

อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์

INFLUENCE OF MUSCLE TYPES ON MEAT QUALITY
OF CROSSBRED BOER GOAT



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AG-M-031-218

อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์

**INFLUENCE OF MUSCLE TYPE ON MEAT QUALITY
OF CROSSBRED BOER GOAT**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AG-M-031-218

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**INFLUENCE OF MUSCLE TYPE ON MEAT QUALITY
OF CROSSBRED BOER GOAT**



**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
KMITL-2016-AG-M-031-218**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2016

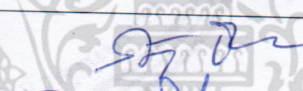

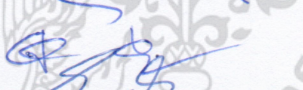
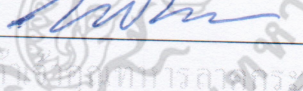
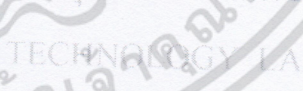
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์
Influence of muscle types on meat quality of crossbred Boer goat
นักศึกษา นางสาวอภิษฎา พึ่งสุข
รหัสประจำตัว 54640402
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา สัตวศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.รณชัย สิริทริโกพงษ์
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 สิริทริโกพงษ์	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 18 พฤษภาคม 2559
สถานที่สอบ ห้องประชุมคณะเทคโนโลยีการเกษตร (ชั้น 1 ตึกบุนนาค L)

คณบดีรับรองแล้ว

มณฑล เกษมณี.

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑล เกษมณี)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

วันที่ 27 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณภาพเนื้อแพะ
นักศึกษา	ลูกผสมพันธุ์บอร์
รหัสประจำตัว	นางสาวอภิษฐา พึ่งสุข
ปริญญา	54640402
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	สัตวศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร.รณชัย สิริทิไกรพงษ์
	รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล
	ผศ.ดร. จันท์พร เจ้าทรัพย์

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณภาพเนื้อแพะ โดยทำการศึกษาในแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ เพศผู้ จำนวน 10 ตัว ซึ่งเป็นแพะที่มีระดับเลือดสายพันธุ์บอร์ 50 เปอร์เซ็นต์และมีน้ำหนักเข้ามาเฉลี่ย 26.52 ± 3.53 กิโลกรัม เลี้ยงด้วยอาหารข้นโปรตีน 12 เปอร์เซ็นต์และหญ้าสดเป็นอาหารหยาบ นาน 3 เดือน โดยกล้ามเนื้อที่ศึกษาครั้งนี้คือกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimusdorsi*; LD) กล้ามเนื้อสันใน (*Psoas major*; PM) กล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*; SS) และกล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*; IF) ผลการศึกษา พบว่า LD มีปริมาณของ MHC IIx มากที่สุด ($P < 0.01$) SS และ IF มีลักษณะเป็น slow fiber เนื่องจากมีปริมาณ MHC I สูง ($P < 0.01$) และ PM มีลักษณะ Intermediate fiber เพราะว่ามีปริมาณ MHC I MHC IIa และ MHC IIx ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน PM มีความยาวซาร์โคเมียร์มากที่สุด คือ 2.03 ไมครอน และมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กที่สุด คือ 70.73 ไมครอน ($P < 0.01$) ขณะที่ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อใน SS มีขนาดใหญ่ที่สุด คือ 101.64 ไมครอน ($P < 0.01$) การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ calpain ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย พบว่า calpain 1 และ calpain 2 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ที่ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย พบว่า IF มีค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2 มากที่สุด ($P < 0.01$) PM มีค่า a^* สูงที่สุด ($P < 0.01$) และ IF มีค่า L^* สูงที่สุด ($P < 0.01$) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงของ SS และ PM สูงกว่า IF และกล้ามเนื้อ LD ($P < 0.01$) ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของ LD และ SS มีค่าสูงกว่า ($P < 0.01$) IF ในขณะที่ PM มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำที่สุด ปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อแพะทั้ง 4 ชนิด พบว่า คอลลาเจนที่ละลายได้ ใน SS มีค่าสูงที่สุด ($P < 0.01$) IF มีค่า คอลลาเจนที่ไม่ละลาย สูงที่สุด ($P < 0.01$) นอกจากนี้พบว่า คอลลาเจนรวม ใน IF มีค่ามากที่สุด และยังพบว่า เปอร์เซ็นต์คอลลาเจนที่ละลายได้ ใน LD มีค่ามากที่สุด อีกด้วย ปริมาณไกลโคเจนของกล้ามเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์พบว่า LD มีปริมาณไกลโคเจนมากที่สุด ($P < 0.01$) การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อต่อคุณลักษณะเนื้อพบว่า MHC-I มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ MHC-IIa และ MHC-IIx มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ pH_{24h}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ไปยังเว็บไซต์อื่นใดโดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ cooking loss ($r = 0.39$) MHC-IIa มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ insoluble collagen, total collagen ($r = -0.49$) และ % solubility ($r = -0.86$) MHC-IIx มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ, calpain 1_{9h}, calpain 2_{9h}, pH_{24h} มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ ปริมาณไกลโคเจน โดยสรุปจากการศึกษาพบว่า LD มีคุณลักษณะเป็น Fast type เพราะมี MHC-IIx สูงอีกทั้งยังมีการสะสมปริมาณ ไกลโคเจนสูงอีกด้วย ในขณะที่ SS มีคุณลักษณะเป็น Slow type เพราะมีปริมาณ MHC-I สูง และ PM มีคุณลักษณะเป็น intermediate เพราะมีปริมาณ MHC-I, IIa, และ IIx ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ PM ยังมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กที่สุด และมีความยาวซาร์โคเมอร์ที่ยาวที่สุด ส่งผลให้ PM มีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้ออื่นที่ทำการศึกษา



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Influence of muscle types on meat quality of Boer crossbred goat
Student	Miss Apichaya Pungsuk
Student ID.	54640402
Degree	Master of Science
Program	Animal Science
Year	2015
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Ronachai Sitthiripong
Thesis Co-Advisor	Assoc. Prof. Dr. Jutarat Sethakul Asst. Prof. Dr. Chanporn Chaosap

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the influence of muscle types on goat meat quality. A total of 10 male crossbred goats (Boer x Native goat) were assigned into this study. The animals were fed with 12 % protein concentrate diet and fresh grass as roughage for 3 months. At about 26.52±3.53 kg BW, all goats were slaughtered and collected 4 muscle samples (*Longissimusdorsi* (LD), *Psoas major* (PM), *Supraspinatus* (SS), and *Infraspinatus* (IF)) The results showed that MHC Iix was higher in LD (p<0.001) MHC-I was higher in SS and IF (p<0.001) while MHC-I, MHC-IIa and MHC-IIx of PM were similar. Sarcomere length was the longest in PM (p<0.01). Muscle fiber diameter was the longest in SS (p<0.01) and smallest in PM (p<0.01). There was no significant different (p>0.05) in Calpain 1 and Calpain 2 activity at 2 hours post-mortem while IF had the highest Calpain 1 and Calpain 2 activity at 9 hours post-mortem. Cooking loss of SS and PM was higher than in IF and LD (p<0.01). Shear force value was the lowest in PM. Soluble collagen content was higher in SS (p<0.01). Insoluble and total collagen content were higher in IF and % solubility of collagen was higher in LD muscle. Glycogen content was significantly higher in LD (p<0.01). The correlation was indicated that MHC-I has a negative correlation with MHC-IIa, MHC-IIx and positive correlation with pH_{24h} and glycogen content. In conclusion, LD could be defined as fast type because it contained the highest MHC-IIx while SS muscle could be defined as slow type because it contained the highest MHC-I and current study was shown that PM had a smaller muscle fiber diameter and had longer sarcomere length, therefore PM muscle could be more tender than other.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ III อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณต่อ รศ.ดร.รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ ผศ.ดร. จันทพร เจ้าทรัพย์ อาจารย์ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนชี้แนะแนวทางต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการวิจัย รวมทั้งกรุณาตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้ความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ตลอดจนให้ประสบการณ์ที่ดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. กัญญา จิระเจริญรัตน์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.น.สพ.ดร.จำลอง มิตรชาวไทย ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกที่กรุณาสละเวลาตรวจสอบและให้คำแนะนำตลอดจนชี้แนะให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภายใน โรงฆ่าสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ช่วยเหลือในการตัดแต่งตัวอย่างเนื้อที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณรุ่นพี่ รุ่นน้องนักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะเกษตรศาสตร์ อุตสาหกรรม รุ่นน้องนักศึกษาปริญญาตรี รุ่นน้องศึกษาปริญญาโท รุ่นพี่นักศึกษาปริญญาเอก ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตรที่ให้กำลังใจ และความช่วยเหลือ ในระหว่างการทำวิจัยด้วยดีเสมอมา รวมถึงบุคลากรภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง และ บุคลากรภาควิชาครุศาสตร์เกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์แก่ผู้วิจัย

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างยิ่งสำหรับ นายถวิล พึ่งสุข (บิดา) นางสุกิจจา พึ่งสุข (มารดา) ที่สนับสนุนทุนการศึกษา ตลอดจนพี่ชาย สมาชิกทุกคนในครอบครัว และเพื่อนๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ และคอยเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยตลอดมา ประโยชน์และคุณค่าทั้งปวงของ วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอบแต่ ผู้มีพระคุณทุกท่าน ตลอดจนผู้ที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิด ประโยชน์ต่อไป

อภิขญา พึ่งสุข

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	V
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์.....	2
1.3 สถานที่ดำเนินการ.....	3
1.4 ขั้นตอนการศึกษา.....	3
1.5 ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 พันธุ์พะเนินเนื้อในประเทศไทย.....	4
2.2 กล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle).....	6
2.3 ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber type).....	9
2.4 ไมโอซิน (myosin).....	10
2.5 การจำแนกโดยวิธี histochemistry.....	11
2.6 การจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดรูปแบบของ myosin heavy chain (MHC) โดยวิธี electrophoresis.....	14
2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างการจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยวิธี histochemistry กับการจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดรูปแบบของ myosin heavy chain (MHC) โดยวิธี gel electrophoresis (SDS-PAGE).....	14
2.8 คุณภาพเนื้อ.....	15
2.8.1 ซาร์โคเมอร์ (sarcomere).....	15
2.8.2 ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber diameter).....	16
2.8.3 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (water holding capacity).....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และแจ้งอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

2.8.4 สี (colour).....	18
2.8.5 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)	19
2.8.6 คอลลาเจน (collagen).....	20
2.8.7 เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนในเนื้อ (Proteolytic enzyme).....	21
2.8.8 ปริมาณไกลโคเจน (glycogen content).....	23
2.8.9 ความนุ่ม (tenderness).....	24
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	25
3.1 สัตว์ทดลอง	25
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี	25
3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย	26
3.3.1 การเก็บตัวอย่าง	26
3.3.2 การศึกษาคุณลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	28
3.3.2.1 ลักษณะความเป็นกรด-ต่าง และ ค่าสีของเนื้อ	28
3.3.2.2 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการละลาย เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำ ระหว่างการปรุง การวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ	28
3.3.2.3 การวิเคราะห์หาขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ	29
3.3.2.4 การวิเคราะห์หาความยาวซาร์โคเมียร์.....	29
3.3.2.5 การวิเคราะห์หาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยอิเล็กโตรโฟรีซิส	29
3.3.2.6 Calpain activity โดย Casein Zymography.....	32
3.3.2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจน.....	34
3.3.2.8 การวิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจน	35
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	35
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย.....	36
4.1 ผลของการศึกษาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยอิเล็กโตรโฟรีซิส	36
4.2 ผลของการศึกษาขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อและความยาวซาร์โคเมียร์	38
4.3 ผลการศึกษา Calpain activity โดย Casein Zymography.....	40
4.4 ผลการศึกษาลักษณะความเป็นกรด-ต่าง ค่าสีของเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่าง การละลาย เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ VI อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

4.5 ผลการศึกษาปริมาณคอลลาเจนและปริมาณไกลโคเจน	43
4.6 ความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา.....	47
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	48
5.2 ข้อเสนอแนะ	49
บรรณานุกรม.....	50
ภาคผนวก	55
ภาคผนวก ก.....	56
ภาคผนวก ข.....	66
ประวัติผู้เขียน	68



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และVIIอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 น้ำหนักมีชีวิตของแพะพันธุ์บอร์และแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ในแต่ละช่วงอายุ.....	5
2.2 คุณสมบัติของเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิด.....	9
2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีการศึกษา.....	15
2.4 ปริมาณคอลลาเจนของกล้ามเนื้อสะโพก 4 ชนิดของแพะลูกผสมบอร์.....	21
3.1 ปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจล.....	33
4.1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มของแถบโปรตีนของ MHC ในกล้ามเนื้อ 4 ชนิด ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ (N=10).....	38
4.2 ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ และ ความยาวซาร์โคเมอร์ในกล้ามเนื้อ 4 ชนิดของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ (N=10).....	39
4.3 ความเข้มของแถบสว่างที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ Calpain ในกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิดของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ ที่ระยะเวลา 2 และ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย(N=10).....	41
4.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสีของเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการละลายเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างปรุง และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ในกล้ามเนื้อ 4 ชนิดของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ (N=10).....	43
4.5 ปริมาณคอลลาเจนและไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ 4 ชนิด ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์.....	44
4.6 ความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา.....	47

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แพะพันธุ์บอร์	5
2.2 ลักษณะของกล้ามเนื้อโครงร่าง	6
2.3 ส่วนประกอบภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ	8
2.4 ยีน MYH gene ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โปรตีนที่สร้างและกล้ามเนื้อที่พบ	11
2.5 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยวิธี histochemistry โดยอาศัยการทำงานของ mATPase (G) แสดงปฏิกิริยาของ mATPase ที่บ่มด้วยกรด (pH 4.5), (H) แสดงปฏิกิริยาของ mATPase ที่บ่มด้วยด่าง	12
2.6 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธี histochemistry โดยอาศัยการทำงานของ SDH แสดงให้เห็นการย้อมติดสีที่มากในเส้นใยแบบ oxidative.....	13
2.7 แสดงวิธี electrophoresis ของกล้ามเนื้อ Rectus abdominis จากตัวอย่างโค 13 ตัว เปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อมาตรฐานคือ กล้ามเนื้อ cutaneous trunci (ที่มีเพียง fast MHC-IIa และ MHC-IIx) และ masseter (มีเพียง MHC-D).....	14
2.8 โครงสร้างของไมโอโกลบิน	18
2.9 Collagen molecule	20
2.10 การวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ calpain โดยวิธี Casein Zymography ที่ระยะบ่มที่แตกต่างกัน ในกล้ามเนื้อ B. femoris ของแพะพันธุ์ Jamunapar และ แพะพันธุ์ Jhakrana, 1 = แพะพันธุ์ Jamunapar, 2 = แพะพันธุ์ Jamunapar, (A) = ระยะบ่มที่ 0 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย, (B) = ระยะบ่มที่ 6 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย, (C) = ระยะบ่มที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย, (D) = ระยะบ่มที่ 48 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย, (E) = ระยะบ่มที่ 72 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย, (F) = ระยะบ่มที่ 96 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย.....	23
3.1 แพะที่ใช้ในการทดลอง	25
3.2 แสดงตำแหน่งกล้ามเนื้อแพะ 4 ชนิดที่นำมาทำการศึกษา.....	27
4.1 การเปรียบเทียบรูปแบบที่แสดงออกของ Myosin heavy chain (MHC) ในกล้ามเนื้อมาตรฐานของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์และกล้ามเนื้อมาตรฐานโคพื้นเมืองไทย ด้วยเทคนิค electrophoresis c = กล้ามเนื้อจากโคพื้นเมืองไทย, g = กล้ามเนื้อจากแพะลูกผสมบอร์	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

4.2 รูปแบบที่แสดงออกของ Myosin heavy chain (MHC) ด้วยเทคนิค electrophoresis ของ
กล้ามเนื้อ PM LD SS และ IF ของแพะลูกผสมพันธุ์ตัวที่ 6 โดยมีกล้ามเนื้อมาตรฐานที่ระบุ
ตำแหน่งของ MHC isoform คือ CT สำหรับแถบโปรตีน MHC-IIa และ MHC-IIx, TZ
สำหรับแถบ MHC-I และ MHC-IIa, DI สำหรับแถบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa และ
MA สำหรับแถบโปรตีน MHC-I 37

4.3 ไซโมแกรมการทำงานของเอนไซม์ calpains ในกล้ามเนื้อใบพาย (IF ; Infraspinatus)
กล้ามเนื้อสันนอก (LD ; Longissimus dorsi) กล้ามเนื้อสันในเทียม (SS ; Supraspinatus) และ
กล้ามเนื้อสันใน (PM ; Psoas major) กล้ามเนื้อมาตรฐาน (STD ; Standard) โดยใช้กล้ามเนื้อสัน
นอกของแพะตัวที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบระหว่างเจลและภายในเจล , 2 = ตัวอย่างที่เก็บที่ 2 ชั่วโมง
ภายหลังสัตว์ตาย, 9 = ตัวอย่างที่เก็บที่ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย 40

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

แพะพันธุ์บอร์จัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย โดยกรมปศุสัตว์นำเข้ามาจากประเทศแอฟริกาใต้ เมื่อปี พ.ศ. 2539 เป็นแพะเนื้อขนาดใหญ่ ลักษณะเด่น คือมีลำตัวสีขาว หัวและคอจะมีสีน้ำตาลแดง ใบหูยาวปรก เมื่อโตเต็มวัย ตัวผู้จะมีน้ำหนักประมาณ 90 กิโลกรัม ตัวเมียหนักประมาณ 65 กิโลกรัม เป็นแพะพันธุ์เนื้อที่ได้รับความนิยมในการเลี้ยงมากที่สุด มีการปรับปรุงพันธุ์ จนได้พันธุ์ลูกผสมที่สามารถให้ผลผลิตที่ดี และทนต่อสภาพภูมิประเทศของประเทศไทยได้ จากข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ ในประเทศไทยประจำปี 2558 พบว่า เกษตรกรมีการเลี้ยงแพะเนื้อมากกว่าแพะนม นั่นคือ 42,183 ครัวเรือน และ 1,364 ครัวเรือน ตามลำดับ (กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ, 2558) โดยส่วนใหญ่จะนิยมเลี้ยงกันในภาคใต้ของประเทศไทย เนื่องจากมีชาวไทยมุสลิมอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้ การผลิตและการจำหน่ายผลิตภัณฑ์เนื้อแพะ ส่วนใหญ่ยังเป็นการทำธุรกิจภายในครัวเรือน แหล่งความรู้ในการแปรรูปส่วนใหญ่จะได้รับการสืบทอดจาก พ่อ แม่ หรือบรรพบุรุษ สำหรับผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปส่วนใหญ่เป็นแกงแพะ ข้าวหมกแพะ ซุปแพะ และสะเต๊ะแพะ โดยเนื้อแพะที่ทำการชำแหละจะทำโดยชาวไทยมุสลิมเท่านั้น เพื่อความถูกต้องตามหลักศาสนาอิสลาม เนื่องจากผู้บริโภคส่วนใหญ่เป็นชาวไทยมุสลิม ในการเลือกเนื้อแพะที่ใช้ในการบริโภคนั้น ผู้บริโภคส่วนใหญ่จะเลือกเนื้อแพะที่ชำแหละแล้ว เพื่อนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เนื่องจากมีความสะดวกในการประกอบอาหาร ทั้งนี้มีผู้บริโภคบางส่วนจะเลือกซื้อแพะมีชีวิตจากฟาร์มในท้องถิ่น ฆ่าและชำแหละเองที่บ้าน เพื่อลดค่าใช้จ่ายในการชำแหละ (บัญญัติ สัจจาพันธ์, 2557)

ในปัจจุบันภาครัฐมีการส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาเลี้ยงแพะในรูปแบบฟาร์มที่ได้มาตรฐาน ตลอดจนโรงเชือดที่ได้มาตรฐานและปลอดภัย เนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคที่เพิ่มขึ้น อีกทั้งยังมีแนวโน้มที่จะส่งออกเนื้อแพะสู่ประเทศเพื่อนบ้านอีกด้วย นอกจากระบบการเลี้ยงและโรงฆ่าที่ได้มาตรฐานแล้ว คุณภาพของเนื้อแพะก็เป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจในการบริโภคของผู้ซื้อ

คุณภาพเนื้อนับเป็นปัจจัยสำคัญในการเลือกซื้อของผู้บริโภค ทั้งด้านสี ความนุ่ม รวมไปถึงด้านรสชาติ ซึ่งความแปรปรวนที่เกิดขึ้นในคุณภาพเนื้อนั้น มีสาเหตุมาจากปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม รวมทั้งกระบวนการเปลี่ยนแปลงในกล้ามเนื้อทั้งก่อนและหลังสัตว์ตาย ดังนั้นองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อและชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ภายในกล้ามเนื้อแต่ละชนิด จึงจัดเป็นลักษณะเฉพาะของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด ที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อภายหลังการฆ่า ซึ่งการศึกษาอิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณภาพเนื้อนั้นมีการศึกษาและวิจัยอย่างแพร่หลายในสัตว์เอเคสาร์นเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลายชนิด เช่น โค สุกร แต่พบว่าการศึกษาในเนื้อแพะยังมีการศึกษาและวิจัยอยู่น้อย ดังนั้นเพื่อรองรับความต้องการเนื้อแพะที่มีแนวโน้มจะสูงขึ้นในอนาคต จึงควรมีการศึกษาและวิจัยอิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อแพะ ซึ่งในการศึกษาค้างนี้จะทำการศึกษาคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ โดยเปรียบเทียบระหว่างกล้ามเนื้อ 4 ชนิด คือ กล้ามเนื้อไบพาย (*Infraspinatus*) และ กล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*) กล้ามเนื้อสันนอก (*Logissimus dorsi*) และกล้ามเนื้อสันใน (*Psoas major*) โดยมีสมมติฐานว่ากล้ามเนื้อแพะทั้ง 4 ชนิดนี้ มีชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายหลังสัตว์ตาย แตกต่างกัน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพเนื้อรวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต่างๆ ที่ศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานของปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพเนื้อแพะ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อแพะต่อไปได้

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์

ทำการศึกษเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกล้ามเนื้อ 4 ชนิด คือ กล้ามเนื้อไบพาย (*Infraspinatus*) และ กล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*) กล้ามเนื้อสันนอก (*Logissimus dorsi*) และ กล้ามเนื้อสันใน (*Psoas major*) ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์เพศผู้

- 1.2.1 เพื่อศึกษาชนิดและขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ และความยาวซาร์โคเมอร์ของกล้ามเนื้อแพะ
- 1.2.2 เพื่อวิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์คาลเพนินในแต่ละกล้ามเนื้อ
- 1.2.3 เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด
- 1.2.4 เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษา

1.3 สถานที่ดำเนินการ

- 1.3.1 ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.2 ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.3 ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.4 ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.5 ห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลทางสัตว์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- 1.3.6 โรงฆ่าสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

ทำการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกล้ามเนื้อ 4 ชนิด คือ กล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*) กล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*) กล้ามเนื้อสันนอก (*Logissimus dorsi*) และ กล้ามเนื้อสันใน (*Psoas major*) ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์เพศผู้ โดยแบ่งการศึกษาออกได้ดังนี้

- 1.4.1 ศึกษาชนิดและขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อและความยาวซาร์โคเมอร์
- 1.4.2 วิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์คาลเพนินในแต่ละกล้ามเนื้อ
- 1.4.3 ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด
- 1.4.4 วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษา

1.5 ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย

ระยะเวลา 12 เดือน

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงข้อสมมุติฐานที่ว่ากล้ามเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ทั้ง 4 ชนิดนี้ มีชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายหลังสัตว์ตาย แตกต่างกัน ที่ส่งผลต่อคุณภาพเนื้อ รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต่างๆ ที่ศึกษา

