็นโปรตีนชนิดโกลบูลา โดยมีประมาณร้อยละ 8-10 ของโปรตีนไมโอไฟบริล ส่วนใหญ่มักอยู่ร่วมกับโทรโปไมโอซินประกอบด้วยหน่วยย่อย ดังนี้

1) โทรโปนิน-ซี (troponin-C: Tn-C) ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เป็นกรด และมีบทบาทในการจับกับ  $\text{Ca}^{2+}$  มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 17-18 กิโลดัลตัน (Davis *et al.* 2004)

2) โทรโปนิน-ไอ (troponin-I: Tn-I) สามารถยับยั้งกิจกรรมของ ATPase โดยทำให้แอกตินไม่สามารถเกาะกับไมโอซินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 24 กิโลดัลตัน (Wu *et al.* 2004)

3) โทรโปนิน-ที (Troponin-T: TnT) ทำหน้าที่ในการจับกับ โทรโปไมโอซินถ้ามี  $\text{Ca}^{2+}$  เพียงพอ จะช่วยยึด Tn-I และ Tn-C ให้ติดกับ actin-myosin complex มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 37-39 กิโลดัลตัน (Ho *et al.* 1994)

นอกจากนี้ยังมีโครงสร้างที่เรียกว่า คอสตาเมียร์ (costameres) ที่เชื่อมระหว่างไมโอไฟบริลกับซาร์โคเลมมาซึ่งประกอบด้วย โปรตีนหลายชนิดได้แก่ แกรมม่า-แอกติน ( $\gamma$ -actin), วินคิวลิน (vinculin), เบต้า-สเปคทริน ( $\beta$ -spectrin), ทาลิน (talin), เดสมิน (desmin) และไวมีนทิน (vimentin) (Hopkins and Thompson. 2002; Taylor *et al.* 1995) (ภาพที่ 2.6)



ภาพที่ 2.6 ตำแหน่งโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของคอสตาเมียร์ในกล้ามเนื้อลาย  
ที่มา : Myhre and Pilgrim (2012)

## 2.5 ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber type)

จากการศึกษาของ Lengerken *et al.* (2002) รายงานว่าในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อในกล้ามเนื้อลายสามารถจำแนกตามคุณสมบัติทางชีวเคมีออกเป็น 3 ชนิดดังรายละเอียดต่อไปนี้ (ตารางที่ 2.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติของเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิด

คุณสมบัติ	ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ		
	Type I: Slow-twitch Slow oxidative $\beta$ -red	Type IIa: Fast-twitch Fast oxidative $\alpha$ -red	Type IIb: Fast-twitch Fast glycolytic $\alpha$ -white
การสร้าง ATP	ใช้ออกซิเจน	ใช้ออกซิเจน	ไม่ใช้ออกซิเจน
สีของกล้ามเนื้อ	แดง	ชมพูแดง	ขาว
ความเร็วในการหดตัว	ช้า	เร็ว	เร็ว
ความทนทานในการทำงาน	สูง	กลาง	ต่ำ
ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ	เล็ก	ปานกลาง	ใหญ่
ปริมาณไกลโคเจน	ต่ำ	ปานกลาง	สูง
ปริมาณไมโอโกลบิน	สูง	สูง	ต่ำ
ปริมาณไมโทคอนเดรีย	สูง	ปานกลาง	ต่ำ
ปริมาณเส้นเลือดที่มาเลี้ยง	สูง	สูง	ต่ำ

ที่มา: คัดแปลงจาก Lengerken *et al.* (2002)

1. Type I (slow twitch หรือ red fiber หรือ slow twitch oxidative muscle) ความสามารถในการหดตัวช้ามีหลอดเลือดฝอยไมโทคอนเดรียและไมโอโกลบินจำนวนมากทำให้กล้ามเนื้อมีสีแดง กล้ามเนื้อนี้สามารถขนส่งออกซิเจนได้มากและมีเมทาบอลิซึมแบบใช้ออกซิเจน (aerobic metabolism)

2. Type II หรือ fast twitch muscle แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

2.1. Type IIa (fast twitch oxidative muscle) คล้ายกับกล้ามเนื้อ slow twitch คือมีลักษณะกึ่งกลางระหว่างกล้ามเนื้อลายทั้ง 2 ชนิดส่วนใหญ่มีโครงสร้างคล้ายเส้นใยกล้ามเนื้อแดงแต่มีซาร์โคเมียร์ที่สั้นกว่ามีเมทาบอลิซึมแบบใช้ออกซิเจน และไม่ใช้ออกซิเจน มีไมโทคอนเดรียและหลอดเลือดฝอยจำนวนมากทำให้มีสีแดงมีความสามารถในการหดตัวเร็ว

2.2. Type IIb (white fiber หรือ fast twitch glycolytic muscle) เป็นกล้ามเนื้อที่มีเมทาบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic metabolism) ใช้พลังงานจากระบวนการไกลโคไลซิสมิโทคอนเดรียและไมโอโกลบินน้อยความสามารถในการหดตัวเร็ว

Kirchofer (2002) ศึกษากล้ามเนื้อ 32 ชนิดของโค โดยจัดกลุ่มชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเทคนิค histochemistry ซึ่งแบ่งชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อเป็น 2 ชนิด คือ slow red muscle และ fast white

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

muscle โดยกล้ามเนื้อที่อยู่ในกลุ่มของ slow red muscle จะมีเปอร์เซ็นต์ของ  $\beta$  - red fiber สูง เกิน 40 เปอร์เซ็นต์ กล้ามเนื้อที่จัดอยู่ในกลุ่มของ fast white muscle จะมีเปอร์เซ็นต์ของ  $\alpha$  - white fiber สูงเกิน 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกล้ามเนื้อที่ถูกจัดเป็น intermediate muscle เนื่องจากมีปริมาณของทั้ง  $\beta$  - red และ  $\alpha$ -white fiber น้อยกว่า 40 เปอร์เซ็นต์

Karlsson *et al.* (1999) กล่าวว่า กล้ามเนื้อจะมีองค์ประกอบของเส้นใยที่แตกต่างกันไปตาม การเปลี่ยนแปลงของเส้นใย และอัตราการเจริญเติบโตของกล้ามเนื้อ องค์ประกอบของกล้ามเนื้อ ส่วนใหญ่จะประกอบผสมกันไปด้วยเส้นใยทั้ง สว่าง (light fiber) และ เข้ม (dark fiber) เส้นใยเข้ม ส่วนใหญ่จะมีชนิด เส้นใยกล้ามเนื้อ type I และ IIA สูง ตัวอย่างกล้ามเนื้อ เช่น *M. Masseter*, *M. Trapezius*, *M. Vastus intermedius*, *M. Triceps brachii*, *M. Infra spinatus* และ *M. Supra spinam* ในขณะที่เส้นใยสว่างจะมีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด type IIB เป็นส่วนใหญ่ ตัวอย่างกล้ามเนื้อเช่น *M. Longissimus dorsi*, *M. Gluteus medius*, *M. Recturs femoris*, *M. Quadriceps femoris*, *M. Vastus lateralis* และ *M. Semimembranosus*

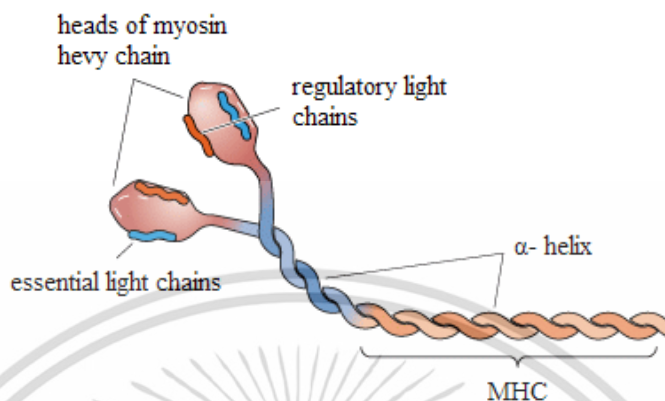
## 2.6 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ

การจำแนกตามคุณสมบัติทางชีวเคมี (biochemical characteristics) เนื่องจากมีการผันแปร ในเรื่องของปฏิกิริยา oxidative, glycolytic และคุณสมบัติการหดตัวของกล้ามเนื้อซึ่งสามารถ ประเมินได้โดยใช้เทคนิคทางชีวเคมีในการจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยตรวจหาระดับ ความเข้มข้น การทำงาน หรืออัตราการใช้เอนไซม์ที่แตกต่างกันในการหดตัวของกล้ามเนื้อและ พลังงานในอัตราเมทาบอลิซึมที่แตกต่างกันไปตามชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ เนื่องจากชนิดของเส้นใย กล้ามเนื้อมีความแตกต่างกัน ทั้งในแง่ของน้ำหนักโมเลกุล เมทาบอลิซึม โครงสร้าง คุณสมบัติใน การยึดหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ ดังนั้นจึงสามารถจัดจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อได้ตาม หลายๆ ปัจจัย เช่น ตามคุณสมบัติของโครงสร้างและการยึดหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Choi and Kim, 2009) ตาม metabolic enzyme หรือการแบ่งตามชนิดของโปรตีนไมโอไฟบริลลา (myofibrillar protein isoforms) โดยทั่วไปการจัดจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อจะจำแนกตามชนิด ของโปรตีนไมโอซิน (myosin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีมากที่สุดของโปรตีนในกล้ามเนื้อ และยังมีหน้าที่ สำคัญในการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ

### 2.6.1 ไมโอซิน (myosin)

myosin ประกอบด้วย 6 โมเลกุล (hexamere) มีน้ำหนักโมเลกุล 520 กิโลดัลตัน ประกอบด้วย 2 หน่วยคือ heavy chain (MHC) 2 โมเลกุล (220 กิโลดัลตัน) และ light chain (LC) 4 โมเลกุล ซึ่งประกอบด้วย essential light chain 2 โมเลกุล (20 กิโลดัลตัน) และ regulatory light chain 2 โมเลกุล (20 กิโลดัลตัน) ซึ่ง MHC เริ่มที่ N-terminal หัวทรงกลม และสิ้นสุดที่ C-terminal เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

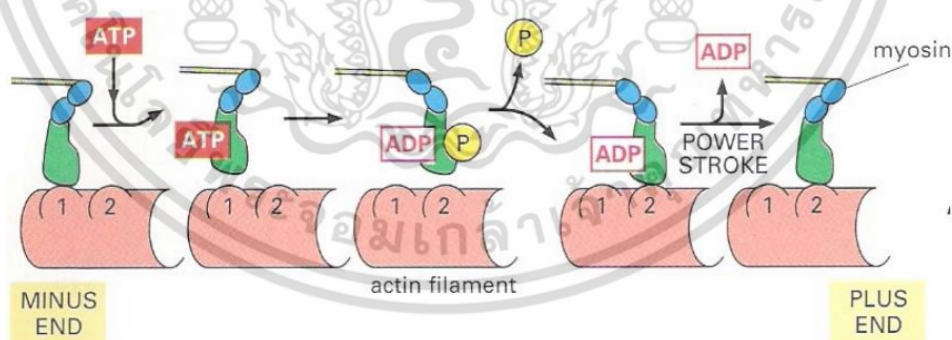
ส่วนหางพันกันเป็นเกลียวคล้ายขดลวด โดย LC จะพันอยู่รอบบริเวณส่วนหัวของเส้นใย MHC (Choi and Kim, 2009; Reggiani and Mascarello, 2004) ดังแสดงในภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างโมเลกุลของเส้นใยหนา (thick filament)

ที่มา : Boron and Boulpaep (2009)

ไมโอซินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการหดตัวของกล้ามเนื้อ ซึ่งไมโอซินเป็น molecular motor protein ที่สามารถเปลี่ยนพลังงานเคมี (chemical energy) เป็นพลังงานกล โดยจะทำงานร่วมกับกลุ่มของโปรตีนที่มีผลทำให้กล้ามเนื้อเกิดการยึดหดตัวได้ (ภาพที่ 2.8)



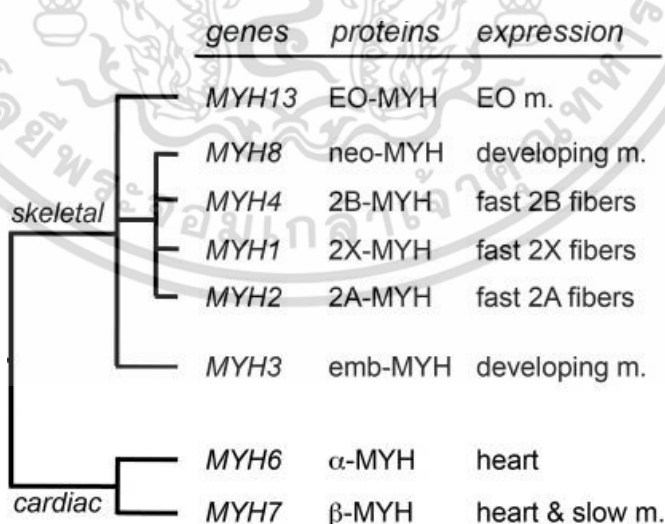
ภาพที่ 2.8 การทำงานร่วมกันของ myosin และ actin

ที่มา: ดัดแปลงจาก Alberts *et al.* (2002)

กลุ่มโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อจะมีผลทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อจะถูกจัดจำแนกตามชนิด (isoform) ของโปรตีนไมโอซิน ที่เป็นองค์ประกอบของโมเลกุล MHC ซึ่งเหตุผลที่มีการจำแนกไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดของ MHC นั้น เนื่องจากไมโอซินเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุด在线ใยกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ไมโอซินยังจัดเป็น motor protein ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ อีกทั้งยังมีเอนไซม์ ATPase ที่บริเวณหัวของ MHC ที่ช่วยในการย่อยในการสลาย ATP ทำให้เกิดพลังงานที่ใช้ในการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ ซึ่งความแตกต่างของปริมาณ ATPase ในเส้นใยกล้ามเนื้อสามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธี Histochemistry

โปรตีนที่มีความคล้ายคลึงกัน แต่มีความไม่เหมือนกันทั้งในด้านโครงสร้างและคุณสมบัติการทำงานที่แตกต่างกัน ซึ่งจะเรียกรวมโปรตีนนี้ว่า “isoform” MHC จัดว่าเป็น ซึ่ง MHC เป็นโปรตีนที่มีหลาย isoform โดยในสัตว์แต่ละชนิดหรือกล้ามเนื้อแต่ละชนิดจะมีจำนวนของ MHC isoform ไม่เหมือนกัน โดยในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนูพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง MHC บนโครโมโซมที่ 11 (Weiss *et al.* 1999) ของโคพบบนโครโมโซมที่ 19 (Takasugu *et al.* 2007) ซึ่งเป็นที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง MHC นั้นมีอย่างน้อย 8 ยีน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มยีนที่พบในหัวใจ ซึ่งพบว่ามียีน *MYH6* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน  $\alpha$ -MYH พบที่หัวใจ และยีน *MYH7* สร้างโปรตีน  $\beta$ -MYH พบที่หัวใจและ slow muscle และ 2) กลุ่มยีนชนิดที่พบในกล้ามเนื้อโครงร่าง ประกอบด้วย ยีน *MYH13* สร้างโปรตีน EO-MYH พบในกล้ามเนื้อ EO m.(กล้ามเนื้อลูกตา) ยีน *MYH8* สร้างโปรตีน neo-MYH พบในกล้ามเนื้อ developing m.(กล้ามเนื้อที่กำลังมีการพัฒนา) ยีน *MYH4* สร้างโปรตีน 2B-MYH พบในเส้นใย fast 2B ยีน *MYH1* สร้างโปรตีน 2X-MYH พบในเส้นใย fast 2X ยีน *MYH2* สร้างโปรตีน 2A-MYH พบในเส้นใย fast 2A ยีน *MYH3* สร้างโปรตีน emb-MYH พบในกล้ามเนื้อ developing m.



ภาพที่ 2.9 *MYH genes* ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ที่ผลิตโปรตีนและชนิดกล้ามเนื้อที่พบ

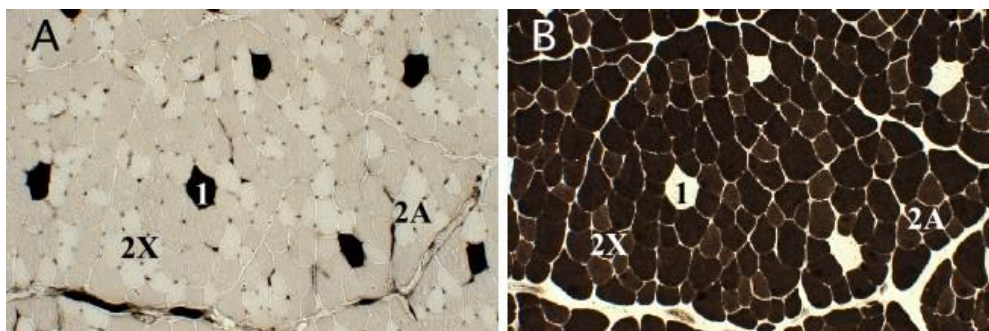
ที่มา : ดัดแปลงจาก Rossi *et al.* 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6.2 การจำแนกโดยวิธี histochemistry

จันทรพร เจ้าทรัพย์ และคณะ (2554) ได้กล่าวถึงลักษณะในการจำแนกเส้นใยกล้ามเนื้อไว้ ดังนี้ เส้นใยกล้ามเนื้อสามารถแบ่งได้ตามลักษณะการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ (contractile) หรือแบ่งตามขบวนการเมตาบอลิซึม (metabolic properties) โดยอาศัยหลักการของ histochemistry

1) การแบ่งตามลักษณะการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ โดยอาศัยภาวะที่มีรูปแบบหลายรูปแบบ (polymorphism) ของโปรตีนไมโอซินเนื่องจากไมโอซินเป็นส่วนประกอบหลักของเส้นใยหนา (thick filament) จึงถูกใช้เป็นตัวชี้วัดการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ การแบ่งตามลักษณะการยึดหดตัวนี้แบ่งเป็นแบบ slow-twitch type I ซึ่งเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใช้ในรักษาการทรงตัว และ fast-twitch type II ซึ่งเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใช้ในการเคลื่อนไหว (Lefaucheur and Gerrard, 1998) วิธีการวัดโดยอาศัยหลักการ Histochemistry นั้นสามารถแบ่ง type I และ type II ด้วย m-ATPase staining โดย type I m-ATPase จะถูกยับยั้งหลังจาก alkaline pre-incubation และ type II จะถูกยับยั้งหลังจาก acid pre-incubation (Picard *et al.* 2002) วิธีการ histochemistry ที่ใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ mATPase เพื่อแยกระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast และ slow เอนไซม์ mATPase จะเกี่ยวข้องโดยตรงกับการหดตัวของกล้ามเนื้อ ดังนั้น การวิเคราะห์จากกิจกรรมของ เอนไซม์ ATPase จะสามารถอธิบายในส่วนของความเร็วในการหดตัวได้ ขั้นตอนในการวิเคราะห์หน้าตัวอย่างไปบ่มด้วยกรด (pH~4) หรือ ด่าง (pH~10) สารละลายกรดจะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ mATPase ในกล้ามเนื้อชนิด fast fiber (ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบ type 2A, 2X และ 2B) แต่ไม่มีผลกับเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด slow fiber (ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบ type 1; รูปที่ 2.10) ในทางตรงกันข้ามด่างจะยับยั้ง mATPase ซึ่งจะเกิดเฉพาะในกล้ามเนื้อชนิด slow fiber ซึ่งในการวิเคราะห์นี้ ATP จะทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานและสารตั้งต้น ฟอสเฟต ( $P_i$ ) คือผลผลิตที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการสลายพลังงานของ mATPase ซึ่ง  $P_i$  จะสามารถมองเห็นได้นั้นจึงต้องนำไปทำปฏิกิริยาเคมีกับแคลเซียม (Ca) ให้ได้เป็นแคลเซียมฟอสเฟต ( $CaPO_4$ ) ขั้นตอนมาคือการเปลี่ยน  $CaPO_4$  ไปเป็น โคบอลต์ซัลไฟด์ ( $CoS_2$ ) ซึ่งมีสีน้ำตาลเข้ม สามารถเห็นได้ชัดเจน ดังนั้นประสิทธิภาพของฟอสเฟตที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากการย่อยสลาย ATP โดยไมโอซิน สามารถสังเกตได้จากสีน้ำตาลเข้มที่เกิดในตัวอย่างเนื้อเยื่อ โดยในเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast fiber จะสลาย ATP ได้เร็วกว่า slow fiber ที่เวลาเท่ากันปฏิกิริยา histochemistry ของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast จะให้สีเข้ม และ slow จะให้สีจางกว่า

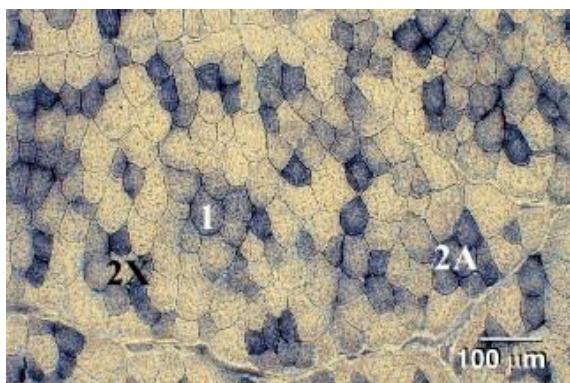


ภาพที่ 2.10 การวิเคราะห์ด้วยวิธี histochemistry อาศัยการทำงานของ mATPase

(A) แสดงปฏิกิริยาของ mATPase ที่บ่มด้วยกรดแสดงให้เห็นเส้นใยกล้ามเนื้อ type 1 ที่มีสีเข้ม (B) แสดงปฏิกิริยาของ mATPase ที่บ่มด้วยด่างเกิดรูปแบบในทางตรงกันข้ามกัน

ที่มา: Anonymous. (2015c)

2) การแบ่งตามขบวนการเมแทบอลิซึมสามารถวัดจาก activity ของ metabolic enzyme ใน ไมโทคอนเดรีย เช่น oxidative enzyme succinate dehydrogenase (SDH) โดย oxidative (red fiber) และ non oxidative (white fiber) สามารถแยกจากกันได้ด้วยวิธี SDH staining (Gauthier, 1969) เมื่อรวมทั้งสองวิธี คือ (1) mATPase staining (2) SDH staining เข้าด้วยกันจะทำให้สามารถแบ่งระหว่าง slow type I และ fast type II ด้วย mATPase-based จากนั้นทำการแยกระหว่าง fast oxidative และ fast glycolytic ด้วย metabolic enzyme base ซึ่งสามารถแยกได้โดยอาศัย ความแตกต่างกันของ succinate dehydrogenase (SDH) ในการจำแนกเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด oxidative และ non-oxidative เส้นใยกล้ามเนื้อชนิดที่มีการเกิด oxidative สูงจะมีความสามารถในการสร้าง ATP ผ่านปฏิกิริยา oxidative ได้สูง เอนไซม์ SDH อยู่ในเนื้อเยื่อชั้นในของไมโทคอนเดรีย เอนไซม์ SDH จะเป็นตัวรับอิเล็กตรอนทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับ nitro blue tetrazolium (NBT) ที่มีสีม่วง ซึ่งทำให้เห็นถึงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในรูปของจุดต่างๆ ที่เกิดขึ้นในไมโทคอนเดรีย (รูปที่ 2.11) และสามารถบอกสัดส่วนของไมโทคอนเดรีย และกิจกรรมของเอนไซม์ SDH ที่เกิดขึ้นได้ เส้นใยกล้ามเนื้อที่มี SDH มาก (มีไมโทคอนเดรียสูง) จะย้อมติดสีได้มาก เส้นใยชนิด oxidative จะมีจุดที่ย้อมติดสีม่วงหนาแน่นทึบ ในขณะที่เส้นใยกล้ามเนื้อชนิด non-oxidative จะมีจุดสีม่วงกระจัดกระจายกว่า

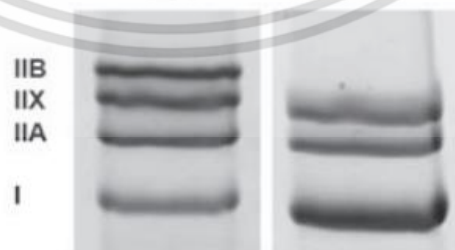


ภาพที่ 2.11 การวิเคราะห์ด้วยวิธี histochemistry โดยอาศัยการทำงานของ SDH แสดงให้เห็นการย้อมติดสีที่มากในเส้นใยแบบ oxidative

