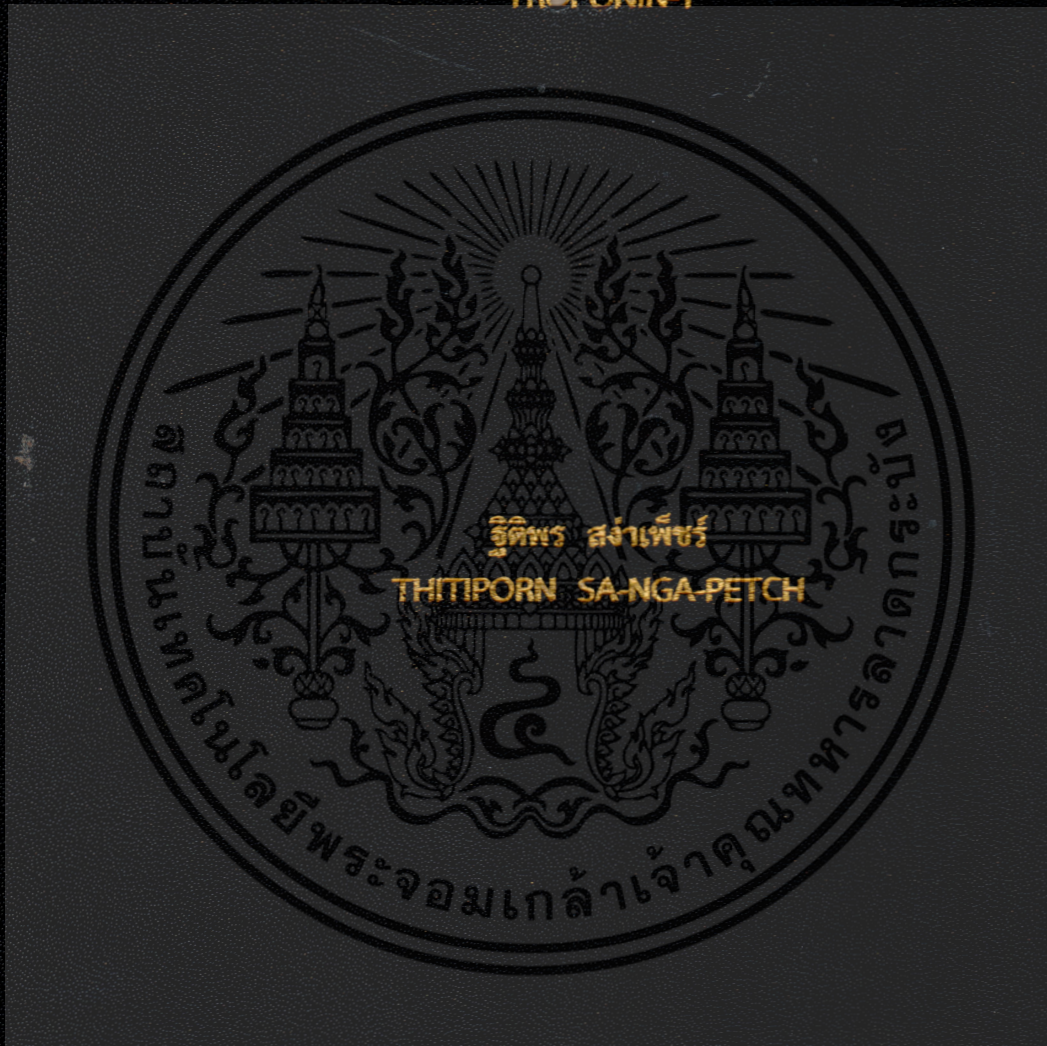


อิทธิพลของการทอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อปริมาณการแสดงออกยีน
Myosin Heavy Chain Isoforms เอนไซม์คาลเพน และการสลายตัวของ
โทรโปนิน ที

INFLUENCE OF IMMUNOCASTRATION ON GENE EXPRESSION OF MYOSIN
HEAVY CHAIN ISOFORMS ENZYME CALPAINS AND DEGRADATION OF
TROPONIN-T



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคณะหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2560