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พันธุ์แพะเนื้อในประเทศไทย

แพะเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Capra aegagrus hircus* ในวงศ์ Bovidae เป็นสัตว์กีบคู่ขนาดกลาง มีความอดทนแข็งแรงและทนทานต่อโรคได้ดีกว่าสัตว์กีบคู่ชนิดอื่นๆ สามารถปีนป่ายที่สูงโดยเฉพาะโขดหินหรือภูเขาได้ดี ขนหยาบสีดำ ขาว หรือน้ำตาล มีเขา 1 คู่ ตัวผู้มีเขรา หางสั้น ตามหลักฐานที่บันทึกเกี่ยวกับประวัติการเลี้ยงแพะในประเทศไทยนั้นระบุไว้ว่าใน ปี พ.ศ. 2491 หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ได้นำเข้าแพะนม พันธุ์ชาแนน มาเลี้ยงที่เกษตรกลางบางเขน และแพะสายพันธุ์อื่นๆที่เลี้ยงในประเทศไทยในขณะนั้นน่าจะเป็นแพะเลือดอินเดีย บางคนเรียกว่า แพะบังกะลา ส่วนแพะทางใต้ของประเทศไทย มีขนาดเล็กซึ่งอาจจะเป็นสายพันธุ์เดียวกับแพะพื้นเมืองของมาเลเซีย คือพันธุ์แกมบิงกัตจัง Kambing Katjang หรือ Katjang หรือ Kacang ต่อมากรมปศุสัตว์ได้นำเข้าแพะพันธุ์อื่นๆ มาเลี้ยงเพิ่มเติม เช่น พันธุ์ทอกเกนเบอร์ก (Toggenberg) พันธุ์แอลไพน์ (Alpine) และพันธุ์บอร์ (Boer) จากประเทศแอฟริกาใต้ ซึ่งขณะนี้แพะพันธุ์แท้ของแต่ละสายพันธุ์ที่นำเข้ามาทั้งหมด ได้ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการผลิตแพะพันธุ์ลูกผสม คาดว่าน่าจะเลี้ยงในสภาพเมืองไทยได้ดีกว่าแพะพันธุ์แท้ แต่บางส่วนก็นำไปผสมเป็นสายพันธุ์แท้ต่อไป (กรมปศุสัตว์, 2557) ซึ่งพันธุ์แพะเนื้อที่นิยมเลี้ยงในประเทศไทย ได้แก่

1. แพะพันธุ์บอร์ (Boer)

กรมปศุสัตว์ นำเข้ามาจากประเทศแอฟริกาใต้ เมื่อปลายปีพ.ศ. 2539 เป็นแพะเนื้อขนาดใหญ่ ลักษณะเด่นคือมีลำตัวสีขาว หัวและคอจะมีสีน้ำตาลแดง ใบหูยาวปรก มีน้ำหนักแรกเกิด 4 กิโลกรัม น้ำหนักหย่านม 20 กิโลกรัม โตเต็มที่ตัวผู้หนัก 90 กิโลกรัม ตัวเมีย 65 กิโลกรัม แพะพันธุ์บอร์ เป็นแพะที่มีเขาแข็งแรง สามารถเดินทางระยะไกลได้ ขึ้นเขาหาอาหารกินเก่ง รู้แหล่งอาหารและน้ำ สามารถอยู่ในที่กั้นคานได้โดยไม่ต้องเสริมอาหาร อีกทั้งยังทนทานต่อโรค เช่น Bluetongue Enterotoxaemia และสารพิษไฮโครไซยานิก ปัจจุบันประเทศไทยนิยมเลี้ยงแพะพันธุ์นี้เพื่อผลิตเป็นแพะเนื้อมากขึ้น เพราะเป็นแพะเนื้อที่มีขนาดรูปร่างใหญ่ ลำสัน มีลำตัวใหญ่ ยาวและกว้าง มีกล้ามเนื้อมาก และมีลักษณะของกระดูกโครงร่างใหญ่แข็งแรง ซึ่งในการเลี้ยงเพื่อผลิตเป็นแพะเนื้อนั้น จะนิยมเลี้ยงทั้งสายพันธุ์แท้และลูกผสม โดยน้ำหนักมีชีวิตของพันธุ์แท้และลูกผสม ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 น้ำหนักมีชีวิตของแพะพันธุ์บอร์และแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ในแต่ละช่วงอายุ

สายพันธุ์	น้ำหนักมีชีวิต				
	แรกเกิด	หย่านม	6 เดือน	9 เดือน	12 เดือน
แพะพันธุ์บอร์	3.08	14.42	23.07	28.85	35.23
ลูกผสมบอร์แองโกลนูเบียน	3.17	14.87	23.09	28.08	33.04
ลูกผสมบอร์แองโกลนูเบียนซาเนน	3.08	14.98	23.10	27.60	37.38
ลูกผสมบอร์ซาเนน	2.76	15.37	22.41	26.09	36.76

คัดแปลงจาก : กรมปศุสัตว์ (2557)



แพะพันธุ์บอร์เพศผู้



แพะพันธุ์บอร์เพศเมีย

ภาพที่ 2.1 แพะพันธุ์บอร์ (กรมปศุสัตว์, 2557)

2. แพะพันธุ์แองโกลนูเบียน (Anglonubian)

กรมปศุสัตว์ นำเข้ามาเลี้ยงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2526 แพะพันธุ์นี้มีขนาดใหญ่ มีน้ำหนักแรกเกิด 2-5 กิโลกรัม น้ำหนักหย่านม (3 เดือน) 15 กิโลกรัม เป็นแพะที่ให้ทั้งเนื้อและนม มีหลายสี ทั้งสีเดียวในตัว หรือมีสีต่างปน ขนสั้นละเอียดเป็นมัน ตั้งจมูกมีลักษณะโค้งและงุ้ม ใบหูยาวและปรกกลง ปกติแพะพันธุ์นี้จะไม่มีเขา แต่ถ้าหากมีเขาจะสั้นและเอนแนบติดกับหนังบริเวณหัว มีขายาวซึ่งช่วยให้เต้านมอยู่สูงกว่า ระดับพื้นมากและทำให้ง่ายต่อการรีดนม และยังช่วยให้เต้านมไม่ได้รับบาดเจ็บเนื่องจากหนามวัชพืชเกี่ยว แพะพันธุ์นี้มีหลายสี เช่น ดำ เทา ครีมน้ำตาล น้ำตาลแดง และมีจุดหรือด่างขนาดต่างๆ ได้ผลผลิตน้ำนมประมาณ 1.5 ลิตรต่อวัน ระยะเวลาให้น้ำนมประมาณ 165 วัน

3. แพะพื้นเมือง

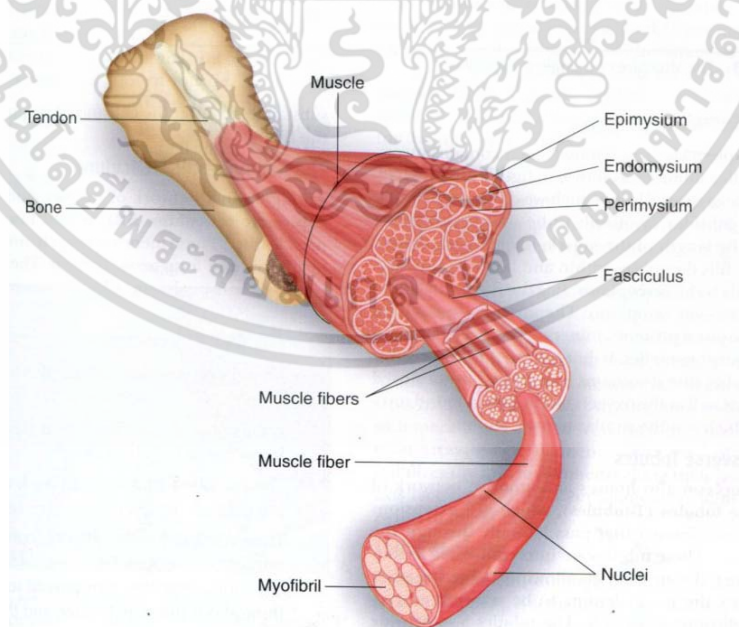
แพะพื้นเมืองในประเทศไทย มีหลายพันธุ์ด้วยกัน ได้แก่ แพะทางแถบตะวันตก เช่น ที่จังหวัดตาก จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งเป็นแพะที่นำเข้ามาจากประเทศอินเดีย หรือปากีสถานมีรูปร่างใหญ่กว่าแพะทางใต้ โดยเชื่อว่าเข้าสู่ประเทศไทยผ่านทางประเทศพม่า แพะกลุ่มนี้มีใบหูปรกยาวมาก ขาว ผอมแก้งก้าง และเป็นที่ยึดกันทั่วไปในนาม "แพะพม่า" หรือ "แพะหูยาว"

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 กล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle)

กล้ามเนื้อลายหรือกล้ามเนื้อโครงร่าง เป็นกล้ามเนื้อที่มีมากที่สุดในร่างกาย และเมื่อก้าวถึงเนื้อสัตว์อย่างรวมๆ จึงหมายถึงกล้ามเนื้อโครงร่างเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นกล้ามเนื้อโครงร่างจึงมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งองค์ประกอบของกล้ามเนื้อโครงร่าง มีดังนี้ (ภาพที่ 2.2)

กล้ามเนื้อลายหรือกล้ามเนื้อโครงร่างเป็นส่วนหนึ่งของกล้ามเนื้อที่ยึดติดกับกระดูก กล้ามเนื้อลายแต่ละมัดจะมีรูปร่างต่างกันไป แต่ละมัดกล้ามเนื้อที่ยึดกับกระดูก ซึ่งถูกล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน 3 ชั้น ชั้นนอกสุดเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสีขาวเหนียว เรียกว่าเอพิไมเซียม (epimysium or deep fascia) เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดเนื้อแน่น (dense connective tissue) ชั้นเอพิไมเซียมจะเป็นชั้นที่มีเส้นเลือดและเส้นประสาทขนาดใหญ่ ซึ่งจะแทงทะลุผ่านเอพิไมเซียมเข้าไปเลี้ยงมัดกล้ามเนื้อย่อยๆ ที่อยู่ด้านใน ภายในกล้ามเนื้อมัดใหญ่ที่ล้อมรอบด้วยเอพิไมเซียมจะมีกล้ามเนื้อมัดย่อยๆ หลายมัดรวมกัน แต่ละมัดกล้ามเนื้อเล็กนี้ เราเรียกว่า บันเดิล (bundle or fasciculi) โดยมีส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มาห่อหุ้ม เรียกว่า เพอริไมเซียม (perimysium) กล้ามเนื้อมัดเล็กที่ห่อหุ้มด้วยเพอริไมเซียมนี้ยังประกอบด้วยเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber) หลายๆ เซลล์มาเรียงต่อขนานกัน แต่ละเซลล์กล้ามเนื้อจะมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมาห่อหุ้ม เรียกว่า เอ็นโดไมเซียม (endomysium) ภายในเอ็นโดไมเซียมจะมีเส้นเลือดฝอยและเส้นประสาทขนาดเล็กแทรกตัวอยู่ โดยแทรกตัวตามผิวด้านนอก (outer surface) ของเซลล์กล้ามเนื้อ บางส่วนของเอ็นโดไมเซียม เพอริไมเซียม และเอพิไมเซียมจะมารวมกัน เกิดเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีลักษณะเป็นแถบสีขาวมีความเหนียวเรียกว่า เอ็นกล้ามเนื้อ (tendon) ทำหน้าที่ยึดกล้ามเนื้อให้ติดกับกระดูก



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของกล้ามเนื้อโครงร่าง

ที่มา : Anonymous. (2015a)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทั่วไปเส้นใยกล้ามเนื้อจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 -100 ไมครอน ส่วนความยาวนั้นแตกต่างกันมาก อาจมีตั้งแต่ไม่กี่มิลลิเมตรไปจนถึงมากกว่า 30 เซนติเมตร (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) เส้นใยกล้ามเนื้อประกอบด้วยเซลล์กล้ามเนื้อ ดังนี้ (ภาพที่ 2.3)

2.2.1 ซาร์โคเลมมา (sarcolemma) เป็นเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เป็นเยื่อที่ละเอียดซับซ้อนอยู่ใต้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ชื่อว่า เอ็นโดไมเซียม แบ่งเป็น 3 ชั้น ได้แก่ ชั้นนอกสุดเป็นโครงข่ายของคอลลาเจน ชั้นกลางมีรูปร่างไม่แน่นอน เรียกว่า amorphous middle layer และชั้นใน คือ inner plasma membrane จะยุบตัวลงไปเพื่อสร้าง transverse (T) system ซึ่งเป็นการขยายส่วนที่เป็น plasma membrane เข้าไปในเซลล์กล้ามเนื้อเพื่อที่จะถ่ายทอดกระแสประสาทผ่านท่อที (transverse tubules) ไปยังเซลล์กล้ามเนื้อกระตุ้นให้เกิดการยึดหดตัว

2.2.2 ซาร์โคพลาสซึม (sarcoplasm) เทียบได้กับไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ของเซลล์ชนิดอื่น มีลักษณะเป็นสารกึ่งเหลว (semi-fluid) อยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อ ทำหน้าที่หล่อเลี้ยงโครงสร้างต่างๆ ที่อยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อ ประกอบด้วยน้ำประมาณ 75 - 80 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบสารพวกไกลโคเจน (glycogen) ไมโอโกลบิน (myoglobin) และพบว่ามีแคลเซียม (Ca^{2+}) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อสะสมอยู่ในซาร์โคพลาสซึมด้วย แต่ส่วนประกอบ ที่พบมากที่สุด ในซาร์โคพลาสซึม คือ ไมโอไฟบริล (myofibril) รวมทั้งออร์แกเนลล์ (organelles) อื่นๆ เช่น กอลจิคอมเพลกซ์, นิวเคลียส, ไมโทคอนเดรีย และเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัม

2.2.3 นิวเคลียส (nucleus) เซลล์กล้ามเนื้อมีหลายนิวเคลียส (multinucleus) พบอยู่ใต้ซาร์โคเลมมา รูปร่างเป็นเม็ดรูปร่างรีเรียงตัวตามแนวยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อ

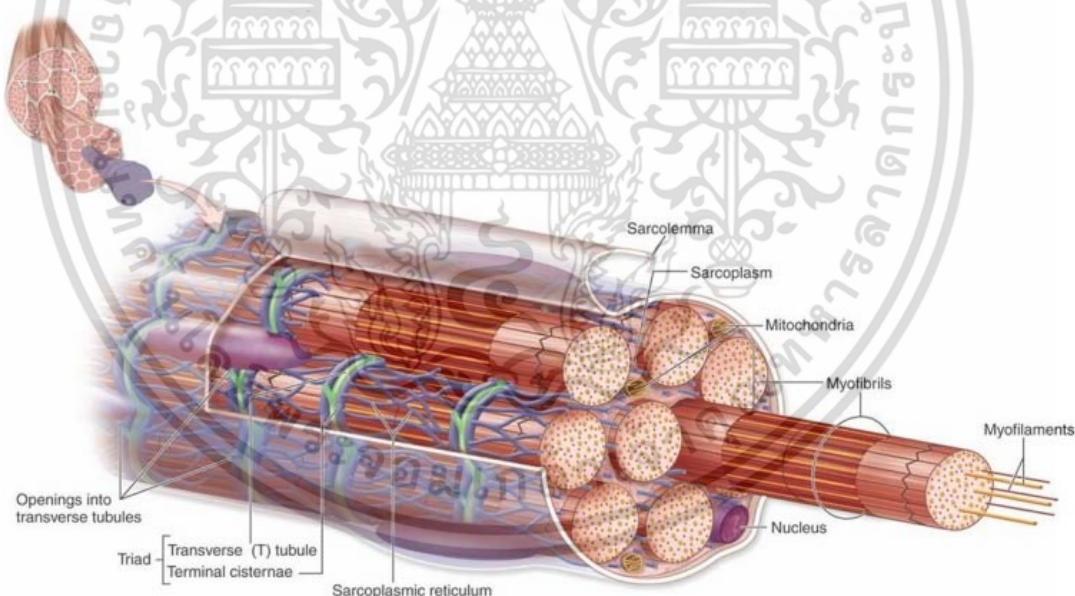
2.2.4 กอลจิคอมเพลกซ์ (golgi complex) มีลักษณะเป็นออร์แกเนลล์เชิงซ้อนประกอบด้วยเยื่อต่างๆ วางซ้อนกันหลายๆ ชั้น ตรงกลางมีเยื่อหุ้มที่บางมากจึงโป่งออกเป็นกระเปาะเล็กๆ มีรูปร่างต่างกัน อยู่ติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มนิวเคลียส และบางส่วนติดกับเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัมแบบหยาบ (RER ; rough endoplasmic reticulum) ดังนั้นหน้าที่หนึ่งของกอลจิคอมเพลกซ์ คือช่วยนำโปรตีนที่ RER สร้างเข้าไปรวมในถุงก่อนส่งออกนอกเซลล์ต่อไป

2.2.5 ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) มีรูปร่างเป็นแท่งรูปร่างรี ประกอบด้วยเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ชั้นนอกทำหน้าที่ควบคุมปริมาณและชนิดของสารที่เข้าออกจากไมโทคอนเดรีย ชั้นในเป็นห้องเล็กๆ หยักไปหยักมา ช่วยเพิ่มพื้นที่ในการทำงานเรียกว่าคริสตี (cristae) พบในที่ว่างระหว่างเส้นใยย่อยได้เยื่อหุ้มเส้นใย และมักอยู่ใกล้เส้น Z-line ไมโทคอนเดรียทำหน้าที่ในการรวบรวมพลังงานจากวัฏจักรเครบส์ (Krep's cycle) แล้วส่งต่อไปยังเซลล์ในรูปของ ATP (adenosine triphosphate) ซึ่งภายในไมโทคอนเดรียจะมีเอนไซม์ชนิดต่างๆ ที่ใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมหลายชนิด

2.2.6 ไลโซโซม (lysosome) มีรูปร่างเหมือนถุงเล็กๆ ที่มีเอนไซม์หลายชนิดอยู่ภายใน รวมทั้งกลุ่มเอนไซม์คาเทปซิน (cathepsins)

2.2.7 ซาร์โคพลาสมิกเรติคิวลัม (sarcoplasmic reticulum) คือเอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมในเซลล์อื่น เป็นผนังหุ้มของระบบท่อที และซิสเทอเนอ (cisternae) มีหน้าที่สะสมแคลเซียม เมื่อเส้นใยกล้ามเนื้ออยู่ในภาวะพักตัว (relax) ซาร์โคพลาสมิกเรติคิวลัมจะสานรูปร่างเป็นโครงข่ายหุ้มโดยรอบไมโอไฟบริล

2.2.8 ไมโอไฟบริลหรือเส้นใยย่อย (myofibril) เป็นส่วนประกอบประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์กล้ามเนื้อ ซึ่งไมโอไฟบริลเป็นโครงสร้างที่ทำหน้าที่ในการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ มีรูปร่างเป็นเส้นยาวทรงกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-2 ไมครอน ไมโอไฟบริลจะอยู่ในซาร์โคพลาสซึมและมีความยาวตามความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อ ประกอบด้วยแถบมืด หรือ A-band (anisotropic band) และแถบสว่าง หรือ I-band (isotropic band) สลับกันทำให้เกิดหน่วยย่อย (unit) ของกล้ามเนื้อขึ้น เรียกว่า ซาร์โคเมียร์ (sarcomere) ทำให้เกิดเป็นลาย (striated) ในกล้ามเนื้อ โครงสร้าง แถบมืดและแถบสว่างในไมโอไฟบริลเกิดจากการเรียงตัวกันของเส้นใยฝอย (myofilament) 2 ชนิด คือ เส้นใยฝอยชนิดหนา (thick filament) หรืออาจเรียกว่า myosin filament เนื่องจากประกอบด้วยโปรตีนไมโอซินเป็นหลัก และเส้นใยฝอยชนิดบาง (thin filament) หรือ actin filament เพราะประกอบด้วยแอกตินเป็นส่วนใหญ่



ภาพที่ 2.3 ส่วนประกอบภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ

ที่มา : Anonymous. (2015b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ

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

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติของเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิด

คุณสมบัติ	ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ		
	Type I: Slow-twitch Slow oxidative β -red	Type IIa: Fast-twitch Fast oxidative α -red	Type IIb: Fast-twitch Fast glycolytic α -white
การสร้าง ATP สีของกล้ามเนื้อ	ใช้ออกซิเจน แดง	ใช้ออกซิเจน ชมพูแดง	ไม่ใช้ออกซิเจน 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: ดัดแปลงจาก Lengerken *et al.* (2002)

1. Type I (slow twitch หรือ red fiber หรือ slow twitch oxidative muscle) ความสามารถในการหดตัวช้ามีหลอดเลือดฝอย ไมโทคอนเดรีย และไมโอโกลบินจำนวนมากทำให้กล้ามเนื้อมีสีแดง กล้ามเนื้อชนิดนี้สามารถขนส่งออกซิเจนได้มากและมีเมแทบอลิซึมแบบใช้ออกซิเจน (aerobic metabolism)

2. Type II หรือ fast twitch muscle แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

2.1. Type IIa (fast twitch oxidative muscle) ส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายกับเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด slow twitch คือมีลักษณะกึ่งกลางระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อแดงและขาว แต่มีซาร์โคเมอร์ที่สั้นกว่า มีเมแทบอลิซึมแบบใช้ออกซิเจน และไม่ใช้ออกซิเจน มีไมโทคอนเดรียและหลอดเลือดฝอยจำนวนมาก ทำให้มีสีแดงความสามารถในการหดตัวเร็ว

2.2. Type IIb (white fiber หรือ fast twitch glycolytic muscle) เป็นเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดที่มีเมแทบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic metabolism) ใช้พลังงานจากระบวนการไกลโคไลซิสมิโทคอนเดรียและไมโอโกลบินน้อย ความสามารถในการหดตัวเร็ว

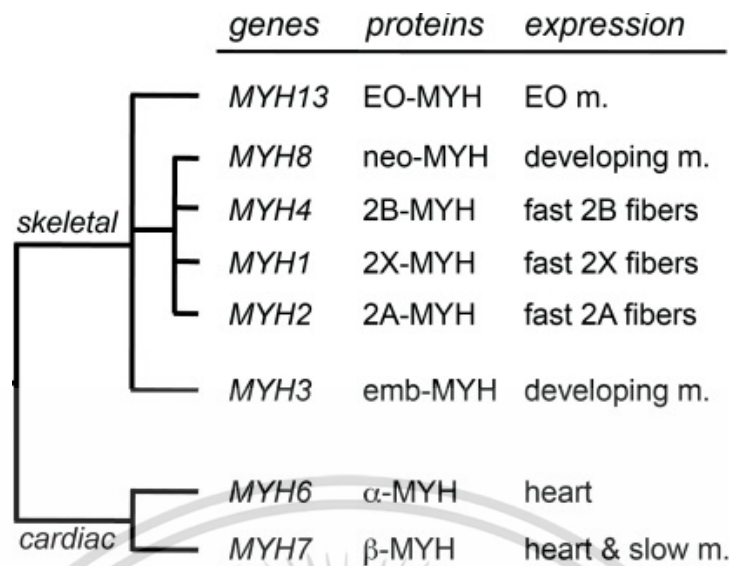
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกิจกรรมเชิงงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ไมโอซิน (myosin)

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

กลุ่มโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อจะมีผลทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อจะถูกจัดจำแนกตามชนิด (isoform) ของโปรตีนไมโอซิน เนื่องจากไมโอซินเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุด在线ใยกล้ามเนื้อ จึงเป็นเหตุผลที่มีการจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดของ MHC นอกจากนี้ไมโอซินยังจัดเป็น motor protein ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ อีกทั้งยังมีเอนไซม์ ATPase ที่บริเวณหัวของ MHC ที่ช่วยในการย่อยในการสลาย ATP ทำให้เกิดพลังงานที่ใช้ในการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ ซึ่งความแตกต่างของปริมาณ ATPase ในเส้นใยกล้ามเนื้อสามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธี Histochemistry

โปรตีนที่มีความคล้ายคลึงกัน แต่อาจมีความแตกต่างกันบางส่วนในด้านโครงสร้างหรือคุณสมบัติการทำงาน ซึ่งจะเรียกกลุ่มโปรตีนที่คล้ายกันนี้ว่า " isoform " กลุ่มโปรตีนที่มีอยู่หลาย isoform เช่น MHC โดยในสัตว์ต่างชนิดกันหรือกล้ามเนื้อต่างชนิดกันจะมี MHC isoform ที่ไม่เหมือนกัน โดย isoform ของ MHC เกิดจากยีนที่ต่างกัน กลุ่มยีนที่สร้าง MHC ในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนูพบบนโครโมโซมที่ 10 (Baldwin et al. 2013) ของโคพบบนโครโมโซมที่ 19 (Takasugu et al. 2007) ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง MHC นั้นมีอย่างน้อย 8 ยีน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มยีนที่สร้าง MHC ที่พบในหัวใจ คือยีน MYH6 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน α -MYH ที่พบในหัวใจ และยีน MYH7 สร้างโปรตีน β -MYH พบที่หัวใจและ slow muscle 2) กลุ่มยีนที่สร้าง MHC ในกล้ามเนื้อโครงร่าง ประกอบด้วย ยีน MYH13 สร้างโปรตีน EO-MYH พบในกล้ามเนื้อตา (Extraocular muscle) ยีน MYH8 สร้างโปรตีน neo-MYH พบในกล้ามเนื้อของสัตว์ที่กำลังมีการพัฒนา (developing muscle) 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 พบในกล้ามเนื้อของสัตว์ที่กำลังมีการพัฒนา (developing muscle)