ที่มา: Anonymous. (2015e)

### 2.6.3 การจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดรูปแบบของ myosin heavy chain (MHC) โดยวิธี electrophoresis

การจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดรูปแบบของ MHC นั้นพบว่าส่วนใหญ่ MHC จะพบในกล้ามเนื้อลายที่โตเต็มที่แล้ว แบ่งได้เป็น 4 ชนิด คือ MHC I, MHC II, MHC IIx, และ MHC IIb (Talmadge, 2000) โดยใช้วิธี electrophoresis จำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยในกล้ามเนื้อ slow-twitch fibers (type I) พบ slow MHC I ส่วนในกล้ามเนื้อ fast-twitch fibers ที่เป็น type IIA fiber พบ MHC-IIa ในขณะที่ type IIX fiber พบ MHC-IIx และ type IIB พบ MHC-IIb (Picard and Cassar-Malek, 2009) โดยตรวจพบ MHC ทั้ง 4 ชนิดในหนู (I, IIa, IIx/d, IIb) (Weydert *et al.* 1983) และ Hemmings *et al.* (2009) ตรวจพบ MHC ทั้ง 4 ชนิดในกล้ามเนื้อโคเช่นกัน แต่จะพบครบทั้ง 4 ชนิดในบางกล้ามเนื้อเท่านั้น (ภาพที่ 2.12)

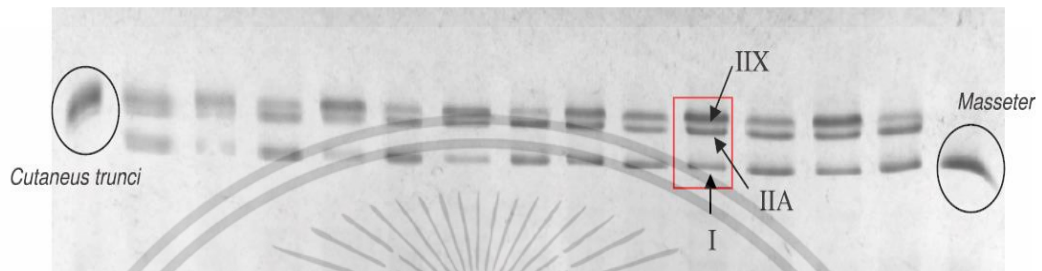


ภาพที่ 2.12 แสดง Myosin heavy chain (MHC) isoform ในกล้ามเนื้อโค โดยวิธี Electrophoretic (1) กล้ามเนื้อ *Longissimus thoracic* (2) กล้ามเนื้อ *Supraspinatus*

ที่มา : คัดแปลงจาก Hemmings *et al.* (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

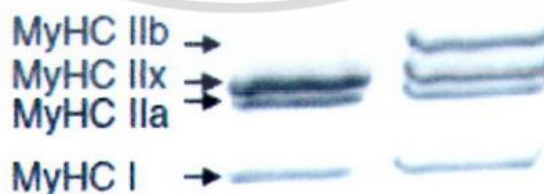
Oury *et al.* (2010) อธิบายว่าการกำหนด ความแตกต่างของ ชนิดของ MHC isoform ตาม การเคลื่อนที่ของ isoform แต่ละชนิด โดยการใช้ gel electrophoresis (SDS-PAGE) ซึ่งแถบที่เกิดขึ้น จะถูกระบุว่าเป็น MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx และจากการทดลองในกล้ามเนื้อ *Rectus abdominis* พบว่าการเคลื่อนที่ของ MHC จากการเคลื่อนที่เร็วที่สุดจะอยู่ด้านล่างของเจล และช้า ที่สุดอยู่ด้านบนของเจล คือ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx ตามลำดับ (ภาพที่ 2.13)



ภาพที่ 2.13 แสดงวิธี electrophoresis ของกล้ามเนื้อ *Rectus abdominis* จากตัวอย่างโค 13 ตัว เปรียบเทียบกับ กล้ามเนื้อมาตรฐานคือ กล้ามเนื้อ *Cutaneus trunci* (ที่มีเพียง fast MHC-IIa และ MHC-IIx) และ *Masseter* (มีเพียง MHC-I)

ที่มา : Oury *et al.* (2010)

การทดลองของ Picard *et al.* (2011) ทำการทดลองด้วยการใช้หลักการของ electrophoresis ภายใต้เงื่อนไขที่ต่างกันในการแยกชนิดของ MHC isoform พบว่าการเคลื่อนที่ของ MHC คล้ายกับการทดลองของ Oury *et al.* (2010) โดยพบว่า MHC IIb เคลื่อนที่ช้าที่สุดเมื่อเทียบกับ isoform อื่นๆ (ภาพที่ 2.14)

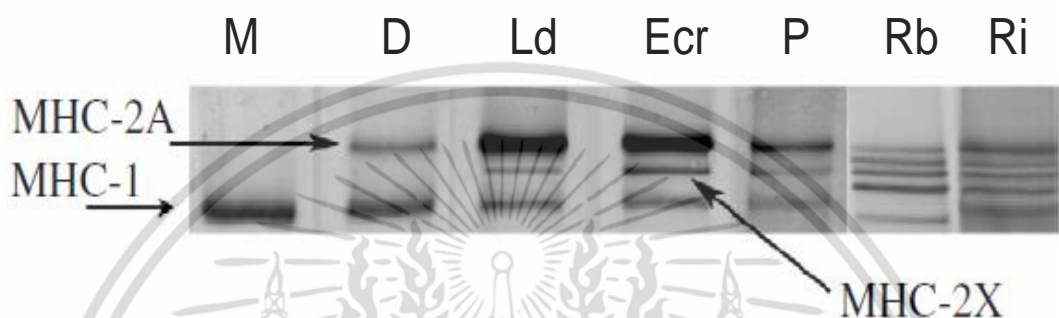


ภาพที่ 2.14 แสดงการแยกชนิดของ MHC ในกล้ามเนื้อ LT (*Longissimus thoracicus*) ของโค (1) LT ที่ไม่มี MHC IIb (2) คือ LT ที่มี MHC IIb

ที่มา: คัดแปลงจาก Picard *et al.* (2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษานี้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกชนิดของ MHC ด้วยวิธีการ electrophoresis นั้นที่อาศัยหลักการเคลื่อนที่ของชนิดของ MHC ที่ต่างกัน โดย slow MHC จะเคลื่อนที่เร็วที่สุด ส่วน fast MHC จะเคลื่อนที่ช้ากว่า (Choi and Kim, 2009) การเคลื่อนที่ของ fast MHC พบว่ามีรายงานการเคลื่อนที่ที่ต่างจากหลายกลุ่มผู้วิจัย เช่น Toniolo *et al.* (2005) รายงานว่าการแยกชนิดของ MHC ด้วย electrophoresis ในกล้ามเนื้อโคที่โตเต็มวัย นั้น MHC-I มีการเคลื่อนที่เร็วที่สุดจึงอยู่ด้านล่างสุดของเจล ตามด้วย MHC IIx และ MHC IIa ตามลำดับ (ภาพที่ 2.15)



ภาพที่ 2.15 ชนิดของ myosin heavy chain ของโคโตเต็มวัยแยกโดยวิธี electrophoresis ในกล้ามเนื้อ M (*Masseter*) D (*Diaphragm*) Ld (*Longissimus dorsi*) Ecr (*Extensor carpi-radialis*) P (*Pectoralis*) Rb (*Retractor bulbi*) Ri (*rectus lateralis*)

ที่มา : Toniolo *et al.* (2005)

นอกจากนี้ยังวิธีการที่ใช้จำแนกชนิดกล้ามเนื้อในปัจจุบันมีหลายวิธี เช่น immunohistochemistry หรือ western blot เป็นวิธีที่ต้องอาศัย แอนติบอดี ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับ myosin heavy chain isoform แต่ละชนิดการแบ่งตามรูปแบบของ myosin heavy chain (MHC) โดยหลักการ electrophoresis ในการแยก รูปแบบของ MHC โดย Jones *et al.* (1999) ได้กล่าวว่าการแบ่งเส้นใยกล้ามเนื้อตามหลักการ histochemistry มีความสอดคล้องกับการแบ่งตาม MHC isoform

ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อมีหลายชนิดและมีการเรียกชื่อ (nomenclature) หลายระบบตามวิธีการที่ใช้ในการจำแนก (ตารางที่ 2.3)

### ตารางที่ 2.3 การเรียกชื่อชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ

Nomenclature	Muscle Fiber type			
Contractile type	Slow-twitch	Fast-twitch		
mATPase activity	I	IIa	IIb	
mATPase activity and SDH activity	$\beta$ R(red)	$\alpha$ R(red)	$\alpha$ W(white)	
Metabolic type	SO (Slow Oxidative)	FOG (Fast Oxidative glycolytic)	FG (Fast Glycolytic)	
Myosin Heavy chain	MHC I	MHC IIa	MHC IIx	MHC IIb

ที่มา : จันทพร เจ้าทรัพย์ และคณะ (2554)

วิธี western blotting เป็นวิธีที่ใช้ในการยืนยันผลที่ได้จากการทดสอบด้วย electrophoresis (Reggiani and Mascarello, 2004) โดย Picard *et al.* (2011) ได้ทำการแยกชนิดของ MHC ด้วย electrophoresis ในกล้ามเนื้อ *Longissimus thoracic* แล้วยืนยันผลด้วยวิธี western blotting โดยใช้แอนติบอดี 3 ชนิด ที่ทำปฏิกิริยากับ MHC ต่างชนิดกัน (ตารางที่ 2.4)

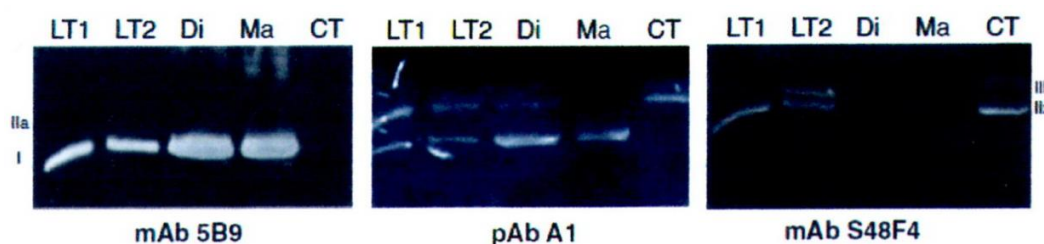
### ตารางที่ 2.4 แอนติบอดี 3 ชนิด ที่เฉพาะเจาะจงกับ MHC แต่ละชนิด

MHC isoform	mAb-5B9	mAb-S48F4	pAb-A1
MHC-I	*		*
MHC-IIa			*
MHC-IIx		*	
MHC-IIb		*	

mAb = monoclonal antibodies, pAb = polyclonal antibodies, \* = ทำปฏิกิริยา

โดยผลจากการแยก MHC ด้วย electrophoresis พบ MHC ชนิด MHC-I, MHC-IIa, MHC-IIx และ MHC-IIb (ภาพที่ 2.14) และผลการยืนยันด้วยวิธี western blotting โดยใช้ แอนติบอดีทั้ง 3 ชนิดพบว่าแอนติบอดี mAb-5B9 ทำปฏิกิริยากับ กล้ามเนื้อ LT Di และ Ma พบแถบโปรตีน MHC-I ยกเว้น CT แอนติบอดี pAb-A1 ทำปฏิกิริยาเกิดแถบ โปรตีน MHC-I และ MHC-IIa ในกล้ามเนื้อ LT และ Di ส่วน Ma พบเฉพาะแถบ MHC-I ส่วน CT พบเฉพาะแถบ MHC-IIa และแอนติบอดี mAb-S48F4 ในกล้ามเนื้อ LT และ CT พบแถบของ MHC-IIx ในขณะที่พบแถบโปรตีน MHC-IIb เฉพาะในตัวอย่างกล้ามเนื้อ LT2 ซึ่งมีแถบของโปรตีนปรากฏขึ้น 4 แถบจากการทดสอบด้วย electrophoresis (ภาพที่ 2.14 และ ภาพที่ 2.16)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.16 แสดงการวิเคราะห์ด้วย western blotting ใช้ antibodies ที่เฉพาะเจาะจง โดย mAb-5B9 ทำปฏิกิริยากับ MHC-I, pAb-A1 ทำปฏิกิริยากับ MHC-I และ IIa, mAb-S48F4 ทำปฏิกิริยากับ MHC-IIx และ IIb กล้ามเนื้อ LT1 (*Longissimus thoracic* ไม่มี MHC-IIb) LT2 (*Longissimus thoracic* มี MHC-IIb) Di (*Diaphragm*) Ma (*Masseter*) CT (*Cutaneous trunci*)

ที่มา : Picard *et al.* (2011)

## 2.7 ปริมาณไกลโคเจน (glycogen content)

การเก็บสะสมคาร์โบไฮเดรตในร่างกายสัตว์จะอยู่ในรูปของ ไกลโคเจน (glycogen) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ ขนาดใหญ่และมีการแตกกิ่งของกลูโคส มอนอเมอร์จะถูกสร้างขึ้นจับอยู่บนแกนโปรตีนเรียกว่า glycogenin (น้ำหนักโมเลกุล 37,300 คัดตัน; Lehninger. 1982) แหล่งสะสมไกลโคเจนในร่างกายที่สำคัญคือ ตับ และกล้ามเนื้อ ซึ่งในตับจะมีไกลโคเจนที่มีความเข้มข้นสูง เพราะหน้าที่ที่สำคัญของไกลโคเจนในตับคือ การรักษาระดับน้ำตาลในเลือด ส่วนไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ มีหน้าที่สำรองพลังงาน เพื่อใช้สำหรับการหดตัวของกล้ามเนื้อ (Nelson and Cox. 2005) ซึ่งไกลโคเจนในกล้ามเนื้อโครงร่างมี 2 ประเภท คือ macro glycogen (MG) เป็นไกลโคเจนที่ละลายได้ในกรด (acid soluble) มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล  $10^7$  คัดตัน และ proglycogen (PG) เป็นไกลโคเจนที่ไม่ละลายได้ในกรด (acid insoluble) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล  $4 \times 10^5$  คัดตัน (Lomako *et al.* 1991; Lomako *et al.* 1993; Alonso *et al.* 1995)

ปริมาณไกลโคเจนในแต่ละมัดกล้ามเนื้อ จะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ทั้งจากภายนอกและภายใน เช่น พันธุ์ อายุ อาหาร ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ การจัดการในกระบวนการฆ่า เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วกล้ามเนื้อชนิด fast type IIb จะมีไกลโคเจนสูงกว่ากล้ามเนื้อ slow type I (Karlsson *et al.* 1999 ; Schiaffino and Reggiani 1996) Pethick *et al.* (2004) และ Bowker *et al.* (2000) ได้รายงานไว้ว่า กล้ามเนื้อชนิด fast fiber มีอัตราการสลายของไกลโคเจนเร็วกว่า เนื่องจากมี ATPase activity ที่สูงกว่าทำให้ระดับ ATP ลดลงเร็วกว่าซึ่งจะไปเร่งปฏิกิริยาไกลโคไลซิสทำให้เกิดการสลายตัวของไกลโคเจนเร็วกว่าจึงอาจเป็นผลให้ปริมาณของไกลโคเจนเหลืออยู่น้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.8 ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber diameter)

โดยทั่วไปแล้วความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อจะเล็กหรือใหญ่ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของหลายปัจจัย เช่น ชนิดของสัตว์ เพศ อายุ ระดับโภชนา (ชัยณรงค์ คันทพนิต, 2529) ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ เส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด (fine texture) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อเล็ก และเส้นใยกล้ามเนื้อหยาบ (coarse texture) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่กว่า เนื้อที่มีความนุ่ม จะเป็นเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด

จากผลการศึกษาของ ปิยะดา ทวีขศรี (2544) ที่ทำการศึกษเปรียบเทียบชนิดสัตว์เดี่ยว อึ่งต่อขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อในกล้ามเนื้อสันนอก พบว่าโคนมลูกผสมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กกว่าโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนและกระบือปลัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และพบว่าโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนมีแนวโน้มค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่าโคนมลูกผสมและกระบือปลัก

Tuma *et al.* (1962) รายงานว่าในกล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* ของโคพันธุ์เฮียร์-ฟอร์ด เมื่อโคมีอายุเพิ่มขึ้นขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อมีขนาดใหญ่เพิ่มขึ้น จาก 53.9 ไมครอน เมื่อมีอายุ 6 เดือนเพิ่มขนาดเป็น 65.1 ไมครอน เมื่อมีอายุได้ 24 เดือน

Koohmaraie *et al.* (1988) กล่าวว่าขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อโคมีความสัมพันธ์ตรงข้ามกับความนุ่มและมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ และพบว่าเส้นใยกล้ามเนื้อที่มีขนาดใหญ่จะมีความเหนียวมากกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อที่ขนาดเล็กกว่า โดยพบว่าเนื้อสันในที่มีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กจะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าเนื้อสันนอกและเนื้อไหล่ซึ่งมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่กว่า

สัจชัย จตุรสิทธา (2530) พบว่าในกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) โคนพื้นเมืองขุน และโคลูกผสมบราห์มันกับโคนพื้นเมืองขุน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อสันที่ สุด คือ 62 กับ 65 ไมครอน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำที่สุดคือ 2.51 กับ 2.52 กิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อไหล่ (*Infra spinatus*) และ เนื้อสะโพก (*Biceps femoris*) ซึ่งมีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อและค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็น 66 ไมครอน กับ 71 ไมครอน และ 3.00 กับ 3.40 กิโลกรัม สำหรับเนื้อไหล่ ส่วนเนื้อสะโพกมีค่าเท่ากับ 73 ไมครอนกับ 89 ไมครอน และ 4.38 กับ 4.25 กิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใย กล้ามเนื้อ ใน โคขุนพันธุ์พื้นเมือง (N) และ ลูกผสมบราห์มัน x พื้นเมือง (BN)

ชนิดมัดกล้ามเนื้อ	ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม)		ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ (ไมครอน)	
	N	BN	N	BN
<i>Longissimus dorsi</i>	2.51	2.52	62	65
<i>Infra spinatus</i>	3.00	3.40	66	71
<i>Biceps femoris</i>	4.38	4.25	73	89

ที่มา: สัตยชัย จตุรสิทธิ์ (2530)

## 2.9 ซาร์โคเมียร์ (sarcomere)

ซาร์โคเมียร์คือหน่วยที่เล็กที่สุดของกล้ามเนื้อ (muscle unit) บริเวณตรงกลางของ I - band จะมีเส้นทึบที่เรียกว่า Z-line ระยะห่างระหว่าง Z-line 2 เส้นที่อยู่ติดกันเรียกว่า 1 ซาร์โคเมียร์ ในสภาวะปกติซาร์โคเมียร์จะมีความยาวประมาณ 2.5 ไมโครเมตร ความยาวของซาร์โคเมียร์มีความสัมพันธ์กับ ความนุ่มของเนื้อ โดยพบว่าถ้าเนื้ออยู่ในสภาวะคลายตัวความยาวของซาร์โคเมียร์จะมากกว่าในเนื้อที่หด ตัวและเนื้อจะมีความนุ่มมากกว่า (Vandendriessche *et al.* 1984)

Anderson *et al.* (1999) กล่าวว่า การหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อมีความสัมพันธ์กับคุณภาพของเนื้อหลายประการ เช่น การเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่กล้ามเนื้อเกิดการหดตัวอย่างถาวรภายหลังสัตว์ตาย เกิดได้เมื่อพลังงานที่สะสมอยู่ในรูป ไกลโคเจน, ADP และ ATP ถูกใช้ไปจนหมด ปริมาณของกรดแลคติกที่เกิดขึ้นจากขบวนการ anaerobic metabolism เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก สภาวะเช่นนี้เนื้อจะมีสภาพเกร็งตัวเนื่องจากเส้นใยกล้ามเนื้อหดสั้นเข้าเป็นอย่างมาก โดยพบว่าความยาวซาร์โคเมียร์สั้นลงอย่างมากทำให้เนื้อมีความเหนียวมากกว่าปกติ แต่จากรายงานของ Koohmaraie (1994) พบว่าแม้ว่าภายหลังสัตว์ตายเนื้อจะมีความเหนียวมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อกล้ามเนื้ออยู่ในสภาวะ rigor mortis แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป เอนไซม์ที่อยู่ในเนื้อ จะออกมาทำการย่อยโปรตีนในเนื้อทำให้เนื้อเกิดความนุ่มขึ้น

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และคณะ (2551) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของซาร์โคเมียร์และความนุ่มของเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) ของ โคขุนพันธุ์กำแพงแสน (โคพื้นเมือง 25 % x Brahman 25 % x Charolais 50 %) ที่ระยะเวลาการบ่ม 1 5 7 14 และ 20 วัน พบว่าความยาวของซาร์โคเมียร์ที่ 1 6 และ 24 ชั่วโมงลดลงอย่างต่อเนื่อง ( $P < 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 1.95 1.93 และ 1.44 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมครอน ตามลำดับ ส่วนความยาวของซาร์โคเมอร์ที่ระยะเวลาการบ่ม 1 5 7 14 และ 20 วันไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 1.28 1.29 1.31 1.37 และ 1.35 ไมครอน ตามลำดับ และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตัดผ่านเนื้อและความยาวของซาร์โคเมอร์ในแต่ละช่วงเวลาการบ่ม ทั้งนี้ที่ระยะเวลาการบ่ม 20 วัน ในขณะที่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อในแต่ละช่วงเวลาการบ่ม 1 5 7 14 และ 20 วัน ลดลงอย่างต่อเนื่องโดยเท่ากับ 7.39 5.99 4.99 4.45 และ 3.82 กิโลกรัม ตามลำดับ

Wheeler and Koochmaraie (1994) ได้ทำการศึกษาในช่วงระหว่างการเกิด rigor mortis และหลังการเกิด rigor mortis ที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อแกะที่ระยะเวลาการบ่มที่ 0 3 6 9 12 24 72 และ 336 ชั่วโมง ความยาวของซาร์โคเมอร์มีค่าเท่ากับ 2.24 2.00 1.80 1.72 1.75 1.69 1.76 และ 1.90 ไมครอน ตามลำดับ ( $p < 0.05$ ) ส่วนค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 5.07 5.10 6.53 8.26 8.24 8.66 4.36 และ 3.10 กิโลกรัมตามลำดับ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งพบว่าความยาวของซาร์โคเมอร์จะลดลงในช่วงที่ 0-24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายเป็นต้นเหตุของความเหนียวในเนื้อและมีความสัมพันธ์กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่เพิ่มขึ้นและภายหลัง 24 ชั่วโมงความยาวของซาร์โคเมอร์มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นในขณะที่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลง

## 2.10 ความนุ่มของเนื้อ (meat tenderness)

Calkins and Sullivan. (2007) กล่าวว่า คุณสมบัติของโครงสร้างกล้ามเนื้อและองค์ประกอบโครงสร้างของกล้ามเนื้อมีผลอย่างมากต่อความนุ่มของเนื้อ ซึ่งมี 3 ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อ คือ 1) ผลของแอคโตไมโอซิน (actomyosin effect) 2) ผลกระทบพื้นฐานหลัก (background effect) และ 3) ผลของความหนาแน่นหรือผลของการหล่อลื่น (bulk density or lubrication effect) (Savell and Cross. 1988)

2.10.1. ผลของแอคโตไมโอซิน (actomyosin effect) หมายถึง ความนุ่มของเนื้อที่ได้รับอิทธิพลจากความยาวของซาร์โคเมอร์ ซึ่งซาร์โคเมอร์เป็นหน่วยของการหดตัวที่เล็กที่สุดของกล้ามเนื้อ และเกิดขึ้นเป็นกลุ่มของเส้นใยกล้ามเนื้อ (เซลล์) โดยมีโปรตีนแอคตินและไมโอซินเป็นองค์ประกอบหลักของซาร์โคเมอร์ ในช่วงหดตัวของโปรตีนนี้เรียกโปรตีนนี้ว่า แอคโตไมโอซิน (actomyosin) ซึ่งเนื้อที่มีซาร์โคเมอร์สั้นจะมีความนุ่มน้อยกว่าเนื้อที่มีซาร์โคเมอร์ยาว โดยซาร์โคเมอร์มีผลต่อความนุ่มในช่วงที่มีการหดตัวของกล้ามเนื้อ และการลดอุณหภูมิซากก่อนเกิดการหดตัวอย่างถาวรของกล้ามเนื้อทำให้ซาร์โคเมอร์หดสั้นลงเนื่องจากความเย็น