KMITL-2017-ED-M-241-011

อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อปริมาณการแสดงออกยีน Myosin Heavy Chain Isoforms เอนไซม์คาลเพน และการสลายตัวของโทรโปนิน ที

INFLUENCE OF IMMUNOCASTRATION ON GENE EXPRESSION OF MYOSIN HEAVY CHAIN ISOFORMS ENZYME CALPAINS AND DEGRADATION OF TROPONIN-T



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาครุศาสตร์เกษตร
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2560
KMITL-2017-ED-M-241-011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INFLUENCE OF IMMUNOCASTRATION ON GENE EXPRESSION OF
MYOSIN HEAVY CHAIN ISOFORMS ENZYME CALPAINS
AND DEGRADATION OF TROPONIN-T



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE PROGRAM
IN AGRICULTURAL EDUCATION
FACULTY OF INDRUSTRIAL EDUCATION AND TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2017
KMITL-2017-ED-M-241-011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2017

FACULTY OF INDRUSTRIL EDUCATION AND TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อปริมาณ
การแสดงออกยีน Myosin Heavy Chain Isoforms
เอนไซม์คาลเพน และการสลายตัวของโทรโปนิน ที่
INFLUENCE OF IMMUNOCASTRATION ON GENE
EXPRESSION OF MYOSIN HEAVY CHAIN ISOFORMS,
ENZYME CALPAINS AND DEGRADATION
OF TROPONIN-T

นักศึกษา
รหัสประจำตัว
ปริญญา
สาขาวิชา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ว่าที่ร้อยตรีหญิงธิดิพร สง่าเพ็ชร
57603221
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ครุศาสตร์เกษตร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทร์พร เจ้าทรัพย์

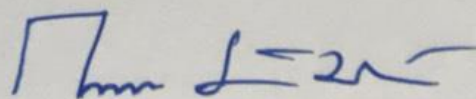
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิชา เทพเพชร	วิชา เทพเพชร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทร์พร เจ้าทรัพย์	จันทร์พร
รองศาสตราจารย์ ดร.รณชัย สิริโกวิทพงษ์	รณชัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ
สถานที่สอบ

30 พฤศจิกายน 2560 เวลา 09.00 น. เป็นต้นไป
ณ ห้องเรียนสมาคมศิษย์เก่า คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยีรับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ ดร.กิตติพงษ์ มะโน)

คณบดี คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำมาใช้เพื่อประโยชน์อื่นใดเป็นการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่.....เดือน.....ปี.....พ.ศ. 2560

หัวข้อวิทยานิพนธ์

อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อปริมาณการ

แสดงออกยีน Myosin Heavy Chain Isoforms

เอนไซม์คาลเพนและการสลายตัวของโทรโปนิน ที่

ว่าที่ร้อยตรีหญิงฐิติพร สง่าเพ็ชร

นักศึกษา

รหัสประจำตัว

57603221

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา

ครุศาสตร์เกษตร

พ.ศ.

2560

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทรพร เจ้าทรัพย์

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunocastration) และการตอนแบบผ่าตัดอวัยวะ (Surgical castration) ต่อปริมาณแสดงออกยีน Myosin Heavy Chain Isoforms เอนไซม์คาลเพน (calpain) และการสลายตัวของโทรโปนิน ที (troponin-T) ของสุกรลูกผสมสามสายพันธุ์เพศผู้ (ลาร์จไวท์×แลนดเรซ×ดुरอค) จำนวน 30 ตัว โดยแบ่งเป็นสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา 15 ตัว ซึ่งทำการฉีดวัคซีน Improvac[®] เข็มแรกเมื่ออายุ 16 สัปดาห์ เข็มที่สองเมื่ออายุได้ 20 สัปดาห์ และสุกรที่ตอนแบบผ่าตัดอวัยวะ 15 ตัว โดยให้สุกรทั้งสองกลุ่มได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่จนเมื่อมีน้ำหนักประมาณ 120 กิโลกรัม จึงนำเข้าโรงฆ่า ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*; LD) จากซากซากหมู ภายใน 1 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย นำมาศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดและปริมาณการแสดงออกของยีนของเอนไซม์กลุ่ม