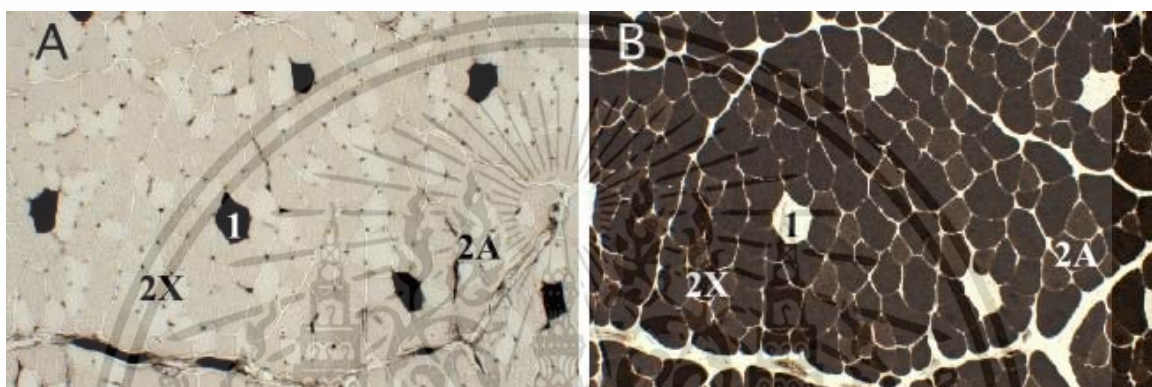
ภาพที่ 2.4 ยีน *MYH* gene ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โปรตีนที่สร้างและกล้ามเนื้อที่พบ
ที่มา : ดัดแปลงจาก Rossi *et al.* 2010

2.5. การจำแนกโดยวิธี histochemistry

จันทรพร เจ้าทรัพย์ และคณะ (2556) ได้กล่าวถึงลักษณะในการจำแนกเส้นใยกล้ามเนื้อไว้ ดังนี้ เส้นใยกล้ามเนื้อสามารถแบ่งได้ตามลักษณะการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ (contractile) หรือแบ่งตาม ขบวนการเมตาบอลิซึม (metabolic properties) โดยอาศัยหลักการของ histochemistry

1) การแบ่งตามลักษณะการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ โดยอาศัยภาวะที่มีรูปแบบหลายรูปแบบ (polymorphism) ของโปรตีนไมโอซินเนื่องจากไมโอซินเป็นส่วนประกอบหลักของเส้นใยหนา (thick filament) จึงถูกใช้เป็นตัวชี้วัดการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ การแบ่งตามลักษณะการยึดหดตัวนี้แบ่งเป็น แบบ 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 เนื่องจากด้วยเอนไซม์ mATPase เกี่ยวข้องโดยตรงกับการหดตัวของกล้ามเนื้อ ดังนั้น การวิเคราะห์จากกิจกรรมของ เอนไซม์ ATPase จะสามารถอธิบายในส่วนของคุณสมบัติในการหดตัวระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast และ slow ได้ Anastasio *et al.* (2001) ทำการจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ *M.semitendiosus* ในเนื้อแพะ โดยวิธี histochemistry โดยการนำตัวอย่างเนื้อบ่มด้วยกรด (pH 4.5) หรือ ด่าง (pH 10.5) ซึ่งสารละลายกรดจะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ mATPase ในกล้ามเนื้อชนิด fast fiber โดยในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบ ชนิด IIa, IIx และ IIb แต่จะไม่มีผลกับเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด slow fiber และสารละลายด่างจะยับยั้ง mATPase ซึ่งจะเกิดเฉพาะในกล้ามเนื้อชนิด slow fiber เท่านั้น โดยในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบ ชนิด I ซึ่งในการวิเคราะห์นี้ ATP จะทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานและสารตั้งต้น ผลผลิตที่เกิดขึ้นจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาการสลายพลังงานของ mATPase คือ ฟอสเฟต (Pi) ซึ่งจะไม่สามารถมองเห็นได้ ดังนั้นจึงต้องไปทำปฏิกิริยาเคมีกับแคลเซียม (Ca^{2+}) ให้ได้เป็นแคลเซียมฟอสเฟต (CaPO_4) ขั้นต่อมาคือการเปลี่ยน CaPO_4 ไปเป็นโคบอลต์ซัลไฟด์ (CoS_2) ซึ่งมีสีน้ำตาลเข้ม จึงทำให้สามารถเห็นได้ชัดเจน ดังนั้นประสิทธิภาพของฟอสเฟตที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากการย่อยสลาย ATP โดย ATPase สามารถสังเกตได้จากสีน้ำตาลเข้มที่เกิดในตัวอย่างเนื้อเยื่อ โดยในเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast fiber จะสลาย ATP ได้เร็วกว่า slow fiber ที่เวลาเท่ากันปฏิกิริยา histochemistry ของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast จะให้สีเข้ม และ slow จะให้สีจางกว่า ดังภาพที่ 2.5



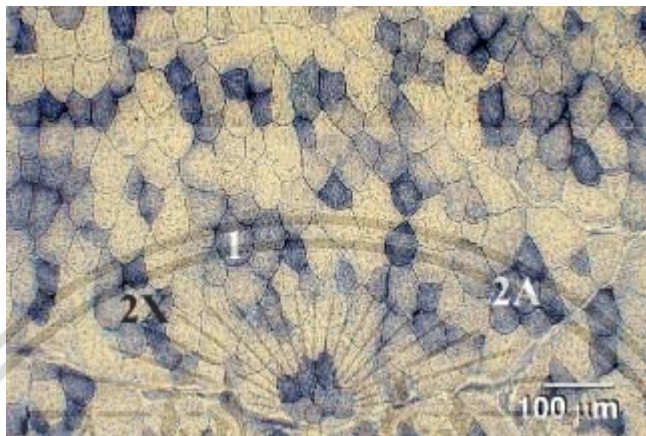
ภาพที่ 2.5 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยวิธี histochemistry โดยอาศัยการทำงานของ mATPase (A) แสดงปฏิกิริยาของ mATPase ที่ป่มด้วยกรดจะแสดงในเห็นกล้ามเนื้อ Type I ที่มีสีเข้ม (B) แสดงปฏิกิริยาของ mATPase ที่ป่มด้วยด่างจะแสดงในเห็นกล้ามเนื้อ Type IIa และ Type IIx ที่มีสีเข้ม

ที่มา: Anonymous. (2015c)

2) การแบ่งตามขบวนการเมแทบอลิซึมสามารถวัดจาก activity ของ metabolic enzyme ในไมโทคอนเดรีย 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 จากนั้นทำการแยกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อระหว่าง fast oxidative (type I, type IIa) และ fast glycolytic (type IIb) ด้วย metabolic enzyme base ซึ่งสามารถแยกได้โดยอาศัยความแตกต่างกันของ 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 ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการเชิงงานเพื่อการศึกษเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่เป็นการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้เห็นถึงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในรูปของจุดต่างๆ ที่เกิดขึ้นในไมโทคอนเดรีย และสามารถบอกสัดส่วนของไมโทคอนเดรีย และกิจกรรมของเอนไซม์ SDH ที่เกิดขึ้นได้ เส้นใยกล้ามเนื้อที่มี SDH มาก (มีไมโทคอนเดรียสูง) จะย้อมติดสีได้มาก เส้นใยชนิด oxidative จะมีจุดที่ย้อมติดสีม่วงหนาแน่นทึบ ในขณะที่เส้นใยกล้ามเนื้อชนิด non-oxidative จะมีจุดสีม่วงกระจายระเจจกว่า ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธี histochemistry โดยอาศัยการทำงานของ SDH แสดงให้เห็นการย้อมติดสีที่มากในเส้นใยแบบ oxidative
ที่มา: Anonymous. (2015d)

Kirchofer *et al.* (2002) ทำการศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อเพื่อจัดประเภทและองค์ประกอบของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยวิธี histochemistry โดยทำการศึกษาในเนื้อโค ซึ่งกล้ามเนื้อถูกตัดและย้อมสีโดยใช้ SDH และ ATPase โดยปริมาณของเส้นใย β -red, α -red และ α -white ถูกใช้กำหนดชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ พบว่า กล้ามเนื้อที่ประกอบด้วยเส้นใยชนิด β -red มากกว่า 40% จะจัดเป็น red fiber ในทำนองเดียวกันกล้ามเนื้อที่ประกอบด้วยเส้นใยชนิด α -white มากกว่า 40% จะจัดเป็น white fiber และส่วนที่เหลือจัดเป็น intermediate fiber พบว่า กล้ามเนื้อไบพาย (*Infraspinatus*) จัดเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อแบบ red fiber เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์ของ β red มากกว่า 40% กล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) จัดเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อแบบ white fiber เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์ของ α -white มากกว่า 40% และกล้ามเนื้อสันในเทียมจัดเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อแบบ intermediate fiber เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์ของ β red และ α -white ในสัดส่วนที่เท่าๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดรูปแบบของ myosin heavy chain (MHC) โดยวิธี gel electrophoresis (SDS-PAGE)

วิธีการ electrophoresis เป็นเทคนิคที่ใช้แยกสาร วิเคราะห์ และเตรียมสารที่มีประจุไฟฟ้า เช่น กรดอะมิโน โปรตีน และ กรดนิวคลีอิก โดยอาศัยหลักการที่ว่า โปรตีนที่มีประจุไฟฟ้าจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วที่ตรงข้ามกันด้วยกระแสไฟฟ้า ทั้งนี้ โปรตีนจะผ่านแผ่นเจลซึ่งโครงสร้างภายในมีลักษณะเป็นรูพรุนและเชื่อมต่อกันเป็นร่างแห ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการเชื่อมต่อกันของ acrylamide และ bis acrylamide จึงทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่ ขึ้นกับ รูปร่างและขนาดโปรตีน ทำให้โมเลกุลขนาดใหญ่เคลื่อนที่ช้ากว่าโปรตีนขนาดเล็ก

การจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยอาศัยชนิดของ MHC ที่แตกต่างกันนั้นพบว่าส่วนใหญ่ MHC จะพบในกล้ามเนื้อที่โตเต็มที่แล้ว แบ่งได้เป็น 4 ชนิด คือ MHC I, MHC II, MHC IIx, และ MHC IIb (Talmadge, 2000) Oury et al. (2010) อธิบายว่าการกำหนดความแตกต่างของ ชนิดของ MHC isoform ตามการเคลื่อนที่ของ isoform แต่ละชนิด โดยการใช้ gel electrophoresis (SDS-PAGE) กล่าวคือการเคลื่อนที่ของ MHC จากการเคลื่อนที่เร็วที่สุดจะอยู่ด้านล่างของเจล และช้าที่สุดอยู่ด้านบนของเจล คือ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx ตามลำดับ



ภาพที่ 2.7 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)

2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างการจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยวิธี histochemistry กับ การจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดรูปแบบของ myosin heavy chain (MHC) โดยวิธี gel electrophoresis (SDS-PAGE)

Sayd *et al.* (1998) ได้ทำการศึกษาจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ *semitendiosus* ของแกะลูกผสม โดยใช้วิธี histochemistry ร่วมกับวิธี gel electrophoresis (SDS-PAGE) และได้หาความสัมพันธ์ของการจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อทั้ง 2 วิธี พบว่าการจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธี gel electrophoresis มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับวิธี histochemistry โดยมีค่าสหสัมพันธ์ของการจำแนกเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด Type I และ MHC-I, เส้นใยกล้ามเนื้อชนิด Type IIa และ MHC-IIa, เส้นใยกล้ามเนื้อชนิด Type IIb และ MHC-IIb เท่ากับ +0.75 +0.47 และ +0.68 ตามลำดับ ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างวิธีการที่ศึกษา

Trait	MHC-I	MHC-IIa	MHC-IIb
Type I	+0.75	NS	-0.69
Type IIa	NS	+0.47	-0.17
Type IIb	-0.66	-0.36	+0.68

MHC = การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อตามชนิดรูปแบบของ myosin heavy chain, Type = การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยวิธี histochemistry, NS=ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)
ที่มา : คัดแปลงจาก Sayd *et al.* (1998)

2.8 คุณภาพเนื้อ

คุณภาพเนื้อ หมายถึง ผลรวมของคุณลักษณะและคุณสมบัติของเนื้อตามความต้องการของผู้บริโภค รวมทั้งความเหมาะสมในการแปรรูป (ชัยณรงค์ คันทพนิต, 2529) ซึ่ง Lawrie (1991) ได้สรุปว่า คุณภาพเนื้อเป็นผลของความซับซ้อนในระบบสรีรวิทยาและชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับลักษณะเนื้อสัมผัสหรือความนุ่มของเนื้อถูกนำมาใช้เป็นเกณฑ์ที่สำคัญในการยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพเนื้อนี้มีดังนี้

2.8.1 ความยาวซาร์โคเมียร์ (Sarcomere length)

ซาร์โคเมียร์คือหน่วยที่เล็กที่สุดของกล้ามเนื้อ (muscle unit) บริเวณตรงกลางของ I band จะมีเส้นทึบที่เรียกว่า z-line ระยะห่างระหว่าง z-line 2 เส้นที่อยู่ติดกันเรียกว่า 1 ซาร์โคเมียร์ ในสภาวะปกติซาร์โคเมียร์จะมีความยาวประมาณ 2.5 ไมโครเมตร ความยาวของซาร์โคเมียร์มีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อโดยพบว่าถ้าเนื้ออยู่ในสภาวะคลายตัวความยาวของซาร์โคเมียร์จะมากกว่าในเนื้อที่หดตัวและเนื้อจะมีความนุ่มมากกว่า (Vandendriessche *et al.* 1984)

Anderson (1999) กล่าวว่า การหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อ มีความสัมพันธ์ กับคุณภาพของเนื้อหลายประการ เช่น การเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่กล้ามเนื้อเกิดการหดตัวอย่างถาวรภายหลังสัตว์ตาย เกิดได้เมื่อพลังงานที่สะสมอยู่ในรูป ไกลโคเจน, ADP และ ATP ถูกใช้ไปจนหมด ปริมาณของกรดแลคติกที่เกิดขึ้นจากขบวนการ anaerobic metabolism เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก สภาวะเช่นนี้เนื้อจะมีสภาพเกร็งตัวเนื่องจากเส้นใยกล้ามเนื้อหดสั้นเข้าเป็นอย่างมาก โดยพบว่าความยาวซาร์โคเมียร์สั้นลงอย่างมากทำให้เนื้อที่ได้ภายหลังสัตว์ตายจึงมีความเหนียวมากกว่าปกติ แต่จากรายงานของ Koochmarai (1994) พบว่าแม้ว่าภายหลังสัตว์ตายเนื้อจะมีความเหนียวมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อกล้ามเนื้ออยู่ในสภาวะ rigor mortis แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป เอนไซม์ที่อยู่ในเนื้อ จะออกมาทำการย่อยโปรตีนในเนื้อทำให้เนื้อเกิดความนุ่มขึ้น การศึกษาความยาวซาร์โคเมียร์ในโค ของ Hwang *et al.* (2010) พบว่ากล้ามเนื้อสันใน *psaos major* มีซาร์โคเมียร์ยาวที่สุด รองลงมาคือ กล้ามเนื้อสันนอก *longissimus dorsi* และกล้ามเนื้อพับใน *semimembranosus* ตามลำดับ โดยให้เหตุผลว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ PM จัดอยู่ในกลุ่ม intermediate ดังนั้นการหดตัวอย่างถาวร (rigor mortis) จะเกิดขึ้นได้ช้ากว่ากล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ SM ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม fast contraction

Kannan *et al.* (2006) ได้ศึกษาระดับโภชนะในอาหารที่มีผลต่อโครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อ ซึ่งระดับโปรตีนในอาหารที่ทำการศึกษาคือ ระดับโปรตีนต่ำ เท่ากับ 12 เปอร์เซ็นต์ ระดับโปรตีนสูงเท่ากับ 18 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อิทธิพลของระดับโภชนะในอาหาร ไม่มีผลต่อความยาวซาร์โคเมียร์ในกล้ามเนื้อสันนอกของแพะ โดยกล้ามเนื้อสันนอกนั้นจัดอยู่ในกลุ่ม fast contraction ซึ่งจะมีการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อเร็ว พบว่ามีความยาวซาร์โคเมียร์อยู่ในช่วง 1.61-1.74 ไมครอน ในขณะที่ Kadim *et al.* (2006) พบว่า ความยาวซาร์โคเมียร์ในกล้ามเนื้อแพะ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Batina พันธุ์ Dhofari และพันธุ์ Jabal Akhdar ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกล้ามเนื้อสันนอกของแพะทั้ง 3 สายพันธุ์ มีความยาวซาร์โคเมียร์อยู่ในช่วง 1.7-1.8 ไมครอน กล้ามเนื้อ *B.femoris* มีความยาวซาร์โคเมียร์อยู่ในช่วง 1.8 ไมครอน และกล้ามเนื้อ *semimembranosus* มีความยาวซาร์โคเมียร์อยู่ในช่วง 1.8-1.9 ไมครอน โดยกล้ามเนื้อทั้ง 3 ชนิดนี้ จัดอยู่ในกลุ่ม fast contraction เช่นเดียวกัน

2.8.2 ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber size)

ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อขึ้นอยู่กับอิทธิพลของหลายปัจจัย เช่น ชนิดของสัตว์ เพศ อายุ ระดับโภชนะ (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529) ขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ เส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด (fine texture) ซึ่งมีความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อสั้น และเส้นใยกล้ามเนื้อหยาบ (coarse texture) ซึ่งมีความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อยาวกว่า เนื้อที่มีความนุ่ม จะเป็นเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อละเอียด โดยในกล้ามเนื้อโคจะเหนียวกว่าเนื้อแพะ และเนื่องจากในเนื้อโคมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใหญ่กว่า

Kadim *et al.* (2006) ที่ศึกษาขนาดชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อสันนอกของแพะพันธุ์บาตินาและพันธุ์โดฟารี ซึ่งเป็นแพะพันธุ์พื้นเมืองของประเทศโอมาน พบว่า แพะทั้ง 2 สายพันธุ์มีเส้นผ่านศูนย์กลางของ type IIA ยาวที่สุดประมาณ 74.5 และ 63.4 ไมครอน ตามลำดับ ส่วน type IIB เป็น 65.1 และ 56.5 ไมครอน ตามลำดับ และ type I เป็น 66.6 และ 55.1 ไมครอน ตามลำดับ

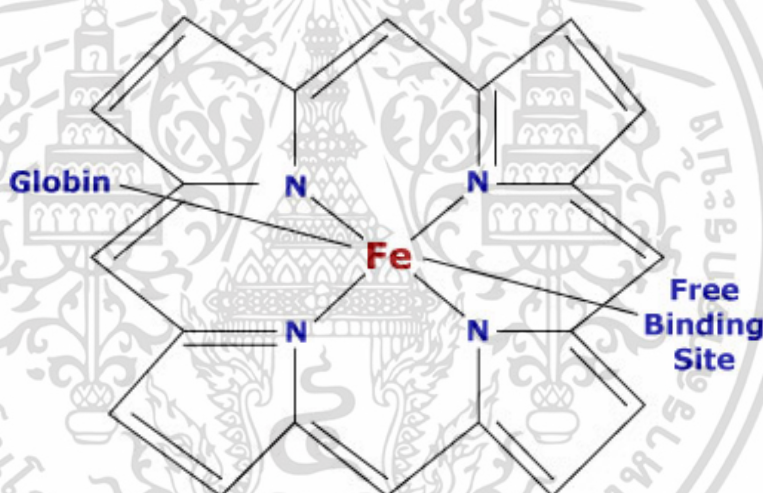
2.8.3 ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (water holding capacity)

ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ คือ ความสามารถของเนื้อที่จะคงน้ำไว้ในจำนวนเกือบเท่าเดิมหรือเท่าเดิมได้ แม้จะมีแรงภายนอกกระทำ เช่น การตัด การให้ความร้อน การบด ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการสูญเสียน้ำ (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่ชี้บ่งชี้ถึงคุณภาพของเนื้อสัตว์ (Warriss, 2000) ทั้งนี้ กล้ามเนื้อจากสัตว์ชนิดเดียวกันแต่มาจากตำแหน่งกล้ามเนื้อที่แตกต่างกันก็มีความสามารถในการอุ้มน้ำแตกต่างกัน โดยปกติเนื้อสัตว์จะมีการสูญเสียน้ำอยู่แล้ว ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีทั้งก่อนและหลังสัตว์ตาย โดยหลังจากสัตว์ตาย ค่า pH ในเนื้อลดลง เนื่องจากปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น ทำให้โปรตีนในเนื้อเสียสภาพ (denature) มีผลทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง (Warriss, 2000) นอกจากนี้การสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อยังเป็นผลมาจากการเกิดสภาวะหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย (rigor mortis) โดยเกิดจากเส้นใยแอกตินและไมโอซินเข้าจับกันอย่างแน่นหนา ทำให้เกิดการดึงสายโปรตีน (protein chain) ชิดเข้าหากัน เกิดสภาพ steric effect ทำให้สูญเสียที่ว่างสำหรับโมเลกุลน้ำในโปรตีน (ชัยณรงค์ คันธพนิต, 2529) ทั้งนี้ ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อยังเป็นคุณสมบัติที่สำคัญมากที่สุดประการหนึ่งที่มีผลต่อกระบวนการทำผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สามารถตัดสินใจได้จาก ค่าการสูญเสียน้ำขณะเก็บรักษา (drip loss) ค่าการสูญเสียน้ำระหว่างปรุง (cooking loss) ค่าการสูญเสียน้ำขณะละลายน้ำแข็ง (thawing loss) และค่าการสูญเสียน้ำขณะปิ้งย่าง (grilling loss) (สุกัญญา ยอดสร้อย 2556)

Schönfeldt *et al.* (1993) รายงานค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ แพะแองโกรา และแกะ ในกล้ามเนื้อ *longissimus thoracis et lumborum* และกล้ามเนื้อ *Semimembranosus* พบว่า ในกล้ามเนื้อแพะและแกะมีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ในกล้ามเนื้อของแพะทั้ง 2 สายพันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงเท่ากับ 17.75 และ 21.12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากล้ามเนื้อของแกะ โดยในกล้ามเนื้อของแกะ มีค่า 18.66 และ 22.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Dhandra *et al.* (2003) ได้ศึกษาเปรียบเทียบค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงระหว่างแพะลูกผสมกลุ่ม cabrito น้ำหนักเฉลี่ย 14-22 กิโลกรัม และกลุ่ม chevon น้ำหนักเฉลี่ย 30-35 กิโลกรัม พบว่า ลูกผสมกลุ่ม chevon มีค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง 39.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่า ลูกผสมกลุ่ม cabrito (19.5 เปอร์เซ็นต์)

2.8.4 สี (color)

สีของเนื้อสัตว์เป็นความรู้สึกระการแรกที่ผู้บริโภค โภคสัมผัสและเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดในการตัดสินใจเลือกซื้อของผู้บริโภค ซึ่งเนื้อสัตว์มีสีตั้งแต่สีชมพูอมเทาจนถึงสีแดงเข้มออกม่วง โดยสีที่เกิดขึ้นนี้ เกิดจากรงควัตถุ (pigment) ที่อยู่ในเนื้อสัตว์ คือ โปรตีนไมโอโกลบิน (myoglobin) และ โปรตีนฮีโมโกลบิน (haemoglobin) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่อยู่ในเลือด โดยโมเลกุลของไมโอโกลบิน ประกอบด้วยโครงสร้างที่สำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นโปรตีนเรียกว่า โกลบิน (globin) และส่วนที่เป็นโครงสร้างที่ไม่ใช่โปรตีนเรียกว่า heme ring ซึ่งมีธาตุเหล็ก (Fe) เป็นองค์ประกอบอยู่ตรงกลางโมเลกุล (ดังภาพที่ 2.4) ซึ่งสีของเนื้อสัตว์จะแตกต่างกันไปตามชนิดสัตว์ เพศ อายุ ตำแหน่งและชนิดของกล้ามเนื้อ โดยกล้ามเนื้อส่วนต่างๆ ของร่างกายสัตว์จะมีลักษณะโครงสร้างของเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน เช่น ในสัตว์อายุน้อยจะมีปริมาณของไมโอโกลบินและฮีโมโกลบินต่ำกว่าสัตว์ที่มีอายุมาก ในขณะที่สัตว์อายุมาก กล้ามเนื้อส่วนที่มีการเคลื่อนไหวมากและทำงานหนักจะมีการทำงานแบบใช้ออกซิเจน จะมีการสะสมปริมาณของไมโอโกลบินสูง ส่งผลให้เนื้อมีสีเข้ม (ชัยณรงค์ คันรพนิต, 2529)



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างของไมโอโกลบิน

ที่มา: Anonymous. (2015e)

การเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นในเนื้อสัตว์ สามารถตรวจวัดได้โดยการตรวจวัดค่าสี ซึ่งในปัจจุบันนิยมรายงานในระบบ CIE (Comission Internationale de L'Eclairage) โดยแบ่งค่าสีออกเป็น 3 เคนสี คือ L*, a* และ b* โดยที่ L* หมายถึง ความสว่างของสี (lightness) a* หมายถึง ค่าสีแดง (redness) ซึ่งจะอยู่ในเคนสีเขียวจนถึงแดง และ b* หมายถึง ค่าสีเหลือง (yellowness) ซึ่งมีเคนสีตั้งแต่สีน้ำเงินไปจนถึงสีเหลือง (Warriss, 2000)