2.10.2 ผลกระทบพื้นฐานหลัก (background effect) หมายถึง ผลกระทบที่มาจากตัวสัตว์ เช่น พันธุ์ เพศ อายุ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลเกี่ยวข้องกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อ ซึ่งเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีความแข็งแรงมากถึงแม้จะใช้ระยะเวลาการบ่มเนื้อที่นาน ดังนั้นถึงแม้ว่าความนุ่มจะมีอิทธิพลมาจากแอคโตไมโอซิน แต่อิทธิพลหลักมีสาเหตุมาจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดย

ผลกระทบที่เกิดจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประการ โดย ประการแรกคือจำนวนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยส่วนประกอบหลักของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคือคอลลาเจน โดยกล้ามเนื้อที่มีการเคลื่อนไหว เช่น ขา ส่วนอก และส่วนสะโพกของสัตว์ จะพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากเนื้อจึงมีความนุ่มลดลง ประการที่สองคือ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ละลายของเมื่อโดนความร้อนในขณะที่ปรุงอาหาร โดยคอลลาเจนที่ละลายได้นี้จะมีส่วนช่วยให้เนื้อนุ่มขึ้น ซึ่งสิ่งที่สำคัญคืออายุสัตว์โดยสัตว์ที่มีอายุมากโครงสร้างของคอลลาเจนจะหนาแน่นมากกว่าสัตว์ที่มีอายุน้อยกว่า หมายถึง คอลลาเจนในสัตว์ที่อายุมาก จะมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันละลายได้เมื่อถูกความร้อนน้อยกว่าในสัตว์อายุน้อย ดังนั้น สัตว์ที่มีอายุมากกว่าเนื้อจึงนุ่มน้อยกว่าสัตว์ที่อายุน้อย

2.10.3. ผลของความหนาแน่นหรือผลของการหล่อลื่น (bulk density or lubrication effect) คือ เป็นผลจากไขมัน โดยกล้ามเนื้อที่มีไขมันแทรกอยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อ จะทำให้เนื้อมีความนุ่มขึ้นเนื่องจากไขมันทำให้แรงยึดระหว่างเซลล์ของกล้ามเนื้อน้อยลงและไขมันเหล่านี้จะทำหน้าที่หล่อลื่น ในขณะที่เคี้ยวเนื้อ ทำให้เกิดความชุ่มฉ่ำภายในปากและรู้สึกว่ามันนุ่มขึ้น ซึ่งมีการอธิบายทฤษฎีเรื่องของไขมันที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อ แบ่งได้เป็น 4 ทฤษฎี

1) ทฤษฎีความหนาแน่น (bulk density theory) โดยทั่วไปไขมันในเนื้อมีความหนาแน่นต่ำกว่าโปรตีนในเนื้อที่ผ่านการปรุงสุก (heat-denatured protein) หากปริมาณไขมันแทรกในเนื้อเพิ่มขึ้น ไขมันจะไปลดความหนาแน่นในเนื้อลดลง ทำให้ความหนาแน่นในการกัดเนื้อลดลง จึงทำให้รู้สึกว่ามันนุ่ม

2) ทฤษฎีของการหล่อลื่น (lubrication effect theory) ส่วนใหญ่ไขมันแทรกในกล้ามเนื้อเป็นพวกไขมัน triglyceride ที่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อไขมัน ซึ่งแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นในที่ห่อหุ้มอยู่ระหว่างมัดกล้ามเนื้อแต่ละมัด เมื่อนำมาปรุงสุกไขมัน triglyceride จะหลอมละลายออกมาห่อหุ้มทั่วเส้นใยกล้ามเนื้อ ในขณะที่กัดชิ้นเนื้อ ไขมันจะถูกปล่อยออกมามีผลไปกระตุ้นการหลั่งน้ำลายเพิ่มขึ้น จึงทำให้เนื้อนั้นมีความฉ่ำน้ำ นอกจากนี้ไขมันยังทำให้เส้นใยกล้ามเนื้ออ่อนและง่ายต่อการเคี้ยว เนื้อจึงมีความนุ่มเพิ่มขึ้น

3) ทฤษฎีการเป็นฉนวน (insulation theory) ไขมันสามารถป้องกันการเสียดสภาพของโปรตีนได้ โดยปกติโปรตีนในเนื้อที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการจับน้ำในเนื้อ เมื่อนำมาปรุงสุกโปรตีนจะเกิดการเสื่อมสภาพและสูญเสียความสามารถในการจับน้ำ ซึ่งไขมันจะเป็นฉนวนในการถ่ายเทความร้อนหรือชะลอการส่งผ่านความร้อนทำให้สูญเสียโปรตีนที่เสื่อมสภาพน้อยลง ส่งผลให้เนื้อสูญเสียความชุ่มชื้นในระหว่างการปรุงสุกลดลง

4) ทฤษฎีการลดการดึงตัว (strain theory) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการลดความตึงตัวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นในที่ห่อหุ้มด้วยมัดกล้ามเนื้อ เนื่องจากไขมันแทรกเป็นเซลล์ไขมันที่มีจำนวนมากก็จะไปเบียดพื้นที่ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันลดการดึงตัวลง เป็นผลทำให้เนื้อนุ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้การบ่มเนื้อเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อ โดยเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการเมทาบอลิซึมในเนื้อหลังจากการฆ่า (Cifuni *et al.* 2004) ซึ่งระยะเวลาที่ยาวนานของการบ่มจะเกิดการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนในเนื้อ ทำให้เนื้อมีความนุ่มขึ้น (Hannula and Puolanne. 2004) และทำให้สภาพแวดล้อมภายในเนื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีคือทำให้ actomyosin ถูกตัดขาด ณ บริเวณ Z-line ทำให้ความตึงตัวลดลงและเป็นเหตุให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อีกกิจกรรมที่พบขณะบ่มซาก คือ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในเนื้อ โดยสารย่อย cathepsins เกิดการรั่วไหลออกมานอกเซลล์ แล้วเข้าไปย่อยโปรตีนบริเวณ Z-line ดังกล่าว จึงทำให้ sarcomere มีความยาวขึ้นและเนื้อมีความนุ่มขึ้น (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529)

Pearson and Young (1989) และ Uytterhaegn *et al.* (1994) กล่าวว่าโปรตีนในกล้ามเนื้อมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีหน้าที่และคุณสมบัติแตกต่างกัน หากมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณหรือขนาดของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบต่างๆ ของเนื้อ จะมีผลทำให้คุณภาพเนื้อด้านคุณค่าการบริโภคของเนื้อนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงไปด้วย โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มไมโอไฟบริลล่าโปรตีนซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญที่สุด ซึ่งจากการย่อยสลายของโปรตีนบางชนิดที่อยู่ในกลุ่มไมโอไฟบริลล่าโปรตีนจะมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้น Wheeler *et al.* (1990) รายงานว่าเนื้อที่ได้จากโคพันธุ์บราห์มันจะมีระดับความนุ่มต่ำในระยะแรกของการบ่ม แต่ความนุ่มจะถูกปรับปรุงขึ้นที่ระยะ 7-14 วัน ในการบ่มภายหลังสัตว์ตาย

ปิยะดา ทวีศรี (2544) รายงานว่าอิทธิพลของระยะเวลาการบ่มมีผลต่อคุณภาพเนื้อโดยทำการศึกษาในกล้ามเนื้อ 9 ชนิดของสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยที่ระยะเวลา 1 วัน ภายหลังสัตว์ตาย ค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีค่าสูงกว่า ที่ระยะเวลาบ่ม 7 วันภายหลังสัตว์ตาย ( $P < 0.01$ ) ซึ่งความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาเป็นผลมาจากเอนไซม์ภายในเนื้อออกมาทำการย่อยโปรตีน และประกอบกับค่า pH ที่มีอัตราการลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ 1 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย จนถึง 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย และลดลงอีกเล็กน้อยที่ระยะเวลา 7 วันหลังสัตว์ตาย เนื่องจากไกลโคเจนที่สะสมอยู่ในกล้ามเนื้อเกิดการสลายตัวทำให้ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ลดลงภายหลังสัตว์ตายมีผลทำให้เร่งการทำงานของเอนไซม์

## 2.11 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (water holding capacity)

ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ คือความสามารถหรือคุณสมบัติของโปรตีนในเนื้อสัตว์ที่จะคงไว้ซึ่งจำนวนน้ำให้มีปริมาณเท่าเดิมหรือใกล้เคียงกับปริมาณเดิมได้แม้ว่าจะมีแรงจากภายนอกมากระทำ (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529) โดยวัดจาก ค่าการสูญเสียน้ำขณะเก็บรักษา (drip loss) ค่าการสูญเสียน้ำขณะประกอบอาหาร (cooking loss) ค่าการสูญเสียน้ำขณะละลายน้ำแข็ง (thawing loss) และค่าการสูญเสียน้ำขณะปิ้งย่าง (grilling loss) (สุกัญญา ยอดสร้อย. 2556)

ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อค่าการอุ้มน้ำของเนื้อคือการเปลี่ยนของค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ขึ้นต้นการพิมพ์ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายหลังสัตว์ตาย โดยจะมีผลทำให้โปรตีนเสียสภาพไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ Honikel and Hamm (1994) รายงานว่าค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อขึ้นอยู่กับชนิดของกล้ามเนื้อและชนิดสัตว์ โดยจากการทดลองหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาเนื้อโคที่ระยะเวลา 1-4 วัน พบว่ากล้ามเนื้อ *Semitendinosus* มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำสูงที่สุด และกล้ามเนื้อ *Supraspinatus* มีเปอร์เซ็นต์ต่ำที่สุด ในขณะที่กล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* และ *Psoas major* มีเปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากความแตกต่างทั้งในด้านโครงสร้างและองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อ ค่าการสูญเสียน้ำขณะประกอบอาหารจะขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของเนื้อ อุณหภูมิและสิ่งแวดล้อมขณะปรุงอาหาร เช่น น้ำ เกลือ อากาศ และการบรรจุ เป็นต้น (Leo and Fidel, 2008) ซึ่งในกระบวนการปรุงอาหารจะมีการให้ความร้อนในอุณหภูมิที่พอเหมาะทำให้โปรตีนในเนื้อเสียสภาพได้ซึ่งจะมีผลต่อความนุ่มของเนื้อทำให้เนื้อมีความนุ่มเพิ่มขึ้นและง่ายต่อการบริโภคของผู้บริโภค (Garcia *et al.* 2006) ในขณะที่ค่าการสูญเสียน้ำขณะละลายน้ำแข็งจะเป็นค่าที่เกิดจากการสูญเสียของน้ำในเนื้อขณะที่มีการแช่แข็งเนื้อ (freezing) และนำเนื้อมาละลาย (thawing) โดยค่าการสูญเสียจากการละลายนี้ จะมีค่าลดลงเมื่อเนื้อนั้นมีการแช่แข็งอย่างรวดเร็ว (rapid freezing) เมื่อเทียบกับเนื้อที่มีการแช่แข็งเป็นไปอย่างช้าๆ (slow freezing) เนื่องจากการแช่แข็งเนื้ออย่างรวดเร็วผลึกของน้ำแข็งจะมีขนาดเล็กกว่าทำให้เวลาละลายจะเกิดการสูญเสียที่น้อยกว่าด้วย (Hui *et al.* 2004)

## 2.12 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อกับคุณภาพเนื้อ

องค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อคุณภาพเนื้อ (Lefaucheur, 2010) และ ลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อมีความสัมพันธ์กับ คุณภาพเนื้อ (Joo *et al.* 2003)

โคที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red fiber เป็นองค์ประกอบของมัดกล้ามเนื้ออยู่สูง เช่น สายเลือดอินเดีย เนื้อที่ได้จากโคประเภทนี้จะมีคามเหนียวมากเนื่องจากเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red fiber มีเอนไซม์ calpain ในปริมาณที่สูง ในขณะที่เดียวกันก็มีปริมาณ calpastatin ซึ่งทำหน้าที่ขัดขวางการทำงานของ calpain จะมีอยู่สูงเช่นกัน (Wheeler *et al.* 1990) เป็นผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของ calpain และกระบวนการ proteolysis เกิดได้น้อย ดังนั้นกล้ามเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red fiber จึงมีความเหนียวมากกว่ากล้ามเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด white fiber เป็นองค์ประกอบ ทั้งนี้เป็นผลมาจากใน white fiber มีเมทาบอลิซึมแบบไม้ออกซิเจน มีอัตราการสลายไกลโคเจนสูงค่า pH ลดต่ำเร็ว ทำให้เข้าสู่ภาวะเกร็งตัวอย่างถาวรของกล้ามเนื้อ (rigor mortis) ได้เร็วกว่าปกติ ทำให้ผนังของ sarcoplasmic reticulum ไม่สามารถเก็บ  $Ca^{2+}$  ไว้ได้ ทำให้  $Ca^{2+}$  ถูกปล่อยออกมาและไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain ส่งผลให้เกิดกระบวนการ proteolysis ขึ้น ดังนั้นกล้ามเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด white fiber อยู่มาก จึงเกิดความนุ่มได้เร็ว

กว่า (Klont *et al.* 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Koohmaraie (1996) รายงานว่าชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อมีบทบาทสำคัญต่อความนุ่มของเนื้อภายหลังสัตว์ตาย ซึ่งในกล้ามเนื้อ slow-twitch ( $\beta$ -red) มีอัตราการสลายตัวของโปรตีนในเนื้อช้ากว่าในกล้ามเนื้อ fast-twitch ( $\alpha$ -red และ  $\alpha$ -white) เนื่องจากค่า pH ในเนื้อที่ลดลงเร็วทำให้เอนไซม์ในกระบวนการ proteolysis ทำงานในกล้ามเนื้อ fast-twitch ได้ดีกว่าและพบว่าในกล้ามเนื้อ slow twitch ( $\beta$ -red) มีเอนไซม์คาลเปน (calpain) ปริมาณที่สูง แต่จะมีปริมาณคาลปาสเตติน (calpastatin) สูงด้วยจึงไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์คาลเปนที่ไปย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ (Wheeler *et al.* 1990) เป็นผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์คาลเปน ในกระบวนการ proteolysis เกิดได้น้อยเนื้อจึงนุ่มช้ากว่า โดยในกล้ามเนื้อที่มีปริมาณเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red fiber ในสัดส่วนที่สูงกว่า white fiber เนื้อนั้นจะมีความเหนียวมากกว่า (Fiedler *et al.* 1999) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา Geesink *et al.* (2006) พบว่าโคสายเลือด *Bos indicus* เป็นโคที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red fiber ในองค์ประกอบของมัดกล้ามเนื้อ นั้นมีความเหนียวมากกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด white fiber แต่มีการศึกษาที่พบว่า red fiber มีความนุ่มมากกว่า white fiber โดย Hwang *et al.* (2010) ทำการศึกษาในกล้ามเนื้อของโคพื้นเมืองเกาหลี โดยจัดกลุ่มของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ พบว่ากล้ามเนื้อที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มชนิดเส้นใย red fiber มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่า กลุ่มชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ white type เนื่องจากอิทธิพลของไขมัน (Calkins and Sullivan, 2007) โดย red fiber จะมีการสะสมพลังงานส่วนใหญ่อยู่ในรูปของไขมัน

การหดตัวของกล้ามเนื้อ Pearson and Young (1989) รายงานว่าเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด white muscle มีไมโทคอนเดรียจำนวนน้อย และมีการพัฒนา ซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมดีกว่าในเส้นใยกล้ามเนื้อ red muscle ทำให้การเข้าออกของ  $Ca^{2+}$  ระหว่างซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมเป็นไปอย่างรวดเร็ว โอกาสของการเกิด cold shortening น้อย และจากการศึกษาของ Cena *et al.* (1991) พบว่าเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใช้ออกซิเจน (red fiber type intermediate; oxidative fibers) มีการหดตัวของซาร์โคเมียร์รุนแรงมากกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ white muscle และการเพิ่มขึ้นของ white muscle ทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อลดลง (Joo *et al.* 2003) นอกจากนี้ David *et al.* (1981) พบว่าในโคเพศผู้ตอนมีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red fiber สูงกว่าและเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด white fiber ต่ำกว่าโคสาว นอกจากนี้ยังพบว่า ระดับพลังงานในอาหารที่เพิ่มขึ้นนั้นมิผลทำให้เส้นใยชนิด red fiber ลดลง แต่มีเส้นใยชนิด white fiber เพิ่มขึ้น

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

โคพื้นเมืองไทยที่ทำการศึกษาในครั้งนี้เป็นโคพื้นเมืองไทยจากจังหวัดอุบลราชธานี (ภาพที่ 3.1) ซึ่งเลี้ยงแบบปล่อยหากินตามทุ่งหญ้าธรรมชาติ อายุประมาณ 2 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 150 กิโลกรัม จำนวน 14 ตัว เข้ามาที่โรงฆ่าสัตว์เทศบาลอำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี (ตารางน้ำหนักเฉลี่ยโคมีชีวิตแสดงไว้ในตารางผนวกที่ 1)



ภาพที่ 3.1 โคที่ใช้ในการทดลอง

#### 3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

##### อุปกรณ์

1. เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (Ebro model TTX100, Germany)
2. เครื่องชั่งแบบละเอียด (Sartorius, Germany)
3. เครื่องชั่งแบบหยาบ (Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
4. เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Sartorius, Basic, Germany)
5. เครื่อง Homogenizer (Ultra tarrax, Germany)
6. เครื่อง automatic microplate reader (TECAN, Magellen V.5)
7. เครื่องเขย่าสาร (Vortex, Vision Scientific co., ltd. model KMC-1300V, Korea)
8. เครื่อง Helium-Neon Laser SC-31004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### อุปกรณ์(ต่อ)

10. เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Ramon VP-600A, Germany)
11. เครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Instron model 1011, USA)
12. เครื่องบดละเอียดรุ่น minipimer MR 430 HC (Moulinex, France)
13. Micropipette ขนาด 2-1000 ไมโครลิตร (Eppendorf, USA)
14. Micro tube (Eppendorf, Germany)
15. เครื่องปั่นเหวี่ยงรุ่น Universal 32R (Hettich, Germany)
16. ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส
17. ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิที่ -80 °C
18. ถุงสุญญากาศชนิด (K-Nylon/LLDPE)
19. Microplate (Maxisorp, NuncTM)
20. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert, Germany)
21. เครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า Mini-PROTEAN® Tetra Cell (Bio Rad,U.S.A)
22. Scanner Epson Perfection V700 Photo
23. Software Quantity One (Biorad, USA)

### สารเคมี

สารเคมีและการเตรียมสารเคมี ได้แสดงไว้ในภาคผนวก

## 3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

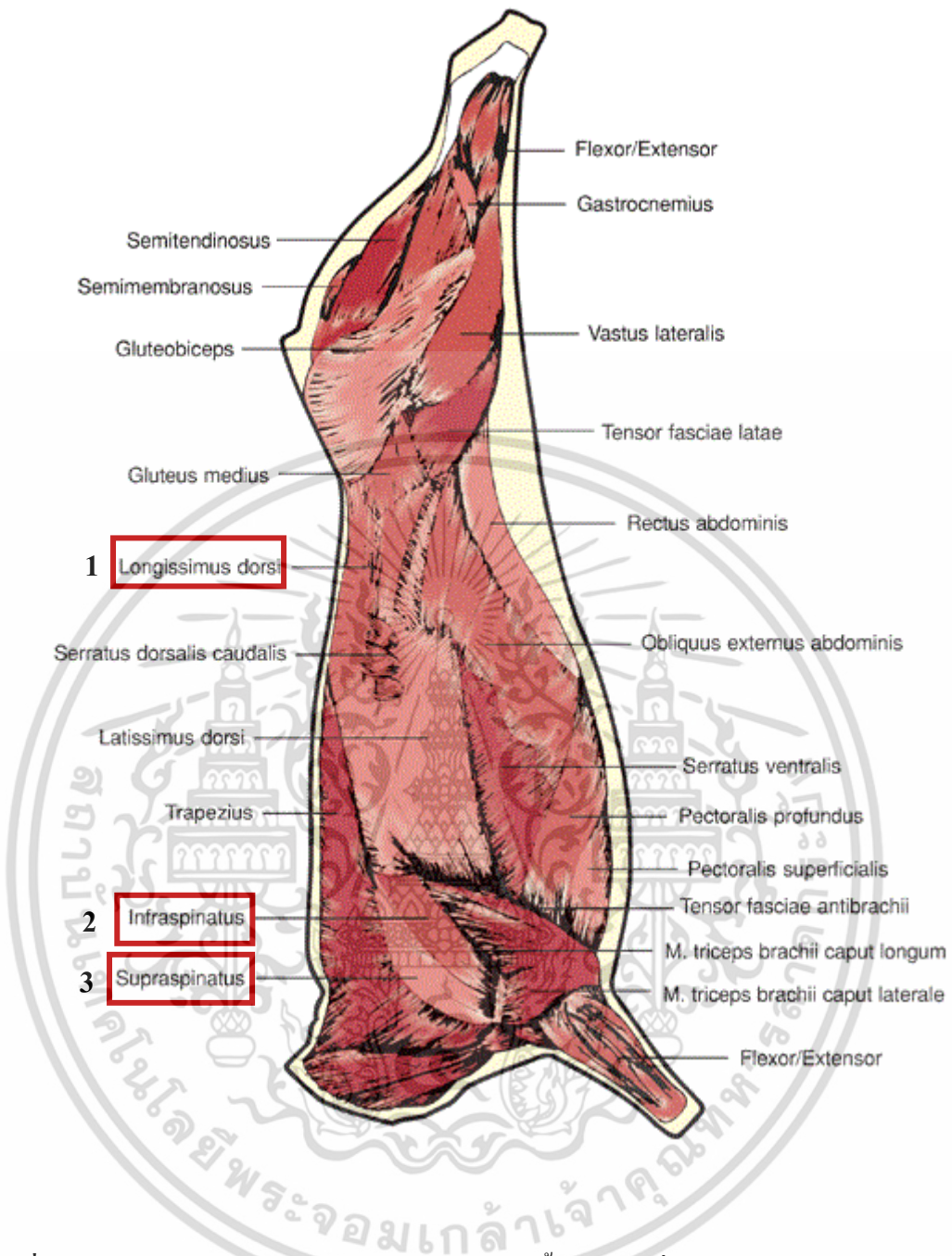
### 3.3.1 กระบวนการฆ่า

ทำการพักโคไว้ในคอกพักสัตว์ เพื่ออดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีน้ำสะอาดให้ดื่มตามปกติทำการบันทึกน้ำหนักมีชีวิติก่อนฆ่าทำการฆ่าสัตว์ตามมาตรฐานสากล คือ ทำให้สลบ วางคอ เอาเลือดออก ตัดหัว ตัดแข็ง และหนัง ผ่ากระดูกอก กระดูกเชิงกราน เอาอวัยวะภายในออก ผ่าซีกเป็น 2 ซีก ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการตัดแต่งซาก และทำการเก็บกล้ามเนื้อตัวอย่างที่ต้องการศึกษา

### 3.3.2 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อ 3 ชนิด จากซากซีกซ้าย ได้แก่ กล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinus*; IF) กล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*; LD) และกล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*; SS) ซึ่งการเก็บตัวอย่างแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

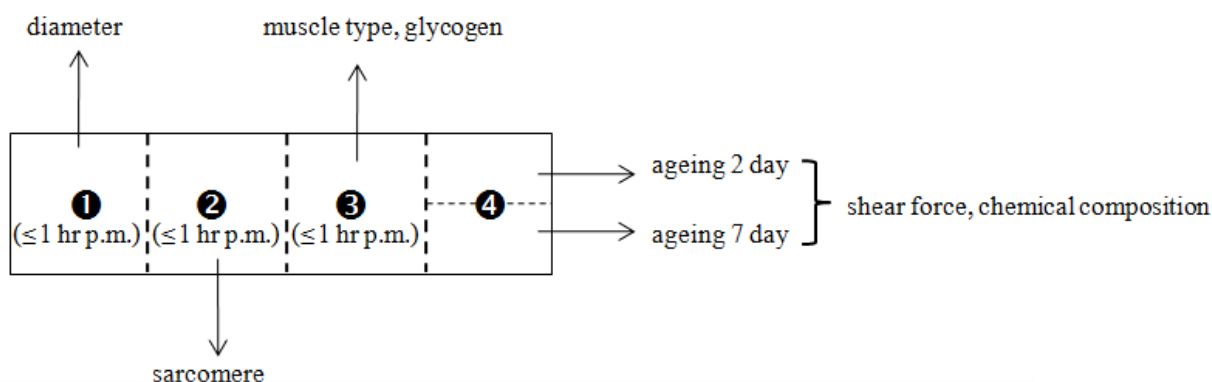


ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างซากโคซีกซ้ายแสดงตำแหน่งกล้ามเนื้อตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษา

1. กล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimusdorsi*)
2. กล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*)
3. กล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Anonymous. (2015e)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



### ภาพที่ 3.3 การแบ่งเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อเพื่อทำการวิเคราะห์

หมายเหตุ: ≤ 1 hr p.m. คือ ไม่เกิน 1 ชั่วโมง ภายหลังสัตว์ตาย (post mortem; p.m.)