คาลเพน ด้วยเทคนิค real-time PCR และวิเคราะห์การสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที พบว่าการแสดงออกของยีน MyHC Ix ของสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาส่งค่าสูงกว่าแบบผ่าตัดอวัยวะโดยมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 86.74 และ 77.06 ตามลำดับ ($P < 0.05$) ในขณะที่ MyHC I MyHC IIa และ MyHC IIb ไม่ต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) การแสดงออกของยีนเอนไซม์กลุ่มคาลเพน รวมทั้งการย่อยสลายโปรตีนโทรโปนิน ที นั้นไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษาครั้งนี้กับคุณภาพเนื้อ พบว่าปริมาณการแสดงออกของ MyHC IIIb มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับ MyHC IIa และ MyHC Ix ($P < 0.05$) และพบสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณการแสดงออกของยีน MyHC I กับ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียเนื้อระหว่างการเก็บรักษา ปริมาณการแสดงออกของยีน calpain II กับค่า a^* ค่า L^* และ a^* กับค่า b^* รวมทั้งค่า L^* กับเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเนื้อระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังพบสหสัมพันธ์เชิงลบ ($P < 0.05$) ระหว่างค่า L^* และ b^* กับความยาวซาร์โคเมอร์ ค่า L^* กับความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ รวมทั้งพบสหสัมพันธ์เชิงลบระหว่างค่า pH ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายกับเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเนื้อระหว่างการเก็บรักษา และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Influence of Immunocastration on Gene Expression of Myosin Heavy Chain Isoforms Enzyme Calpains and Degradation of Troponin-T
Student	Thitiporn Sa-nga-petch
Student ID.	57603221
Degree Program	Master of Science Program Agricultural Education
Year	2017
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Chanporn Choasap

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effect of immunocastration on gene expression of myosin heavy chain isoforms, gene expression of enzyme calpains and degradation of troponin-T in finishing pigs. Three-way crossbred finishing pigs (Large White x Landrace x Duroc) were divided into 2 groups, each group content 15 barrows. First group pigs were immunocastration by vaccination at 16 and 20 week of age. Second group pigs were surgical castration. After 120 kg body weight, all pigs were slaughtered and their *longissimus dorsi* (LD) muscle from right side of each carcass were collected at approximately 1 hour postmortem for evaluating the gene expression of muscle fiber type and gene expression of enzyme calpains by real-time PCR and degradation of troponin-T protein by Western blot. The results revealed that the expression of MyHC IIx from immunocastration pigs was significantly higher than from surgical castration pigs ($P < 0.05$) while MyHC I MyHC IIa and MyHC IIb were not significantly different. There were no significant difference ($P > 0.05$) on the gene expression of enzyme calpain, and degradation of troponin-T ($P < 0.05$). The relationship between the traits in this study with meat quality traits were also determined. The results showed that the expression of MyHC IIb was negatively correlated with the expression of MyHC IIa and MyHC IIx ($P < 0.05$). There were positive correlation between MyHC I with drip loss percentage, calpain II expression with a^* , L^* and a^* with b^* and also L^* with drip loss percentage. In addition, there were negative correlation between L^* and b^* with sarcomere length, L^* with muscle fiber diameter, also between pH_{24} with drip loss percentage and shear force.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.จันทร์พร เจ้าทรัพย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้มอบความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.พรรณนิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ ที่ได้สละเวลาอบรมสั่งสอน ให้คำชี้แนะ ตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.รชา เทพษร กรรมการสอบผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาสละเวลาตรวจสอบและให้คำแนะนำในการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณบริษัท โขเอทิส (ประเทศไทย) จำกัด ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณบริษัท สามพรานสตอเรจเฮาส์ จำกัด ที่เอื้อเฟื้อสถานที่โรงฆ่าสุกร