2.8.5 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

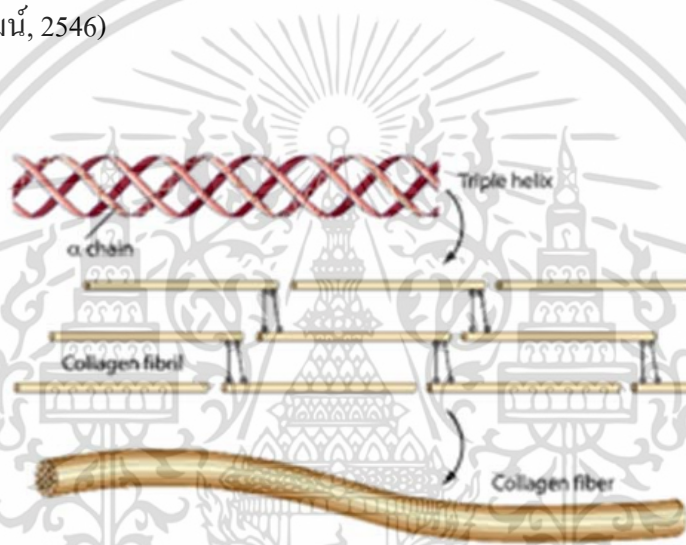
ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสัตว์เป็นปัจจัยหนึ่งที่ยกถึงคุณภาพเนื้อ โดยทั่วไป หลังจากสัตว์ตายแล้วจะเกิดกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์กล้ามเนื้อ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในกล้ามเนื้อ และมีผลต่อคุณภาพในด้านที่เกี่ยวข้องกับคุณลักษณะในการอุ่มน้ำของเนื้อ และความนุ่มของเนื้อสัตว์ (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2540)

ในขณะที่แทงคอเอาเลือดออกนั้น ระบบหมุนเวียนของเลือดจะหยุดชะงักลง ดังนั้นจึงไม่มีออกซิเจนเข้าสู่กล้ามเนื้อ ส่งผลให้กระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน (aerobic pathway) หยุดการทำงาน แต่กระบวนการยัดหดตัวในกล้ามเนื้อยังไม่หยุดทำงาน โดยอาศัยพลังงานจากการสลายไกลโคเจนจากกระบวนการ anaerobic metabolism ซึ่งได้พลังงานเพียงเล็กน้อย อีกทั้งกระบวนการนี้ยังเกิดกรดแลคติกในกล้ามเนื้อ และความร้อนอีกด้วย ซึ่งการสะสมกรดแลคติกในกล้ามเนื้อนี้ ส่งผลให้ค่า pH ในกล้ามเนื้อนั้นลดลงอย่างช้าๆ ซึ่งในเนื้อปกติจะมีค่า pH ภายหลังสัตว์ตายอยู่ที่ 7.0 ภายหลังสัตว์ตาย 6-8 ชั่วโมงจะมีค่า pH อยู่ที่ 5.6-5.7 และในระยะเวลาที่ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย (ultimate pH) อยู่ที่ 5.3-5.7 ซึ่งค่า ultimate pH ขึ้นอยู่กับแหล่งพลังงานคือ ไกลโคเจน พบว่าในกล้ามเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อแบบ Type I (slow-twitch oxidative) จะมีการสะสมพลังงานในรูปแบบของไขมัน จึงทำให้มีการสะสมไกลโคเจนอยู่ต่ำกว่า จึงทำให้มีค่า pH สูงกว่ากล้ามเนื้อที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อแบบ Type II (fast-twitch glycolysis) นอกจากนี้ การจัดการก่อนการฆ่า และหลังการฆ่า ตลอดจนตำแหน่งกล้ามเนื้อและชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ก็มีผลต่อปริมาณกรดแลคติกที่เกิดจากกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งมีผลกระทบต่อ pH ของเนื้ออีกด้วย (Warriss, 2000)

คุณภาพเนื้อสามารถวัดได้โดยคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ซึ่งคุณภาพเนื้อมีความสัมพันธ์กับองค์ประกอบของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อภายในกล้ามเนื้อแต่ละชนิด Gadiyaram *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาค่าสีและค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อสันนอก กล้ามเนื้อใบพาย และกล้ามเนื้อสันในเทียมของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์เพศผู้ตอน น้ำหนักเฉลี่ย 35 กิโลกรัม พบว่า มี ค่า L* เท่ากับ 42.2 a* เท่ากับ 10.5 และค่า b* เท่ากับ 3.9 ส่วนค่า pH ของกล้ามเนื้อสันนอกมีค่าต่ำกว่ากล้ามเนื้อใบพายและกล้ามเนื้อสันในเทียม แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ค่า pH ในเนื้อลดลงมีผลทำให้ค่า L* สูงขึ้น เนื่องจากค่า L* ของเนื้อมีความสัมพันธ์ในทางลบกับค่า pH เมื่อเนื้อมีความ pH ต่ำลง ส่งผลให้ความสามารถในการอุ่มน้ำของเนื้อลดลง ลักษณะผิวหน้าของเนื้อจึงมีน้ำซึมออกมามาก จึงทำให้เกิดการสะท้อนกลับของแสงบนผิวหน้าเนื้อสูง อีกทั้งกล้ามเนื้อสันนอกยังจัดเป็นกล้ามเนื้อชนิด white fiber จึงมีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red fiber ในสัดส่วนที่ต่ำกว่า white fiber จึงทำให้ค่า L* ในกล้ามเนื้อสันนอกสูง Kirchofer *et al.*(2002)

2.8.6 คอลลาเจน (Collagen)

เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ประกอบด้วยคอลลาเจนเป็นส่วนใหญ่ โดย collagen fiber จะประกอบด้วย collagen fibril หลายเส้นรวมกัน (ดังภาพที่ 2.9) ซึ่งแต่ละ fibril เกิดจากการเรียงตัวของ collagen molecule ภายใน collagen molecule ประกอบด้วย polypeptide chain เรียกว่า alpha chain 3 เส้น เรียงตัวพันกัน (triple helix) ส่วนประกอบที่สำคัญของ alpha chain คือ กรดอะมิโนชนิด proline, glycine และ hydroxyproline นอกจากนี้เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ลักษณะของ fibril มีลายตามขวาง โดยมีระยะห่างของแถบมืดและสว่าง 64 นาโนเมตร ซึ่งลายตามขวางนี้เกิดจากการเรียงตัวของ tropocollagen ซ้อนสลับกันคล้ายขั้นบันได ปัจจุบันพบว่ามีชนิดของเส้นใยคอลลาเจน ไม่น้อยกว่า 19 ชนิด ซึ่งแบ่งตามลักษณะ ส่วนประกอบของกรดอะมิโนและคุณสมบัติทางกายภาพ (เกล็ดแก้ว คำนวณวิวัฒน์, 2546)



ภาพที่ 2.9 Collagen molecule

ที่มา : Anonymous. (2015f)

เนื้อที่มีปริมาณคอลลาเจนมากจะเหนียว ปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีไม่เท่ากัน และปริมาณคอลลาเจนจะเพิ่มขึ้นตามอายุของสัตว์ โดยคอลลาเจนบางส่วนสามารถละลายได้เมื่อได้รับความร้อน เรียกว่า soluble collagen ส่วนคอลลาเจนที่ไม่ละลายเรียกว่า insoluble collagen (Torrescano *et al.* 2003) นอกจากนี้การเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อแต่ละส่วน หรือการทำงานของกล้ามเนื้อต่างๆของสัตว์ เช่นกล้ามเนื้อที่มีการทำงานและมีการเคลื่อนไหวมาก เช่น กล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อน่อง จะทำให้เนื้อมีความเหนียวมากกว่า กล้ามเนื้อที่มีการเคลื่อนไหวน้อย เช่น กล้ามเนื้อสันนอก กล้ามเนื้อสันใน Casey (1992) ได้ศึกษาปริมาณ คอลลาเจนในกล้ามเนื้อแพะพันธุ์บอร์ พบว่ากล้ามเนื้อของแพะมีปริมาณคอลลาเจนเฉลี่ยเท่ากับ 5.0 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อ และมีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้เฉลี่ยเท่ากับ 32.9 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Kannan *et.al.* (2006) พบว่าปริมาณคอลลาเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล้ามเนื้อสันนอกของแพะมีปริมาณคอลลาเจนรวมอยู่ในช่วง 3.65-4.52 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อ และปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้มีค่าอยู่ในช่วง 12.60-21.60 เปอร์เซ็นต์ จันทรพร เจ้าทรัพย์ และคณะ (2556) ได้ศึกษาคุณภาพเนื้อของกล้ามเนื้อสะโพก 4 ชนิดของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ พบว่าปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ และปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายของกล้ามเนื้อหมอนมีค่าต่ำกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ส่งผลให้กล้ามเนื้อหมอนมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่นที่ทำการศึกษา ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ปริมาณคอลลาเจนของกล้ามเนื้อสะโพก 4 ชนิดของแพะลูกผสมบอร์

ลักษณะที่ศึกษา	กล้ามเนื้อพับ	กล้ามเนื้อ	กล้ามเนื้อ	กล้ามเนื้อลูก	p- value
	นอก	พับใน	หมอน	มะพร้าว	
	BF	SM	ST	VL	
total collagen (mg/g)	5.65 ^a ± 0.17	5.96 ^a ± 0.17	4.79 ^b ± 0.17	5.92 ^a ± 0.17	<0.0001
soluble collagen (mg/g)	0.31 ^a ± 0.01	0.35 ^a ± 0.01	0.29 ^b ± 0.01	0.33 ^a ± 0.01	<0.0001
insoluble collagen (mg/g)	5.34 ^a ± 0.16	5.61 ^a ± 0.16	4.51 ^b ± 0.16	5.59 ^a ± 0.16	<0.0001
%soluble collagen	5.53 ± 0.20	5.91 ± 0.20	6.02 ± 0.20	5.62 ± 0.20	0.271
Shear force	6.47 ^a ± 0.21	6.09 ^b ± 0.20	3.47 ^c ± 0.22	5.84 ^b ± 0.20	<0.0001

^{a-c} อักษรกำกับที่แตกต่างในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ที่มา : จันทรพร เจ้าทรัพย์ และคณะ (2556)

2.8.7 เอนไซม์ที่ช่วยย่อยโปรตีนในเนื้อ (Proteolytic enzyme)

Calpain เป็นเอนไซม์มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อสัตว์ มีผลในการทำให้เนื้อมีความนุ่มขึ้นเนื่องจากจะเข้าย่อยสลายเส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณ Z-line (μ -calpain) จะเข้าย่อยสลายเส้นใยกล้ามเนื้อ บริเวณ Z-line 66% บริเวณ I-band 20% และบริเวณ A-band 14%)

เอนไซม์ calpain จัดเป็นเอนไซม์จำพวก intracellular cystein protease เนื่องจากต้องการสารบางชนิดที่สามารถป้องกัน -SH group ซึ่งเป็น active site ให้ยังคงสภาพสมบูรณ์พร้อมทำงานได้ สารดังกล่าวได้แก่ cystein, dithiothreitol (DTT) และ 2-mercaptoethanol เอนไซม์นี้สามารถพบได้ทั่วไปใน sarcoplasm ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อสัตว์ ทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีน desmin, α -actinin, tropomyosin, troponin T และ titin รวมถึงโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อบริเวณ Z-line, N2 line และ M line ด้วย จึงจัดว่าเป็นเอนไซม์สำคัญที่มีบทบาทในการทำให้เนื้อนุ่มภายหลังสัตว์ตาย เอนไซม์ calpain ในกล้ามเนื้อสัตว์ประกอบด้วย isoenzyme 8 ชนิด ได้แก่ calpain1, 2, 5, 7, 10, 12, 14 และ 15 รวมถึง tissue-specific (p94) หรือ calpain-3 แต่เอนไซม์ในเนื้อสัตว์ที่สำคัญซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของระบบเอนไซม์ calpain คือ μ -calpain (calpain1) และ m-calpain (calpain2) ซึ่ง จัดเป็น isoform ของ

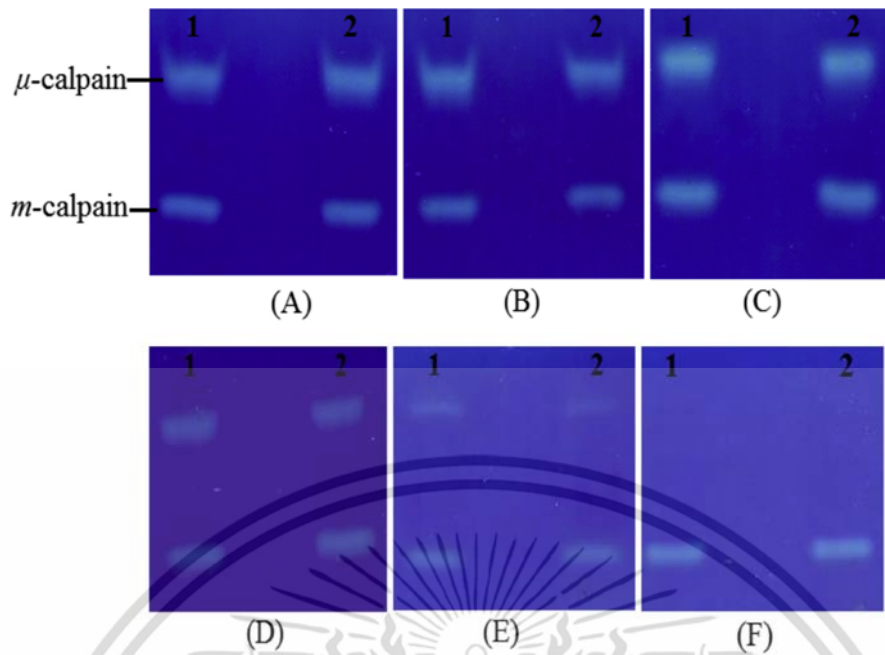
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อคุณผู้ใดเห็นใบเขียวระบุชื่อคุณผู้จัดทำไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

calcium dependent thiol protease ที่สามารถทำงานได้เมื่อมีความเข้มข้นของ Ca^{2+} ในระดับที่ต่างกัน โดยเอนไซม์ μ -calpain ต้องการ Ca^{2+} มากระตุ้นการทำงานในระดับ micromolar ($30 \mu\text{M}$) ส่วนเอนไซม์ m-calpain ต้องการ Ca^{2+} ในระดับ millimolar (1mM) และทำงานได้ดี ที่ pH ประมาณ 7.5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส การทำงานของเอนไซม์ calpain จะต้องมี Ca^{2+} ที่ถูกปลดปล่อยออกมาสู่ภายนอกเซลล์กล้ามเนื้อ มากระตุ้นการทำงาน Ca^{2+} ดังกล่าวถูกปล่อยออกมาจากไมโทคอนเดรียผ่านทางซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัม ออกสู่ภายนอกเซลล์กล้ามเนื้อ ดังนั้น หากมีการเพิ่มปริมาณ Ca^{2+} โดยการฉีดสารละลาย CaCl_2 เข้าเข้าไปในซากหรือในเนื้อโคจึงเป็นการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำให้เกิดการฉีกขาดบริเวณ Z-line มากขึ้นส่งผลให้เนื้อโคมีความนุ่มเพิ่มขึ้น

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ calpain นอกจากเกิดขึ้น จาก endogenous inhibitor ซึ่งคือ โปรตีน calpastatin แล้ว สารประกอบในกลุ่ม chelating agents เช่น EDTA, EGTA, E-64, calpeptin และ leupeptin ยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวได้อีกด้วย นอกจากนี้หาก Ca^{2+} รวมตัวกับโลหะ เช่น Zn ions เกิดเป็น chelate ขึ้น จะทำให้ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ย่อยเนื้อลดลง ทำให้ความนุ่มของเนื้อลดลงตามไปด้วย

Calpastatin โปรตีน calpastatin มีน้ำหนักโมเลกุล 130 kDa เป็น endogenous inhibitor ของทั้ง μ -calpain และ m-calpain ต้องการ Ca^{2+} ปริมาณ 40-50 μM และ 250-500 μM ในการจับกับเอนไซม์ μ -calpain และ m-calpains ตามลำดับ และเข้าจับกับโปรตีน titin ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนขณะเริ่มกระบวนการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อสัตว์ภายหลังสัตว์ตาย ทำให้เป็นการเข้าไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ calpain

Biswas *et al.* (2016) ทำการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ calpain ที่ระยะ 0 6 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย โดยวิธี Casein Zymography ซึ่งทำการศึกษาในกล้ามเนื้อ *B. femoris* ของแพะพันธุ์ Jamunapar และ แพะพันธุ์ Jhakrana พบว่า การทำงานของเอนไซม์ calpain ของแพะทั้ง 2 สายพันธุ์ มีการทำงานได้เป็นอย่างดี โดยจะเห็นความเข้มของแถบที่ปรากฏบนแผ่นเจล (ภาพที่ 2.10) ขณะที่ระยะเวลาภายหลังสัตว์ตายเพิ่มขึ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain



ภาพที่ 2.10 การวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ calpain โดยวิธี Casein Zymography ในกล้ามเนื้อ B. femoris ของแพะพันธุ์ Jamunapar (1) และ แพะพันธุ์ Jhakrana (2) โดย (A) = 0 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย (B) = 6 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย (C) = 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย (D) = 48 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย (E) = 72 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย และ (F) = 96 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย

ที่มา : คัดแปลงจาก Biswas *et al.* (2016)

2.8.8 ปริมาณไกลโคเจน (glycogen content)

การเก็บสะสมคาร์โบไฮเดรตในร่างกายสัตว์จะอยู่ในรูปของ ไกลโคเจน (glycogen) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ ขนาดใหญ่และมีการแตกกิ่งของกลูโคส มอนอเมอร์จะถูกสร้างขึ้นจับอยู่บนแกนโปรตีน เรียกว่า glycogenin (MW 37,300 Da; Lehninger *et al.* 1982) แหล่งสะสมไกลโคเจนในร่างกายที่สำคัญคือ ตับ และกล้ามเนื้อ ซึ่งในตับจะมีไกลโคเจนที่มีความเข้มข้นสูง เพราะหน้าที่ที่สำคัญของไกลโคเจนในตับคือ การรักษาระดับน้ำตาลในเลือด ส่วนไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ มีหน้าที่สำรองพลังงานเพื่อใช้สำหรับการหดตัวของกล้ามเนื้อ (Nelson and Cox. 2005) ซึ่งไกลโคเจนในกล้ามเนื้อโครงสร้างมี 2 ประเภท คือ macro glycogen (MG) เป็นไกลโคเจนที่ละลายได้ในกรด (acid soluble) มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 10^7 Da และ proglycogen (PG) เป็นไกลโคเจนที่ไม่ละลายได้ในกรด (acid insoluble) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 4×10^5 Da (Lomako *et al.* 1991; Lomako *et al.* 1993; Alonso *et al.* 1995)

ปริมาณไกลโคเจนในแต่ละมัดกล้ามเนื้อ จะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ทั้งจากภายนอกและภายใน เช่น พันธุ์ อายุ อาหาร ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ การจัดการในกระบวนการฆ่า เป็นต้น โดยทั่วไปแล้ว fast type IIb muscles จะมีไกลโคเจนสูงกว่ากล้ามเนื้อ slow type I (Karlsson *et al.* 1999 ; Schiaffino and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reggiani 1996) Pethick *et al.* (2004) และ Bowker *et al.* (2000) ได้รายงานไว้ว่า fast muscle fiber มีอัตราการสลายของไกลโคเจนเร็วกว่า เนื่องจากมี ATPase activity ที่สูงกว่าทำให้ระดับ ATP ลดลงเร็วกว่าซึ่งจะไปเร่งปฏิกิริยาไกลโคไลซิสทำให้เกิดการสลายตัวของไกลโคเจนเร็วกว่าจึงอาจเป็นผลให้ปริมาณของไกลโคเจนเหลืออยู่น้อย

2.8.9 ความนุ่ม (tenderness)

ความนุ่มของเนื้อถูกนำมาเป็นเกณฑ์ที่สำคัญในการประเมินการยอมรับของผู้บริโภค (Warriss, 2000) ทั้งนี้ ความนุ่มของเนื้อสัตว์มีความสัมพันธ์กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ชนิดของสัตว์ โดยในกล้ามเนื้อโคจะเหนียวกว่าเนื้อแพะ และ เนื่องจากมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใหญ่กว่าในแพะ และ (นันทนา ช่วยชูวงศ์, 2545) อายุสัตว์สัตว์ที่มีอายุมากเนื้อจะเหนียวกว่าสัตว์ที่มีอายุน้อย เนื่องจากปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และปริมาณของ intermolecular crosslinks ที่เพิ่มขึ้น สำหรับเรื่องเพศ กล้ามเนื้อของเพศผู้จะมีความเหนียวมากกว่ากล้ามเนื้อสัตว์เพศเมีย เพราะสัตว์เพศผู้มีกิจกรรมต่างๆ มากกว่า สำหรับชนิดของกล้ามเนื้อ พบว่า กล้ามเนื้อที่มีการทำงานหนักหรือทำหน้าที่รองรับน้ำหนักมากๆ จะมีปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูง ประกอบกับคุณภาพของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่ำ ส่งผลให้เนื้อมีความเหนียวมากขึ้น (จุฑารัตน์ เศรษฐกุล, 2540; Warriss, 2000) ทั้งนี้ ปริมาณไขมันแทรกในกล้ามเนื้อ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตายและระยะเวลาการบ่มเนื้อ ก็มีผลต่อความนุ่มของเนื้ออีกด้วย ซึ่งในการตรวจวัดความนุ่มของเนื้อนั้น สามารถวัดได้จากการประเมินทางประสาทสัมผัส และการตรวจวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear force) โดยเครื่อง Warner-Blatzer shear เป็นต้น ความนุ่มของเนื้อสัมพันธ์ตามปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและการหดตัวของเส้นใยโปรตีนแอคโตไมโอซิน (actomyosin) โดยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อสัตว์อายุมากขึ้น (Warriss, 2000)

Wardi Pratiwi *et al.* (2004) พบว่ากล้ามเนื้อสันนอกของแพะพันธุ์บอร์เพศผู้ น้ำหนักเฉลี่ย 30 กิโลกรัมมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อค่อนข้างสูงคือ 6.91 กิโลกรัม Mckeith *et al.* (1979) รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของแพะที่บ่มไว้ 7 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ 7.6 กิโลกรัม

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

ทำการศึกษาในแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ เพศผู้ จำนวน 10 ตัว ซึ่งเป็นแพะที่มีระดับเลือดสายพันธุ์บอร์ 50 เปอร์เซ็นต์และมีน้ำหนักเข้ามาเฉลี่ย 26.52 ± 3.53 กิโลกรัม เข้าขุนแบบขังคอกที่อายุ 7-10 เดือน เลี้ยงด้วยอาหารข้น โปรตีน 12 เปอร์เซ็นต์และหญ้าสดเป็นอาหารหยาบ นาน 3 เดือน ทำการเลี้ยงที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม จากนั้นทำการฆ่าแพะทุกตัวและทำการตัดแต่งซาก และสุ่มเนื้อที่จะทำการศึกษา โดยกล้ามเนื้อที่ศึกษาครั้งนี้คือกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimusdorsi*) กล้ามเนื้อสันใน (*Psoas major*) กล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*) และกล้ามเนื้อใบพาย (*Infraspinatus*) (ภาพที่ 3.1) โดยสถานที่ที่เข้ามาและทำการเก็บตัวอย่างที่ โรงฆ่าสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม



ภาพที่ 3.1 แพะที่ใช้ในการทดลอง

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

1) อุปกรณ์

1. เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด-ด่างในเนื้อ (Mettler Toledo model SG-2, China)
2. เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (Ebro model TTX100, Germany)
3. เครื่องมือวัดสีของเนื้อ (Minolta Chromameter CR-300, Japan)
4. เครื่องชั่งชนิดหยาบ (Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
5. เครื่องชั่งชนิดละเอียด (Sartorius, Basic, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Ramon VP-600A, Germany)
 7. เครื่อง Helium-Neon Laser SC-31004
 8. กุ้งสุญญากาศชนิด Polyvinyl Chloride (PVC)
 9. เครื่องบดละเอียด รุ่น minipimer MR 430 HC (Moulinex, France)
 10. Micro tube (Eppendorf, Germany)
 11. Microplate (Maxisorp, NuncTM)
 12. อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath, Memmert, Germany)
 13. เครื่องเขย่าสาร (Vortex, Vision Scientific co., ltd. model KMC-1300V, Korea)
 14. ไมโครปิเปต ขนาด 200-1000 ไมโครลิตร (Gilson S.A.S, France)
 15. เครื่อง automatic microplate reader (TECAN)
 16. เครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า Mini-PROTEAN® Tetra Cell (Bio rad, USA)
 17. Scanner Epson Perfection V700 Photo
 18. Software Quantity One (Biorad, USA)
 19. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น Universal 32R (Hettich, Germany)
 20. เครื่องปั่น Homogenizer (Ika, Germany)
 21. ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส
 22. ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิที่ -80 องศาเซลเซียส
- 2) สารเคมี สารเคมีและการเตรียมสาร ได้แสดงไว้ในภาคผนวก