กลุ่มตัวอย่างที่ 1 การศึกษาขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อไม่เกิน 1 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายขนาดประมาณ 1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น โดยจะแช่ลงในขวดที่มี neutral formalin 4 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างขนส่งสู่ห้องปฏิบัติการตัวอย่างจะถูกแช่ในน้ำแข็ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการจะถูกเก็บแช่อยู่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียส โดยเนื้อจะถูกแช่ใน neutral formalin 4 เปอร์เซ็นต์ อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาวัดขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อต่อไป

กลุ่มตัวอย่างที่ 2 การศึกษา ความยาวซาร์โคเมอร์กล้ามเนื้อ

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อไม่เกิน 1 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายขนาดประมาณ 1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น โดยจะแช่ลงในขวดที่มีสารละลาย solution A เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นย้ายชิ้นเนื้อมาแช่ในสารละลาย Solution B และระหว่างขนส่งสู่ห้องปฏิบัติการตัวอย่างจะถูกแช่ในน้ำแข็ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการจะถูกเก็บแช่อยู่ในตู้เย็นอุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส โดยเนื้อจะถูกแช่ในสารละลาย Solution B อย่างน้อย 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาวัดความยาวซาร์โคเมอร์ต่อไป

กลุ่มตัวอย่างที่ 3 การศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ และ ศึกษาปริมาณไกลโคเจน

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อไม่เกิน 1 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย โดยจุ่มชิ้นเนื้อในไนโตรเจนเหลวก่อนแล้วห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นแช่ไว้ในน้ำแข็งแห้งระหว่างเดินทางมายังห้องปฏิบัติการ เมื่อถึงห้องปฏิบัติการตัวอย่างจะถูกเก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งทำการบดตัวอย่างด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นจะเก็บตัวอย่างที่บดแล้วในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ และวัดปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มตัวอย่างที่ 4 การศึกษาค่าแรงตัดผ่านเนื้อ และ ศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อ ภายหลังสัตว์ตายเก็บเนื้อส่งไปยังห้องปฏิบัติการ โดยแช่ใน น้ำแข็ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการตัวอย่างจะถูกตัดเป็นชิ้นหนาประมาณ 3 เซนติเมตร และเก็บในตู้แช่เย็นอุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เพื่อบ่มเป็นระยะเวลา 2 วันเมื่อครบแล้วนำตัวอย่างเข้าแช่ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ และส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อต่อไป

นอกจากนี้ยังทำการเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อที่ใช้เป็นกล้ามเนื้อมาตรฐานในการวิเคราะห์ ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ คือ กล้ามเนื้อ *Masseter* (MA) *Diaphragm* (DI) *Trapezius* (TZ) และ *Cutaneous trunci* (CT) (ภาพตัวอย่างกล้ามเนื้อ แสดงในภาพผนวกที่ 5-7) เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อไม่เกิน 1 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย โดยจุ่มชิ้นเนื้อในไนโตรเจนเหลวก่อนแล้วห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นแช่ไว้ในน้ำแข็งแห้งระหว่างเดินทางมายังห้องปฏิบัติการ เมื่อถึงห้องปฏิบัติการตัวอย่างจะถูกเก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ -4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งทำการบดตัวอย่างด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นจะเก็บตัวอย่างที่บดแล้วในตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์ ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อต่อไป

### 3.3.3 การศึกษาคุณลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อ

**3.3.3.1 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดย electrophoresis (Picard and Cassar-Malek, 2009)**

#### 1) การสกัดตัวอย่าง

ทำการสกัดตัวอย่าง กล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* (LD) *Infraspinalis* (IF) และ *Supraspinalis* (SS) นอกจากนี้ยังทำการสกัดตัวอย่างของกล้ามเนื้อที่จะใช้เป็นมาตรฐาน โดยใช้ กล้ามเนื้อ *Masseter* (MA) *Diaphragm* (DI) *Trapezius* (TZ) และ *Cutaneous trunci* (CT) ในการสกัด ตัวอย่างจะทำการชั่งตัวอย่างเนื้อ 0.3 กรัม เติม Extraction buffer (20 mM NaPPi, 50 mM Tris/HCl pH 8.0, 1mM EDTA, 0.5 mM NaCl, 1.0 mM DDT) ลงไป 3 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer ที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วแบ่งเก็บสารละลายส่วนใส ออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนที่หนึ่งเก็บสารละลายส่วนใสพร้อมทั้งเติม 87% glycerol ในอัตราส่วน 1:1 แล้วผสมให้เข้ากัน แล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสและส่วนที่สอง เก็บสารละลายส่วนใส 100 ไมโครลิตร แล้วเติม 0.1 N NaOH 900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเพื่อนำไปวัดความเข้มข้นของโปรตีนเพื่อที่จะสามารถเจือจางโปรตีนที่สกัดได้ให้เหมาะสมที่จะนำไปวิเคราะห์หาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2) การวัดความเข้มข้นของโปรตีน

วัดความเข้มข้นของโปรตีนด้วยเทคนิค Lowry โดยแต่ละตัวอย่างทำการวัด 2 ซ้ำ นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่เจือจางของ Bovine serum albumin (BSA; Sigma, UK) ด้วย 0.1 N NaOH ให้มีความเข้มข้น ระหว่าง 0 –100 ไมโครกรัม จากนั้นใช้ปิเปตดูด 50 ไมโครลิตรของสารละลายมาตรฐาน ตัวอย่างที่เจือจางด้วย 0.1 N NaOH จนมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงเดียวกับสารละลายมาตรฐาน และใช้ 0.1 N NaOH เป็น blank ลงในหลุมของไมโครเพลท แล้วเติม solution 1 ลงไป 50 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน (solution 1 ประกอบด้วย 5 ml of 2%(w/v)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in 0.1 M NaOH, 0.5 ml 1%(w/v)  $\text{CuSO}_4$ , 0.5 ml KNaTartate) ที่ 37 °C ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วเติม solution 2 ลงไป 50 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน (solution 2 ประกอบด้วย 5 ml 0.1 N NaOH, 0.5 ml Folin Ciocalteu reagent) ที่ 37 °C ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง automicroplate reader (Tecan Sunrise, UK)

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของ BSA ไปสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวณหาสมการถดถอยเชิงเส้น  $Y = aX \pm b$  โดยค่า Y เป็นค่าการดูดกลืนแสงและค่า X เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย BSA จากนั้นทำการคำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนตัวอย่างโดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นของกราฟมาตรฐาน

## 3) วิธีการอิเล็กโตรโฟรีซิส

แยกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยการอิเล็กโตรโฟรีซิสด้วยเครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า รุ่น Mini-PROTEAN® Tetra Cell (Bio Rad, U.S.A) โดยเตรียมเจลชั้นล่าง (separating gel) และ เจลชั้นบน (stacking gel) ซึ่งปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจลมีดังตารางที่ 3.1

นำตัวอย่างที่ทำการเจือจางจนได้ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ผสมกับ 2X loading buffer ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge เป็นเวลา 10 วินาทีก่อนที่จะนำไปใส่ในหลุมเจล

ประกอบเจลในชุดอิเล็กโตรโฟรีซิสใส่ upper running buffer (100 mM Tris/HCl, 150 mM glycine, 0.1% (w/v) SDS, 10 mM  $\beta$ -Me (ใส่ใหม่ทุกครั้งที่ทำกรันเจล, 175  $\mu$ l/250 ml) ลงช่องตรงกลางของโมเดลแล้วใช้ไมโครปิเปตค่อย ๆ ปิเปตตัวอย่าง 5 ไมโครลิตรลงในหลุมบนเจล จากนั้นเติม lower running buffer (half the running buffer concentration without  $\beta$ -Me) รอบนอก แล้วต่อขั้วบวก (anode) เข้ากับ chamber ล่างและขั้วลบ (cathod) เข้ากับ chamber บน และเปิดสวิทช์ของเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 70 โวลต์ เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ซึ่งต้องทำเครื่องแยกโปรตีนนั้นเย็นตลอดเวลา อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.1 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจล

Solution	2 Gel	
	Separating gel (ml)	Stacking gel (ml)
acrylamide (40% w/v)	1.50	0.56
37.5:1 acrylamide:bis-acrylamide solution		
acrylamide (40% w/v)	0.50	0.20
2 M Tris-HCl, pH 8.8	1.15	-
1 M Tris-HCl, pH 6.8	-	0.54
1 M glycine	1.15	-
100 mM EDTA	-	0.31
87% (v/v) glycerol	3.97	2.68
10% (w/v) SDS	0.46	0.31
water	1.14	0.32
ผสมให้เข้ากัน		
TEMED	6.0 $\mu$ l	5.0 $\mu$ l
10% (w/v) ammonium persulphate	120 $\mu$ l	80 $\mu$ l

เมื่อครบเวลานำเจลที่ได้ไปล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนแล้วจึงนำเจลไปแช่ fixing solution (30% (v/v) ethanol, 5% (v/v) acetic acid) เป็นเวลา 30 นาที นำไปย้อมสีด้วย staining solution (isopropanol 25% (v/v), acetic acid 10% (v/v), coomassie blue 0.2% (w/v)) เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างด้วย destain solution (ethanol 30% (v/v), acetic acid 5% (v/v)) ประมาณ 4 ครั้งๆ ละ 30 นาที นำเจลที่ได้ไปทำการสแกนด้วยเครื่องสแกน Epson V700 ให้เก็บอยู่ในรูปแบบ Tiff file โดยบันทึกภาพเป็นแบบ Gray scale 16 bit จากนั้นนำภาพที่ได้ไปทำวัดความเข้มของแถบโปรตีน ด้วยโปรแกรม Quantiy One (Biorad, USA)

### 3.3.3.2 การวัดขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ (Tuma *et al.* 1962)

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อภายหลังจากสัตว์ตายไม่เกิน 1 ชั่วโมงโดยเก็บกล้ามเนื้อสันนอก กล้ามเนื้อขา และกล้ามเนื้อสันในเทียม ที่ระยะเวลาภายหลังจากสัตว์ตายไม่เกิน 1 ชั่วโมง โดยตัดชิ้นเนื้อขนาดประมาณ 3×2×2 เซนติเมตร แช่ชิ้นเนื้อใน Neutral formalin 4 เปอร์เซ็นต์ อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ในตู้เย็นอุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียส นำชิ้นเนื้อที่แช่ใน Neutral formalin 4 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาอย่างน้อย 48 ชั่วโมง มาหั่นชิ้นด้วยมีดให้มีขนาดเล็กกลง แล้วใส่เนื้อในเครื่องปั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์อันใดจากวิชาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mulindex เติมสารละลาย NaCl 0.9 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 50 มิลลิลิตร ลงในเครื่องปั่น แล้วปั่นด้วยความเร็วต่ำประมาณ 30 วินาที นำสารละลายที่ปั่นได้หยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ และนำไปวัดขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) ใช้กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4X วัดความกว้างของเส้นใยกล้ามเนื้อทั้งหมด 50 เส้นต่อหนึ่งตัวอย่างด้วยโปรแกรม Dino lite (Taiwan) แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

### 3.3.3.3 การวิเคราะห์หาความยาวซาร์โคเมอร์ด้วยเครื่อง Helium-Neon laser ตัดแปลงจาก Cross *et al.* (1981)

ตัดชิ้นเนื้อที่จะทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ชิ้น ขนาด 3×2×2 เซนติเมตร แช่ใน solution A 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ย้ายชิ้นเนื้อจาก solution A มาแช่ใน Solution B 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้คีมคีบชิ้นเนื้อมาเล็กน้อยมาวางบนแผ่นสไลด์ ใช้แท่งแก้วยี่ชิ้นเนื้อให้แตก นำแผ่นสไลด์ที่เตรียมตัวอย่างเสร็จแล้วไปทำการวัดหาความยาวซาร์โคเมอร์ด้วยเครื่อง Helium-Neon Laser โดยใช้ไม้บรรทัดวัดระยะระหว่างแถบเส้น 2 แถบ ที่ทะลุผ่านบนแผ่นสไลด์มายังพื้นรองรับภาพในหน่วยวัดเซนติเมตร ทำการวัดตัวอย่างละ 30 ชิ้น แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณความยาวซาร์โคเมอร์จะอยู่ในหน่วยวัด ไมโครครอน

#### 7) การคำนวณค่าความยาวซาร์โคเมอร์ (ในหน่วยวัด ไมครอน)

$$\text{Sarcomere length} = 0.6328 \sqrt{\left(\frac{D}{T}\right)^2 + 1}$$

เมื่อ D = ระยะห่างระหว่างแผ่นสไลด์กับจอรับภาพ = 15 เซนติเมตร

T = ระหว่างจุดกึ่งกลางของแถบสว่างที่วัดได้ 2 แถบ

---

2

### 3.3.3.4 การวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ (Warner-Bratzler shear force) และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุง (Boccard *et al.* 1981)

ศึกษาความนุ่มของเนื้อ ที่ระยะเวลาการบ่ม 2 วัน โดยนำตัวอย่างที่แช่แข็งมาทำการละลายน้ำแข็งโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างชิ้นเนื้อก่อนต้ม บันทึกเป็นน้ำหนักเริ่มต้น (W1) จากนั้นบรรจุตัวอย่างชิ้นเนื้อในถุงร้อนแล้วนำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิโดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30 นาที หรือจนกระทั่งได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นนำถุงที่บรรจุตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ผ่านการเอกซเรย์เป็นเอกสารที่ส่งงานไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้สุกแล้วไปทำให้เย็น โดยการแช่ให้น้ำไหลผ่านนาน 30 นาที จากนั้นนำเนื้อออกจากถุงซิปให้แห้งเล็กน้อย และชั่งน้ำหนักอีกครั้ง บันทึกเป็นน้ำหนักสุดท้าย (W2) โดยเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักระหว่างการปรุง =  $[(W1 - W2) \times 100] / W1$

จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อโดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่เย็นแล้วมาตัดตามแนวยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 1 x 3 x 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตัวอย่างละ 10 ชิ้นแล้วนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner-Bratzler shear force) ด้วยเครื่อง Instron model 1011 (Instron, USA) โดยกำหนดหน่วยเป็นกิโลกรัม

### 3.3.3.5 การวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อโค

โดยวิธี proximate analysis เพื่อหา ปริมาณ โปรตีน (crude protein, CP) ไขมัน (ether extract, EE) ความชื้น (Moisture) และ เถ้า (ash) ตามวิธีการของ AOAC (1995)

### 3.3.3.6 การศึกษาหาปริมาณ ไกลโคเจน (ดัดแปลงจาก Adamo and Graham, 1998)

วิธีการ

นำตัวอย่างชั่ง 0.4 กรัม ใส่หลอดทดลองและเติม 8% perchloric acid 2,000 ไมโครลิตร บั่นด้วยเครื่อง homogenize แล้วนำไปเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปรับสภาพให้เป็นกลางโดยการปิเปตเอาส่วนใสใส่หลอดทดลอง 1.33 ไมโครลิตร แล้วเติม Sodium bicarbonate 1.35 ml และ 0.2M Sodium acetate 1.67 ml จนได้สารละลาย pH 5.2 จากนั้นนำสารละลายที่ได้มา 200 ไมโครลิตร นำมาย่อยด้วยการเติม amyloglucosidase 5 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปต้มที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตส่วนใส 10 ไมโครลิตร เติม glucose oxidase 190 ไมโครลิตร ที่งไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าความเข้มข้นที่ 550 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง automatic microplate reader (Tecan Sunrise,UK)

### 3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1) ทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้เพื่อดูการกระจายของข้อมูล โดยใช้ โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft excel และ SAS เพื่อวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุด และสัมประสิทธิ์ของความผันแปรของข้อมูล

2) วิเคราะห์หาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับลักษณะที่ทำการศึกษา

ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามรูปแบบของ Myosin Heavy Chain ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ ความยาวซาร์โคเมอร์ ปริมาณไกลโคเจน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ และ ส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อ ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย General Linear Model (GLM) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (Least squares Means) ด้วย PDIFP โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (SAS) โดยมีหุ่นทางสถิติ ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + A_i + E_{ij}$$

โดยที่

$Y_{ij}$  คือ ค่าสังเกตใดๆ ของลักษณะที่ทำการวิเคราะห์

$\mu$  คือ ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของค่าสังเกตที่ต้องการศึกษา

$A_i$  คือ อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อที่  $i$ ,  $i = 1, 2, 3$  (1 คือ กล้ามเนื้อสันนอก, 2 คือ กล้ามเนื้อใบพาย และ 3 คือ กล้ามเนื้อสันในเทียม)

$E_{ij}$  คือ ความคลาดเคลื่อนทั้งหมดของการทดลอง

3) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อกับลักษณะอื่นที่ศึกษาโดยใช้

PROC CORR

## บทที่ 4

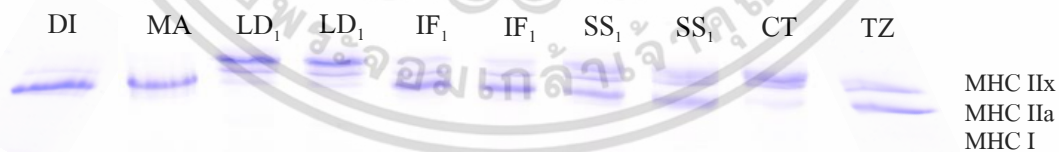
# ผลการวิจัยและวิจารณ์

### ผลการวิจัย

โคพื้นเมืองไทยที่ทำการศึกษาวิจัยครั้งนี้คือ โคพื้นเมืองที่เลี้ยงในเขตจังหวัดอุบลราชธานี น้ำหนักมีชีวิตเฉลี่ย 150 กิโลกรัม ภายหลังจากขนวนการฆ่าทำการชั่งน้ำหนักซาก มีน้ำหนักซากเฉลี่ย 68.88 กิโลกรัม จากนั้นทำการตัดแต่งนำเอากล้ามเนื้อ 3 ชนิด คือ กล้ามเนื้อสันนอก (LD) กล้ามเนื้อไบพาย (IF) และกล้ามเนื้อสันในเทียม (SS) มาทำการทดลองเพื่อวิเคราะห์ ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ และคุณภาพเนื้อซึ่งผลจากการทดลองมีดังนี้

#### 4.1 ผลของการศึกษาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อโดย electrophoresis

ผลจากการศึกษาชนิดรูปแบบที่แสดงออกของ Myosin heavy chain ด้วย electrophoresis ของโคพื้นเมืองไทย 14 ตัว ในกล้ามเนื้อหลักที่ศึกษา 3 ชนิด คือ กล้ามเนื้อสันนอก (LD) กล้ามเนื้อไบพาย (IF) กล้ามเนื้อสันในเทียม (SS) และกล้ามเนื้อมาตรฐาน 4 ชนิดที่นำมาใช้เพื่อระบุชนิดของแถบโปรตีน MHC ที่ปรากฏอยู่บนแผ่นเจล โดยกล้ามเนื้อแก้ม (*Masseter*; MA) จะปรากฏแถบโปรตีน MHC-I เพียงแถบเดียว กล้ามเนื้อกะบังลม (*Diaphragm*; DI) ปรากฏแถบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa กล้ามเนื้อคิ้วทาเนียสทริงไซ (*Cutaneous trunci*; CT) ปรากฏแถบโปรตีน MHC-IIa และ MHC-IIb กล้ามเนื้อไหล่ (*Trapezius*; TZ) ปรากฏแถบ MHC-I และ MHC-IIa จาก ภาพที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าแถบโปรตีนที่ศึกษา 3 แถบเรียงลำดับจากล่างขึ้นบน คือ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx ตามลำดับ



ภาพที่ 4.1 รูปแบบที่แสดงออกของ Myosin Heavy Chain (MHC) แยกด้วยเทคนิค electrophoresis

LD มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx, IF มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx

SS มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx และกล้ามเนื้อมาตรฐานระบุตำแหน่งชนิด MHC

isoform DI มี MHC-I และ MHC-IIa, MA มี MHC-I, CT มี MHC-IIa และ MHC-IIb, TZ

MHC-I และ MHC-IIa, <sub>1</sub> = โคตัวที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ myosin heavy chain (MHC) โดยวิธี electrophoresis สามารถแบ่งชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดของ MHC ได้ 4 ชนิด คือ MHC-I, MHC-IIa , MHC-IIx และ MHC-IIb เรียงตามลำดับจากความเร็วในการยึดหดตัวจากน้อยไปมาก เมื่อเปรียบเทียบการแบ่งชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธี histochemistry นั้น MHC-I จะใกล้เคียงกับ type I (slow oxidative , red) ส่วน MHC-IIa ใกล้เคียงกับ type IIa (fast oxidative glycolytic, White) ในขณะที่ลักษณะของ MHC-IIx มีคุณสมบัติในการยึดหดตัวใกล้เคียงอยู่ระหว่าง type IIa และ type IIb แต่ความเร็วในการหดตัวจะน้อยกว่าและมีการเผาผลาญพลังงานแบบออกซิเดชันได้สูงกว่า MHC-IIb ดังนั้น type IIb จึงเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อที่สามารถยึดหดตัวได้เร็วที่สุด (fast glycolytic, white) (Lefaucheur. 2010)

กล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีเส้นใยกล้ามเนื้อต่างชนิดกัน โดยการศึกษาครั้งนี้ในโคพื้นเมืองไทย สามารถแยกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามรูปแบบของ MHC ได้ 3 ชนิด คือ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx โดยแถบโปรตีนของ MHC-I จะปรากฏด้านล่างสุดของเจล MHC-IIa จะปรากฏตรงกลาง และ MHC-IIx จะปรากฏบนสุดของเจล ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Picard *et al.* (1999; 2009; 2011) และ Oury *et al.* (2010) ที่พบว่าแถบโปรตีนที่มีการเคลื่อนที่เร็วที่สุดจะอยู่ด้านล่างของเจล และช้าที่สุดอยู่ด้านบนของเจล คือ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx ตามลำดับ ซึ่งกล้ามเนื้อมาตรฐานที่นำมาใช้เพื่อระบุตำแหน่งในการทดลองครั้งนี้พบว่า กล้ามเนื้อ MA ปรากฏแถบโปรตีน MHC-I เพียงแถบเดียว กล้ามเนื้อ CT ปรากฏแถบโปรตีน MHC-IIa และ MHC-IIx สอดคล้องกับการศึกษาของ Picard *et al.* (1994) ที่ทำการศึกษาปริมาณของ MHC-I ในกล้ามเนื้อ *Masseter* (MA) และ *Cutaneous trunci* (CT) ของโค โดยใช้วิธี electrophoresis, immunoblotting และ immunohistochemistry พบว่ากล้ามเนื้อ MA มีเพียง slow MHC (MHC-I) และกล้ามเนื้อ CT พบโปรตีน fast MHC (MHC-IIa และ MHC-IIb) ส่วนกล้ามเนื้อมาตรฐาน DI พบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa สอดคล้องกับรายงานของ Maccatrozzo *et al.* (2004) ที่ศึกษาการแสดงออกของรูปแบบ MHC-IIb ในตัวอย่างกล้ามเนื้อโค โดยใช้วิธี histochemistry วิธี immunohistochemistry และ วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่แบบย้อนกลับ (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) ในการวิเคราะห์ พบว่าตัวอย่างกล้ามเนื้อ *Diaphragm* พบเพียง MHC-I และ MHC-IIa เท่านั้น และกล้ามเนื้อ *Masseter* พบเพียง MHC-I เพียงชนิดเดียว ส่วนกล้ามเนื้อมาตรฐาน TZ ปรากฏแถบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa สอดคล้อง Monin *et al.* (1987) ที่พบว่า มีปริมาณของ MHC-I และ MHC-IIa ที่สูง