ขอขอบคุณรุ่นพี่ เพื่อน และรุ่นน้อง นักศึกษาปริญญาเอก ปริญญาโท และปริญญาตรี สาขาวิชา ครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี รวมทั้งรุ่นพี่ รุ่นน้อง คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้กำลังใจและความช่วยเหลือตลอดการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณบุคลากร ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยีที่สนับสนุนเครื่องมือวิทยาศาสตร์แก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ นายอมร สง่าเพ็ชร (บิดา) และนางประไพ สีชมภู (มารดา) ที่เป็นกำลังใจและคอยให้การสนับสนุนทุนการศึกษาและให้ความรักความเข้าใจ เสมอมา ประโยชน์และคุณค่าของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่านตลอดจนผู้ที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

ฐิติพร สง่าเพ็ชร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	2
1.4 ขอบเขตในการวิจัย.....	2
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 โครงสร้างของกล้ามเนื้อ.....	4
2.2 ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	6
2.3 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	7
2.4 โปรตีนในเนื้อสัตว์.....	8
2.5 การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตาย.....	9
2.6 การย่อยสลายของโปรตีนในกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตาย.....	10
2.7 การตอนแบบผ่าอันทะออก.....	11
2.8 การตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา.....	12
2.9 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อฮอร์โมนเพศผู้และกลิ่นสาบสุกร.....	13
2.10 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต.....	15
2.11 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพซาก.....	17
2.12 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพเนื้อ.....	19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	21
3.1 สัตว์ทดลอง.....	21
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	21
3.3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล.....	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์.....	27
4.1 ผลการศึกษาการแสดงออกของยีนชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	27
4.2 ผลการศึกษาปริมาณการแสดงออกของยีนเอนไซม์กลุ่มคาลเพนและคาลปาสเทติน.....	28
4.3 ผลการศึกษาการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที.....	29
4.4 ผลการศึกษาคุณภาพเนื้อสุกร.....	29
4.5 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อ.....	31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	34
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	34
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	34
บรรณานุกรม.....	35
ภาคผนวก.....	39
ภาคผนวก ก.....	40
ภาคผนวก ข.....	41
ประวัติผู้เขียน.....	45

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อฮอร์โมนเพศผู้และกล้ามเนื้อขาในสุกร.....	13
2.2 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต.....	15
2.3 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพซาก.....	17
2.4 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพเนื้อ.....	19
3.1 primer ในการศึกษา Myosin Heavychain (MyHC) Isoforms.....	23
3.2 primer ในการศึกษา calpains.....	24
3.3 การเตรียมเจล TGX stain free gel for SDS-PAGE.....	24
4.1 อิทธิพลของวิธีการตอนต่อปริมาณการแสดงออกของยีนชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	27
4.2 อิทธิพลของวิธีการตอนต่อปริมาณการแสดงออกของยีนของ เอนไซม์กลุ่มคาลเพนและคาลปาสเตติน.....	28
4.3 อิทธิพลของวิธีการตอนต่อการสลายตัวของโปรตีน troponin-T.....	29
4.4 อิทธิพลของวิธีการตอนต่อคุณภาพเนื้อสุกร.....	31
4.5 สหสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อ.....	33

สารบัญภาพ

รูปภาพที่	หน้า
2.1 กล้ามเนื้อโครงร่าง.....	4
2.2 โครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อ.....	5
2.3 เส้นใยย่อย.....	6
2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน actin, Tropomyosin และ troponin-T.....	9
2.5 การทำงานของ anti-GnRH.....	12