3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อ 4 ชนิด คือ กล้ามเนื้อไบพาย (IF) กล้ามเนื้อสันในเทียม(SS) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อสันใน (PM) ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ โดยใช้ในการศึกษา ดังนี้

1) การศึกษาความยาวซาร์โคเมอร์ เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตายที่ระยะเวลา 2, 9 และ 24 ชั่วโมง ทำการตัดชิ้นละประมาณ 1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น แช่ใน Solution A เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นย้ายชิ้นเนื้อจาก Solution A มาแช่ใน Solution B และในระหว่างการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างจะถูกแช่ในน้ำแข็ง และเมื่อถึงห้องปฏิบัติการจะถูกแช่ต่อในตู้เย็นอุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียสใน Solution B เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาวัดความยาวซาร์โคเมอร์ต่อไป

2) การศึกษาขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อไม่เกิน 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย ขนาดประมาณ 1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น ใน neutral formalin 4 % และในระหว่างการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างจะถูกแช่ในน้ำแข็ง และเมื่อถึงห้องปฏิบัติการจะถูกแช่ต่อในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาวัดขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ ศึกษาปริมาณ ไกลโคเจน เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อที่ประมาณ 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย โดยจุ่มชิ้นเนื้อในไนโตรเจนเหลวแล้วห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ ในระหว่างการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างจะถูกแช่ในน้ำแข็งแห้ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการ ชิ้นตัวอย่างจะถูกแช่ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อทำการจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ และศึกษาปริมาณของไกลโคเจนต่อไป

4) การวิเคราะห์หา calpain activity ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อภายใน 2 และ 9 ชั่วโมง ภายหลังจากสัตว์ตาย โดยจุ่มชิ้นเนื้อในไนโตรเจนเหลวแล้วห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ และในระหว่างการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างจะถูกแช่ในน้ำแข็งแห้ง เมื่อถึงห้องปฏิบัติการ ชิ้นตัวอย่างจะถูกแช่ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์หา calpain activity ต่อไป

5) การวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจน และ การศึกษาค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ภายหลังจากสัตว์ตาย เนื้อจะถูกแช่ในน้ำแข็งมายังห้องปฏิบัติการ จากนั้นจะทำการตัดแบ่งเนื้อเป็นชิ้นบรรจุในถุงสุญญากาศ และเก็บในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการบ่มเป็นระยะเวลา 27 และ 14 วัน เมื่อครบระยะเวลาตามที่กำหนด จะนำตัวอย่างมาแช่ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจน และ การศึกษาค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ต่อไป

Psoas major

Longissimus dorsi

Supraspinatus

Infraspinatus

ภาพที่ 3.2 แสดงตำแหน่งกล้ามเนื้อเพาะ 4 ชนิดที่นำมาทำการศึกษา

ที่มา : Anonymous. (2015b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การศึกษาคุณลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อ

3.3.2.1 ลักษณะความเป็นกรด-ด่าง และ ค่าสีของเนื้อ

ลักษณะความเป็นกรด-ด่าง ของตัวอย่างกล้ามเนื้อ LD IF SS และ PM ภายหลังจากสัตว์ตาย และ 24 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง pH meter (Metler, USA) โดยใช้หัววัดแบบ puncture สำหรับวัดเนื้อโดยตรง การวัดค่าสีของเนื้อ จะทำการวัดที่ 24 ชั่วโมง ภายหลังจากสัตว์ตาย โดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อ มาตัดส่วนหน้าตัดของเนื้อออกประมาณ 1 เซนติเมตร และปล่อยให้ผิวหน้าตัดของชิ้นเนื้อสัมผัสกับอากาศ 45 นาที จากนั้นทำการวัดสีบริเวณหน้าตัดของชิ้นเนื้อซึ่งจะแสดงผลในรูปของค่า L^* a^* และ b^* ด้วยเครื่อง Chromameter (Minolta, Japan)

3.3.2.2 เปรอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลาย เปรอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่าง การปรุง การวัดค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ (Warner-Bratzler shear force)

เปรอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลาย ภายหลังจากสัตว์ตายตัวอย่างเนื้อจะถูกขนส่งยังห้องปฏิบัติการ โดยแช่ในน้ำแข็ง นำตัวอย่างเนื้อมาทำการตัดแบ่งกล้ามเนื้อละ 3 ชิ้น และทำการชั่งน้ำหนัก (W1) จากนั้นตัวอย่างเนื้อแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อบ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่ทำการบ่มจะนำตัวอย่างมาแช่ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างที่แช่แข็งมาละลายโดยการแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างชิ้นเนื้อก่อนต้ม (W2) นำตัวอย่างชิ้นเนื้อบรรจุในถุงร้อนขุนปิดถุงด้วยเครื่องบรรจุสุญญากาศ แล้วนำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิโดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30-45 นาที หรือจนกระทั่งได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อประมาณ 70 องศาเซลเซียส นำถุงที่บรรจุตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ผ่านการทำให้สุกแล้วไปทำให้เย็น โดยการแช่ในน้ำไหลผ่านประมาณ 25-30 นาที หรือจนกระทั่งได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส นำเนื้อออกจากถุงซบให้แห้งเล็กน้อย แล้วชั่งน้ำหนักหลังต้ม (W3) โดยเปรอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลาย = $[(W1-W2) \times 100]/W1$ และเปรอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง = $[(W2-W3) \times 100]/W2$

ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Warner-Bratzler shear force; WBSF) นำเนื้อที่เย็นแล้วมาตัดตามแนวยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 1 x 3 x 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร กล้ามเนื้อละ 5-10 ชิ้น (ขึ้นอยู่กับชนิดกล้ามเนื้อและขนาดของกล้ามเนื้อ) แล้วนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อด้วย เครื่อง Instron Model 1011 ร่วมกับอุปกรณ์ Warner Bratzler shear force โดยกำหนดหน่วยเป็น กิโลกรัม

3.3.2.3 การวิเคราะห์หาขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ (Tuma *et al.* 1962)

เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อภายหลังจากสัตว์ตายไม่เกิน 2 ชั่วโมง โดยเก็บกล้ามเนื้อสันนอก กล้ามเนื้อไบพาย กล้ามเนื้อสันในเทียม และกล้ามเนื้อสันใน โดยตัดชิ้นเนื้อขนาดประมาณ $3 \times 2 \times 2$ เซนติเมตร แช่ชิ้นเนื้อใน Neutral formalin 4 เปอร์เซ็นต์ อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ในตู้เย็นอุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียส นำชิ้นเนื้อที่แช่ใน Neutral formalin 4 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาอย่างน้อย 48 ชั่วโมง มาหั่นด้วยมีดให้มีขนาดเล็กลง แล้วใส่เนื้อในเครื่องปั่น Mullinex เติมน้ำละลาย NaCl 0.9 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 50 มิลลิลิตร ลงในเครื่องปั่น แล้วปั่นด้วยความเร็วต่ำประมาณ 30 วินาที นำสารละลายที่ปั่นได้หยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ และนำไปวัดขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) ใช้กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4X วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อทั้งหมด 50 เส้นต่อหนึ่งตัวอย่างด้วยโปรแกรม Dino lite (Taiwan) แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

3.3.2.4 การวิเคราะห์หาความยาวซาร์โคเมอร์ด้วยเครื่อง Helium-Neon laser

ตัดชิ้นเนื้อที่จะทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ชิ้น ขนาด $3 \times 2 \times 2$ เซนติเมตร แช่ใน solution A 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ย้ายชิ้นเนื้อจาก solution A มาแช่ใน Solution B 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้เข็มคีบชิ้นเนื้อมาเล็กน้อยมาวางบนแผ่นสไลด์ ใช้แท่งแก้วขี้ชิ้นเนื้อให้แตก นำแผ่นสไลด์ที่เตรียมตัวอย่างเสร็จแล้วไปทำการวัดหาความยาวซาร์โคเมอร์ด้วยเครื่อง Helium-Neon Laser โดยใช้ไม้บรรทัดวัดระยะระหว่างแถบสว่าง 2 เส้น ที่ทะลุผ่านบนแผ่นสไลด์มายังพื้นรองรับภาพในหน่วยวัดเซนติเมตร ทำการวัดตัวอย่างละ 30 ซ้ำ แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณความยาวซาร์โคเมอร์จะอยู่ในหน่วยวัด ไมครอน

คำนวณหาค่าความยาวซาร์โคเมอร์โดยใช้สมการ (ในหน่วยวัดไมโครเมตร)

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

เมื่อ D = ระยะห่างระหว่างแผ่นสไลด์กับจอร์รับภาพ

T = ระยะระหว่างจุดกึ่งกลางของแถบสว่าง 2 แถบ

2

3.3.2.5 การวิเคราะห์หาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยอิเล็กโทรโฟรีซิส (Picard and Cassar-Malek. 2009)

1) การสกัดตัวอย่าง ทำการสกัดตัวอย่างโดยใช้กล้ามเนื้อ 8 ชนิดคือ Masseter (MA) Diaphragm (DI) Trapezius (TZ) Longissimus dorsi (LD) Cutaneous trunci (CT) Infraspinatus (IF) Supraspinatus (SS) และ Psoas major (PM) โดยเก็บทันทีหลังสัตว์ตาย นำมาเก็บต่อไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยกล้ามเนื้อ MA DI TZ และ CT จะถูกใช้เป็นมาตรฐานในการบ่งชี้ชนิดของแถบโปรตีนที่เกิดขึ้นบนเจล โดยที่ CT เป็นตัวแทนของแถบโปรตีน MHC-IIa และ MHC-IIx, เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TZ เป็นตัวแทนของแถบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa, DI เป็นตัวแทนของแถบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa และ MA เป็นตัวแทนของแถบโปรตีน MHC-I

ในการสกัดตัวอย่างจะทำการชั่งตัวอย่างเนื้อ 0.2 กรัม แล้วเติม extraction buffer (20 mM NaPPi, 50 mM Tris/HCL pH 8.0, 1mM EDTA, 0.5 mM NaCl, 1.0 mM DDT) ลงไป 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer ที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วแบ่งเก็บสารละลายส่วนใสออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนที่หนึ่งเก็บสารละลายส่วนใสพร้อมทั้งเติม 87% glycerol ในอัตราส่วน 1:1 แล้วผสมให้เข้ากัน แล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสและส่วนที่สอง เก็บสารละลายส่วนใส 100 ไมโครลิตรแล้วเติม 0.1 N NaOH 900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเพื่อนำไปวัดความเข้มข้นของโปรตีนเพื่อที่จะสามารถเจือจางโปรตีนที่สกัดได้ให้เหมาะสมที่จะนำไปวิเคราะห์หาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสต่อไป

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 จากนั้นใช้ pipette 50 ไมโครลิตรของสารละลายมาตรฐาน ตัวอย่างที่เจือจางด้วย 0.1 N NaOH จนมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงเดียวกับสารละลายมาตรฐาน และใช้ 0.1 N NaOH เป็น blank ลงใน หลุมของไมโครเพลท แล้วเติม solution 1 ลงไป 50 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน (solution 1 ประกอบด้วย 5 มิลลิลิตร of 2%(w/v) Na_2CO_3 in 0.1 M NaOH 0.5 มิลลิลิตร 1%(w/v) CuSO_4 0.5 มิลลิลิตร KNaTartate) ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วเติม solution 2 ลงไป 50 ไมโครลิตรผสมสารให้เข้ากัน (solution 2 ประกอบด้วย 5 ml 0.1 N NaOH, 0.5 ml Folin Ciocalteu reagent) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง automatic plate reader (Tecan Sunrise, UK)

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของ BSA ไปสร้างกราฟมาตรฐาน และคำนวณหาสมการถดถอยเชิงเส้น $Y = aX \pm b$ 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 โดยจะเติม 10 mM β -Me 175 ไมโครลิตร/250 มิลลิิตร ก่อนทำการเปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า ลงช่องตรงกลางของโมเดลแล้วใช้ไมโครปิเปตค่อย ๆ ปล่อยให้ตัวอย่าง 5 ไมโครลิตรไหลลงในหลุมบนเจลจากนั้นเติม lower running buffer (โดยผสมจาก upper running buffer กับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1 โดยปราศจาก β -Me) รอบนอก แล้วต่อขั้วบวก (anode) เข้ากับ chamber ด้านและขั้วลบ (cathod) เข้ากับ chamber บน และเปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า 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	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 μ l	5.0 μ l
10% (w/v) ammonium persulphate	120 μ l	80 μ l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 จากนั้นนำภาพที่ได้ไปวัดความเข้มของแถบโปรตีน ด้วยโปรแกรม Quantity One (Biorad, USA)

3.3.2.6 การศึกษา Calpain activity โดย Casein Zymography (Arther and Mykle, 2000)

1) การสกัดโปรตีน ทำการสกัดโปรตีนจากตัวอย่างกล้ามเนื้อ 4 ชนิด คือ กล้ามเนื้อไบพาย สันนอก สันใน และสันในเทียม ที่ระยะเวลาภายใน 2 และ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย โดยนำตัวอย่างที่บดแล้วจากตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส มาชั่งตัวอย่างเนื้อประมาณ 0.2 กรัม แล้วเติม extraction buffer (50 mM tris pH 7.5, 5 mM EDTA, Distilled water, HCl) ลงไป 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer (Ika, Germany) ที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centurion, UK) ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บสารละลายส่วนใส 100 ไมโครลิตรและเติม sample buffer (Glycerol 2 ml, 1M Tris pH 6.8, 1M DTT, bromophenol blue, distilled water) 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัด calpain activity ด้วยวิธี casein zymography ทันที และเก็บสารละลายส่วนใส 100 ไมโครลิตร ผสมกับ 0.1 M NaOH 900 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวัดความเข้มข้นของโปรตีนต่อไป

2) การทำอิเล็กโตรโฟรีซิส แบบ Native PAGE ทำการแยกเอนไซม์ calpain I และ calpain II โดยการนำอิเล็กโตรโฟรีซิส แบบ Native PAGE ด้วยเครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า รุ่น Mini-Protein Tetra Cell (Biorad, USA) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Arther and Mykle, (2000) ใช้เจลชั้นล่าง (separating gel) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และเจลชั้นบน (stacking gel) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีวิธีการเตรียมดังนี้

จากนั้นนำโปรตีนที่ได้จากการสกัด ผสมกับ sample buffer ในอัตราส่วน 1 : 1 แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ประมาณ 30 วินาที ก่อนทำการเปิดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม (well) บนเจล ก่อนใส่ตัวอย่างลงไปบนเจล จะต้องทำการเปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าที่ โดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 125 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที โดยเจลอยู่ในชุดอิเล็กโตรโฟรีซิสที่มี running buffer (25mM tris base, 125 mM Glycine, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, distilled water) อยู่และต้องทำการใส่เครื่องแยกโปรตีนลงในถาดโคมที่มีน้ำแข็งหล่อเย็นตลอดเวลา จากนั้นต่อขั้วบวก (Anode) เข้ากับ Chamber ถ่างและขั้วลบ (Cathode) เข้ากับ Chamber บน เมื่อครบ 30, เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

นาที่แล้วปิดสวิทช์ก่อนแล้วใช้ไมโครปิเปตค่อย ๆ ใส่ตัวอย่าง 8 ไมโครลิตรลงไปในเจล แล้วทำการเปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 125 โวลต์ ประมาณ 3 ชั่วโมง หรือหลังจากเห็น Bromophenol blue หลุดออกจากเจลแล้วให้เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าที่ 125 โวลต์ ต่อไปอีกประมาณ 1 ชั่วโมง

จากนั้น นำเจลไปแช่ใน Ca^{2+} incubation buffer (10 mM Tris pH 7.0, 1 mM $CaCl_2$, 2 mM DTT, Distilled water) โดยเปลี่ยน buffer 3 ครั้งทุกๆ 20 นาที แล้วแช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วนำเจลมาแช่ใน Fixing solution (10% (v/v) acetic acid, distilled water) เป็นเวลา 20 นาที นำไปย้อมสีด้วย Staining solution (0.2% (w/v) coomassie brilliant blue, 0.2% (w/v) amido black, 10% (v/v) acetic acid, 40%(v/v) methanol, distilled water) เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างด้วย 10 % Acetic acid จนกระทั่งมองเห็นแถบสว่างอย่างชัดเจน แถบสว่างนี้เกิดจากเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ย่อยสลายเคซีนที่อยู่ในเจล

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

3.3.2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจน

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ และคอลลาเจนที่ไม่ละลาย (soluble and insoluble collagen) คัดแปลงจากวิธีการของ Hill (1966) โดยทำการบดตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นเนื้อให้ละเอียดและชั่งตัวอย่างประมาณ 0.95 กรัม เติม $\frac{1}{4}$ Ringer solution 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer (Ika, Switzerland) แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centurion, UK) ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำการแยกส่วนที่เป็นส่วนใส (supernatant) ซึ่งมีคอลลาเจนที่ละลายได้ (soluble collagen) ผสมอยู่และส่วนที่ตกตะกอน (pellet) ซึ่งมีคอลลาเจนที่ไม่ละลาย (insoluble collagen) ผสมอยู่ โดยนำส่วนใสมาเติม 12 N HCl 4 มิลลิลิตร และ เติม 6 N HCl 8 มิลลิลิตร ลงในส่วนที่ตกตะกอน แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 110°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมผงถ่าน (activated carbon) แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman, Germany) ปรับ pH ให้ได้ประมาณ pH 6.7 จากนั้นนำไปปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร ทำการเจือจาง ตัวอย่างสัดส่วน 1 : 10 ในตัวอย่างที่ได้จากส่วนที่ตกตะกอน จากนั้นปีเปตสารละลายที่ได้ มาตัวอย่างละ 4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติม chloramine T reagent โดยใช้ 7% (w/v) chloramine T กับ acetate buffer pH 6.0 (sodium acetate 57 กรัม trisodium citrate 37.5 กรัม และ citric acid 5.5 ละลายใน isopropanol 385 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร) ในอัตราส่วน 1 : 4 เติมหลอดละ 2 มิลลิลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที แล้วเติม color reagent ซึ่งประกอบด้วย p-dimethylamino-benzaldehyde in 60% perchloric acid กับ Isopropanol ในอัตราส่วน 3 : 13 โดยเติมหลอดละ 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง ภายในเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง microplate reader (Tecan Sunrise, UK) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

ในการทำกราฟมาตรฐานใช้ความเข้มข้นของไฮดรอกซีโพรลีนเท่ากับ 0, 0.2, 0.5, 0.7, 1, 1.2, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, และ 10 ไมโครกรัมของไฮดรอกซีโพรลีนต่อ มิลลิลิตร

$$\text{ปริมาณคอลลาเจน (มิลลิกรัม/กรัมของเนื้อสด)} = \frac{c \times f \times 7.25}{1000 \times w}$$

c = ความเข้มข้นของไฮดรอกซีโพรลีน
 f = จำนวนเท่าของการเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อย
 w = น้ำหนักตัวอย่าง

3.3.2.8 การศึกษาหาปริมาณไกลโคเจน (ดัดแปลงจาก Dreiling *et al.* 1987)

นำตัวอย่างชั่ง 0.4 กรัม ใส่หลอดทดลองและเติม 8% perchloric acid 2 มิลลิลิตร ปั่นด้วยเครื่อง homogenizer แล้วนำไปเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปรับสภาพให้เป็นกลางโดยการปิเปตเอาส่วนใสใส่หลอดทดลอง 1.33 ไมโครลิตร แล้วเติม Sodium bicarbonate 1.35 มิลลิลิตร และ 0.2 M Sodium acetate 1.67 มิลลิลิตร จนได้สารละลาย pH 5.2 จากนั้นนำสารละลายที่ได้มา 200 ไมโครลิตร นำมาย่อยไกลโคเจนด้วยการเติม 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 ทิ้งไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าความเข้มข้นที่ 550 นาโนเมตรด้วยเครื่อง automatic microplate reader (Tecan Sunrise, UK)

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1) ทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้เพื่อดูการกระจายข้อมูล โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft excel และ SAS เพื่อวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุด และสัมประสิทธิ์ของความผันแปรของข้อมูล

2) วิเคราะห์หาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับลักษณะที่ทำการศึกษา

ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามรูปแบบของ Myosin Heavy Chain ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ ความยาวซาร์โคเมียร์ ปริมาณไกลโคเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสีของเนื้อ และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย General Linear Model (GLM) ทำการเปรียบเทียบอิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อด้วย PDIF ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (Least squares Means) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (SAS) โดยมีหุ่นทางสถิติ ดังนี้

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

โดยที่

- | | |
|-----------------|--|
| Y_{ij} | คือ ค่าสังเกตใดๆ ของลักษณะที่ทำการวิเคราะห์ |
| μ | คือ ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของค่าสังเกตที่ต้องการศึกษา |
| A_i | คือ อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อที่ i , $i = 1, 2, 3, 4$ (1 คือกล้ามเนื้อสันนอก, 2 คือกล้ามเนื้อใบพาย, 3 คือ กล้ามเนื้อสันในเทียม และ 4 คือ กล้ามเนื้อสันใน) |
| ϵ_{ij} | คือ ความคลาดเคลื่อนทั้งหมดของการทดลอง |

3) เปรียบเทียบอิทธิพลของปัจจัยที่ศึกษาโดยใช้สถิติแบบหุ้่นเส้นตรงทั่วไป (General linear model, GLM) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในรูป Least Squares Means (LSM) โดยการใช้ PDIFF ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

4) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต่างๆ ที่ศึกษาโดยใช้ PROC CORR



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

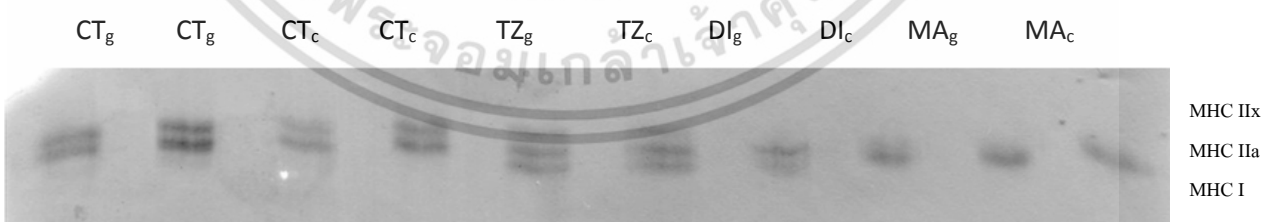
บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

สัตว์ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้คือ แพะลูกผสมพันธุ์บอร์ เพศผู้จำนวน 10 ตัว น้ำหนักมีชีวิตอยู่ระหว่าง 25-30 กิโลกรัม ซึ่งภายหลังกระบวนการฆ่าและทำการตัดแต่ง จะนำกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิด คือ กล้ามเนื้อใบพาย (IF) กล้ามเนื้อสันในเทียม (SS) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อสันใน (PM) เพื่อทำการทดลองวิเคราะห์ ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อและคุณภาพเนื้อ ซึ่งผลการทดลองมีดังนี้

4.1 ผลของการศึกษาชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยอิเล็กโตรโฟรีซิส

ในการศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อในเนื้อแพะ โดยวิธีการ eletrophoresis ยังมีการทำวิจัยอยู่น้อย ในการศึกษาครั้งนี้จึงทำการเปรียบเทียบชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อที่ใช้เป็นกล้ามเนื้อมาตรฐานกับเนื้อโค เนื่องจากทั้งโคและแพะจัดเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องเช่นเดียวกัน และผลจากการเปรียบเทียบชนิดรูปแบบที่แสดงออกของ Myosin heavy chain โดยวิธีการ electrophoresis ของกล้ามเนื้อแพะลูกผสมบอร์เพศผู้และโคพื้นเมืองไทย จากกล้ามเนื้อมาตรฐาน 4 ชนิด ได้แก่ กล้ามเนื้อแก้ม (*Masseter*; MA) กล้ามเนื้อกระบังลม (*Diaphragm*; DI) กล้ามเนื้อคิ้วทาเนียสทรงไข่ (*Cutaneous trunci*; CT) กล้ามเนื้อไหล่ (*Trapezius*; TZ) ซึ่งกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิดนี้จะนำมาใช้เพื่อระบุชนิดของแถบโปรตีน MHC ในการศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ทั้ง 4 ชนิด คือ กล้ามเนื้อใบพาย (IF) กล้ามเนื้อสันในเทียม (SS) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) กล้ามเนื้อสันใน (PM) จากภาพที่ 4.1 แสดงให้เห็นแถบโปรตีนมาตรฐานที่ทำการเปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อโคพื้นเมืองไทย เรียงลำดับจากด้านล่างขึ้นด้านบน คือ MHC-I MHC-IIa และ MHC-IIx ตามลำดับ