ผลการศึกษาพบว่าโคพื้นเมืองที่ทำการศึกษานี้ มีปริมาณชนิดของ myosin heavy chain เปรียบเทียบระหว่างชนิดของกล้ามเนื้อพบว่า MHC-I ของกล้ามเนื้อ IF สูงสุด รองลงมาคือกล้ามเนื้อ SS และ LD ต่ำสุด ( $P < 0.001$ ) ในทางตรงกันข้ามพบว่า MHC-IIx ในกล้ามเนื้อ LD สูงสุด

รองลงมาคือ SS และ IF ต่ำสุด ( $P < 0.001$ ) ส่วนปริมาณชนิดของ MHC-IIa ในกล้ามเนื้อ IF และ SS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในกล้ามเนื้อ LD มีปริมาณต่ำกว่ากล้ามเนื้ออื่น ( $P = 0.0003$ ) ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ชนิดของ Myosin heavy chain ในกล้ามเนื้อ 3 ชนิด ของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัด อุบลราชธานี (N = 14)

ลักษณะที่ศึกษา	IF	LD	SS	SED	P-value
MHC-I <sup>1</sup>	10.59 <sup>a</sup>	1.45 <sup>c</sup>	8.33 <sup>b</sup>	0.387	<0.0001
MHC-IIa <sup>1</sup>	3.56 <sup>a</sup>	2.53 <sup>b</sup>	4.10 <sup>a</sup>	0.402	0.0003
MHC-IIx <sup>1</sup>	1.63 <sup>c</sup>	12.37 <sup>a</sup>	5.42 <sup>b</sup>	0.496	<0.0001

<sup>abc</sup>ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

<sup>1</sup>ความเข้มของแถบโปรตีน/โปรตีน 4 ไมโครกรัม

ซึ่งการทดลองครั้งนี้พบว่า กล้ามเนื้อ IF เป็น slow muscle เนื่องจากพบปริมาณชนิดของ MHC-I สูงที่สุด แต่มีปริมาณชนิด MHC-IIx ต่ำที่สุด ในขณะที่กล้ามเนื้อ LD เป็น fast muscle เพราะมีปริมาณชนิด MHC-IIx สูงที่สุด และมี MHC-I ต่ำที่สุด ส่วนกล้ามเนื้อ SS มีปริมาณ MHC-I กับ MHC-IIx ใกล้เคียงกัน และ MHC-IIa ต่ำสุด ซึ่ง SS มีคุณสมบัติของ intermediate muscle ที่อยู่ระหว่างกล้ามเนื้อ IF และ LD ผลจากการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับ Kirchofer (2002) ที่รายงานว่าในกล้ามเนื้อโค กล้ามเนื้อ IF จัดอยู่ในกลุ่มของ slow, red muscle เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์ของ  $\beta$ -red fiber สูงที่สุด เกิน 40 % ส่วน LD จัดอยู่ในกลุ่มของ fast white muscle เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์ของ  $\alpha$ -white fiber สูงเกิน 40 % ส่วนกล้ามเนื้อ SS จัดว่าเป็น intermediate muscle เนื่องจากมีปริมาณของทั้ง  $\beta$ -red และ  $\alpha$ -white fiber น้อยกว่า 40 %

ทั้งนี้กล้ามเนื้อแต่ละชนิดอาจไม่พบ ชนิดของ MHC ได้ทั้ง 4 ชนิด เช่น ในกล้ามเนื้อ *Masseter* พบเพียงชนิด MHC-I ในขณะที่กล้ามเนื้อ *Longissimas dorsi* พบ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx มีการสมมติฐานว่าสัตว์ใหญ่ ที่มีการเคลื่อนไหวช้าอาจไม่พบ MHC-IIb (Hämäläinen and Pette, 1995) ซึ่งถือว่าเป็นชนิด fastest glycolytic ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ไม่พบชนิด MHC-IIb ในกล้ามเนื้อทั้ง 3 ชนิดของโคพื้นเมืองไทย สอดคล้องกับ Chikuni *et al.* (2004) ที่รายงานว่าในกล้ามเนื้อของโคสายพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเชียม พบยีนของ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx แต่ไม่พบ MHC-IIb โดย Toniolo *et al.* (2005) รายงานว่ามีการแสดงออกของ MHC-IIb ทั้งในระดับยีนและโปรตีนเพียงในกล้ามเนื้อ extraocular ของโค *Bos taurus* เท่านั้น Picard *et al.* 2009 พบ MHC-IIb ใน

กล้ามเนื้อ *Semitendinosus* และพบเพียงเล็กน้อยในกล้ามเนื้อ LD ของโคพันธุ์ Blonde d'Acquitaine แต่เป็นการตรวจพบที่จำกัดเฉพาะในโคที่ทดลองเพียงบางตัวเท่านั้น (Picard *et al.* 2009)

#### 4.2 ผลของการศึกษาขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อและความยาวซาร์โคเมอร์

ผลการศึกษาขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อพบว่าขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อของ LD มีขนาดเล็กกว่า ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อของ SS และ IF ( $P < 0.01$ ) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ และความยาวซาร์โคเมอร์ในกล้ามเนื้อ 3 ชนิดของโคพื้นเมือง ในเขตจังหวัดอุบลราชธานี (N = 14)

ลักษณะที่ศึกษา	IF	LD	SS	SED	P-value
ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ ( $\mu\text{m}$ )	45.48 <sup>a</sup>	42.17 <sup>b</sup>	44.96 <sup>a</sup>	0.580	<0.0001
ความยาวซาร์โคเมอร์ ( $\mu\text{m}$ )	1.92 <sup>a</sup>	1.86 <sup>c</sup>	1.91 <sup>b</sup>	0.003	<0.0001

<sup>abc</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

ผลการศึกษาขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อในครั้งนี้ขัดแย้งกับ Kirchofer *et al.* (2002) ที่รายงานว่า ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยวัดจากความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ พบว่ากล้ามเนื้อ LD ในโค มีขนาดใหญ่กว่ากล้ามเนื้อ SS และ IF ตามลำดับ Waritthitham *et al.* (2010) รายงานว่ากล้ามเนื้อ LD ในโคลูกผสมบราห์มัน และพื้นเมืองไทยมีขนาดของพื้นที่หน้าตัดของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast-twitch ใหญ่เป็น 2 เท่าของ slow-twitch คือ 6.721 และ 3.713 ไมครอน ตามลำดับ ผลการศึกษานี้พบว่า LD มีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กกว่ากล้ามเนื้ออื่นนั้น อาจเป็นผลจากการเลี้ยงแบบปล่อยหากินเองตามทุ่งหญ้าธรรมชาติ เป็นผลทำให้ได้รับคุณค่าทางโภชนาต่ำ ทำให้ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อของ LD (type Ix) มีขนาดเล็ก โดย Stickland *et al.* (1975) และ Ward & Stickland (1993) กล่าวว่า สัตว์ที่ได้รับอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาต่ำจะมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยกล้ามเนื้อทั้งการเพิ่มขนาด (hypertrophy) และ การเพิ่มจำนวน (hyperplasia) ของเส้นใยกล้ามเนื้อ และในสัตว์ที่เจริญเติบโตเต็มวัยนั้นการได้รับคุณค่าทางโภชนาต่ำจะมีอิทธิพลอย่างมากที่จะเป็นผลทำให้ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อของ type II (white) ลดลง ในขณะที่ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ type I (red) จะไม่เปลี่ยนแปลง (Schantz *et al.* 1983) จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และคณะ (2545) รายงานว่าโคพันธุ์โฮสไตน์ฟริเชียนที่ได้รับอาหารชั้นในระดับสูงจะมีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อมากกว่ากลุ่มที่

ได้รับอาหารชั้นในระดับต่ำกว่า โดยให้เหตุผลว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีพลังงานสูงจะส่งผลต่อการสังเคราะห์กล้ามเนื้อสูงขึ้นด้วย

ความยาวซาร์โคเมอร์ของกล้ามเนื้อทั้ง 3 ชนิด ที่ 1 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยพบว่า กล้ามเนื้อ IF มีความยาวซาร์โคเมอร์มากที่สุด รองลงมาคือ SS และ LD ( $P < 0.01$ ) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) ทั้งนี้ผลการศึกษาของ Hwang *et al.* (2010) ที่ศึกษาในโคพื้นเมืองเกาหลี พบว่ากล้ามเนื้อ *Psoas major* มีความยาวของซาร์โคเมอร์ยาวที่สุด รองลงมาคือ กล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* และ กล้ามเนื้อ *Semimembranosus* ตามลำดับ (เท่ากับ 2.41, 2.13 และ 1.98 ไมครอน ;  $P < 0.05$ ) โดยให้เหตุผลว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ PM จัดอยู่ในกลุ่ม slow muscle ดังนั้นการหดตัวอย่างถาวร (rigor mortis) จะเกิดขึ้นได้ช้ากว่ากล้ามเนื้อ LD และ กล้ามเนื้อ SM ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม fast contraction สอดคล้องกับการทดลองครั้งนี้ที่พบว่ากล้ามเนื้อ IF และกล้ามเนื้อ SS จัดอยู่ในกลุ่ม slow contraction ดังนั้นจึงมีความยาวซาร์โคเมอร์มากกว่ากล้ามเนื้อ fast contraction คือ กล้ามเนื้อ LD

#### 4.3 ผลของการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อโคและปริมาณไกลโคเจน

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อโค พบว่ากล้ามเนื้อ IF และ SS มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นสูงกว่าในกล้ามเนื้อ LD ( $P < 0.01$ ) กล้ามเนื้อ LD และ SS มีเปอร์เซ็นต์เถ้าสูงกว่าในกล้ามเนื้อ IF ( $P < 0.01$ ) กล้ามเนื้อ LD มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงที่สุด รองลงมาคือ SS และ IF ตามลำดับ ( $P = 0.001$ ) และส่วนเปอร์เซ็นต์ไขมันพบว่าในกล้ามเนื้อ IF มีเปอร์เซ็นต์ไขมันสูงที่สุด รองลงมาคือ SS และ LD ตามลำดับ ( $P < 0.01$ ) (ตารางที่ 4.3)

ผลการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อครั้งนี้ พบว่าสอดคล้องกับการทดลองของ สุนทรินทร์ ควนใหญ่ (2552) ที่ทำการศึกษาร่วมกับประภพชากรและคุณค่าทางโภชนาการของเนื้อโคธรรมชาติจากกระบวนการเลี้ยงโคพื้นเมือง แล้วนำกล้ามเนื้อสันนอกมาวิเคราะห์ตามวิธี AOAC (2000) โดยพบว่าส่วนประกอบทางเคมีในเนื้อโคพื้นเมืองมีค่าความชื้น  $76.57 \pm 2.05$  เปอร์เซ็นต์ โปรตีน  $20.78 \pm 0.81$  เปอร์เซ็นต์ เถ้า  $1.13 \pm 0.04$  เปอร์เซ็นต์ และ ไขมัน  $0.75 \pm 0.01$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับการทดลองในกล้ามเนื้อสันนอกในครั้งนี้คือ ความชื้น  $76.60 \pm 0.19$  เปอร์เซ็นต์ โปรตีน  $21.20 \pm 0.17$  เปอร์เซ็นต์ เถ้า  $1.12 \pm 0.03$  เปอร์เซ็นต์ และ ไขมัน  $0.73 \pm 0.13$  เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.3 ส่วนประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อ 3 ชนิด ของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัดอุบลราชธานี

(N = 14)

ลักษณะที่ศึกษา	IF	LD	SS	SEM	P-value
ความชื้น (%)	77.61 <sup>a</sup>	76.60 <sup>b</sup>	77.77 <sup>a</sup>	0.19	<0.0001
เถ้า (%)	1.024 <sup>b</sup>	1.121 <sup>a</sup>	1.15 <sup>a</sup>	0.030	0.0011
โปรตีน (%)	19.64 <sup>b</sup>	21.02 <sup>a</sup>	19.11 <sup>c</sup>	0.177	<0.0001
ไขมัน (%)	1.31 <sup>a</sup>	0.73 <sup>c</sup>	1.04 <sup>b</sup>	0.13	<0.0001
ไกลโคเจน (μmol/g)	20.5 <sup>b</sup>	25.7 <sup>a</sup>	22.1 <sup>b</sup>	0.11	0.006

<sup>abc</sup>ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแนวนอนเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Maher *et al.* (2005) ที่รายงานว่าความชื้นของเนื้อโค โดยทั่วไปจะอยู่ในช่วง 76.4 - 76.6 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนอยู่ในช่วง 20.0 - 22.87 เปอร์เซ็นต์ และ ไขมันอยู่ในช่วง 0.97 - 1.05 เปอร์เซ็นต์ และจากรายงานของ จันทรพร เจ้าทรัพย์ และคณะ (2554) ที่ทำการศึกษาในโคพื้นเมืองไทยพบปริมาณโภชนะในกล้ามเนื้อ IF, LD และ SS มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้งนี้อย่างตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบค่าปริมาณโภชนะในกล้ามเนื้อกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*; LD) กล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*; IF) และกล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*; SS)

	Ash (%)		Protein (%)		Fat (%)		Moisture (%)	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Muscle								
IF	1.02 <sup>b</sup>	1.10 <sup>b</sup>	19.64 <sup>b</sup>	19.16 <sup>c</sup>	1.31 <sup>a</sup>	1.22 <sup>a</sup>	77.61 <sup>a</sup>	78.03 <sup>a</sup>
LD	1.12 <sup>a</sup>	1.17 <sup>a</sup>	21.02 <sup>a</sup>	20.62 <sup>a</sup>	0.73 <sup>c</sup>	0.68 <sup>b</sup>	76.60 <sup>b</sup>	77.06 <sup>b</sup>
SS	1.15 <sup>a</sup>	1.11 <sup>b</sup>	10.11 <sup>c</sup>	19.69 <sup>b</sup>	1.04 <sup>b</sup>	1.03 <sup>a</sup>	77.77 <sup>a</sup>	77.99 <sup>a</sup>

<sup>abc</sup>ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละสมมติเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1 ค่าที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้อยู่, 2 ค่าที่ได้จากการทดลองของ จันทรพร เจ้าทรัพย์ และ คณะ (2554)

ซึ่งจากการศึกษาของ Von Seggern *et al.* (2005) ที่ทำการศึกษาในโค พบว่ากล้ามเนื้อ IF มีปริมาณไขมันสูงที่สุด รองลงมาคือ LD และ SS โดยมีปริมาณไขมันเป็น 9.18, 7.74 และ 4.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณเถ้าของ SS มีปริมาณสูงที่สุดรองลงมาคือ LD และ IF โดยมีค่าเท่ากับ 1.37, 1.37 และ 1.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้อย่างพบว่าเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล้ามเนื้อ IF ที่ทำการศึกษา มีไขมันสูงที่สุด และ พบว่าเปอร์เซ็นต์เถ้าในกล้ามเนื้อ IF น้อยที่สุดเช่นกัน

ผลการศึกษาปริมาณไกลโคเจนครั้งนี้พบว่าในกล้ามเนื้อ LD มีปริมาณไกลโคเจนสูง กว่ากล้ามเนื้อ IF และ SS ( $P=0.006$ ) (ตารางที่ 4.4) ซึ่งชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อมีผลต่อปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ ปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ จะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ทั้งจากภายนอกและภายใน เช่น พันธุ์ อายุ อาหาร ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ และการจัดการในกระบวนการฆ่าเป็นต้น โดยทั่วไป fast type-IIb muscle จะมีปริมาณไกลโคเจน สูงกว่า slow type I muscle (Karlsson *et al.* 1999; Schiaffino and Reggiani. 1996) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ โดย จากการศึกษาปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อทั้ง 3 ชนิด ของโคพื้นเมืองจังหวัดอุบลราชธานี พบว่า ในกล้ามเนื้อ LD มีปริมาณไกลโคเจนสูงที่สุด ซึ่งผลจากการแยกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อพบว่ามี MHC IIx ในกล้ามเนื้อ LD มากที่สุด ซึ่งจัดอยู่ใน fast muscle ส่วนกล้ามเนื้อ IF และกล้ามเนื้อ SS มีปริมาณไกลโคเจนไม่ต่างกัน นอกจากนี้จากรายงานของ จันทรพร เจ้าทรัพย์ และคณะ (2554) ที่ทำการศึกษาปริมาณไกลโคเจนในเนื้อโคพื้นเมืองโดยพบว่า ปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ LD IF และ SS มีค่าเท่ากับ 33.50, 33.01, และ 24.38 ไมโครโมล/กรัม และได้ทำการศึกษาวัดค่า pH โดยพบว่า pH ที่ 48 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย ในกล้ามเนื้อ LD มีค่า pH ต่ำกว่า IF และ SS โดยให้เหตุผลว่า ค่า pH ของ กล้ามเนื้อ LD ที่ต่ำกว่ากล้ามเนื้อ IF และ SS อาจเนื่องมาจากปริมาณไกลโคเจนที่สูงกว่ากล้ามเนื้ออื่นๆ ซึ่งอัตราการลดลงของค่า pH ภายหลังสัตว์ตายที่สูงกว่านั้นเนื่องมาจากมีการสะสมไกลโคเจนที่สูง ดังนั้นภายหลังสัตว์ตาย การสลายพลังงานจะเป็นแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งทำให้กรดแลคติกสูงมีผลให้ค่า pH ลดลงมาก

#### 4.4 การศึกษาค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลาย ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุก และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Thawing loss, Cooking loss, Warner-Bratzler shear force)

ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายที่ระยะเวลาบ่มที่ 2 และ 7 วัน พบว่ากล้ามเนื้อ LD มีการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) รองลงมาคือ กล้ามเนื้อ SS และ IF ตามลำดับ ( $P<0.01$ ) ค่าการสูญเสียน้ำหนักระหว่างการปรุงสุกที่ระยะเวลาบ่มที่ 2 และ 7 วัน พบว่ากล้ามเนื้อ SS มีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกสูงที่สุด ( $P<0.01$ ) รองลงมาคือกล้ามเนื้อ LD และ IF ตามลำดับ และค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่เวลาบ่ม 2 และ 7 วัน ในกล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าที่กล้ามเนื้อ LD มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงที่สุด รองลงมาคือ SS และ IF ตามลำดับ ( $P<0.01$ ) (ตารางที่ 4.5)

**ตารางที่ 4.5** ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายน้ำแข็ง ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุก และค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ (Thawing loss, Cooking loss, Warner-Bratzler shear force) ระยะเวลาบ่ม 2 และ 7 วัน ในกล้ามเนื้อ 3 ชนิด ของโคพื้นเมืองในเขตจังหวัด อุบลราชธานี (N = 14)

ลักษณะที่ศึกษา	IF	LD	SS	SEM	P-value
สูญเสียน้ำระหว่างการทำละลาย (%)					
2 วัน	3.85 <sup>b</sup>	12.07 <sup>a</sup>	4.71 <sup>b</sup>	0.815	0.0001
7 วัน	4.78 <sup>c</sup>	12.14 <sup>a</sup>	8.21 <sup>b</sup>	1.02	<0.0001
สูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุก (%)					
2 วัน	27.05 <sup>b</sup>	29.77 <sup>b</sup>	35.44 <sup>a</sup>	1.446	<0.0001
7 วัน	28.33 <sup>c</sup>	37.59 <sup>b</sup>	41.45 <sup>a</sup>	2.199	0.0004
ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (กิโลกรัม)					
2 วัน	6.14 <sup>c</sup>	8.74 <sup>a</sup>	7.34 <sup>b</sup>	0.38	<0.0001
7 วัน	5.57 <sup>c</sup>	9.23 <sup>a</sup>	7.11 <sup>b</sup>	0.38	<0.0001

<sup>abc</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

ผลการศึกษาในครั้งนี้ใกล้เคียงกับการทดลองของ Shackelford *et al.* (1995) ที่ได้ศึกษาในกล้ามเนื้อโคลูกผสมบราห์มัน พบว่ากล้ามเนื้อสันใน กล้ามเนื้อใบพาย กล้ามเนื้อตะพาน กล้ามเนื้อสันนอก และ กล้ามเนื้อสันในเทียม มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเรียงจากน้อยไปมากโดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็น 2.6 2.7 3.5 4.1 และ 4.3 กก. ตามลำดับ Hwang *et al.* (2010) รายงานว่า PM ซึ่งมีชนิดกล้ามเนื้อเป็น slow muscle มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำที่สุด รองลงมาคือ LD และ SM ตามลำดับ ซึ่งเหตุผลที่กล้ามเนื้อ IF มีความนุ่มมากที่สุดอาจเนื่องมาจากอิทธิพลของไขมัน โดยไขมันจะช่วยลดปริมาณโปรตีนต่อหน่วยของเนื้อ โดยจะลดความหนาแน่นของโปรตีน ส่งผลทำให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังชี้ให้เห็นว่าไขมันที่แทรกอยู่ระหว่างเซลล์ของกล้ามเนื้อ หรือภายในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน จะช่วยลดแรงที่ใช้ในการตัดเนื้อ นอกจากนี้ไขมันยังเป็นตัวเชื่อมระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อ เพิ่มการรับรู้ความนุ่มของเนื้อ (Savell and Cross, 1988; Calkins and Sullivan, 2007) ในการทดลองครั้งนี้ยังพบความแตกต่างของการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายที่ระยะเวลาการบ่ม 2 และ 7 วัน ในกล้ามเนื้อทั้ง 3 ชนิด โดยกล้ามเนื้อ LD มีแนวโน้มในการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายสูงกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่น เป็นดังที่ Honikel *et al.* (1986) กล่าวว่า ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายจะเพิ่มขึ้นตามความยาวซาร์โคเมียร์ที่ลดลง ซึ่งในผลการทดลองครั้งนี้ LD มีความยาวซาร์โคเมียร์สั้นที่สุด ( $P < 0.01$ ) และมีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายมากที่สุดทั้งการบ่มที่ 2 และ 7 วัน ( $P < 0.01$ ) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนเวลาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกที่ระยะเวลาการต้ม 2 และ 7 วัน พบกล้ามเนื้อ IF มีเปอร์เซ็นต์ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกต่ำที่สุด อาจเป็นเพราะการสูญเสียน้ำของกล้ามเนื้อนั้นเกี่ยวข้องกับปริมาณไขมัน Savell and Cross (1988) อธิบายทฤษฎีเกี่ยวกับไขมันว่า ไขมันมีผลต่อความชุ่มน้ำของเนื้อโดยทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อเพิ่มขึ้น เมื่อนำเนื้อไปปรุงสุก ไขมันเหล่านี้จะไปเคลือบเส้นใยกล้ามเนื้อจะไม่ให้หดตัว และสูญเสียน้ำในเนื้อมากเกินไป ทำให้เนื้อมีความนุ่ม และจากผลการทดลองนี้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของ IF มีค่าต่ำที่สุดในขณะที่มีปริมาณไขมันสูงที่สุดอีกด้วย ทั้งนี้ Yu *et al.* (2005) รายงานว่าค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการประกอบอาหาร และค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายอาจเกี่ยวข้องกับหลายๆปัจจัย เช่น ระยะเวลาการต้ม ขั้นตอนและวิธีการปรุง อุณหภูมิและระยะเวลาในการปรุงอาหาร ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณไขมันแทรก

#### 4.5 ความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา

ผลการศึกษความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา (ตารางที่ 4.6) พบสหสัมพันธ์ระหว่างชนิดของ MHC กับลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองที่ศึกษาโดยในการศึกษาครั้งนี้พบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของ MHC กับ ปริมาณไกลโคเจน โดยพบสหสัมพันธ์เชิงลบระหว่าง MHC-I กับ ปริมาณ ไกลโคเจน ( $P < 0.01$ ) สหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่าง MHC-IIx กับปริมาณ ไกลโคเจน ( $P < 0.01$ )

พบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของ MHC กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อโดยพบสหสัมพันธ์เชิงลบระหว่างค่าแรงตัดผ่านเนื้อกับ MHC-I ( $P < 0.01$ ) และ MHC-IIa ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่พบสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างค่าแรงตัดผ่านเนื้อกับ MHC-IIx ( $P < 0.01$ )

พบความสัมพันธ์ระหว่างค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายที่ระยะเวลาต้ม 2 และ 7 วัน กับชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยพบสหสัมพันธ์เชิงลบกับ MHC-I ( $P < 0.01$ ) และ MHC-IIa ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่พบสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ MHC-IIx ( $P < 0.01$ ) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกกับชนิดของ MHC

พบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อบางส่วนประกอบทางเคมีในเนื้อพบว่า MHC-I มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับเปอร์เซ็นต์โปรตีน ( $P < 0.01$ ) และมีสหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์ไขมัน ( $P < 0.01$ ) และสหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์ความชื้น ( $P < 0.05$ ) ส่วน MHC-IIx พบมีสหสัมพันธ์เชิงลบกับ เปอร์เซ็นต์ไขมัน ( $P < 0.01$ ) และความชื้น ( $P < 0.01$ ) และพบสหสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์โปรตีน ( $P < 0.05$ ) ส่วน MHC-IIa พบเพียงสหสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์ไขมัน ( $P < 0.01$ ) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ชนิดของ MHC ทั้ง 3 ชนิดไม่พบความสัมพันธ์กับ

เปอร์เซ็นต์เด้า ทั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ระหว่างขนาดเส้นใย กล้ามเนื้อและระหว่างความยาวซาร์โคเมอร์กับลักษณะอื่นๆที่ทำการศึกษา

นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณไกลโคเจนมีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำระหว่างการทำละลาย ( $P<0.01$ ) และ กับเปอร์เซ็นต์โปรตีน ( $P<0.05$ ) ในขณะที่พบสหสัมพันธ์เชิงลบกับเปอร์เซ็นต์ความชื้น ( $P<0.01$ ) แต่ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) กับเปอร์เซ็นต์ไขมัน และเปอร์เซ็นต์เด้า

การศึกษาครั้งนี้พบว่ามีความสัมพันธ์ของเส้นใยกล้ามเนื้อกับลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองที่ศึกษา สอดคล้องกับ Ozawa *et al.* (2000) ที่พบสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของเส้นใยกล้ามเนื้อและคุณภาพเนื้อ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อกับปริมาณไกลโคเจน โดย MHC type IIx มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณไกลโคเจน ดังที่ Choe *et al.* (2008) กล่าวว่า กล้ามเนื้อที่มีไกลโคเจน และ กรดแลคติกต่ำในช่วงต้นภายหลังสัตว์ตายจะประกอบด้วยเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด type I อยู่สูง และ type IIB ต่ำ เมื่อเทียบกับกล้ามเนื้อที่มีไกลโคเจนและกรดแลคติกสูงจะมีชนิดเส้นใย type IIB ในสัดส่วนที่สูงด้วย ปริมาณไกลโคเจนส่งผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญมากที่สุดประการหนึ่งที่มีผลต่อกระบวนการทางผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สามารถตัดสินได้จากค่าการสูญเสีย น้ำขณะเก็บรักษา (drip loss) ค่าการสูญเสีย น้ำขณะประกอบอาหาร (cooking loss) ค่าการสูญเสีย น้ำระหว่างการทำละลาย (thawing loss) และ ค่าการสูญเสีย น้ำขณะปิ้งย่าง (grilling loss) โดยภายหลังสัตว์ตายเกิดการสลายตัวของไกลโคเจน และสะสมอยู่ในรูปของกรดแลคติกในกล้ามเนื้อ หรือค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อโดยจะมีผลทำให้โปรตีนเสียสภาพไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อกับค่าการสูญเสีย น้ำระหว่างการทำละลาย โดย MHC-I มีความสัมพันธ์เชิงลบกับค่าการสูญเสีย น้ำระหว่างการทำละลาย และ MHC-IIx มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าการสูญเสีย น้ำระหว่างการทำละลาย ใกล้เคียงกับ Ryu and Kim (2005) ที่รายงานว่าสัดส่วนของเส้นใยกล้ามเนื้อ type IIb ที่มากขึ้นและเส้นใยกล้ามเนื้อ type I และ type IIa ลดลงส่งผลให้ค่าการสูญเสีย น้ำขณะเก็บรักษาและค่าความสว่างเนื้อเพิ่มมากขึ้น โดยค่าการสูญเสีย น้ำขณะเก็บรักษา (drip loss) มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนของเส้นใยกล้ามเนื้อ type IIb คือเมื่อจำนวนของเส้นใยกล้ามเนื้อ type IIb เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ค่าการสูญเสีย น้ำขณะเก็บรักษา เพิ่มมากตามไปด้วย ในขณะที่เดียวกันกล้ามเนื้อที่มีเส้นใย type I และ type IIa มากกว่ามีผลให้ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อเพิ่มมากขึ้น และ Seideman (1985) ทำการศึกษาเส้นใยกล้ามเนื้อของโคในกลุ่ม *Bos indicus* เปรียบเทียบกับโคกลุ่ม *Bos taurus* ผลการทดลองพบว่า โคกลุ่ม *Bos indicus* มีจำนวนของเส้นใยชนิด type I มากกว่าอีกทั้งมี type IIa และ type IIb น้อยกว่าโคในกลุ่ม *Bos taurus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสัมพันธ์เชิงลบระหว่าง MHC type I กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ซึ่งขัดกับรายงานของ Ryu and Kim (2005) ที่รายงานว่าเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด type I จะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยกล้ามเนื้อ LD (type IIx) มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่ากล้ามเนื้อ IF (type I) ซึ่งอาจเป็นเพราะอิทธิพลของไขมัน และหรือความยาวซาร์โคเมอร์ โดย Hwang *et al.* (2010) รายงานว่าปริมาณไขมันมีความสัมพันธ์เชิงลบกับเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด IIA และ IIB ซึ่งเป็น fast fiber สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ไขมันมีความสัมพันธ์เชิงลบกับเส้นใยกล้ามเนื้อ type IIx ซึ่งเป็น fast type

ความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อกับองค์ประกอบทางเคมี พบว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ type I มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์ไขมันและความชื้น แต่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับเปอร์เซ็นต์โปรตีน ในทางตรงกันข้าม เส้นใยกล้ามเนื้อ type IIx มีความสัมพันธ์เชิงลบกับเปอร์เซ็นต์ไขมัน และความชื้น แต่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์โปรตีน เนื่องมาจากโดยทั่วไปแล้วกล้ามเนื้อ type I จะมีการสะสมพลังงานในรูปของไขมันมากกว่าในกล้ามเนื้อ type II และ Calkins *et al.* (1982) รายงานว่าเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด type IIB ( $\alpha$ -white) จะมีความสัมพันธ์เชิงลบกับไขมันแทรก ในขณะที่เดียวกันเส้นใยกล้ามเนื้อ type IIA ( $\alpha$ -red) มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับไขมันแทรก นอกจากนี้ยังพบรายงานที่ว่า เส้นใยชนิด type IIA มีความสัมพันธ์เชิงลบกับไขมันแทรกในกล้ามเนื้อของโคลูกผสม (May *et al.* 1977) และการศึกษาในโค Japanese black พบว่ากล้ามเนื้อชนิด  $\alpha$ -red มีความสัมพันธ์เชิงลบกับ marbling score (Ozawa *et al.* 2000; Goto *et al.* 1994) ด้วยเหตุนี้กล้ามเนื้อ IF (type I) จึงมีความนุ่มมากที่สุดเนื่องจากอิทธิพลของไขมัน ดังนั้นความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ไขมันสอดคล้องกับ Hwang *et al.* (2010) ที่รายงานว่าปริมาณไขมันมีความสัมพันธ์เชิงลบกับเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด IIA และ IIB ซึ่งเป็น fast fiber นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงลบของโปรตีนกับความชื้น ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากไขมัน ดังรายงานของ Nuernberg *et al.* (2005) และ Sami *et al.* (2004) อ้างโดย จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ คณะ (2553) ที่พบว่าโคที่เลี้ยงในระบบการจัดการอาหารแบบ การเลี้ยงแบบพัฒนา (*intensive*) ที่เลี้ยงขังคอกและขุนด้วยอาหารชั้นที่มีพลังงานสูงจะมีปริมาณไขมันแทรกในเนื้อสูงและมีค่าความชื้นต่ำกว่าโคที่เลี้ยงในระบบการจัดการอาหารที่เลี้ยงแบบธรรมชาติ (*extensive*) มีรายงานพบว่าเนื้อแดงมีโปรตีนและความชื้นสูงกว่าเนื้อที่มีไขมันสูง ดังเช่น ในกล้ามเนื้อสันนอกของโคที่มีไขมันน้อย จะมีโปรตีน 18.6 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 64 เปอร์เซ็นต์ กล้ามเนื้อสันนอกของโคที่มีไขมันปานกลาง มีโปรตีน 16.9 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 57 เปอร์เซ็นต์ กล้ามเนื้อสันนอกของโคที่มีไขมัน มีโปรตีน 15.6 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 53 เปอร์เซ็นต์ กล้ามเนื้อสันนอกของโคที่มีไขมันมาก มีโปรตีน 12.8 เปอร์เซ็นต์ และ

ความชื้น 44 เปอร์เซ็นต์ (เขวาลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์, 2536) ดังนั้นเนื่องจากโคที่ทำการศึกษาค้างนี้  
เลี้ยงแบบปล่อยหากินเองตามธรรมชาติ จึงได้รับสารอาหารพลังงานต่ำทำให้ไขมันแทรกในเนื้อ  
ต่ำ จึงทำให้เนื้อมีเปอร์เซ็นต์โปรตีน และความชื้นสูง

จากการศึกษาค้างนี้สามารถสรุปได้ว่า กล้ามเนื้อ LD จะมีคุณลักษณะเป็น fast type  
เนื่องมาจากมี MHC-IIx สูง มีปริมาณไกลโคเจนสูง มีไขมันน้อย ความยาวซาร์โคเมียร์น้อยกว่า  
กล้ามเนื้อ IF ซึ่งมีคุณลักษณะเป็น slow type เนื่องจากมีปริมาณ MHC-I สูง และจากการศึกษาค้างนี้  
พบว่ากล้ามเนื้อ IF มีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อ LD อาจเนื่องมาจากปริมาณไขมันที่มากกว่า และ  
มีความยาวซาร์โคเมียร์มากกว่า



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา

Trait	MHC-IIa	MHC-IIx	diameter	SL	glycogen	SF <sub>2</sub>	TL <sub>2</sub>	CL <sub>2</sub>	SF <sub>7</sub>	TL <sub>7</sub>	CL <sub>7</sub>	%Protein	%Fat	%Moisture	%Ash
MHC-I	0.21	-0.95**	0.11	0.16	-0.50**	-0.45**	-0.70**	-0.02	-0.53**	-0.56**	-0.24	-0.39**	0.38**	0.50*	-0.23
MHC-IIa		-0.49**	-0.04	0.10	-0.16	-0.30*	-0.32*	0.26	-0.17	-0.37*	0.20	-0.10	0.45**	0.00	-0.01
MHC-IIx			-0.09	-0.18	0.50**	0.49**	0.72**	-0.06	0.52**	0.61**	0.15	0.38*	-0.45**	-0.45**	-0.21
diameter				0.21	0.14	0.24	-0.02	-0.20	0.18	0.02	-0.10	0.21	-0.20	-0.01	-0.02
SL					0.18	-0.11	-0.03	-0.07	-0.12	0.00	-0.27	-0.05	0.24	0.00	-0.12
glycogen						0.29	0.48**	0.02	0.20	0.33*	0.11	0.38*	-0.08	-0.48**	-0.04
SF <sub>2</sub>							0.55**	0.15	0.88**	0.60**	0.43**	0.31**	-0.32*	-0.47	0.21
TL <sub>2</sub>								0.02	0.57**	0.71**	0.22	0.29	-0.31	-0.55**	0.05
CL <sub>2</sub>									0.18	0.15	0.62**	-0.09	0.28	0.05	0.13
SF <sub>7</sub>										0.50**	0.47	0.25	-0.39	-0.46	0.26
TL <sub>7</sub>											0.28	0.29	-0.20	-0.36*	0.25
CL <sub>7</sub>												0.04	0.06	-0.16	0.24
%Protein													-0.19	-0.33*	0.12
%Fat														-0.05	0.13
%Moisture															-0.11

\* P<0.05,\*\*P<0.01,I = myosin heavy chain type I, IIa=myosin heavy chain type IIa, IIx= myosin heavy chain type IIx, diameter = muscle fiber diameter , SL = sarcomere

length, glycogen = glycogen content, SF= shear force value at 2 day post mortem, TL = Thawing loss, CL = cooking loss

## บทที่ 5

# สรุปและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อต่อคุณลักษณะเนื้อโคพื้นเมืองไทยโดยทำการศึกษาในโคพื้นเมืองจังหวัดอุบลราชธานีที่เลี้ยงแบบปล่อยหากินตามทุ่งหญ้าธรรมชาติ อายุประมาณ 2 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 150 กิโลกรัมจำนวน 14 ตัว โดยศึกษาในกล้ามเนื้อ 3 ชนิด คือ กล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*; LD) กล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*; IF) และกล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*; SS) ผลการศึกษาพบดังนี้

1. ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อในกล้ามเนื้อของโคพื้นเมืองไทย ที่ทำการจำแนกโดยหลักการ electrophoresis สามารถแยกได้ตามชนิดของ myosin heavy chain ได้ 3 ชนิด คือ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx โดยพบว่า กล้ามเนื้อ LD มีปริมาณของ MHC-IIx มากที่สุดในขณะที่มี MHC-I น้อยที่สุด ซึ่งเป็นลักษณะของ fast fiber ส่วนกล้ามเนื้อ SS มีลักษณะเป็น Intermediate fiber ซึ่งมีคุณสมบัติระหว่าง fast fiber กับ slow fiber และกล้ามเนื้อ IF มีลักษณะเป็น slow fiber เนื่องจากมีปริมาณ MHC-I มากที่สุด

2. ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อ IF และ SS มีขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่กว่า LD ส่วนความยาวซาร์โคเมอร์ ของ IF มีความยาวมากที่สุด รองลงมาคือ SS และ LD ตามลำดับ

3. ค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ของ LD มีค่าแรงตัดผ่านสูงที่สุด รองลงมาคือ SS และ IF ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไอน้ำระหว่างทำการละลายของ LD สูงกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่น ส่วนเปอร์เซ็นต์การสูญเสียไอน้ำระหว่างการปรุงสุกของ กล้ามเนื้อ IF มีต่ำที่สุด

4. ปริมาณไขมันในกล้ามเนื้อ พบว่ากล้ามเนื้อ LD มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนมากที่สุด กล้ามเนื้อ IF มี เปอร์เซ็นต์ไขมันมากที่สุดใน ส่วนเปอร์เซ็นต์ความชื้นในกล้ามเนื้อ IF และ SS มีมากเท่าๆ กัน และเปอร์เซ็นต์เถ้ามีน้อยสุดในกล้ามเนื้อ IF

5. ปริมาณไกลโคเจนของกล้ามเนื้อ LD มีปริมาณไกลโคเจนมากที่สุด รองลงมาคือ กล้ามเนื้อ SS และ IF ตามลำดับ

6. ความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อกับคุณลักษณะเนื้อโคพื้นเมืองไทยที่ทำการศึกษาสรุปได้ดังนี้

6.1) MHC-I มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับปริมาณ ไกลโคเจน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะเวลาการบ่ม 2 วัน ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างทำการละลายที่ระยะเวลาการบ่ม 2 และ 7 วัน และเปอร์เซ็นต์โปรตีน แต่มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับเปอร์เซ็นต์ไขมัน และเปอร์เซ็นต์ความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2) MHC-IIa มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะเวลาการบ่ม 2 วัน ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างทำการละลายน้ำแข็งที่ระยะเวลาการบ่ม 2 และ 7 วัน แต่มีสหสัมพันธ์เชิงบวก เปอร์เซ็นต์ไขมัน

6.3) MHC-IIx มีความสัมพันธ์เชิงลบ กับเปอร์เซ็นต์ไขมันและเปอร์เซ็นต์ความชื้น แต่มีความสัมพันธ์เชิงบวก กับปริมาณไกลโคเจน ค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ระยะเวลาการบ่ม 2 วัน ค่าการสูญเสียไอน้ำระหว่างทำการละลายที่ระยะเวลาการบ่ม 2 และ 7 วัน

โดยสรุปแล้วชนิดของกล้ามเนื้อมีคุณลักษณะเนื้อที่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจาก ตำแหน่งที่ตั้งของกล้ามเนื้อ หน้าที่การทำงานที่แตกต่างกันออกไปของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด และส่วนประกอบอื่นๆที่ต้องทำการศึกษา ดังนั้น กล้ามเนื้อแต่ละชนิดจึงมีคุณลักษณะที่มีความแตกต่างกันออกไป เมื่อศึกษาคุณลักษณะของกล้ามเนื้อแต่ละชนิดได้ ก็สามารถที่จะบอกข้อมูลพื้นฐานที่สามารถโยงเชื่อมกับข้อมูลลักษณะอื่นได้ เพื่อนำมาศึกษาในการวิจัยเชิงลึกของโคพื้นเมืองไทยต่อไป

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาคุณลักษณะอื่นๆ เพิ่มเติมเพื่อให้ผลการวิจัยเห็นความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น และควรทำการศึกษาในกล้ามเนื้อชนิดอื่นๆ เพื่อให้มีข้อมูลเพิ่มมากยิ่งขึ้น
2. ศึกษาในกล้ามเนื้อชนิดอื่นเพื่อจัดกลุ่มชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อในมัดกล้ามเนื้ออื่นๆ เช่น ในกล้ามเนื้อสะโพกมีหลายมัดกล้ามเนื้อซึ่งอาจมีชนิดเส้นใยที่ต่างกัน (เช่น กล้ามเนื้อ *Semimembranosus* เป็นตัวแทนกล้ามเนื้อสะโพกที่ใช้ในการวัดค่า pH โดยเทียบกับกล้ามเนื้ออื่นนอกซึ่งเป็น white type)
3. ควรทำศึกษาในโคพื้นเมืองสายพันธุ์แท้เลือด 100 เปอร์เซ็นต์

## บรรณานุกรม

- กรมปศุสัตว์. 2547. **มาตรฐานของลักษณะประจำพันธุ์โคเนื้อ**. กรุงเทพฯ : กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- จัญญ์ จันทลักษณ์. 2515. **การผลิตโคเนื้อ**. ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จันทร์พร เจ้าทรัพย์ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล นวลพรรณ งามยี่สุน และ ปิยะดา ทวีศรี 2554. “ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อเอนไซม์ calpains และคุณภาพเนื้อ” โครงการศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.).
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2539. **เอกสารประกอบการสอนวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ชั้นสูง**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, จันทร์พร เจ้าทรัพย์, ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ และปิยะดา ทวีศรี. 2545. “ผลของระดับอาหารชั้นและการบ่มเนื้อที่มีต่อคุณภาพเนื้อโคนม.” วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 33: 341-345
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ และปิยะดา ทวีศรี. 2551. “ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของซาร์โคเมอร์และความนุ่มของเนื้อโคขุนกำแพงแสนในระยะเวลาการบ่มต่างๆ.” หน้า 160-163. ใน **การประชุมวิชาการทางสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4**. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ, ปิยะดา ทวีศรี, อินทรพรอุดม และปิยะดา ทวีศรี. 2553. “คุณภาพเนื้อของโคพื้นเมืองและโคลูกผสมพันธุ์ต่างๆ ภายใต้ระบบการผลิตเนื้อโคและระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน.” วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28 (2) ฉบับพิเศษ: 17-25.
- ชัยณรงค์ กันธพนิต. 2529. **วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์**. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.
- ปิยะดา ทวีศรี. 2544. “อิทธิพลของชนิดสัตว์เคี้ยวเอื้องและอัตราการเจริญเติบโตต่อคุณภาพเนื้อ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิชัย. 2536. **เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สหมิตรออฟเซต.
- สมมาตร สุวรรณมาโจ ปิยะศักดิ์ สุวรรณิ สมพร โชคเจริญ ชานาญ ดงปาลี และ เยาวลักษณ์ เป็รัมย์กุลเหลื่อม. 2547. **มาตรฐานของลักษณะประจำพันธุ์โคเนื้อ**. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. 52 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัจชัย จตุรติงศา. 2530. “การศึกษาการเปรียบเทียบคุณภาพซากและสมบัติทางชีวเคมีบางประการระหว่างโคขุนลูกผสมพื้นเมืองและลูกผสมบราห์มัน x พื้นเมือง” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สัจชัย จตุรติงศา. 2551. **เทคโนโลยีเนื้อสัตว์**. เชียงใหม่ : มิ่งเมือง

สุกัญญา ยอดสร้อย. 2556. “คุณภาพซากและเนื้อของโคคอก โขขาวลำพูน และโคลูกผสมบราห์มันภายใต้สภาพการเลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติในเขตภาคเหนือของประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุจิตรา เลิศพฤษ. 2535. “เอกสารประกอบการบรรยาย วิชา ทอ 470 เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์เนื้อ” ภาควิชาอุตสาหกรรมการเกษตร คณะธุรกิจการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ เชียงใหม่.

สุนทรินทร์ ดวนใหญ่, วรวิทย์ ธนสุนทรสุทธิ, ปิยศักดิ์ สุวรรณิ และสมพงษ์ศักดิ์ แก้วกิ่ง. 2552. “การผลิตเนื้อโคธรรมชาติ: คุณภาพซากและคุณภาพเนื้อ.” หน้า 39-43 ใน การประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 1 17-18 ธันวาคม 2552 กรุงเทพฯ :

สวัสดิ์ ชรรณบุตร และ วนิตา กานิตเพ็ชร. 2542. การอนุรักษ์และพัฒนาสัตว์พื้นเมืองเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน. โครงการวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพด้านการปศุสัตว์ 2542-2546. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 74 หน้า.

Aberle, E.D. Forrest, J.C. Gerrard, D.E. Mills, E.W. Hedrick, H.B. Judge, M.D. and Merkel, R.A. 2001. **Principle of meat science** 4th ed. Dubuque, IA: Kendall/Hunt.

Adamo, K.B. and Graham, T.E. 1998. “Comparison of traditional measurements with macroglycogen and proglycogen analysis of muscle glycogen.” **The American Physiological Society** 908-913.

Alberts, B. Johnson, A. Lewis, J. Raff, M. Roberts, K. and Walter, P. 2002. “Molecular biology of the cell.” 4th ed. **Garland Science**. New York.

Alonso, M.D. Lomako, W.M. and Whelan, W.J. 1995. “A new look at the biogenesis of glycogen.” **The FASEB Journal** 9: 1126-1137.

Anderson, J.R. 1999. “Optical measurements of pH in meat.” **Meat Science** 53: 135-141.