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในการเลี้ยงสุกรขุน สุกรที่จะนำมาขุนคือสุกรเพศเมียและสุกรเพศผู้ตอน สาเหตุที่ต้องทำการตอนสุกรเพศผู้ก่อนที่จะนำมาขุนเนื่องจากสุกรเพศผู้ที่ไม่ตอนเมื่อนำมาขุนแล้วซากจะมีปัญหาเรื่องกลิ่นสาบในเนื้อซึ่งเป็นกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของผู้บริโภค วิธีการตอนสุกรเพศผู้ได้รับความนิยมนมากที่สุดคือการตอนด้วยการผ่าเอาอัณฑะออก แต่จากรายงานของ Prunier, et. al. (2006) กล่าวว่า การตอนสุกรแบบผ่าเอาอัณฑะออกจะมีผลทำให้สุกรเกิดความเจ็บปวดและมีโอกาสติดเชื้อได้ นอกจากนี้ยังเป็นการปฏิบัติที่ขัดกับหลักสวัสดิภาพสัตว์ (animal welfare) ซึ่งในปัจจุบันมีหลายประเทศให้ความสำคัญในเรื่องนี้มากยิ่งขึ้นโดยเฉพาะในกลุ่มประเทศยุโรป ซึ่งปัจจุบันยังมีการตอนสุกรแบบผ่าเอาอัณฑะออกอยู่ โดยมีข้อบังคับเรื่องการฉีดยาในระหว่างการตอน เริ่มตั้งแต่ ค.ศ. 2012 และจะห้ามการตอนสุกรแบบผ่าเอาอัณฑะออกโดยเด็ดขาด ในปี ค.ศ. 2018 ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาวิธีอื่นมาใช้แก้ปัญหาลักษณะสาบในเนื้อสุกรเพศผู้โดยที่ไม่ขัดกับหลักสวัสดิภาพสัตว์ แนวทางหนึ่งที่ถูกนำมาใช้คือ การตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา หรือเรียกว่า การตอนด้วยวัคซีน ซึ่งจะช่วยยับยั้งการลดกลิ่นสาบในเนื้อสุกรโดยพบว่าสุกรที่ตอนด้วยวัคซีนจะมีสารแอนโดรสติโนน (androstenone) และสกาโทล (skatole) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดกลิ่นสาบในเนื้อสุกรลดลง (Dunchea, et. al. 2001) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสุกรที่ผ่านการตอนด้วยวัคซีน ยังมีการเจริญเติบโต มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดี และคุณภาพซากดีกว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าเอาอัณฑะออก (Fronti-Furnols, et. al. 2012) จากการศึกษาของ Pauly, et. al. (2009) รายงานคุณภาพเนื้อของสุกรที่ตอนด้วยวัคซีนและสุกรที่ตอนแบบผ่าเอาอัณฑะออก พบว่าสีเนื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ของเนื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสุกรที่ตอนด้วยวัคซีนนั้นมีความแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าเนื้อสุกรที่ตอนแบบผ่าเอาอัณฑะออก อย่างไรก็ตามงานวิจัยส่วนใหญ่ไม่พบอิทธิพลของวิธีการตอนต่อความนุ่มของเนื้อ

การวิจัยในครั้งนี้เป็นงานวิจัยที่ต่อเนื่องจาก นายสภนธ์ ชุณหวิจิตร (2560) ซึ่งทำการศึกษาผลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ และกลิ่นสาบสุกรขุน ซึ่งพบว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีคุณภาพเนื้อโดยรวมดีกว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าเอาอัณฑะออก เพื่อให้งานวิจัยในเรื่องของวิธีการตอนต่อคุณภาพเนื้อสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาอิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อปริมาณการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิด ปริมาณการแสดงออกของยีนของเอนไซม์กลุ่มคาลเพน ปริมาณการสลายตัวเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของโปรตีนโทรโปนิน ที และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อสุกร ซึ่งผลการศึกษาที่ได้ครั้งนี้คาดว่าจะประโยชน์แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงสุกรในประเทศไทยว่าการตอนด้วยวัคซีนนั้นมีผลต่อคุณภาพเนื้อสุกรอย่างไรเมื่อเปรียบเทียบกับการตอนแบบผ่าอวัยวะออก ซึ่งจะได้มีข้อมูลส่วนหนึ่งไว้ประกอบการตัดสินใจว่าควรจะนำเอาการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามาใช้หรือไม่ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ทำการศึกษาเปรียบเทียบอิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และการตอนแบบผ่าอวัยวะออกที่มีต่อลักษณะที่ศึกษาดังนี้

- 1.2.1 ปริมาณการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิด
- 1.2.2 ปริมาณการแสดงออกของยีนของเอนไซม์กลุ่มคาลเพน
- 1.2.3 ปริมาณการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที
- 1.2.4 สหสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อ