ภาพที่ 4.1 การเปรียบเทียบรูปแบบที่แสดงออกของ Myosin heavy chain (MHC) ในกล้ามเนื้อมาตรฐานของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์และกล้ามเนื้อมาตรฐานโคพื้นเมืองไทย ด้วยเทคนิค eletrophoresis CT= กล้ามเนื้อคิ้วทาเนียสทรงไข่, TZ =กล้ามเนื้อไหล่, DI =กล้ามเนื้อกระบังลม, MA = กล้ามเนื้อแก้ม, c = กล้ามเนื้อจากโคพื้นเมืองไทย, g = กล้ามเนื้อจากแพะลูกผสมพันธุ์บอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการเปรียบเทียบรูปแบบที่แสดงออกของ Myosin heavy chain (MHC) ในกล้ามเนื้อมาตรฐานของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์และกล้ามเนื้อมาตรฐานโคพื้นเมืองไทย ด้วยวิธีการ electrophoresis พบว่า กล้ามเนื้อมาตรฐานของสัตว์ทั้ง 2 ชนิดที่ทำการเปรียบเทียบนั้น ปรากฏแถบโปรตีนในเจลที่ตำแหน่งเดียวกัน กล่าวคือ CT ปรากฏแถบโปรตีน MHC-IIa และ MHC-IIx, TZ ปรากฏ MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx, DI ปรากฏแถบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa และ MA ปรากฏแถบโปรตีน MHC-I เพียงแถบเดียว สอดคล้องกับการศึกษาของ ทิทยาภรณ์ กุลี (2558) ที่ทำการศึกษานิชของเส้นใยกล้ามเนื้อของโคพื้นเมืองไทย โดยวิธีการ electrophoresis พบว่า กล้ามเนื้อ MA จะปรากฏแถบโปรตีน MHC-I เพียงแถบเดียว กล้ามเนื้อ DI ปรากฏแถบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa กล้ามเนื้อ CT จะปรากฏแถบโปรตีน MHC-IIa และ MHC-IIx และกล้ามเนื้อ TZ ปรากฏแถบโปรตีน MHC-I, MHC-IIa และ MHC-IIx

ผลจากการศึกษารูปแบบที่แสดงออกของ Myosin heavy chain โดยเทคนิค electrophoresis ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์เพศผู้จำนวน 10 ตัว โดยใช้กล้ามเนื้อหลักที่ทำการศึกษา 4 ชนิดคือ กล้ามเนื้อใบพาย (IF) กล้ามเนื้อสันในเทียม (SS) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) กล้ามเนื้อสันใน (PM) และกล้ามเนื้อมาตรฐาน 4 ได้แก่ กล้ามเนื้อแก้ม (MA) กล้ามเนื้อกระบ้งลม (DI) กล้ามเนื้อคิวนาเนียสทรงไซ (CT) กล้ามเนื้อไหล่ โดยกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิดนี้จะนำมาใช้เพื่อระบุชนิดของแถบโปรตีน MHC ที่ปรากฏอยู่บนแผ่นเจล จากภาพที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่ากล้ามเนื้อ PM LD SS และ IF ปรากฏแถบโปรตีนที่ศึกษา 3 แถบ เรียงลำดับจากด้านล่างขึ้นด้านบน คือ MHC-I MHC-IIa และ MHC-IIx ตามลำดับ



ภาพที่ 4.2 รูปแบบที่แสดงออกของ Myosin heavy chain (MHC) ด้วยเทคนิค electrophoresis ของกล้ามเนื้อ PM LD SS และ IF ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ตัวที่ 6 โดยมีกล้ามเนื้อมาตรฐานที่ระบุตำแหน่งของ MHC isoform คือ CT สำหรับแถบโปรตีน MHC-IIa และ MHC-IIx, TZ สำหรับแถบ MHC-I และ MHC-IIa, DI สำหรับแถบโปรตีน MHC-I และ MHC-IIa และ MA สำหรับแถบโปรตีน MHC-I

ผลการศึกษาพบว่า กล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน โดยพบว่าปริมาณของ MHC-I ในกล้ามเนื้อ SS สูงสุด รองมาคือ กล้ามเนื้อ IF PM และ LD ต่ำที่สุด ($P < 0.001$) ในทางตรงกันข้าม พบว่าปริมาณของ MHC-IIx ในกล้ามเนื้อ LD นั้นสูงที่สุด รองมาคือ กล้ามเนื้อ PM SS และ IF ต่ำที่สุด ($P < 0.001$) ดังตารางที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของแถบโปรตีนของ MHC ในกล้ามเนื้อ 4 ชนิด ของแพะลูกผสม พันธุ์บอร์ (N=10)

ลักษณะที่ศึกษา	LSMeans \pm SE				P-value
	IF	LD	PM	SS	
MHC-I	39.09 \pm 2.40 ^b	12.21 \pm 2.40 ^c	32.10 \pm 2.40 ^b	48.11 \pm 2.40 ^a	<.0001
MHC-IIa	41.92 \pm 1.98 ^a	35.86 \pm 1.98 ^b	33.34 \pm 1.98 ^b	27.37 \pm 1.98 ^c	0.0002
MHC-IIx	18.10 \pm 2.32 ^c	51.91 \pm 2.32 ^a	34.56 \pm 2.32 ^b	24.52 \pm 2.32 ^c	<.0001

^{a-c} อักษรกำกับที่แตกต่างในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

IF= กล้ามเนื้อใบพาย, LD=กล้ามเนื้อสันนอก, PM=กล้ามเนื้อใน, SS=กล้ามเนื้อสันในเทียม

ในการทดลองครั้งนี้พบว่า กล้ามเนื้อ SS พบปริมาณของ MHC-I สูงที่สุด รองลงมาคือ กล้ามเนื้อ IF จัดอยู่ในกลุ่ม slow muscle ในขณะที่กล้ามเนื้อ LD จัดอยู่ในกลุ่ม fast muscle เนื่องจากพบปริมาณของ MHC-IIx สูงที่สุด และมีปริมาณของ MHC-I ต่ำที่สุด และกล้ามเนื้อ PM มีคุณสมบัติของเส้นใยกล้ามเนื้อจัดอยู่ในกลุ่ม intermediate เนื่องจากมีสัดส่วนของ MHC ทั้ง 3 ชนิด ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ผลจากการศึกษากล้ามเนื้อ LD ในครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Kirchofer *et al.* (2002) ที่รายงานว่า กล้ามเนื้อ LD ของโค จัดอยู่ในกลุ่มของ fast muscle เนื่องจากมี α -white fiber สูงเกิน 40 เปอร์เซ็นต์ Kadim *et al.* (2006) รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของแพะพื้นเมืองของโอมานพันธุ์บาตินา และพันธุ์โคฟารี มีสัดส่วนของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast muscle (type IIB) ประมาณ 72 เปอร์เซ็นต์ มี fast muscle (type IIA) ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ และชนิด slow muscle (type I) ประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ จึงจัดให้กล้ามเนื้อสันนอกอยู่กลุ่มกล้ามเนื้อ fast muscle (type IIB)

4.2 ผลของการศึกษาความยาวซาร์โคเมียร์และขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อ

ผลการทดลองพบว่าความยาวซาร์โคเมียร์ที่ระยะเวลา 2 9 และ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายของกล้ามเนื้อ PM ยาวที่สุด ($P < 0.01$) และมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กที่สุด เนื่องจาก PM มีความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อสันที่สุด ตามด้วย LD IF และ SS ($P < 0.01$) ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4.2)

ผลการศึกษาความยาวซาร์โคเมียร์ที่ระยะเวลา 2 9 และ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายในครั้งนี้ พบว่ากล้ามเนื้อสันในมีความยาวซาร์โคเมียร์มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาความยาวซาร์โคเมียร์ในโคของ Hwang *et al.* (2010) พบว่ากล้ามเนื้อสันใน (PM) มีซาร์โคเมียร์ยาวที่สุด รองลงมาคือ กล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อพับใน (SM) ตามลำดับ โดยให้เหตุผลว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ PM จัดอยู่ในกลุ่ม slow contraction ดังนั้นการหดตัวอย่างถาวร (rigor mortis) จะเกิดขึ้นได้ช้ากว่ากล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ SM ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม fast contraction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ และความยาวซาร์โคเมอร์ในกล้ามเนื้อ 4 ชนิดของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ (N=10)

ลักษณะที่ศึกษา	LSMeans \pm SE				P-value
	IF	LD	PM	SS	
SL _{2h} (ไมครอน)	1.65 \pm 0.10 ^c	1.74 \pm 0.10 ^b	1.98 \pm 0.10 ^a	1.62 \pm 0.10 ^c	<0.0001
SL _{9h} (ไมครอน)	1.57 \pm 0.10 ^b	1.64 \pm 0.10 ^b	2.03 \pm 0.10 ^a	1.65 \pm 0.10 ^b	<0.0001
SL _{24h} (ไมครอน)	1.36 \pm 0.10 ^d	1.55 \pm 0.93 ^b	1.90 \pm 0.93 ^a	1.46 \pm 0.93 ^c	<0.0001
MFD (ไมครอน)	97.25 \pm 3.18 ^b	84.39 \pm 3.18 ^c	70.73 \pm 3.18 ^d	101.64 \pm 3.18 ^a	<0.0001

^{a-c} อักษรกำกับที่แตกต่างในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

IF= กล้ามเนื้อใบพาย, LD=กล้ามเนื้อสันนอก, PM=กล้ามเนื้อใน, SS=กล้ามเนื้อสันในเทียม
 SL_{2h} = ความยาวของซาร์โคเมอร์ที่ 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย, SL_{9h} = ความยาวของซาร์โคเมอร์ที่ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย, SL_{24h} = ความยาวของซาร์โคเมอร์ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย, MFD = ความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อ

ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อในการศึกษาครั้งนี้ พบว่ากล้ามเนื้อสันในเทียมมีขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่ที่สุด รองลงมาคือกล้ามเนื้อใบพาย (IF) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อสันใน (PM) ตามลำดับ ซึ่งความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อ คือ 101.64 97.25 84.39 และ 70.73 ไมครอน ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษานี้ของ Kadim *et al.* (2010) ที่ศึกษาขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อสันนอกของแพะพันธุ์บาดีนาและพันธุ์โคฟารี ซึ่งเป็นแพะพันธุ์พื้นเมืองของประเทศโอมาน พบว่า แพะทั้ง 2 สายพันธุ์มีเส้นผ่านศูนย์กลางของ type IIA ยาวที่สุดประมาณ 74.5 และ 63.4 ไมครอน ตามลำดับ ส่วน type IIB เป็น 65.1 และ 56.5 ไมครอน ตามลำดับ และ type I เป็น 66.6 และ 55.1 ไมครอน ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยกล้ามเนื้อ ชนิด type I ซึ่งจัดเป็น พวก slow muscle contraction จะมีขนาดเล็กกว่าพวกเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด type IIA และ type IIB ซึ่งจัดเป็นพวก fast contraction ส่วนค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางจากเส้นใยทั้ง 3 ชนิดมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กกว่าในแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ที่ทำการศึกษานี้ อาจเนื่องมาจากแพะสายพันธุ์บอร์ จัดเป็นแพะพันธุ์เนื้อ จึงอาจจะมีการสร้างกล้ามเนื้อมากกว่าทำให้มีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่กว่าแพะสายพันธุ์พื้นเมือง

4.3 ผลการศึกษา Calpain activity โดย Casein Zymography

ผลจากการย่อยโปรตีนโดยเอนไซม์ Calpain มีผลทำให้โปรตีน (casein) ที่อยู่ภายในเจล หลุดออกจากเจล จึงทำให้เกิดปรากฏแถบสว่างขึ้นบนเจล (clear bands) Camou *et al.* (2007) ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าชนิดของกล้ามเนื้อที่แตกต่างกันในระยะเวลาที่ 2 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ไม่มีผลต่อระดับการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ($P>0.05$) แต่มีค่าการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ที่ระยะเวลา 9 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายต่างกัน โดยพบว่า กล้ามเนื้อ IF และ SS มีระดับการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 คงเหลืออยู่มากที่สุด คือ 1.23 และ 1.84 หน่วย/100 ไมโครกรัมโปรตีน และ 0.88 และ 1.75 หน่วย/100 ไมโครกรัมโปรตีน ตามลำดับ ($P>0.01$) ในขณะที่กล้ามเนื้อ PM มีระดับการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 คงเหลืออยู่น้อยที่สุด คือ 0.37 และ 1.11 หน่วยต่อ 100 ไมโครกรัมโปรตีน ตามลำดับ

Std	IF2	SS2	LD2	PM2	IF9	SS9	LD9	PM9	Std
									Calpain1
									Calpain2

ภาพที่ 4.3 โซโมแกรมการทำงานของเอนไซม์ calpain1 และ calpain2 ในกล้ามเนื้อใบพาย (IF ; *Infraspinatus*) กล้ามเนื้อสันนอก (LD ; *Longissimus dorsi*) กล้ามเนื้อสันในเทียม (SS ; *Supraspinatus*) และ กล้ามเนื้อสันใน (PM ; *Psoas major*) กล้ามเนื้อมาตรฐาน (STD ; Standard) โดยใช้กล้ามเนื้อสันนอกของแพะตัวที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบระหว่างเจลและภายในเจล , 2 = ตัวอย่างที่เก็บที่ 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย, 9 = ตัวอย่างที่เก็บที่ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย

ผลจากการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ calpain ที่คงเหลืออยู่ในกล้ามเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ ที่ระยะเวลา 2 และ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย ค่าการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายในแต่ละกล้ามเนื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และในการวัดระดับการทำงานที่ระยะเวลา 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย พบว่า กล้ามเนื้อ IF มีค่าการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และเอนไซม์ calpain 2 มากที่สุด ($P>0.01$) (ดังตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ความเข้มของแถบสว่างที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์ Calpain ในกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิดของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ ที่ระยะเวลา 2 และ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย (N=10)

ลักษณะที่ศึกษา ¹	LSMeans ±SE				P-value
	IF	LD	PM	SS	
calpain 1 _{2h}	1.33±0.13	1.21±0.13	1.11±0.13	1.27±0.13	0.69
calpain 1 _{9h}	1.23±0.18 ^a	0.64±0.18 ^b	0.37±0.18 ^b	0.88±0.18 ^{ab}	0.015
calpain 2 _{2h}	1.94±0.13	2.09±0.13	1.93±0.13	2.04±0.13	0.794
calpain 2 _{9h}	1.84±0.15 ^a	1.39±0.15 ^{ab}	1.11±0.15 ^b	1.75±0.15 ^a	0.011

^{a-c} อักษรกำกับที่แตกต่างในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

¹(หน่วย/100 ไมโครกรัม โปรตีน) IF= กล้ามเนื้อใบพาย, LD=กล้ามเนื้อสันนอก, PM=กล้ามเนื้อใน, SS=กล้ามเนื้อสันในเทียม

ถึงแม้ว่าระดับการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ภายหลังสัตว์ตายจะไม่แตกต่างกัน แต่ระดับการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ที่ระยะเวลา 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายแตกต่างกัน โดยพบว่ากล้ามเนื้อ IF มีระดับการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 คงเหลือมากที่สุด โดยจะอธิบายได้จาก ภายหลังจากสัตว์ตาย ATP ในร่างกายจะถูกใช้จนหมด จากนั้นกระบวนการ rigor mortis จะเริ่มต้นขึ้นส่งผลให้ ผนังของซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมไม่สามารถกักเก็บ Ca^{2+} ไว้ได้จึงทำให้ Ca^{2+} ถูกปล่อยออกสู่ซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัม ไหลท่วมไมโอไฟบริล (Jeacocke, 1993) ซึ่งปริมาณของ Ca^{2+} ที่เพิ่มขึ้นจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ซึ่งโดยปกติแล้วเอนไซม์กลุ่มนี้เมื่อทำการย่อยสลายโปรตีนแล้วจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ซึ่งวัดได้จากการลดลงของระดับการทำงานนั่นเอง และนอกจากนี้ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อก็มีผลต่อระดับการทำงานของเอนไซม์ calpain อีกด้วย โดย Joo *et al.* (2013) กล่าวว่า กล้ามเนื้อที่มีสัดส่วนของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast-twitch (type IIB) มีการสะสมพลังงานในรูปของไกลโคเจน ส่งผลให้มีค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังสัตว์ตาย กล้ามเนื้อเข้าสู่สภาวะการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ผนังของซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัมไม่สามารถกักเก็บแคลเซียมไว้ได้ แคลเซียมที่มีความเข้มข้นเพียงพอกระตุ้นให้เกิดการทำงานของเอนไซม์คาลเพน ด้วยเหตุนี้ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ในกล้ามเนื้อ LD (type IIB) ซึ่งเป็นกล้ามเนื้อที่มีสัดส่วนของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด fast-twitch muscle สูง จึงมีการทำงานของเอนไซม์ Calpain ที่เร็วกว่าในกล้ามเนื้อ IF (type I) ซึ่งเป็นกล้ามเนื้อที่มีสัดส่วนของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด slow-twitch สูง อีกทั้ง Ouali and Talmant. (1990) รายงานว่า ในกล้ามเนื้อชนิด slow-twitch (type I) มีปริมาณโปรตีน calpastatin สูง ซึ่ง Fiedler *et al.* (1999) กล่าวว่าโปรตีน calpastatin เป็นโปรตีนที่ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ calpain ส่งผลให้มีการย่อยสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนลดลง และ Joo *et al.* (2013) รายงานว่ากล้ามเนื้อชนิด fast-twitch muscle มีสัดส่วนของ calpain 1 : calpastatin สูงกว่าในกล้ามเนื้อชนิด slow-twitch muscle โดยกล้ามเนื้อที่มีสัดส่วนของ calpain 1 : total calpastatin อยู่สูง จะมีอัตราการย่อยสลายของโปรตีนสูงกว่ากล้ามเนื้อที่มีสัดส่วนของ calpain 1 : total calpastatin ต่ำ (Veiseth *et al.* 2004)

4.4 ผลการศึกษาลักษณะความเป็นกรด-ด่าง ค่าสีของเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการ ทำละลาย เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

ลักษณะความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิดที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย (pH_{24h}) มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยกล้ามเนื้อ LD มีค่า pH_{24h} ต่ำที่สุด ส่วนสีของเนื้อนั้น พบว่ากล้ามเนื้อ SS มีค่า L^* สูงที่สุด ในขณะที่กล้ามเนื้อ PM มีค่า L^* ต่ำที่สุด ($P < 0.05$) ส่วนค่า a^* นั้นพบว่า PM มีค่ามากกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่น ($P < 0.01$) ค่า b^* ของกล้ามเนื้อแต่ละชนิดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ชนิดกล้ามเนื้อ ไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายหลังการบ่ม 7 วัน ส่วนเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง กล้ามเนื้อ PM และ กล้ามเนื้อ SS มีค่ามากกว่า กล้ามเนื้อ LD และ กล้ามเนื้อ IF ($P < 0.01$) ความนุ่มของเนื้อพบว่า กล้ามเนื้อ PM มีความนุ่มมากที่สุด รองลงมาคือ กล้ามเนื้อ IF ตามด้วยกล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ SS (ดังตารางที่ 4.4)

การศึกษานี้พบว่า ชนิดกล้ามเนื้อมีอิทธิพลต่อสีเนื้อ โดยพบว่าหลังสัตว์ตาย 24 ชั่วโมง กล้ามเนื้อสันในเทียมมีค่า L^* (Lightness) สูงที่สุด ($P < 0.01$) กล้ามเนื้อสันในมีค่า a^* (redness) สูงกว่า กล้ามเนื้ออื่น ($P < 0.01$) สีเนื้อที่วัดได้ในครั้งนี้มีความใกล้เคียงกับการศึกษาของ Gadiyaram *et al.* (2008) ที่รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์เพศผู้ตอน น้ำหนักเฉลี่ย 35 กิโลกรัม มีค่า L^* เท่ากับ 42.2 a^* เท่ากับ 10.5 และค่า b^* เท่ากับ 3.9 ส่วนค่า pH ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย ของกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลายมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่พบว่ากล้ามเนื้อสันในเทียมและกล้ามเนื้อสันใน มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างปรุงสูงกว่า กล้ามเนื้อใบพายและกล้ามเนื้อสันนอก ($P < 0.01$)

ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อสันในเทียมมีค่ามากที่สุด (4.04 กก.) ในขณะที่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อสันในมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อน้อยที่สุด (2.61 กก.) ซึ่งสอดคล้องกับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของกล้ามเนื้อสันในเทียมที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและกล้ามเนื้อสันในที่มีขนาดเล็กที่สุด ซึ่งความนุ่มของกล้ามเนื้อ PM ในการศึกษาครั้งนี้ ส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ที่คงเหลืออยู่ต่ำสุดจากการวัดระดับการทำงานของเอนไซม์แคลเปนินในครั้งนี้ ทั้งนี้ Koohmaraie *et al.* (1988) ได้ทำการศึกษาขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อในโค พบว่ากล้ามเนื้อสันในที่มีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กจะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่า และมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อสันนอก และกล้ามเนื้อไหล่ซึ่งมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อใหญ่ ในขณะที่ Werdi Pratiwi *et al.* (2004) พบว่ากล้ามเนื้อ

สันนอกของแพะพันธุ์บอร์เพศผู้ น้ำหนักเฉลี่ย 30 กิโลกรัมมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อค่อนข้างสูงคือ

6.91 กิโลกรัม Mckeith *et al.* (1979) รายงานว่า กล้ามเนื้อสันนอกของแพะที่บ่มไว้ 7 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ 7.6 กิโลกรัม

ตารางที่ 4.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสีของเนื้อ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการทำละลาย เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างปรุง และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ในกล้ามเนื้อ 4 ชนิดของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ (N=10)

ลักษณะที่ศึกษา	LSMeans \pm SE				P-value
	IF	LD	PM	SS	
pH _{24h}	6.06 \pm 0.05 ^a	5.87 \pm 0.05 ^b	6.04 \pm 0.05 ^a	6.20 \pm 0.05 ^a	<0.001
Color					
L*	38.03 \pm 1.14 ^{ab}	37.60 \pm 1.06 ^{ab}	36.21 \pm 0.98 ^b	40.64 \pm 1.05 ^a	0.039
a*	11.03 \pm 0.59 ^b	10.70 \pm 0.53 ^b	12.84 \pm 0.50 ^a	9.64 \pm 0.54 ^b	0.002
b*	11.37 \pm 0.36	10.92 \pm 0.33	12.24 \pm 0.31	11.51 \pm 0.33	0.059
Thawing loss (%)	8.28 \pm 2.36	9.38 \pm 2.20	11.16 \pm 1.99	13.33 \pm 2.37	0.448
Cooking loss (%)	23.90 \pm 1.28 ^b	22.72 \pm 1.28 ^b	29.41 \pm 1.87 ^a	32.01 \pm 1.49 ^a	0.0002
Shear force (kg)	3.43 \pm 0.32 ^b	3.90 \pm 0.32 ^a	2.64 \pm 0.32 ^c	4.14 \pm 0.30 ^a	<0.001

^{a-c} อักษรกำกับที่แตกต่างในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05)

IF= กล้ามเนื้อใบพาย, LD=กล้ามเนื้อสันนอก, PM=กล้ามเนื้อใน, SS=กล้ามเนื้อสันในเทียม
 pH₂₄ = ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย, L*= Lightness, a*= redness, b*=yellowness, Thawing loss = เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการละลาย, Cooking loss = เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างปรุง, Shear force = ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

4.5 ผลการศึกษาปริมาณคอลลาเจนและปริมาณไกลโคเจน

4.5.1 ปริมาณคอลลาเจน

การศึกษาปริมาณคอลลาเจนในเนื้อแพะครั้งนี้ พบว่า คอลลาเจนที่ละลายได้ในกล้ามเนื้อ SS กล้ามเนื้อ IF และกล้ามเนื้อ LD สูง มีค่าเท่ากับ 0.51 0.50 และ 0.48 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อสดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) กับ กล้ามเนื้อ PM มีค่าเท่ากับ 0.14 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อสดตามลำดับ (ดังตารางที่ 4.5) ทั้งนี้ ชนิดของกล้ามเนื้อยังมีผลต่อ คอลลาเจนที่ไม่ละลายกล่าวคือ กล้ามเนื้อ IF และ กล้ามเนื้อ SS มี คอลลาเจนที่ไม่ละลายมีค่าเท่ากับ 8.60 และ 6.78 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อสด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) กับ กล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ PM คือ 4.10 และ 2.76 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อสดตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่า ปริมาณคอลลาเจนรวม ในกล้ามเนื้อ IF มีค่ามากที่สุด รองลงมาคือกล้ามเนื้อ SS กล้ามเนื้อ LD และกล้ามเนื้อ PM ซึ่งมีค่าเท่ากับ 9.08 7.63 4.54 และ 3.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัม/กรัมเนื้อสด ตามลำดับ และยังพบว่า เปอร์เซ็นต์คอลลาเจนที่ละลายได้ในกล้ามเนื้อ LD มีค่ามากที่สุด อีกด้วย Casey (1992) ที่ได้ศึกษาปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อแพะพันธุ์บอร์ พบว่ากล้ามเนื้อของแพะมีปริมาณคอลลาเจนเฉลี่ยเท่ากับ 5.0 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อ และมี คอลลาเจนที่ละลายได้เฉลี่ยเท่ากับ 32.9 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Kannan *et.al.* (2006) พบว่าปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อแพะไม่มีความสัมพันธ์กับระดับโปรตีนและพลังงานที่ได้รับ โดยในกล้ามเนื้อสันนอกของแพะมี ปริมาณคอลลาเจนรวม อยู่ในช่วง 3.65-4.52 มิลลิกรัม/กรัมเนื้อ และ คอลลาเจนที่ละลายได้มีค่าอยู่ในช่วง 12.60-21.60 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม พันธุ์สัตว์ และชนิดสัตว์ อายุ รูปแบบการเลี้ยง รวมทั้งชนิดของกล้ามเนื้อที่แตกต่างกันล้วนเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในกล้ามเนื้อส่วนต่างๆ ของร่างกายสัตว์ ซึ่งมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับปริมาณคอลลาเจนในกล้ามเนื้อสัตว์อีกด้วย (ชัยณรงค์ คันทพนิต. 2529)