Anonymous. 2015a. [Online] Available:[http://www.nooruse.ee/eope/opiobjektid/lihasfysiologia/lihasfysiologia\\_alused.html](http://www.nooruse.ee/eope/opiobjektid/lihasfysiologia/lihasfysiologia_alused.html). [4-09-2014]

Anonymous. 2015b. [Online] Available: <https://thetmonitor.wordpress.com/2012/09/10/rigor-mortis-and-protein-sex/> [20-01-2015]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Anonymous. 2015c. [Online] Available: <http://muscle.ucsd.edu/musintro/histochem.shtml>. [16-05-2013]
- Anonymous. 2015d. [Online] Available: <http://muscle.ucsd.edu/musintro/histochem.shtml>. [16-05-2013]
- Anonymous. 2015e [Online] Available: <http://www.ausmeat.com.au/custom-content/cdrom/Handbook-7th-edition/English/9CF5B7A8-F68A-11DA-AA4B-000A95D14B6E.html>. [23-04-2015]
- AOAC. 1995. “**Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.**” 16<sup>th</sup> ed. Washington D.C: Association of official Analysis Chemists.
- Bárány, M and Bárány, K. 2002. “Biochemistry of muscle contraction.” [Online]. Available: <http://www.uic.edu/classes/phyb/phyb516/index.htm>.
- 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.” **Livestock Production Science** 8: 385-397.
- Boron, W.F. and Boulpaep, E. L.2009. “Medical Physiology, 2nd Edition” Elsevier Ltd.
- Boweker, B.C. Grant, A.L. Forrest, J.C. and Gerrard, D.E. 2000. “Muscle metabolism and PSE pork”. In Proceeding of the American Society of Animal Science. **Journal of Animal Science** 79: 1-8.
- Calkins, C.R., Dutson, T.R., Smith, G.C. and Carpenter, G.L. 1982. “Concentration of creatine phosphate, adenine nucleotides and their derivatives in electrically stimulated and non-stimulated beef muscle.” **Journal of Food Science** 47: 1350-1353.
- Calkins, C.R. and Sullivan, G. 2007. Adding Enzymes to Improve Beef Tenderness. National Cattleman’s Beef Association.
- Cena, V., Halperin, J.I., Yeandle, S. and Klein, D.C. 1991. “Norepinephrine stimulates potassium efflux from pineal oocytes: evidence for involvement of biochemical and gate operated by calcium and adenosine 3', 5'-monophosphate.” **Endocrinology** 12: 559-569.
- Chikuni, K., Muroya, S. and Nakajima, I. 2004. “Myosin heavy chain isoforms expressed in bovine skeletal muscles.” **Meat Science** 67: 87-94.
- Choe, J. H., Choi, Y. M., Lee, S. H., Shin, H. G., Ryu, Y. C., Hong, K. C. and Kim, B. C. 2008. “The relationship between glycogen, lactate content and muscle fiber type composition,

- and their influence on postmortem glycolytic rate and pork quality”. **Meat Science** 80; 355–362.
- Choi, Y.M. and Kim, B.C. 2009. “Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoform and meat quality.” **Livestock Science** 122: 105-118.
- Cifuni, G. F., Napolitano, F., Riviezzi, A.M., Braghieri, A. and Girolami, A. 2004. “Fatty acid profile, cholesterol content and tenderness of meat from Podolian young bulls”. **Meat Science** 67: 289-297.
- Cross, H.R., West, R. L. and T. R. Duntson. 1981. Comparison of methods for measuring sarcomere length in beef semitendinosus muscle. **Meat Science** 5:261-266
- David, M., Johnston, W.G.M., Boling, J.A. and Bradley, N.W. 1981. “Influence of breed type, sex, feeding system, and muscle bundle size on bovine fiber type characteristics.” **Journal Food Science** 46: 1760-1765.
- Davis, J.P., Rall, A.A., Aliante, C. and Tikunova, S.B. 2004. “Mutation of hydrophobic residues in the N-terminal domain of troponin C affect calcium binding and exchange with the troponin C-troponin I96-148 complex and muscle force production.” **The Journal of Biological Chemistry** 17: 17348-17360.
- Dransfield, E. 1994. “Optimisation of tenderization, ageing and tenderness.” **Meat Science**. 36: 105-121.
- Fiedler, I., Ender, K., Wicke, M., Maak, S., Lengerken, G. and Meyer, W. 1999. “Structural and functional characteristics of muscle fibers in pigs with different malignant hyperthermia susceptibility (MHS) and different meat quality.” **Meat Science**. 53: 9-15.
- Foegeding, E.A. Lanier, T.C. and Hultin, H.O. 1996. “Characteristics of edible muscle tissue.” In Fennema, O.R., ed. **Food Chemistry**. Marcel Dekker, New York, pp. 879-942.
- Fry, A.C., Allemeier, C.A. and Staron, R.S. 1994. “Correlation between percentage fiber type area and myosin heavy chain content in human skeletal muscle”. **European Journal of Applied Physiology** 68:246–251
- Garcia, S.P., Andres, B.A. and Martinez, M.J. 2006. “Effect of cooking method on mechanical properties, color, and structure of beef muscle (M. pectoralis)”. **Journal of Food Engineering** 80 (3): 813-821.
- Geesink, G.H. Kuchay, S. Chishti, A.H. and Koohmaraie, M. 2006. “ $\mu$ -calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins”. **Journal of Animal Science**. 84: 2834-2840.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Goto, T., H. Iwamoto, Y. Ono, S. Nishimura, K. Matsuo, Y. Nakanishi, R. Umetsu and H. Takahara, 1994. Comparative study on the regional composition of fiber types in M. Longissimus Thoracis with different marbling scores for Japanese Black steers. **Japanese Society of Animal Science** 65 (5): 454-463.
- Hämäläinen, N. and Pette, D. 1995. "Patterns of myosin isoforms in mammalian skeletal muscle Fiber." **Microscopy Research and Technique** 30: 381-389.
- Hannula, T. and Puolanne, E. 2004. "The effect of cooling rate on beef tenderness: The significance of pH at 7 °C." **Meat Science** 67: 403-408
- Hemmings, K.M. Parr, T. Daniel, Z.C.T.R. Picard, B. Buttery, P.J. and Brameld, J.M. 2009. "Examination of myosin heavy chain isoform expression in ovine skeletal muscles." **Journal of Animal Science** 87:3915-3922
- Ho, C.Y. Stromer, M.H. and Robson, R.M. 1994. "Identification of 30 kDa polypeptide in postmortem skeletal muscle as a degradation product of troponin-T." **Journal of Biochemistry and Molecular Biology** 76: 396-375.
- Honikel, K.O., Kim, C.J. Hamm, R. and Roncales, P. 1986. "Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss." **Meat Science** 16: 267-282.
- Honikel, K.O. and Hamm, R. 1994. "Measurement of water-holding capacity and juiciness" 125-159. In Pearson A.M. and Dutson. T.R. **Advance in Meat Research-Volum9**. London: Chapman & Hall.
- Hopkin, P.M. 2005. **Foundations of anesthesia**. 2nd ed. Mosdy, London.
- Hopkins, D.L. and Thompson, J.M. 2002. "The degradation of myofibrillar protein in beef and lamb using denaturing electrophoresis- An overview". **Journal of muscle Foods** 13: 81-102.
- Hui, Y.H. Legarretta, I.G. Lim, M.H. Murrell, M.D. and Nip, W.K. 2004. **Handbook of Frozen Foods**. CRC Press Publisher. New York, United States of America. 1293 p.
- Hwang Y., Kim, G. Jeong, J. Hur, S. and Joo, S. 2010. "The relationship between muscle fiber characteristics and meat quality traits of hight marble Hanwoo (Korean native cattle) steers." **Meat Science** 86 (2): 456-61.
- Joo, S.T. Kim, G.D. Hwang, Y.H. and Ryu, Y.C. 2013. "Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics" **Meat Science** 95(4): 828.

- Jones, S.W., Parr, T., Sensky, P.L., Scothern, G.P., Bardsley, R.G. and Buttery, P.J. 1999. Fibre type-specific expression of p94, a skeletal muscle-specific calpain. **Journal of Muscle Research and Cell Motility** 20: 417-424
- Karlsson, A.H., Klont, R.E. and Fernandez, X. 1999. "Skeletal muscle fibres as factors for pork Quality." **Livestock Production Science** 60: 255-269.
- Kirchofer, K.S., Calkins, C.R. and Gwartney, B.L. 2002. "Fiber-type composition of muscle of the beef chuck and round." **Journal of Animal Science** 80: 2872-2878.
- Klont, R.E., Brocks, L. and Eikelenboom, G. 1998. "Muscle fiber type and meat quality." **Meat Science** 49: 216-229.
- Koohmaraie, M. 1994. "Muscle proteaseases and meat aging." **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., Babiker, A.S., Schroeder, A.L., Merkel, R.A. and Dutson, T.R. 1988. "Acceleration of postmortem tenderization in ovine carcasses through activation of Ca<sup>2+</sup> dependent proteases." **Journal of Food Science** 53: 1638.
- Lefaucheur, L. and Gerrard, D. 1998. "Muscle fiber plasticity in farm mammals". **Proceedings of Animal Science** 1-19
- Lefaucheur, L. 2010. "A second look into fiber typing - Relation to meat quality." **Meat Science**. 84: 257-270.
- Lehninger, L., Nelson, A.L., David, L.C. and Michael, M. 1982. Principles of Biochemistry. NY, NY: Worth Publishers.
- Lengerken, G von. Maak, S. and Wicke, M. 2002. "Muscle metabolism and meat quality of pigs and poultry." **Veterinarija ir Zootechnika**. 20: 82-86.
- Leo, M.L.N. and Fidel, T. 2008. **Handbook of Muscle Foods Analysis**. CRC Press. 984 p.
- Lomako, J. Lomako, W.M. and Whelanm, W.J. 1991. "Proglycogen: a low molecular weight form of muscle glycogen." **FEBS Letters**. 279: 223-228.
- Lomako, J. Lomako, W.M. Whelanm, W.J. Dombro, R.S. Neary, J.T. and Norenberg, M.D. 1993. "Glycogen synthesis in the astrocyte: from glycogenin to proglycogen." **FASEB Journal** 7: 1386-1393.

- Maher, S.C., Mullen, A.M., Buckley, D.J., Kerry, J.P. and Moloney, A.P. 2005. “The influence of biochemical differences on the variation in tenderness of *M. Longissimus dorsi* of Belgian Blue steers managed homogenously pre and post-slaughter.” **Meat Science** 69(2): 215-224.
- Maccatrozzo, L., Patrino, M., Toniolo, L., Reggiani, C. and Mascarello, F. 2004. Myosin heavy chain 2B isoform is expressed in specialized eye muscles but not in trunk and limb muscles of cattle. **European Journal of Histochemistry** 49; 357-366.
- May, M.L., Dickman, M.E. and Scalles, R. 1977. “Longissimus muscle histological characteristics of Simmental\_Angus, Hereford\_Angus and Limousin\_Angus cross-bred steers as related to carcass composition and meat palatability traits.” **Journal of Animal Science** 44: 571–580
- Monin, G., Mejenes-Quijano, A., Talmant, A. and Sellier, P. 1987. “Influence of breed and muscle metabolic type on muscle glycolytic potential and meat pH in pigs” **Meat Science** 20: 149-158
- Myhre, J. Layne and Pilgrim, David B. 2012. “At the Start of the Sarcomere: A Previously Unrecognized Role for Myosin Chaperones and Associated Proteins during Early Myofibrillogenesis” **Biochemistry Research International**. Volume 2012, Article ID 712315, 16 pages
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. 2005. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company.
- Nuernberg, K., Dannenberger, D., Nuernberg, G., Ender, K., Voigt, J., Scollan, N.D., Wood, J.D., Nute, G.R. and Richardson, R.I. 2005. “Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds.” **Livestock Production Science** 94: 137-147.
- Oury, M.P. Dumont, R. Jurie, C. Hocquette, J.F. and Picard, B. 2010. “Specific fibre composition and metabolism of the rectus abdominis muscle of bovine Charolais cattle.” **BMC Bioinformatics** 11: 12.
- Ozawa, S. Mitsuhashi, T. Mitsumoto, M. Mastsumoto, S. Itoh, N. Itagaki, K. Kohno, Y. and Dohgo, T. 2000. “The characteristics of muscle fiber types of longissimus thoracis muscle and their influences on the quantity and quality of meat from Japanese Black steers.” **Meat Science** 54: 65-70.

- Peinado, B. Latorre, R. Vázquez-Autón, J. M. Poto, A. Ramírez, G. López-Albors, O. Moreno, F. and Gil, F. 2004. "Histochemical Skeletal Muscle Fibre Types in the Sheep." **Anatomia, Histologia, Embryologia** 33: 236–243
- Pearson, A.M. and Young, R.B. 1989. "**Muscle and Meat Biochemistry.**" San Diego:Academic Press. California.
- Pette, D. and Staron, R. S. 1990. "Cellular diversity of mammalian muscle fibers. **News in Physiological Sciences** 8: 153-157.
- Pethick, D.W. Fergusson, G.E. Gardner, J.F. Hocquette, J.M. Thompson and Wamer, R. 2004. "Muscle metabolism in relation to genotypic and environmental influences on consumer defined quality of red meat." In Hocquette, J.F. and Gigli S. (ed), **Indicators of milk and beef quality.** Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherland: 95-110.
- Picard, B. Robelin, J., Pons, F. and Geay Y. 1994. Comparison of the fetal development of fiber types in four bovine muscles. **Journal of Muscle Research and Cell Motility** 15:473–48
- Picard, B. Barboiron, C., P. Duris, M., Gagnière, H., Jurie, C. and Geay Y. 1999. Electrophoretic separation of bovine muscle myosin heavy chain isoforms. **Meat Science** 53:1–7.
- Picard, B. Lefaucheur, L. Berri, C. and Duclos, M.J. 2002. Muscle fiber ontogenesis in farm animal species. **Reproduction Nutrition Development** 42: 415-431.
- Picard, B. and Cassar-Malek, I. 2009. "Evidence for expression of IIB myosin heavy chain isoform in some skeletal muscles of Blond d'Aquitaine bulls." **Meat Science** 82: 30-36.
- Picard, B. Barboiron C, Chadeyron D, and Jurie C. 2011. "Protocol for high-resolution electrophoresis separation of myosin heavy chain isoforms in bovine skeletal muscle." **Electrophoresis** 32: 1804-1806.
- Raymond R. Stanley A., Done H. and Stephen W. Barnett. 2010. "**Color Atlas of Veterinary Anatomy**, Volume 1, The Ruminants." 2 ed. 272 pages
- Reggiani, C. and Mascarello, F. 2004. "Fibre Type Identification and Functional Characterization in Adult." Livestock Animals. In te Pas, M.F.W., Everts M.E. and Haagsman H.P. (ed), **Muscle Development of Livestock Animals Physiology, Genetics and Meat Quality.** CABI Publishing. Wallingford uk.
- Rhee, M.S. Wheeler, T.L. Shackelford, S.D. and Koohmaraie, M. 2004. "Variation in palatability and biochemical traits within and among eleven beef muscles." **Journal of Animal Science** 82: 534-550.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Talmadge, R. J. and Roy, R. R. 1993 “Electrophoretic separation of rat skeletal muscle myosin heavy-chain isoforms” **Journal of Applied Physiology** 75 (5): 2337-2340
- Rossi, A.C. Mammucari, C. Argentini, C. Reggiani, C. And Schiaffino, S. 2010. “ Two novel/ancient myosins in mammalian skeletal muscles: MYH14/7b and MYH15 are expressed in extraocular muscles and muscle spindles.” **Journal of Physiology** 588(2): 353–336
- Ryu, Y.C. and Kim, B.C. 2005. “ The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate and meat quality of pig longissimus dorsi muscle.” **Meat Science** 71: 351-357.
- Sami, A.S. Augustini, C. and Schwarz, F.J. 2004. “Effect of feeding intensity and time on feed on performance, carcass characteristics and meat quality of Simmental.” **Meat Science** 69 : 195-201.
- Savell, J.W. and Cross, H.R. 1988. “**The role of fat in palatability of beef, pork and lamb.**” *Designing Foods: Animal Product Option in the Marketplace.*, National Research Council, Washington, DC, 345-355.
- Seideman, Steven C., "Muscle Fiber Studies Comparing Bos Indicus and Bos Taurus Cattle" 1985. In Roman L. Hruska United States Meat Animal Research Center. Paper 60. <http://digitalcommons.unl.edu/hruskareports/60>
- Schantz, P. Henriksson, J and Jansson, E. 1983. “ Adaptation of human skeletal muscle to endurance training of long duration.” **Clinical Physiology** 3: 141-151.
- Schiaffino, S. and Reggiani, C. 1996. “Molecular diversity of myofibrillar proteins, gene regulation and functional significance.” **Physiological Reviews** 76: 371-423.
- Shackelford, S.D. Wheeler, T.L. and Koohmaraie, M. 1995. “Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from Bos indicus and Bos taurus cattle”. **Journal of Animal Science** 73: 3333-3340.
- Stickland, N.C. Elsie, M. Widdowson and Goldspink, G. 1975. “ Effect of sever energy and protein deficiencies on the fiber and nuclei in skeletal muscle of pigs.” **British Journal of Nutrition** 34: 421-428.
- Takasuga, A1., Watanabe T., Mizoguchi Y., Hirano T., Ihara N., Takano A., Yokouchi K., Fujikawa A., Chiba K., Kobayashi N., Tatsuda K., Oe T., Furukawa-Kuroiwa M., Nishimura-Abe A., Fujita T., Inoue K., Mizoshita K., Ogino A. and Sugimoto Y. 2007.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- “ Identification of bovine QTL for growth and carcass traits in Japanese Black cattle by replication and identical-by-descent mapping.” **Mammalian Genome** 18: 125-136
- Talmadge, R. J. and Roy, R. R. 1993 “Electrophoretic separation of rat skeletal muscle myosin heavy-chain isoforms” **Journal of Applied Physiology** 75 (5): 2337-2340
- Talmadge, R.J. 2000. “Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: Potential regulatory mechanisms.” **Muscle Nerve** 23: 661-679.
- Taylor, R.G. Geesink, G.H. Thompson, V.F. Koohmaraie, M. and Gool, D.E. 1995. “Is Z-disk degradation responsible for post-mortem tenderization.” **Journal of Animal Science** 73: 1351-1367.
- Toniolo, L. Maccatrozzo, L. Patruno, M. Caliaro, F. Mascarello, F. and Reggiani, C. 2005. “Expression of eight distinct MHC isoforms in bovine striated muscles : evidence for MHC-2B presence only in extra-ocular muscles.” **Journal of Experimental Biology** 208: 4243–4253.
- Tuma, H.J. Venable, J.H. Wuthier, P.R. and Henrickson, R.L. 1962. “Relationship of fiber diameter to tenderness and meatiness as influenced by Bovine age.” **Journal of Animal Science** 21: 33-36.
- Uytterhaegen, L. Claeys, E. and Demeyer, D. 1994. “Effects of exogenous protease effectors on beef tenderness development and myofibrillar degradation and solubility.” **Journal of Animal Science** 72: 1209-1223.
- Vandendriessche, F., Buts, B., Claeys, E. and Dendooven, R. 1984. Sarcomerelength by laser diffraction and light microscopy. In **Proceedings 30th European Meeting of Meat Research workers**. Gent: Gent University. 110-111.
- Von Seggern, D.D. Calkins, C.R. Johnson, D.D. Brickler, J.E. and Gwartney, B.L. 2005. “Muscle profiling: Characterizing the muscle of the beef chuck and round.” **Meat Science** 71: 39-51.
- Ward, S.S. and Stickland, N.C. 1991. “Why are slow and fast muscle differential affected during prenatal under nutrition.” **Muscle Nerve** 14: 259-267.
- Waritthitham, A. Lambertz, C. Langholz, H.-J. Wicke, M. and Gauly, M. 2010. “Muscle fiber characteristics and their relationship to water holding capacity of longissimus dorsi muscle in Brahman and Charolais crossbred bulls.” **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**. 23(5) : 665 - 671

- Weydert, A. Daubas, P. Caravatti, M. Minty, A. Bugaisky, G. Cohen, A. Robert, B. and Buckingham, M. 1983. "Sequential accumulation of mRNAs encoding different myosin heavy chain isoforms during skeletal muscle development in vivo detected with a recombinant plasmid identified as coding for an adult fast myosin heavy chain from mouse skeletal muscle." **Journal of Biological Chemistry** 258: 13867-13874.
- Weiss, A., McDonough, D., Wertman, B., Acakpo-Satchivi, L., Montgomery, K., Kucherlapati, R., Leinwand, L. and Krauter, K. 1999. Organization of human and mouse skeletal myosin heavy chain gene clusters is highly conserved. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America** 96: 2958-2963
- Wheeler, T.L. and Koochmaraie, M. 1994. "Pre-rigor and post-rigor changes in tenderness of ovine longissimus muscle." **Journal of Animal Science** 72: 1232-1238.
- Wheeler, T.L. Savell, J.W. Cross, H.R. Lunt, D.K. and Smith, S.B. 1990. "Mechanism associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle." **Journal of Animal Science** 68: 4206-4220.
- Wu, A.H.B. 2004. "Role of cardiac troponin in the recent redefinition of acute myocardial infarction." **Clinical Laboratory Science** 17: 50-52.
- Xiong, Y.L. Moody, W.G. Blanchard, S.P. Liu, G. and Burris, W.R. 1996. "Postmortem proteolytic and organoleptic changes in hot-bond muscle from grass and grain-fed and Zeranol implanted cattle." **Food Research** 29: 27-34.
- Yu, L.H. Lee, E.S. Jeong, J.Y. Paik, H.D. Choi, J.H. and Kim, C.J. 2005. "Effects of thawing temperature on the physicochemical properties of pre-rigor frozen chicken breast and leg muscles. **Meat Science** 71 (2): 375-382.



## ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

#### สารเคมี

- 1) Neutral formalin
- 2) Sodium chloride (NaCl; Univer, Australia)
- 3) Potassium chloride (KCl; Ajax Finechem, Australia)
- 4) Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA; Univar, Australia)
- 5) Tris (hydroxymethyl) aminomethane Hydrochloride (Tris-Hcl; Vivantis, U.S.A)
- 6) Bovine serum albumin (BSA; Sigma, UK)
- 7) SDS (sodium dodecyl sulfate) (Bio Basic Inc., USA)
- 8) Glycine (Promega, USA)
- 9) APS (ammoniumpersulfate) (Ajax Finechem, Australia)
- 10) TEMED (tetramethylethylenediamine) (Bio Basic Inc., USA)
- 11) Tris (Promega, USA)
- 12) 2-mercaptoethanol (Merck, Germany)
- 13) Methanol (Univer, Australia)
- 14) Isopropanal (Merck, Germany)
- 15) 40% Acrylamide-bis (Invitrogen)
- 16) coomessie blue (Research organics, USA)
- 17) Ethanol (Merck, Germany)
- 18) Sodium acetate (Ajax Finechem, Australia)
- 19) Enzymatic glucose reagent (Thermo Scientific, Australia)
- 20) Amyloglucosidase (Sigma, USA)
- 21) Hydrochloric acid (HCl; Merck, Germany)
- 22) Acetic acid (Uniriver,Australia)
- 23) Glycerol (Univer, Australia)
- 24) Amyloglucosidase (Sigma, USA)
- 25) Enzymatic glucose reagent (Thermo Scientific, Australia)
- 26) Glutaraldehyde 25% (labachemie,India)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 27) NaPPi
- 28) Sodium Carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (Fisher Scientific,India)
- 29) Copper Sulfate (CuSO<sub>4</sub>) (Fisher Scientific,India)
- 30) Sodium hydroxide (NaOH) (Univer,Australia)
- 31) Potassium Sodium Tartate
- 32) Folin Ciocalteu reagent (labchemie,India)
- 33) Acrylamide bis 37.5:1 (Amresco, USA)
- 34) Sodium bicarbonate (NaHCO<sub>3</sub>)
- 35) Glucoso oxidase (Amresco, USA)
- 36) Pyronin Y (Sigma, USA)

### การเตรียมสารเคมี

#### วิเคราะห์ความยาวซาร์โคเมียร์

- Solution A (pH 7.1)

KCl	7.46 g
Boric acid	2.49 g
EDTA	1.85 g
Glutaraldehyde 25%	100 ml
Distilled water	700 ml

ละลาย KCl 7.46 กรัม boric acid 2.49 กรัม EDTA 1.85 กรัม ใน Distilled water 700 มิลลิลิตร เติม glutaraldehyde 25 % 100 มิลลิลิตร ทำการปรับค่า pH ให้ค่า pH = 7.1 หลังจากนั้นให้ทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำ Distilled water ให้ได้ 1 ลิตร เก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

- Solution B (pH 7.1)

KCl	1.86 g
Boric acid	2.49 g
EDTA	1.85 g
Glutaraldehyde 25%	100 ml
Distilled water	700 ml

ละลาย KCl 1.86 กรัม boric acid 2.49 กรัม EDTA 1.85 กรัม ใน Distilled water 700 มิลลิลิตร เติม glutaraldehyde 25 % 100 มิลลิลิตร ทำการปรับค่า pH ให้ค่า pH = 7.1 หลังจากนั้นให้ทำการปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ 1 ลิตร เก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิเคราะห์ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

- Neutral formalin 4%

Neutral formalin 40 %	100 ml
-----------------------	--------

Distilled water	900 ml
-----------------	--------

ผสม Neutral formalin 40 % ใน Distilled water ผสมให้เข้ากัน เก็บที่อุณหภูมิห้อง

- NaCl 0.9 %

NaCl	0.9 g
------	-------

Distilled water	70 ml
-----------------	-------

ละลาย NaCl ใน Distilled water แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

### วิเคราะห์ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ

การสกัดโปรตีนจากเนื้อโค

- Extraction buffer (20 mM NaPPi, 50 mM Tris/HCl pH 8, 1 mM EDTA, 0.5 mM NaCl, 1 mM DDT)

NaPPi	8.92 g
-------	--------

Tris	6.07 g
------	--------

EDTA	0.292 g
------	---------

NaCl	29.22 g
------	---------

DDT	0.154 g
-----	---------

Distilled water	700 ml
-----------------	--------

HCl

ละลาย NaPPi, Tris, EDTA, NaCl, DDT ด้วย Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้ได้ 8 ด้วย HCl แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

- 87 % glycerol

Glycerol 99.5 %	87 ml
-----------------	-------

Distilled water	13 ml
-----------------	-------

ผสม Glycerol 99.5 % ลงใน Distilled water คนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันเก็บที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 0.1 M NaOH