ตารางที่ 4.5 ปริมาณคอลลาเจนและไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ 4 ชนิด ของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ (N=10)

ลักษณะที่ศึกษา	LSMeans ±SE				P-value
	IF	LD	PM	SS	
Collagen (mg/g)					
Soluble	0.50±0.10 ^a	0.48±0.11 ^a	0.14±0.10 ^b	0.51±0.11 ^a	<.0001
Insoluble	8.60±0.73 ^a	4.10±0.84 ^b	2.76±0.73 ^b	6.78±0.78 ^a	<.0001
Total	9.08±0.81 ^a	4.54±0.94 ^b	3.00±0.87 ^c	7.63±0.94 ^a	<.0001
% solubility	5.24±1.02 ^b	11.54±1.18 ^a	5.07±1.10 ^b	6.10±1.19 ^b	<.0001
Glycogen(μmol/g)	28.29±7.40 ^b	69.03±7.40 ^a	18.09±7.40 ^b	36.43±7.40 ^b	<.0001

^{a-c} อักษรกำกับที่แตกต่างในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05)

IF= กล้ามเนื้อใบพาย, LD=กล้ามเนื้อสันนอก, PM=กล้ามเนื้อใน, SS=กล้ามเนื้อสันในเทียม

ปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อปริมาณคอลลาเจน คือ การเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อ โดย Kerry and Ledward. (2002) และ Calkins and Sullivan. (2007) ได้รายงานไว้ว่า กล้ามเนื้อที่มีการใช้งานมากหรือมีการเคลื่อนไหวมากจะมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสูงกว่า และมีความแข็งแรงของ cross-link ระหว่างโมเลกุลมากกว่ากล้ามเนื้อที่มีการใช้งานน้อย เช่น กล้ามเนื้อน่อง กล้ามเนื้อไหล่ เป็นส่วนที่ต้องใช้เคลื่อนไหว รองรับและเชื่อมต่อกับส่วนต่างๆ ของร่างกาย ดังนั้นจึงพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันประเภทคอลลาเจนในกล้ามเนื้อสูง โดยจะห่อหุ้มและแทรกตัวเข้าภายในกล้ามเนื้อจนถึงระดับเส้นใยกล้ามเนื้อ ทำให้เกิดโครงสร้างที่เหนียวและแข็งแรง (สัตวชัย จตุรสิทธิ์ธา. 2550) และการศึกษาของ Jeremiah *et al.* (2003) พบว่า ในกล้ามเนื้อใบพายของโค มีปริมาณ ปริมาณคอลลาเจนรวม และ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย สูงที่สุด รองมาคือกล้ามเนื้อสันในเทียม (chuck tender) และกล้ามเนื้อสันนอก (striploin) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นประโยชน์ในการนำมาใช้ กรุณาแจ้งให้ทราบล่วงหน้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 ปริมาณไกลโคเจน

ผลจากการศึกษาปริมาณ ไกลโคเจนที่ระยะเวลาภายใน 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย ของกล้ามเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ในครั้งนี พบว่า กล้ามเนื้อ LD มีปริมาณไกลโคเจนมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อชนิดอื่นที่ทำการศึกษาคือ 6.90 มิลลิกรัม/กรัม (ดังตารางที่ 4.5) ทั้งนี้เป็นผลมาจากกล้ามเนื้อในกลุ่ม fast glycolytic muscle fiber (IIa และ IIb) จะมีการสะสมพลังงานในรูปของไกลโคเจน จึงทำให้มีปริมาณไกลโคเจนสูงกว่า กล้ามเนื้อในกลุ่ม slow oxidative fiber (Type I) Picard *et al.* (2002) และ Lefaucheur (2006) สอดคล้องกับการศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อในครั้งนี โดยพบว่า กล้ามเนื้อ LD มีสัดส่วนของ MHC IIx มากที่สุด จึงทำให้กล้ามเนื้อ LD จัดอยู่ในกลุ่มของ fast glycolytic muscle ซึ่ง Karlsson *et al.* (1999) กล่าวว่า กล้ามเนื้อชนิด fast muscle หรือ white muscle มีการสะสมพลังงานในรูปของไกลโคเจน จึงมีการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ Bee *et al.* (2006) กล่าวว่า ปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อส่งผลต่ออัตราการลดลงของค่า pH และ ultimate pH โดยภายหลังสัตว์ตาย ไกลโคเจนที่สะสมในกล้ามเนื้อสลายตัวและเข้าสู่วิถีไกลโคไลซิส ทำให้มีกรดแลคติกสะสมอยู่ในกล้ามเนื้อ ส่งผลให้ค่า pH ในกล้ามเนื้อลดลง ซึ่งสอดคล้องในการศึกษาครั้งนีที่พบว่า กล้ามเนื้อ LD มีปริมาณไกลโคเจนมากที่สุดและมีค่า pH ลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกล้ามเนื้ออื่นที่ทำการศึกษา

4.6 ความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา

ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อกับลักษณะทางคุณภาพเนื้อที่ทำการศึกษาในครั้งนี พบว่า MHC-I มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ MHC-IIa และ MHC-IIx ($r = -0.33, -0.85$ ตามลำดับ) มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ pH_{24h} และ cooking loss ($r = 0.49$ และ 0.39 ตามลำดับ) MHC-IIa มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ insoluble collagen, ปริมาณคอลลาเจนรวม และ เปอร์เซนต์คอลลาเจนที่ละลายได้ ($r = -0.50, -0.49, -0.86$ ตามลำดับ) MHC-IIx มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ, calpain 1_{9h} , calpain 2_{9h} , pH_{24h} ($r = -0.32, -0.38, -0.36$ และ -0.47 ตามลำดับ) มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ ปริมาณไกลโคเจน ($r = 0.47$) โดย MHC-IIx มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณไกลโคเจนและ มีความสัมพันธ์เชิงลบกับระดับการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ที่ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย เนื่องจาก กล้ามเนื้อชนิด MHC-IIx เป็น white fiber ซึ่งภายหลังจากสัตว์ตาย จะเกิดการ ใช้เมทาบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic metabolism) และอัตราการสลายไกลโคเจนสูง ส่งผลให้ค่า pH ลดลงเร็ว เข้าสู่กระบวนการ rigor mortis เร็วกว่า ส่งผลให้ ผนังของซาร์โคพลาสติคมิกรีคูลัมไม่สามารถกักเก็บ Ca^{2+} ไว้ได้จึงทำให้ Ca^{2+} ถูกปล่อยออกสู่ซาร์โคพลาสติคซิมไมล์ทอวมไมโอไฟบริล (Jeacocke, 1993) ซึ่งปริมาณของ Ca^{2+} ที่เพิ่มขึ้นจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain1 และ เอนไซม์ calpain 2 ด้วยเหตุนี้ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ เอนไซม์ calpain 2 ในกล้ามเนื้อ LD (type IIB) มากกว่าในกล้ามเนื้อ IF (type I) (Joo *et al.*, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับความยาวซาร์โคเมอร์ที่ 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย ความยาวซาร์โคเมอร์ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย, a^* และ b^* ($r = -0.43, -0.44, -0.60$ และ -0.32 ตามลำดับ) มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ insoluble collagen, ปริมาณคอลลาเจนรวม ($r = 0.57$ และ 0.56 ตามลำดับ) ในส่วนของความยาวซาร์โคเมอร์ พบว่า ความยาวซาร์โคเมอร์ที่ 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายมีสหสัมพันธ์เชิงลบกับ calpain 1_{9h} , soluble collagen, insoluble collagen, ปริมาณคอลลาเจนรวม ($r = -0.34, -0.57, -0.60$ และ -0.60 ตามลำดับ) มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ ความยาวซาร์โคเมอร์ที่ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย ความยาวซาร์โคเมอร์ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย และ a^* ($r = 0.54, 0.70$ และ 0.33 ตามลำดับ) ความยาวซาร์โคเมอร์ที่ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ calpain 1_{9h} และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($r = -0.39$ และ -0.38 ตามลำดับ) มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ ความยาวซาร์โคเมอร์ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย และ b^* ($r = 0.63$ และ 0.35 ตามลำดับ) ความยาวซาร์โคเมอร์ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายมีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ calpain 1_{9h} ($r = -0.31$) มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($r = 0.48$)

calpain 1_{2h} มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ calpain 2_{2h} , calpain 1_{9h} , calpain 2_{9h} และ a^* ($r = 0.62, 0.75, 0.87$ และ 0.34 ตามลำดับ) calpain 2_{2h} มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ calpain 1_{9h} , calpain 2_{9h} และเปอร์เซ็นต์คอลลาเจนที่ละลายได้ ($r = 0.50, 0.74$ และ 0.37 ตามลำดับ) มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ ค่า a^* ($r = -0.36$) calpain 1_{9h} มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ ค่า a^* ($r = -0.14$) และมีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ calpain 2_{9h} ($r = 0.80$), calpain 2_{9h} มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ ปริมาณไกลโคเจน และ a^* ($r = -0.25$ และ 0.42)

ปริมาณไกลโคเจน มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ เปอร์เซ็นต์คอลลาเจนที่ละลายได้และ pH_{24h} ($r = -0.56$ และ -0.53 ตามลำดับ) มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($r = 0.38$) สอดคล้องกับ Bee *et al.* (2006) ที่กล่าวว่า ปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อส่งผลต่ออัตราการลดลงของค่า pH โดยภายหลังสัตว์ตายไกลโคเจนที่สะสมในกล้ามเนื้อสลายตัวและเข้าสู่วิถีไกลโคไลซิส ทำให้มีกรดแลคติกสะสมอยู่ในกล้ามเนื้อ ส่งผลให้ค่า pH ในกล้ามเนื้อลดลง

คอลลาเจนที่ละลายได้มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ insoluble collagen, ปริมาณคอลลาเจนรวม และ pH_{24h} ($r = 0.81, 0.84$ และ 0.51) คอลลาเจนที่ไม่ละลายมีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ pH_{24h} ($r = 0.57$) เปอร์เซ็นต์คอลลาเจนที่ละลายได้มีสหสัมพันธ์เชิงบวก กับ pH_{24h} ($r = 0.67$)

ค่า a^* มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ ค่า L^* ($r = -0.57$) และมีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ ค่า b^* ($r = 0.38$) ค่า L^* มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ ค่า b^* ($r = 0.38$) นอกจากนี้ยังพบว่า pH_{24h} มีสหสัมพันธ์เชิงลบ กับ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($r = -0.41$)

ตารางที่ 4.6 ความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา

Traint	Ila	IIX	dia	SL _{2h}	SL _{9h}	SL _{24h}	cal1 _{2h}	cal2 _{2h}	cal1 _{9h}	cal2 _{9h}	gly	SC	IC	TC	PS	a [*]	L [*]	b [*]	pH _{24h}	SF ₇	TL ₇	CL ₇
I	-0.33 [*]	-0.85 ^{***}	0.30	-0.07	-0.01	-0.07	0.14	0.05	0.23	0.27	0.38 ^{**}	0.25	0.26	0.26	-0.37	-0.11	0.22	0.14	0.49 ^{***}	0.15	0.08	0.39 ^{**}
Ila		-0.19	0.02	-0.12	-0.13	-0.22	0.18	0.15	0.25	0.14	-0.14	-0.26	-0.50 [*]	-0.49 [*]	-0.86 ^{***}	0.04	-0.15	-0.15	-0.12	-0.06	-0.10	-0.32
IIX			-0.32 [*]	0.15	0.08	0.20	-0.25	-0.14	-0.38 ^{**}	-0.36 [*]	0.47 ^{***}	0.28	0.08	0.11	0.24	0.10	-0.16	-0.07	-0.47 ^{**}	-0.12	-0.03	-0.23
dia				-0.60 ^{***}	-0.29	-0.43 ^{***}	0.20	-0.13	0.16	0.16	-0.06	0.40	0.57 ^{**}	0.56 ^{**}	0.25	-0.44 ^{**}	0.11	-0.32 [*]	0.26	0.11	-0.01	-0.14
SL _{2h}					0.54 ^{**}	0.70 ^{***}	0.04	0.16	-0.34 [*]	-0.19	0.08	-0.57 ^{***}	-0.60 ^{***}	-0.61 ^{***}	-0.11	0.33 [*]	-0.14	0.15	-0.12	-0.18	-0.16	0.31
SL _{9h}						0.63 ^{***}	0.02	0.05	-0.39 ^{**}	-0.16	-0.06	-0.27	-0.37	-0.36	-0.09	0.27	-0.00	0.35 [*]	0.13	-0.38 ^{**}	0.10	0.23
SL _{24h}							0.07	0.17	-0.31 [*]	-0.19	-0.37	-0.31	-0.42	-0.42	-0.07	0.25	-0.17	0.14	0.03	0.48 ^{***}	-0.18	0.29
cal1 _{2h}								0.87 ^{***}	0.62 ^{***}	0.75 ^{**}	-0.14	0.54 [*]	0.33	0.36	0.30	0.34 [*]	0.20	-0.17	0.22	-0.08	0.03	0.14
cal2 _{2h}									0.50 ^{**}	0.74 ^{***}	-0.05	0.64 ^{**}	0.35	0.38	0.27	-0.36 [*]	0.18	-0.15	0.16	-0.11	-0.15	0.21
cal1 _{9h}										0.80 ^{***}	-0.09	0.33	0.10	0.12	0.08	-0.14 ^{**}	0.19	-0.27	0.23	0.15	-0.01	-0.20
cal2 _{9h}											-0.25 [*]	-0.11	0.13	0.11	0.18	-0.42 ^{***}	0.25	-0.21	0.30	0.07	-0.21	-0.11
gly												-0.09	-0.27	-0.26	0.56 ^{**}	-0.19	0.21	0.04	-0.53 ^{***}	0.38 ^{**}	-0.05	-0.14
SC													0.81 ^{***}	0.84 [*]	0.12	-0.45	-0.01	-0.25	0.51 [*]	-0.06	0.03	-0.21
IC														0.99	0.34	-0.39	-0.21	-0.36	0.57 ^{**}	-0.19	-0.02	-0.13
TC															0.32	-0.40	-0.21	-0.36	0.57 ^{**}	-0.18	-0.01	-0.14
PS																-0.18	0.16	-0.03	0.67 ^{**}	-0.28	0.08	0.35
a [*]																	-0.57 ^{**}	0.38 ^{**}	-0.17	-0.22	-0.17	0.07
L [*]																		0.38 ^{**}	-0.11	0.19	0.31	0.16
b [*]																			-0.25	-0.08	0.24	0.20
pH _{24h}																				-0.41 ^{**}	0.03	0.29
SF ₇																					0.20	-0.17
TL ₇																						0.02

* P<0.05,**P<0.01,***P<0.001, I = myosin heavy chain type I, Ila=myosin heavy chain type Ila, IIX= myosin heavy chain type IIX, diameter = muscle fiber diameter , SL_{2h} = sarcomere length at 2 hours post mortem, SL_{9h} = sarcomere length at 9 hours post mortem, SL_{24h} = sarcomere length at 24 hours post mortem, Cal1_{2h} = calpain I at 2 hours post mortem, Cal2_{2h} = calpain II at 2 hours post mortem, Cal1_{9h} = calpain I at 9 hours post mortem, Cal2_{9h} = calpain II at 9 hours post mortem, glycogen = glycogen content , SC = คอลลาเจนที่ละลายได้ 7 day, IC = คอลลาเจนที่ไม่ละลาย 7 day, TC = ปริมาณคอลลาเจนรวม 7 day, ps = % solubility, a = redness, L = lightness, b = yellowness, SF₇= shear force value at 7 day post mortem, TL₇ = Thawing loss at 7 day post mortem, CL₇ = cooking loss at 7 day post mote

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

เนื้อแพะที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้คือ แพะลูกผสมพันธุ์บอร์เพศผู้จำนวน 10 ตัว น้ำหนักมีชีวิตอยู่ระหว่าง 25-30 กิโลกรัม ซึ่งภายหลังกระบวนการฆ่าและทำการตัดแต่งจะนำกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิด คือกล้ามเนื้อ ไบพาย (*Infraspinatus*, IF) กล้ามเนื้อสันในเทียม (*Supraspinatus*, SS) กล้ามเนื้อสันนอก (*Logissimus dorsi*, LD) และกล้ามเนื้อสันใน (*Psoas major*, PM) ทำการศึกษาคุณสมบัติของเนื้อซึ่งผลจากการศึกษาสามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ โดยใช้เทคนิค electrophoresis สามารถแยกตามชนิดของ myosin heavy chain 3 ชนิด คือ MHC I MHC IIa และ MHC IIx โดยพบว่า LD มีปริมาณของ MHC IIx มากที่สุด ซึ่งเป็นลักษณะของ fast fiber ในขณะที่มี MHC I น้อยที่สุด SS และ IF มีลักษณะเป็น slow fiber เนื่องจากมีปริมาณ MHC I สูง และ PM มีลักษณะ Intermediate fiber เนื่องจากมีปริมาณ MHC I MHC IIa และ MHC IIx ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน

2. PM มีความยาวซาร์โคเมอร์ยาวที่สุด และมีขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อเล็กที่สุด

3. ค่าการทำงานของเอนไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายในแต่ละชนิดกล้ามเนื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยที่ระยะเวลา 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย พบว่า IF มีค่าการทำงานของเอนไซม์ calpain1 และ เอนไซม์ calpain2 คงเหลือมากที่สุด

4. สีของเนื้อนั้น พบว่า SS มีค่า L^* สูงที่สุด ในขณะที่ PM มีค่า L^* ต่ำที่สุด ($P<0.05$) ส่วนค่า a^* นั้นพบว่า PM มีค่ามากกว่ากล้ามเนื้อชนิดอื่น ค่า b^* ของกล้ามเนื้อแต่ละชนิดไม่แตกต่างกันทางสถิติ และลักษณะความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อทั้ง 4 ชนิดที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

5. ชนิดกล้ามเนื้อไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำระหว่างการละลาย ส่วนเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำระหว่างการปรุง พบว่า PM และ SS มีค่ามากกว่า LD และ IF ส่วนความนุ่มของเนื้อพบว่า PM มีความนุ่มมากที่สุด รองลงมาคือ IF ตามด้วย LD และ SS

6. ปริมาณคอลลาเจนในเนื้อแพะครั้งนี้ พบว่า soluble collagen ในกล้ามเนื้อ SS มีค่าสูงสุด insoluble collagen ในกล้ามเนื้อ IF สูงที่สุด total collagen ในกล้ามเนื้อ IF มีค่ามากที่สุด และยังพบว่า % solubility ในกล้ามเนื้อ LD มีค่ามากที่สุด

7. LD มีปริมาณไกลโคเจนมากที่สุด รองมาคือ กล้ามเนื้อ SS IF และ PM ตามลำดับ

8. ความสัมพันธ์ของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อเกี่ยวกับลักษณะเนื้อที่ศึกษาสรุปได้ดังนี้

8.1 MHC-I มีความสัมพันธ์เชิงลบกับ MHC-IIa และ MHC-IIx มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ pH_{24h} และ cooking loss

8.2 MHC-IIa มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับ insoluble collagen ,total collagen และ % solubility

8.3 MHC-IIx มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับขนาดเส้นใยในกล้ามเนื้อ , calpain 1_{9h} , calpain 2_{9h} , pH_{24h} มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับ ปริมาณไกลโคเจน

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า กล้ามเนื้อสันในเทียมและกล้ามเนื้อใบพาย จัดอยู่ในกลุ่ม Slow fiber กล้ามเนื้อสันในจัดอยู่ในกลุ่ม intermediate และกล้ามเนื้อสันนอกจัดอยู่ในกลุ่ม Fast fiber ซึ่งความแตกต่างของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อมีอิทธิพลที่ส่งผลต่อคุณภาพเนื้อทั้งในทางเคมีและทางกายภาพที่แตกต่างกันไป ซึ่งข้อมูลที่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ สามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาเกี่ยวกับเนื้อแพะต่อไปได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาในกล้ามเนื้อชนิดอื่นเพื่อจัดกลุ่มชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อในมัดกล้ามเนื้ออื่นๆ เช่น ในกล้ามเนื้อสะโพกมีหลายมัดกล้ามเนื้อซึ่งอาจมีชนิดเส้นใยที่ต่างกัน เช่น กล้ามเนื้อ *Semimembranosus*
2. ในการศึกษาด้านคุณภาพเนื้อแพะ ควรทำการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการในเนื้อแพะ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับผู้บริโภค

บรรณานุกรม

กรมปศุสัตว์. 2557. อัตราการเจริญเติบโตของแพะพันธุ์บอร์และลูกผสม. สืบค้นจาก

[Online]Available:<http://www.thaigoatsheep.com/forum.php?mod=viewthread&tid=634>.

[สืบค้นเมื่อ 4 กรกฎาคม 2558]

กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ. 2558. ข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ และ ปีงบประมาณ 2558. สืบค้นจาก

[Online]Available:http://ict.dld.go.th/th2/images/stories/stat_web/yearly/2558/province/7.goatsheep_province.pdf. [สืบค้นเมื่อ 20 พฤษภาคม 2559]

เกล็ดแก้ว ด่านวิวัฒน์. 2546. จุลกายวิภาคศาสตร์. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

จันทร์พร เจ้าทรัพย์. 2554. เทคโนโลยีการฆ่าสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 1 คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 201 น.

จันทร์พร เจ้าทรัพย์ สวรรณกมล น้อยดี๊ด และรณชัย สิทธิไกรพงษ์. 2556. “คุณภาพเนื้อของ

กล้ามเนื้อสะโพก 4 ชนิดของแพะลูกผสมพันธุ์บอร์” ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 4/2556. โรงแรมรามาร์คเดนส์ กรุงเทพฯ

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540. การจัดการโรงฆ่าสัตว์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.

ทิพยากรณ์ กุสี. 2557. “ความสัมพันธ์ของชนิดกล้ามเนื้อต่อคุณลักษณะเนื้อของโคพื้นเมืองไทย.”

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ตัณชัย จตุรสิทธา. 2550. การจัดการเนื้อสัตว์. เชียงใหม่ : ธนบรรณการพิมพ์.

สุกัญญา ยอดสร้อย. 2556. “คุณภาพซากและเนื้อของโคค้อย โคขาวลำพูน และโคลูกผสมบราห์

มันภายใต้สภาพการเลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติในเขตภาคเหนือของประเทศไทย.”

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

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.

Anastasio, A. J., López-fernández and Jose-luis, L.R. 2001. “Limp myosin heavy chain isoprotein and muscle fiber type in the adult goat (capra hircus).” **The anatomical record.**, 264 : 284-293.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Anonymous.2015a.[Online]Available:<https://www.studyblue.com/notes/n/chapter-10-muscle-tissue/deck/8760927>. [สืบค้นเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2558]

Anonymous.2015b.[Online]Available:<http://completesoccertraining.blogspot.com/2012/05/functional-anatomy-of-skeletal-muscle.html>. [สืบค้นเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2559]

Anonymous.2015c.[Online]Available: <http://muscle.ucsd.edu/musintro/histochem.shtml>. [สืบค้นเมื่อ 24 มีนาคม 2559]

Anonymous.2015d.[Online]Available: <http://muscle.ucsd.edu/musintro/histochem.shtml>. [สืบค้นเมื่อ 24 มีนาคม 2558]

Anonymous.2015e.[Online]Available:<http://archersacres.blogspot.com/2013/04/anatomy-capra-hircus.html>. [สืบค้นเมื่อ 13 มกราคม 2559]

Anonymous.2015f.[Online]Available:http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/histolog/classes_stud/en/stomat/ptn/1/07%20Connective%20tissues.%20Loose%20connective%20tissue.%20Dense%20connective%20tissue.%20Connective%20tissues%20with%20special%20properties..htm. [สืบค้นเมื่อ 15 มกราคม 2559]

Arther, J.S.C., and Mykles, L. 2000. "Calpain Zymography with casein or fluorescein isothiocyanate casein." **In Calpain methods and protocols**. J. S. ELce. ed. Humana Press Inc., Totowa, NJ. 343 p.

Bee, G., Biolley, C., Guex, G., Herzog, W., Lonergan, S. M., and Huff-Lonergan, E. 2006. "Effects of available dietary carbohydrate and preslaughter treatment on glycolytic potential, protein degradation, and quality traits of pig muscles" **Journal Animal Science**, 84 : 191-203.

Biswas, A.K., Tandon, S., and Sharma, D. 2016 "Identification of different domains of calpain from blood and goat skeletal muscle and their influence on quality during post-mortem ageing of meat during holding at 4±1 °c." **Food Science and Technology**. 71 : 60-68.

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. and G. Sullivan. 2007. "Adding Enzymes to Improve Beef Tenderness" National Cattleman's Beef Association.

Camou, J. P., Mares, S. W., Marchello, J. A., Vazquez, R., Taylor, M., Thompson, V. F., 2007. "Isolation and characterization of μ -calpain, m-calpain, and calpastatin from postmortem muscle. I. Initial step" **Journal of Animal Science**, 85 : 3400-3414.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Casey N.H. 1992. "Goat meat in human nutrition" **In V International Conference on Goat**. March 1992. p. 581-598.
- Choi, Y.M. and Kim, B.C. 2009. "Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality." **Livestock of Science**. 122 : 105 – 118.
- 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.
- Gadiyaram, K.M., Kannan, G., Pringle, T.D., Kouakou, B., McMillin, K.W., and Park Y.W. 2008. "Effects of postmortem carcass electrical stimulation on goat meat quality characteristics." **Small Ruminant Research**. 78 : 106-114.
- Gauthier, G.F. 1969. "On the relationship of ultrastructural and cytochemical features to color." 95 : 462. In Zellforsch Z and Mikrosk. Anat. **mammalian skeletal muscle**.
- Hill F. 1966. "The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages." **Journal of Food Science**. 31 : 161 - 166.
- Hwang Y., Kim, G. Jeong, J. Hur, S. and Joo, S. 2010. "The relationship between muscle fiber characteristics and meat quality traits of high marble Hanwoo (Korean native cattle) steers." **Meat Science**. 86 : 456-61.
- Jeacocke, R.E. 1993. "The concentration of free magnesium and free calcium ions both increase in skeletal muscle fiber entering rigor mortis." **Meat Science**. 35 : 27-45.
- Jeremiah, L.E., Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L. and Gibson, L.L. 2003. "Assessment of the relationship between chemical components and palatability of major beef muscles and muscle groups." **Meat Science**. 65 : 1013 – 1019.
- 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 : 828.
- Karlsson, A.H. Klont, R.E. and Fernandez, X. 1999. "Skeletal muscle fibres as factors for pork Quality." **Livestock Production Science** 60 : 255-269.
- Kadim, I.T., Mahgoub, O., Al-Kinai, A., Al-Marzooqi, W. and Al-Saqri, N.M. 2006. "Effect of transportation at high ambient temperatures on physiological responses, carcass and meat quality characteristics of three breeds of Omani goats." **Meat Science**. 73 : 626-634.

- Kadim, I. T., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Khalaf, S., Al-Sinawi, S.S., Al-Amri, I. 2010, "Effect of transportation during the hot season, breed and electrical stimulation on histochemical and meat quality characteristics of goat longissimus muscle." **Journal of Animal Science**. 81 : 352-61.
- Kannan, G., Gadiyaram, K.M., Galipalli, S., Carmichael, A., Kouakou, B., Pringle, T.D., McMillin, K.W., and Gelaye, S. 2006. "Meat quality in goat as influenced by dietary protein and energy levels and postmortem aging." **Small Ruminant Research**. 61 : 45-52
- Karlsson, A.H. Klont, R.E., and Fernandez, X. 1999. "Skeletal muscle fibres as factors for pork Quality." **Livestock Production Science**. 60 : 255-269.
- Kerry, J. and Ledward, D. 2002. **Meat Processing Improving Quality**. Cambridge : Woodhead publishing.
- Killefer, J. and Koohmaraie, M. 1994. "Bovine skeletal muscle calpastatin: cloning, sequence analysis and-state mRNA expression." **Journal of Animal Science**. 72 : 606-614.
- 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.
- 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 Ca²⁺ dependent proteases." **Journal of Food Science**. 53 : 1638.
- Koohmaraie, M. 1994. "Muscle proteaseases and meat aging." **Meat Science**. 36 : 93-104.
- Lefaucheur, L. and Gerrard, D. 1998. "Muscle fiber plasticity in farm mammals". Proceedings of Animal Science. 1-19
- Lehninger, L.A., Nelson, L., David, C., and Michael M. 1982, **Principles of Biochemistry**. NY, NY: Worth Publishers.
- Lengerken, G.V., Maak, S. and Wicke, M. 2002. "Muscle metabolism and meat quality of pigs and poultry." **Veterinarija ir Zootechnika**. 20 : 82-86.
- 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." **The FASEB Journal**. 7 : 1386-1393.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- McKeith, F.K, Savell J.W., Smith, G.C, Dutson, T.R, and Shelton, M. 1979. "Palatability of goat meat from carcasses electrically –stimulated at four different stages during the slaughter-dressing sequence." **Journal of Animal Science.** 49 : 973-978.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. 2005. "Lehninger Principles of Biochemistry." 4th ed. New York : W.H. Freeman and Company.
- Ouali, A., and Talmant, A. 1990. "Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles." **Meat Science.** 28 : 331 - 348.
- Oury, M.P., Dumont, R.J., Hocquette,C.,and Picard, B. 2010. "Specific fibre composition and metabolism of the rectus abdominis muscle of bovine Charolais cattle." **BMC Bioinformatics.** 11 : 12.
- 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 S. Gigli ed., **Indicators of milk and beef quality.** Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherland: 95-110.
- Picard, B. and Cassar-Malek, I. 2009. "Evidence for expression of IIfb myosin heavy chain isoform in some skeletal muscles of Blond d'Aquitaine bulls." **Meat Science.** 82 : 30-36.
- Rossi, A., Cristina.C.M, 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 : 353–36
- Talmadge, R.J. 2000. "Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: Potential regulatory mechanisms." **Muscle Nerve.** 23 : 661-679.
- Torrescano, G., A. Sanchez-Escalante, B. Gimenez, P. Roncales and J.A. Beltran. 2003. "Shear values of raw sample of 14 bovine muscle and their relation to muscle collagen characteristics." **Meat Science.** 64 : 85-91.
- Sayd, T., Mera, T., Martin, V., and Laville, E. 1998. "Spatial distribution of myosin heavy chain isoforms and lactate dehydrogenase M₄ in the limb musculature two crossbred lambs." **Comparative Biochemistry and Physiology.** 120 : 153-163
- Schiaffino, S. and Reggiani, C. 1996. "Molecular diversity of myofibrillar proteins, gene regulation and functional significance." **Physiological Reviews.** 76 : 371-423.
- Schönfeldt, H.C. and Strydom, P.E. 2011. "Effect of age and cut on tenderness of South African beef." **Meat Science.** 87 : 206 – 218.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Vandendriessche, F., Buts, B., Claeys, E. and Dendooven, R. 1984. "Sarcomerelength by laser diffraction and light microscopy." 110-111. In **Proceedings 30th European Meeting of Meat Research workers**. Gent : Gent University.
- Veiseth, E., Shackelford, S.D., Wheeler, T L., and Koochmaraie, M. 2004 . "Factors regulating lamb *longissimus* tenderness are affected by age at slaughter." **Meat Science**. 68 : 635-640.
- Warriss, P. D. 2000. **Meat Science : An Introductory Text**. CAB International : New York.
- Werdi Pratiwi, N. M., Murray, P. J. and Taylor, D. G. 2004. "Meat quality of entire and castrated male Boer goats raised under Australian conditions and slaughtered at different weight: physical characteristics, shear force values and eating quality profiles." **Animal Science**. 79 : 213-219.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. Calpain Zymography

1.1 Sample extraction buffer

- | | |
|---------------------|---------|
| • 50 mM Tris pH 7.5 | 6.057 g |
| • 5 mM EDTA | 1.86 g |
| • Distilled water | 700 ml |

ละลาย Tris และ EDTA ด้วย Distilled water ปรับ pH ให้เป็น 7.5 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water จากนั้นทำการเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.2 Gel sample buffer (10ml)

- | | |
|--|---------|
| • Glycerol | 2 ml |
| • 1 M Tris pH 6.8 | 1.25 ml |
| • 1 M DTT (0.154g/ml) หรือ 2-mercaptoethanol | 1 ml |
| • Bromophenol blue | |
| • Distilled water | |

ปรับปริมาตรให้ครบ 10 ml ด้วย Distilled water

1.3 Tris 2M pH 8.8 (1L)

- | | |
|-------------------|--------|
| • Tris | 243 g |
| • Distilled water | 700 ml |

ละลาย Tris ด้วย Distilled water จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 8.8 ด้วย HCl และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วย Distilled water จากนั้นทำการเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.4 Casein solution (10ml)

- | | |
|-------------------|---------|
| • 10 mg/ml casein | 100 mg |
| • 2 M Tris pH 8.8 | 3.75 ml |
| • Distilled water | 6.25 ml |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียม Gel

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

1.5 Electrophoresis buffer (5x Stock)

- 125 mM Tris base 15.14 g
- 625 mM Glycine 46.92 g
- 5 mM EDTA 1.86 g
- 1 mM DTT หรือ 2-Mercaptanol
- Distilled water

ละลาย Tris Glycine และ EDTA ด้วย Distilled water แล้วปรับ pH 8.3 ก่อนใช้ dilute เป็น 1x ด้วย Distilled water แล้ว เติม 2-Mercaptanol 1 ml/1000ml

1.6 Calcium incubation (5x stock)

- 50 mM Tris pH7.0 30.30 g
- 5 mM CaCl₂ 3.68 g
- 10 mM DTT
- Distilled water

ละลาย Tris และ CaCl₂ ด้วย Distilled water แล้วปรับ pH 7.0 ก่อนใช้ dilute เป็น 1x ด้วย Distilled water แล้ว เติม 2-Mercaptanol 1 ml/1000ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.7 Fixing solution

- 10% (v/v) acetic acid
- Distilled water

1.8 Staining solution

- 0.2% (w/v) coomassie brilliant blue
- 0.2% (w/v) amido black
- 10% (v/v) acetic acid
- 40% (v/v) methanol
- Distilled water

1.9 Destain solution

- 10% acetic acid
- 40% (v/v) methanol
- Distilled water

2. วิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน

2.1 Ringer's solution

- 32.75 mM NaCl 1.916 g
- 1.5 mM KCl 0.1118 g
- 0.5 mM CaCl₂ 0.073 g
- Distilled water

ละลาย NaCl KCl และ CaCl₂ ด้วย Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 ml เก็บไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส

2.2 Oxidant solution

a) Chloramine-T reagent

- 7% (w/v) Chloramine T
- Distilled water

b) Acetate/citrate buffer pH 6.0

- Sodium acetate 57 g
- Trisodium citrate 37.5 g
- Citric acid 5.5 g
- 2-propanol 385 ml
- Distilled water

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- NaOH

นำสารละลาย (a) มาผสมในสารละลาย (b) ด้วยอัตราส่วน 1:4 เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

2.3 Color reagent solution

a) p-Dimethy-amino-benzaldehyde in 60% HClO₄

- p-Dimethy-amino-benzaldehyde 2 g
- 60% Perchloric acid 3 ml

b) 2-propanol

นำสารละลาย (a) มาผสมในสารละลาย (b) ด้วยอัตราส่วน 3:13 เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

2.4 Hydroxyproline standard solution

เตรียม STD Hydroxyproline ความเข้มข้น 0 0.2 0.5 0.7 1.0 1.5 2 2.5 3 3.5 4 5 6 7 8 9 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จาก stock Hydroxyproline 1 mg/ml

ความเข้มข้น Hydroxyproline (µg/ml)	ปริมาณ Hydroxyproline (ml)	ปริมาณ H ₂ O (ml)
0	0	10
0.2	0.2	9.8
0.5	0.5	9.5
0.7	0.7	9.3
1.0	1.0	9.0
1.5	1.5	8.5
2.0	2.0	8
2.5	2.5	7.5
3.0	3.0	7
3.5	3.5	6.5
4.0	4.0	6
5.0	5.0	5
6.0	6.0	4
7.0	7.0	3
8.0	8.0	2
9.0	9.0	1
10.0	10.0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ห้ามเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิเคราะห์ความยาวซาร์โคเมียร์

3.1 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, Boric acid และ EDTA ใน Distilled water และปรับ pH ให้ได้ 7.1 จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2 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, Boric acid และ EDTA ใน Distilled water และปรับ pH ให้ได้ 7.1 จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4. วิเคราะห์ขนาดเส้นใยกล้ามเนื้อ

4.1 Neutral formalin 4 %

- Neutral formalin 40% 100 ml
- Distilled water 900 ml

ผสม Neutral formalin 40% ใน Distilled water ผสมให้เข้ากัน เก็บที่อุณหภูมิห้อง

4.2 NaCl 0.9%

- NaCl 0.9 g

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

5. วิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจน

5.1 8% Perchloric acid

- Perchloric acid 70% 115 ml
- Distilled water 700 ml

ผสม Perchloric acid ลงใน Distilled water แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

5.2 5 M Sodium bicarbonate

- Sodium bicarbonate 420 g
- Distilled water 1000 ml

ละลาย Sodium bicarbonate ใน Distilled water จากนั้นดูดเฉพาะส่วนใส เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

5.3 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 เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

5.4 Amyloglucosidase (100 unit/ml)

- Amyloglucosidase 267 μ l
- Distilled water 733 ml

ผสม amyloglucosidase ใน Distilled water เขย่าให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5.5 Glucose oxidase

เติม Distilled water 50 ml ลงในขวด Glucose oxidase เขย่าให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6. การวัดความเข้มข้นของโปรตีน

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

0.1 M NaOH

- NaOH 4 g
- Distilled water 700 ml

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

6.2 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% Na₂CO₃ in 0.1 M NaOH, 1% CuSO₄, KNatartate)

1) 2% Na₂CO₃ 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 เก็บที่

อุณหภูมิห้อง

1.2) 2% Na₂CO₃ in 0.1 M NaOH

Na ₂ CO ₃	2 g
---------------------------------	-----

0.1 M NaOH	70 ml
------------	-------

ละลาย Na₂CO₃ ใน 0.1 M NaOH ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย 0.1 M NaOH เก็บที่

อุณหภูมิห้อง

2) 1% CuSO₄

CuSO ₄	1 g
-------------------	-----

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

ละลาย CuSO₄ ใน Distilled water ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย Distilled water เก็บที่

อุณหภูมิห้อง

3) Potassium Sodium tartate (KNatartate)

ผสม Solution 1

2% Na ₂ CO ₃ in 0.1 M NaOH	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
-----------------	--------

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ด้วยเทคนิค 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

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

4) 1 M 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 4 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 4 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 เก็บ

ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ปริมาณให้ครบ 100 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

9) TEMED

10) 10% Ammonium persulphate (APS)

Ammonium persulphate	0.1 g
Distilled water	1 ml

ละลาย APS ใน Distilled water 1 ml (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

● Loading buffer (2x)

Glycerol 87%	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	112.60 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

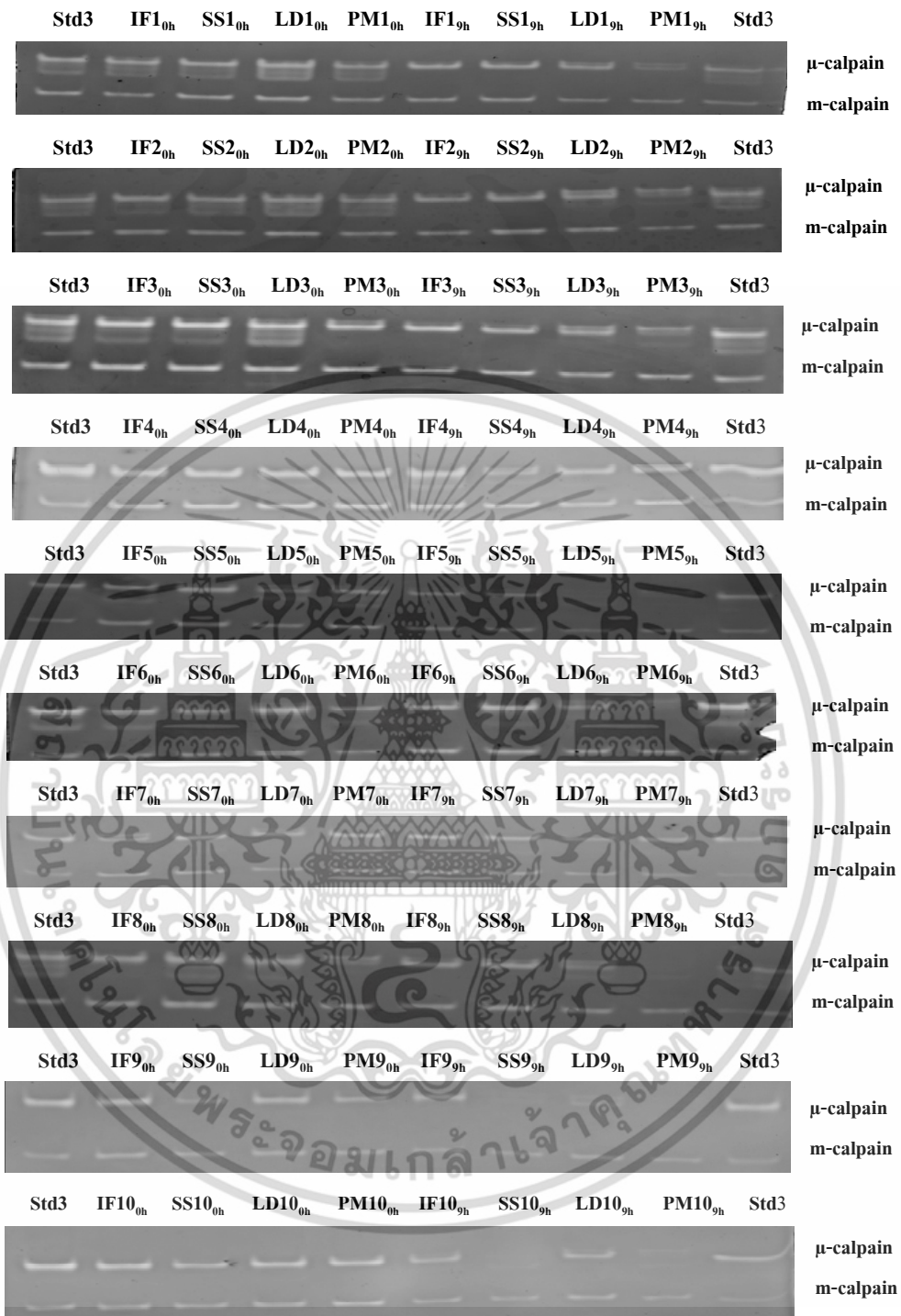
ผสม Ethanol และ Acetic acid ลงใน Distilled water แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water เก็บที่อุณหภูมิห้อง

- 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 คนจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วย Distilled water แล้วกรองตะกอนด้วยผ้าขาวบาง เก็บที่อุณหภูมิห้อง

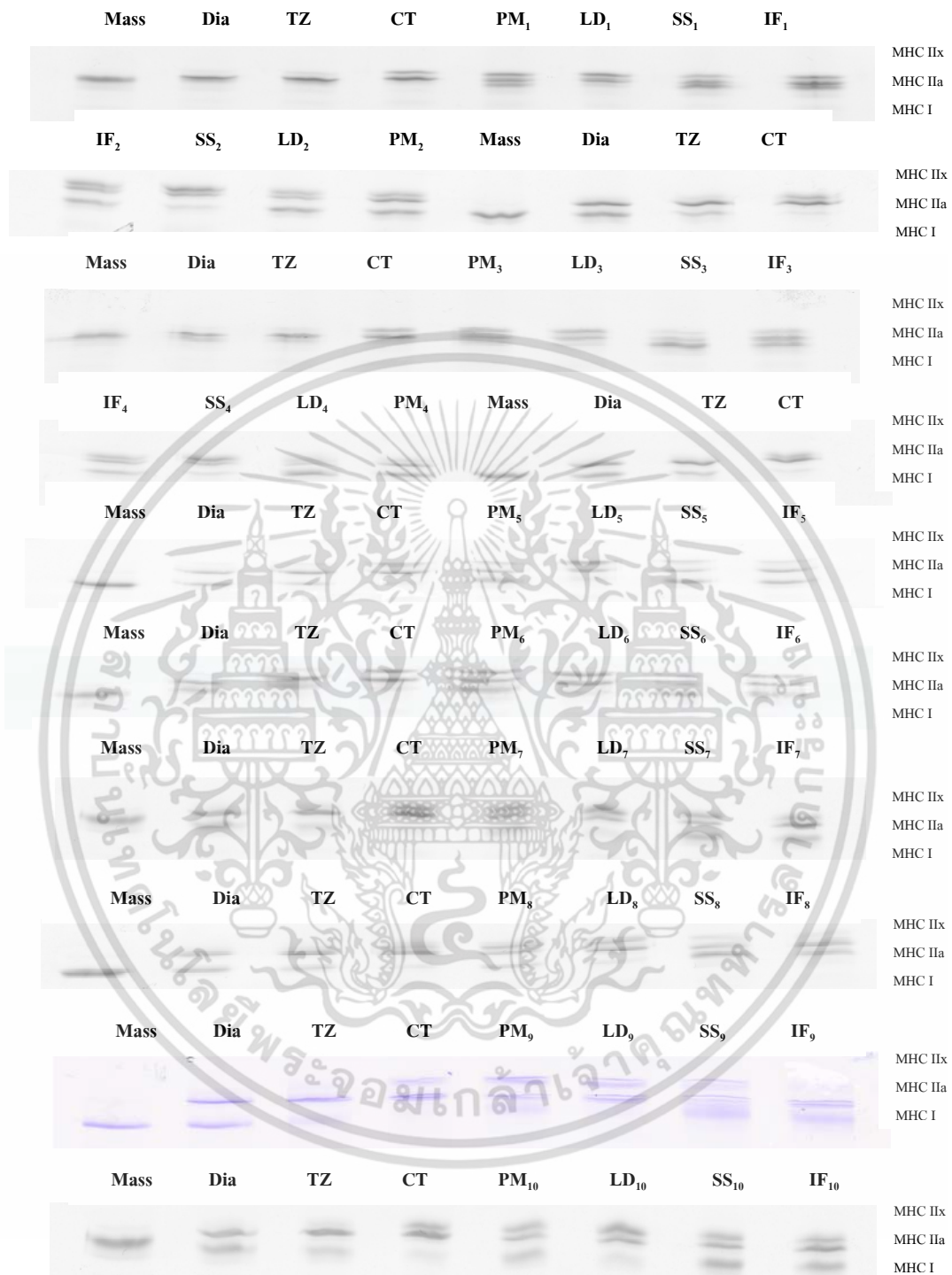
ภาคผนวก ข



ภาพภาคผนวกที่ 1 ผลการศึกษา calpain activity ด้วยเทคนิค casien zymography ในแพะลูกผสมพันธุ์บอร์ ตัวที่ 1-10 โดยใช้กล้ามเนื้อ 4 ชนิดคือ *Longissimus dorsi* (LD) *Infraspinatus* (IF) *Supraspinatus* (SS) และ *Psoas major* (PM) และใช้กล้ามเนื้อ LD ของแพะตัวที่ 3 เป็นกล้ามเนื้อมาตรฐาน (Std3) เปรียบเทียบที่ 0 และ 9 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข



ภาพภาคผนวกที่ 2 ผลการศึกษาชนิดของ Myosin Heavy Chain ด้วยเทคนิค electrophoresis ในแพะ ลูกผสมพันธุ์บอร์ ตัวที่ 6 โดยใช้กล้ามเนื้อ 8 ชนิดคือ *Longissimus dorsi* (LD) *Infraspinatus* (IF) *Supraspinatus* (SS) และ *Psoas major* (PM) โดยใช้กล้ามเนื้อ *Masseter* (MA) *Diaphragm* (DI) *Trapezius* (TZ) และ *Cutaneous trunci* (CT) ที่เก็บทันทีหลังสัตว์ตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอภิษฎา พึ่งสุข
วัน เดือน ปีเกิด	7 กรกฎาคม 2531
ที่อยู่	114/12 ถนนวงศาโรจน์ ตำบลอุทัยใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดอุทัยธานี 61000
ประวัติการศึกษา	2554 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผลงานวิชาการ	ผลงานตีพิมพ์ “อิทธิพลของชนิดกล้ำเนื้อต่อคุณภาพเนื้อแพะลูกผสมพันธุ์บอร์.” ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ครั้งที่ 4. วันที่ 19 กรกฎาคม พ.ศ. 2556. โรงแรมรามาร์คเดนส์ กรุงเทพฯ หน้า 47-53.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้