NaOH	4 g
Distilled water	700 ml

ละลาย NaOH ด้วย Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

### การวัดความเข้มข้นของโปรตีน

- Bovine serum albumin(BSA) in 0.1 M NaOH(5mg/ml)

#### 1) 0.1 M NaOH

NaOH	4 g
Distilled water	700 ml

ละลาย NaOH ด้วย Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

#### 2) BSA in 0.1 M NaOH (5mg/ml)

BSA	0.05 g
0.1 M NaOH	10 ml

ละลาย BSA ใน 0.1 M NaOH 10 ml

- Solution 1 (2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in 0.1 M NaOH, 1%  $\text{CuSO}_4$ , KNatartate)

#### 1) 2% $\text{Na}_2\text{CO}_3$ in 0.1 M NaOH

##### 1.1) 0.1 M NaOH

NaOH	4 g
Distilled water	700 ml

ละลาย NaOH ด้วย Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

##### 1.2) 2% $\text{Na}_2\text{CO}_3$ in 0.1 M NaOH

$\text{Na}_2\text{CO}_3$	2 g
0.1 M NaOH	70 ml

ละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ใน 0.1 M NaOH ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย 0.1 M NaOH เก็บที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) 1% CuSO<sub>4</sub>

CuSO <sub>4</sub>	1 g
Distilled water	70 ml

ละลาย CuSO<sub>4</sub> ใน Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

## 3) Potassium Sodium tartate (KNatartate)

**ผสม Solution 1**

2% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> in 0.1 M NaOH	5 ml
2% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> in 0.1 M NaOH	0.5 ml
KNatartate	0.5 ml

ผสมสารเคมีที่เตรียมไว้ให้เข้ากัน

## ● Solution 2 (0.1 M NaOH, Foline ciocalteu reagent )

## 1) 0.1 M NaOH

NaOH	4 g
Distilled water	700 ml

ละลาย NaOH ด้วย Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

## 2) ผสม Solution 2

0.1 M NaOH	5 ml
Foline ciocalteu reagent	0.5 ml

ผสมสารเคมีที่เตรียมไว้ให้เข้ากัน

**วิเคราะห์ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ ด้วย Electrophoresis**

## ● สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจล

- 1) Acrylamide 40%
- 2) 37.5:1 Acrylamide : bis-acrylamide solution
- 3) 2 M Tris-HCl pH 8.8

Tris	242.28 g
Distilled water	700 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลาย Tris ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้ได้ 8.8 ด้วย HCl แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

4) 1M Tris-HCl pH 6.8

Tris	121.14 g
Distilled water	700 ml
HCl	

ละลาย Tris ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้ได้ 6.8 ด้วย HCl แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

5) 1 M Glycine

Glycine	75.07 g
Distilled water	700 ml

ละลาย Glycine ใน Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

6) 100 mM EDTA

EDTA	29.30 g
Distilled water	700 ml

ละลาย EDTA ใน Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

7) 87% glycerol

Glycerol 99.5 %	87 ml
Distilled water	13 ml

ผสม Glycerol 99.5 % ลงใน Distilled water คนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันเก็บที่อุณหภูมิห้อง

8) 10% SDS

SDS	10 g
Distilled water	70 ml

ละลาย SDS ใน Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

9) TEMED

10) 10% Ammonium persulphate (APS)

Ammonium persulphate	0.1 g
----------------------	-------

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Distilled water	1 ml
-----------------	------

ละลาย APS ใน Distilled water 1 ml (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

- Loading buffer (2x)

Glycerol 87%	20 ml
SDS	8 g
1 M Tris-HCl, pH 6.8	25 ml
Pyronin Y	20 mg
Distilled water	70 ml

ผสม Glycerol 87%, 1 M Tris-HCl (pH 6.8), SDS และ Pyronin Y ใน Distilled water และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

- Upper running buffer (10x) (1 M Tris, 1.5 M Glycine, 1% SDS)

Tris	121.14 g
Glycine	112.605 g
1% SDS	10 g

ละลาย Tris, Glycine และ SDS ใน Distilled water คนให้ละลายแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ใช้เพียง 1x นำ upper running buffer 10x ที่เตรียมมา 100 ml จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

- Lower running buffer

นำ upper running buffer (1x) มา 500 ml เติม Distilled water 500 ml ผสมให้เข้ากัน เก็บที่อุณหภูมิห้อง

- Fixing solution และ Destain solution (30% ethanol, 5% acetic acid)

Ethanol	300 ml
Acetic acid	50 ml
Distilled water	500 ml

ผสม Ethanol และ Acetic acid ลงใน Distilled water แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Stain solution ( 25% isopropanol, 10% acetic acid, 0.2 % coomassieblue)

Isopropanol	250 ml
Acetic acid	100 ml
Coomassieblue	2 g
Distilled water	500 ml

ผสม isopropanol และ Acetic acid ใน Distilled water จากนั้นค่อยๆใส่ Coomassieblue คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water แล้วกรองตะกอนด้วยผ้าขาวบาง เก็บที่อุณหภูมิห้อง

### วิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจน

- 8% Perchloric acid

Perchloric acid	115 ml
Distilled water	700 ml

ผสม Perchloric acid ลงใน Distilled water จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml เก็บที่อุณหภูมิห้อง

- 5 M Sodium bicarbonate

Sodium bicarbonate	420 g
Distilled water	1,000 ml

ละลาย Sodium bicarbonate ใน Distilled water จากนั้นดูดเฉพาะส่วนใสเก็บไว้ใช้ เก็บที่อุณหภูมิห้อง

- 0.2 M Sodium acetate pH 4.8

Sodium acetate	27.22 g
Distilled water	700 ml

ละลาย Sodium acetate ใน Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้ได้ 4.8 แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

- Amyloglucosidase (100 unit/ml)

Amyloglucosidase	267 $\mu$ l
Distilled water	733 $\mu$ l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสม amylosucosidase ใน Distilled water เขย่าให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

- Glucose oxidase

เติม Distilled water 50 ml ลงในขวด Glucose oxidase เขย่าให้เข้ากัน เก็บในอุณหภูมิ เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข



(ก)

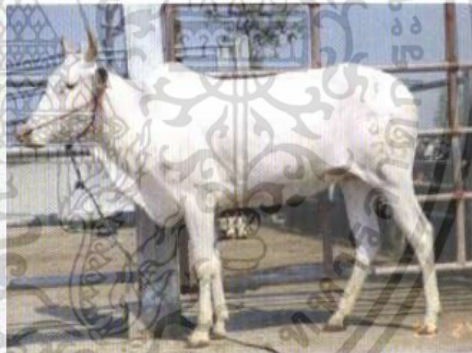


(ข)

ภาพผนวกที่ 1 โคพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อีสาน) (ก) โคอีสานเพศผู้ (ข) โคอีสานเพศเมีย  
ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2547)



(ก)



(ข)

ภาพผนวกที่ 2 โคพื้นเมืองภาคเหนือ (ก) โคขาวลำพูนเพศผู้ (ข) โคขาวลำพูนเพศเมีย  
ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)

ภาพหมวดที่ 3 โคพื้นเมืองภาคใต้ (โคชน) (ก) โคใต้เพชรผู้ (ข) โคใต้เพชรเมีย  
ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2547)

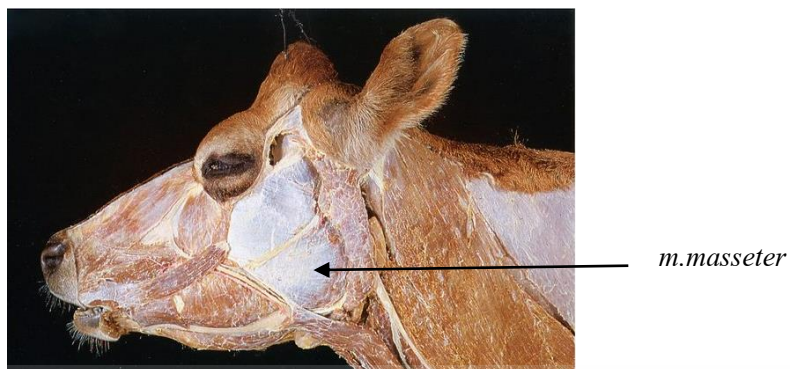


(ก)

(ข)

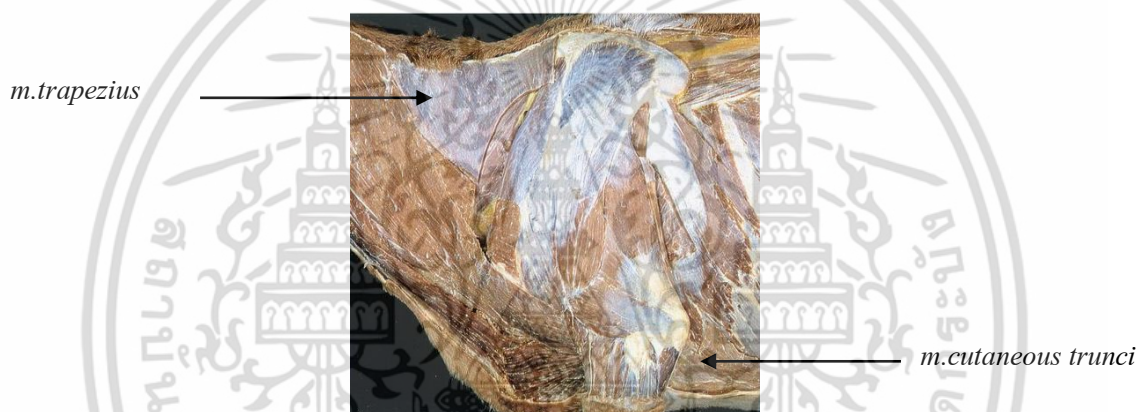
ภาพหมวดที่ 4 โคพื้นเมืองภาคกลาง (โคลาน) (ก) โคลานเพชรผู้ (ข) โคลานเพชรเมีย  
ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



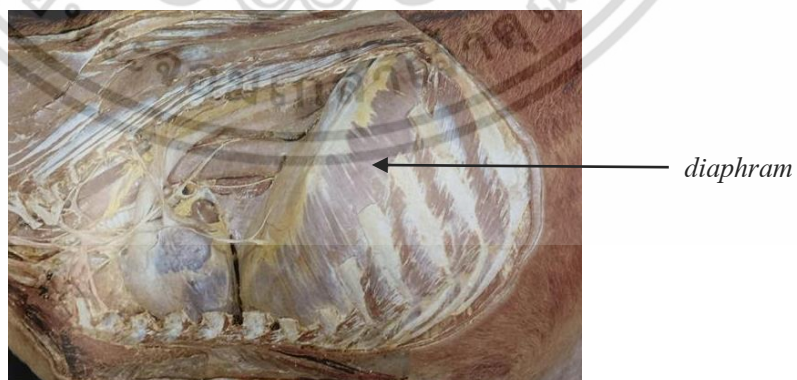
ภาพผนวกที่ 5 ตำแหน่งกล้ามเนื้อแก้ม (*Masseter*; MA)

ที่มา : Raymond *et al.* (2010)



ภาพผนวกที่ 6 ตำแหน่งกล้ามเนื้อไหล่ (*Trapezius*; TZ) และกล้ามเนื้อคิวกาเนียสทรงสี่เหลี่ยม (*Cutaneous trunci*; CT)

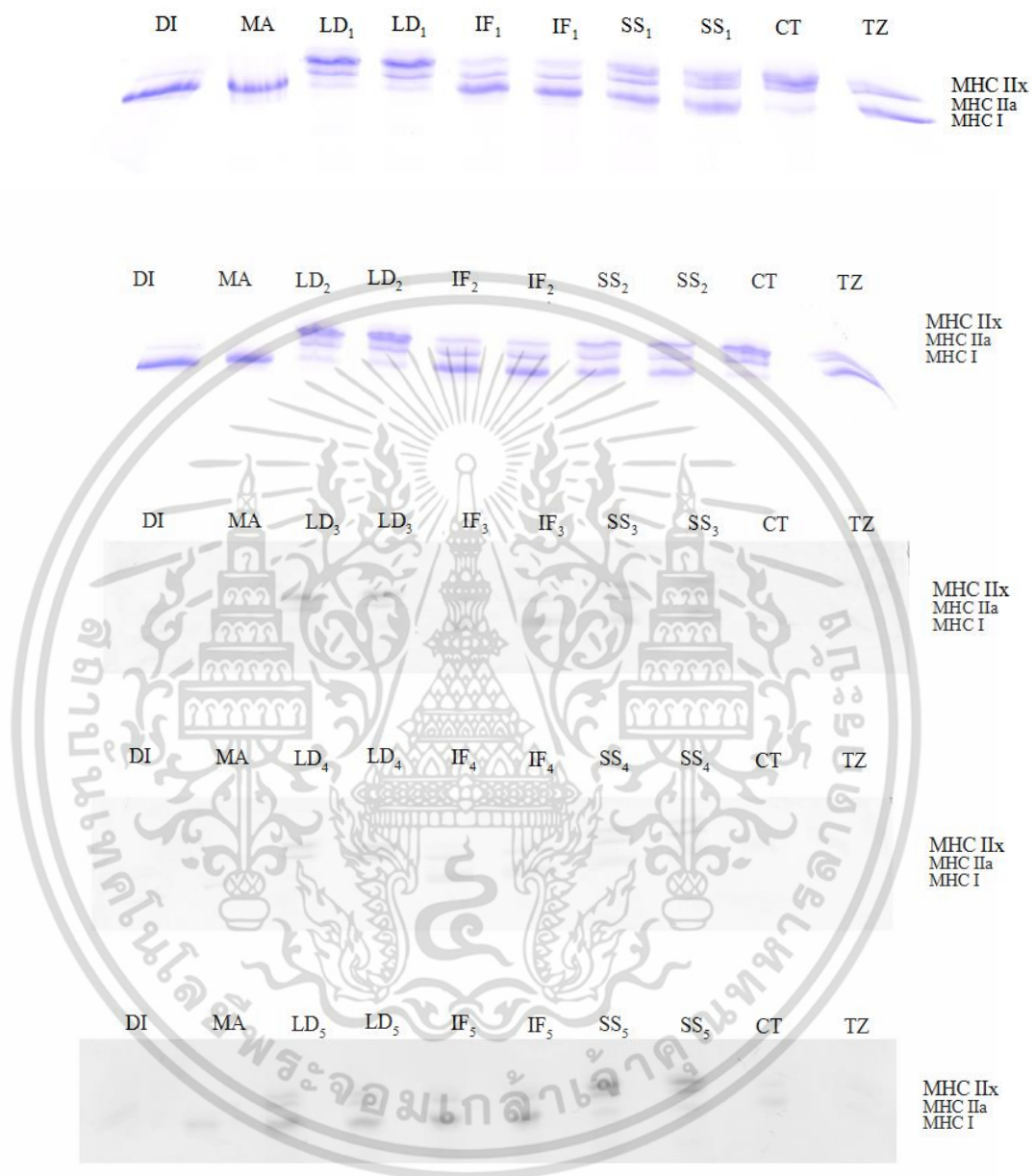
ที่มา : Raymond *et al.* (2010)



ภาพผนวกที่ 7 ตำแหน่งกล้ามเนื้อกะบังลม (*Diaphragm*; DI)

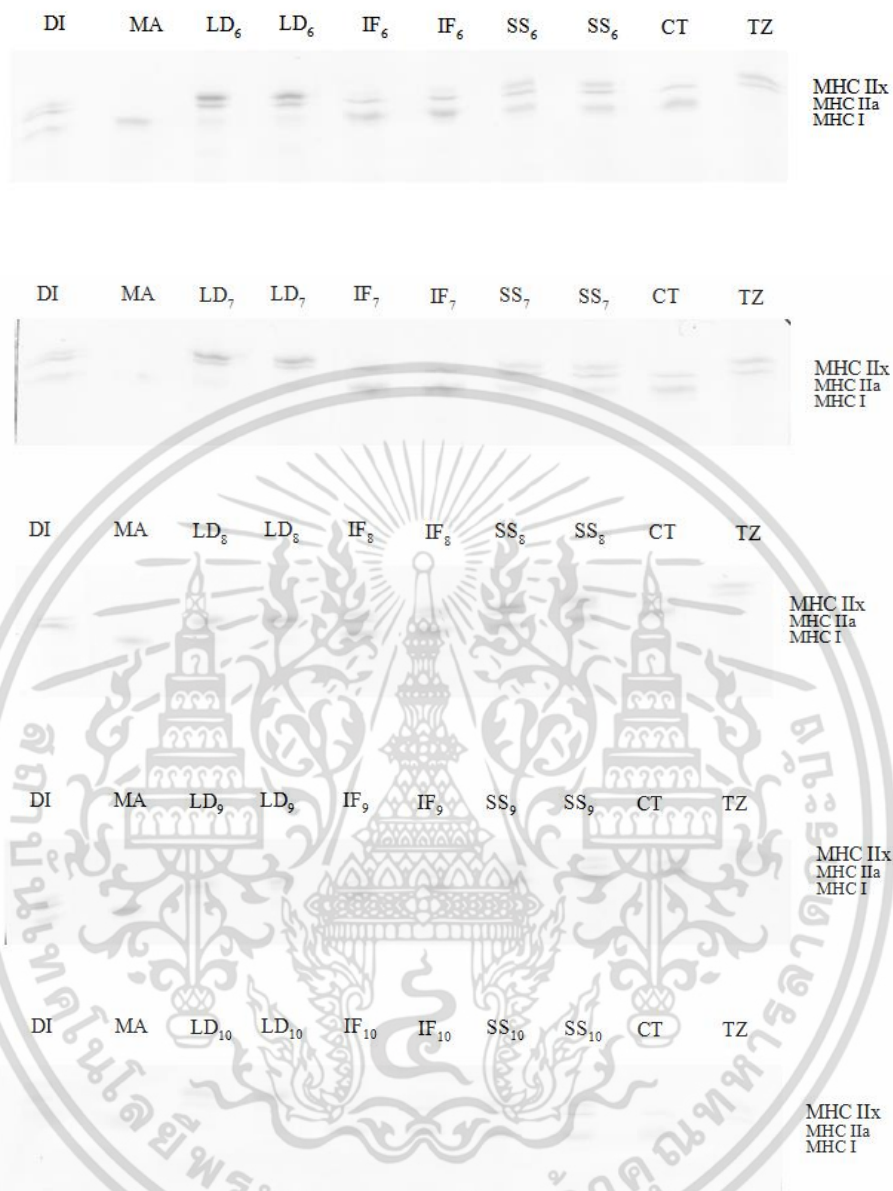
ที่มา : Raymond *et al.* (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพผนวกที่ 8** รูปแบบที่แสดงออกของ Myosin Heavy Chain (MHC) แยกด้วยเทคนิค electrophoresis LD มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx, IF มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx SS มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx และกล้ามเนื้อมาตรฐานระบุตำแหน่งชนิด MHC isoform DI มี MHC-I และ MHC-IIa, MA มี MHC-I, CT (*Cutaneous trunci*) มี MHC-IIa และ MHC-IIb, TZ (*Trapezius*) MHC-I และ MHC-IIa, <sub>1,2,3,4,5</sub> = โคตัวที่ 1,2,3,4,5

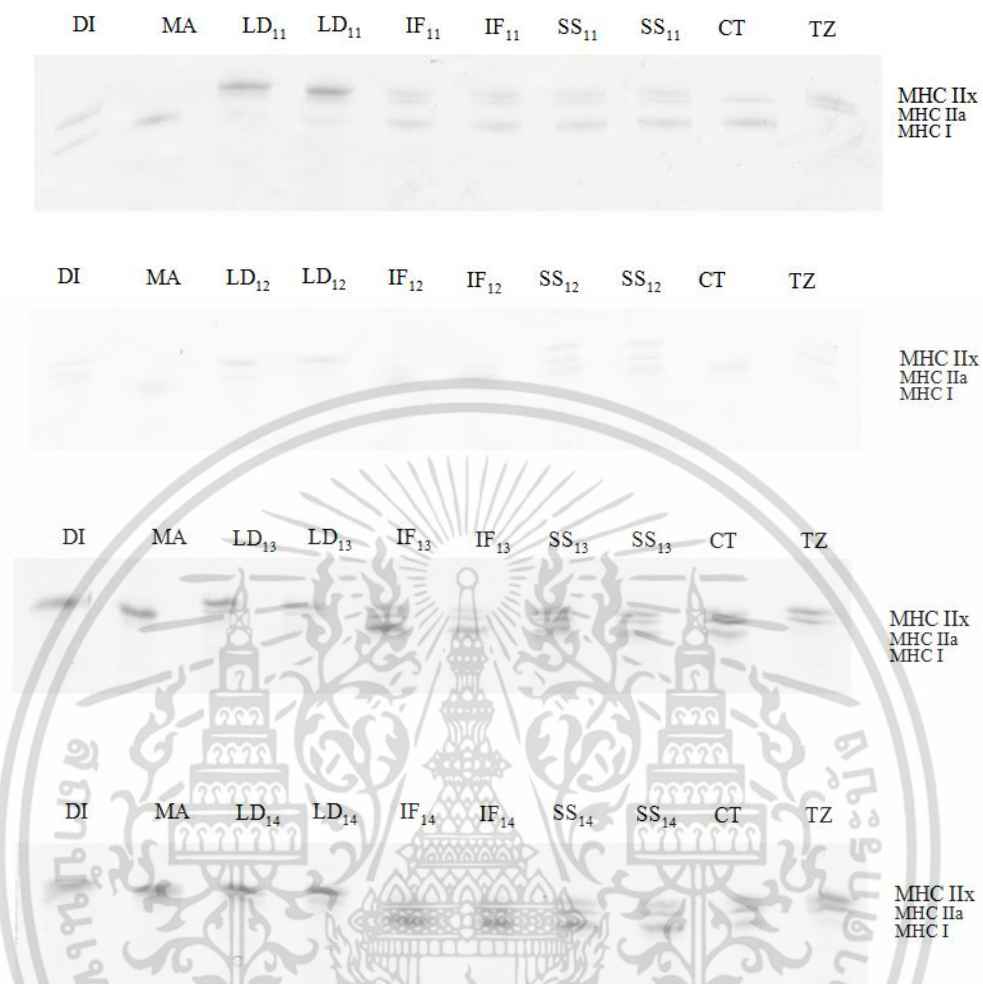
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 9 รูปแบบที่แสดงออกของ Myosin Heavy Chain (MHC) แยกด้วยเทคนิค

electrophoresis LD มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx, IF มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx SS มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx และกล้ามเนื้อมาตรฐานระบุตำแหน่งชนิด MHC isoform DI มี MHC-I และ MHC-IIa, MA มี MHC-I, CT มี MHC-IIa และ MHC-IIb, TZ MHC-I และ MHC-IIa, <sub>6,7,8,9,10</sub> = โคตัวที่ 6,7,8,9,10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพผนวกที่ 10** รูปแบบที่แสดงออกของ Myosin Heavy Chain (MHC) แยกด้วยเทคนิค electrophoresis LD มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx, IF มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx SS มี MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx และกล้ามเนื้อมาตรฐานระบุตำแหน่งชนิด MHC isoform DI มี MHC-I และ MHC-IIa, MA มี MHC-I, CT มี MHC-IIa และ MHC-IIb, TZ MHC-I และ MHC-IIa, <sub>11,12,13,14</sub> = ใจตัวที่ 11,12,13,14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางผนวกที่ 1 น้ำหนักโคมิชีวิต

ตัวที่	น้ำหนักโคมิชีวิต
1	133.5
2	141.5
3	131.5
4	143
5	150
6	157
7	145
8	176
9	153
10	185
11	148.5
12	156
13	167
14	180
น้ำหนักโคมิชีวิตเฉลี่ย±SD	153.36±19.31*

\* P < 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวทิพยาภรณ์ กุลี
วัน เดือน ปีเกิด	4 ตุลาคม 2531
ที่อยู่	111 หมู่ 10 ตำบลท่าหลวง อำเภอท่าเรือ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13130
ประวัติการศึกษา	2553 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ
ผลงานวิชาการ	ผลงานตีพิมพ์ “ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวซาร์โคไมเออร์และขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อกับความนุ่มของเนื้อโคพื้นเมืองไทยจากจังหวัดอุบลราชธานี.” ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ครั้งที่ 3. วันที่ 21-22 มิถุนายน พ.ศ. 2555. โรงแรมรามาร์คาร์เดนส์ กรุงเทพฯ หน้า 102-107.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้