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

- 1.3.1 การตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาและการตอนแบบผ่าอวัยวะออกทำให้การแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดในเนื้อสุกรต่างกัน
- 1.3.2 การตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาและการตอนแบบผ่าอวัยวะออกทำให้การแสดงออกของเอนไซม์กลุ่มคาลเพนในเนื้อสุกรต่างกัน
- 1.3.3 การตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันและการตอนแบบผ่าอวัยวะออกทำให้ปริมาณการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที ในเนื้อสุกรต่างกัน

1.4 ขอบเขตในการวิจัย

ขอบเขตด้านสัตว์ทดลอง ในการวิจัยครั้งนี้ใช้สัตว์ทดลองคือ สุกรเพศผู้จำนวน 30 ตัว โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา จำนวน 15 ตัว และ กลุ่มที่ตอนแบบผ่าเอาอวัยวะออก จำนวน 15 ตัว

ขอบเขตด้านเนื้อหา ในการวิจัยครั้งนี้ จะทำการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณการแสดงออกของยีนของเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดในกล้ามเนื้อของสุกร ปริมาณการแสดงออกของยีนเอนไซม์คาลเพน และ คาลปาสเตติน รวมถึงการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที หลังสัตว์ตาย และสหสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.5.1 การตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunocastration) หรือการตอนด้วยวัคซีน คือ การตอนที่อาศัยหลักภูมิคุ้มกัน โดยการฉีดสารแอนติเจนเข้าไปกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกัน เพื่อไปยับยั้งไม่ให้สัตว์เกิดการสร้างฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน

1.5.2 การตอนแบบผ่าเอาอวัยวะออก (Surgical castration) คือ การตัดเอาลูกอัณฑะออก โดยการผ่าลูกอัณฑะที่ละข้างเพื่อไม่ให้มีการสร้างฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน

1.5.3 ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fibers types) ตามชนิดรูปแบบของ myosin heavy chain (MHC) สามารถจำแนกได้ดังนี้

1. MHC I
2. MHC II
3. MHC IIx
4. MHC IIb

1.5.4 เอนไซม์กลุ่มคาลเพน (calpains) คือ เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อ ประกอบไปด้วยเอนไซม์ m-calpain และ μ -calpain

1.5.5 โปรตีนคาลปาสเตติน (calpastatin) คือ โปรตีนที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลุ่มคาลเพน

1.5.6 โปรตีนโทรโปนิน ที (troponin-T) เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งในเส้นใยย่อยที่ทำหน้าที่จับกับโทรโปไมโอซิน

1.5.7 สหสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อ ดังนี้

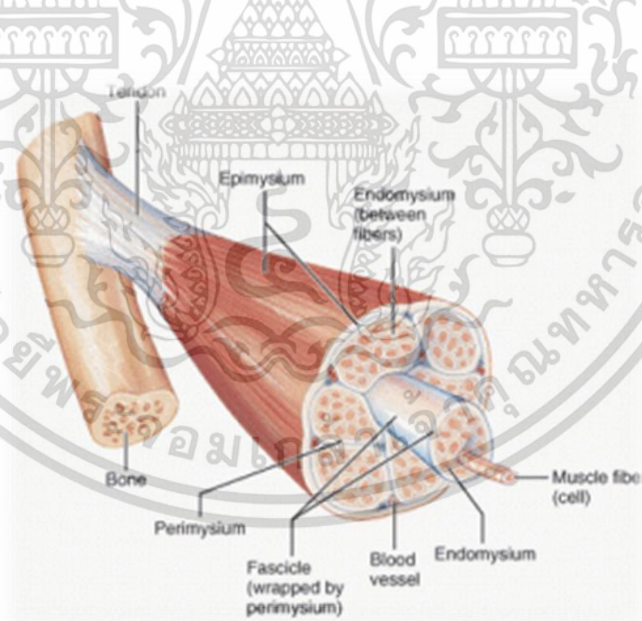
1. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)
2. สีของเนื้อ (color)
3. ความยาวซาร์โคเมียร์ (sarcomere length)
4. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber diameter)
5. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา (drip loss)
6. เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุง (cooking loss)
7. แรงตัดผ่านของเนื้อ (shear force)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โครงสร้างของกล้ามเนื้อ

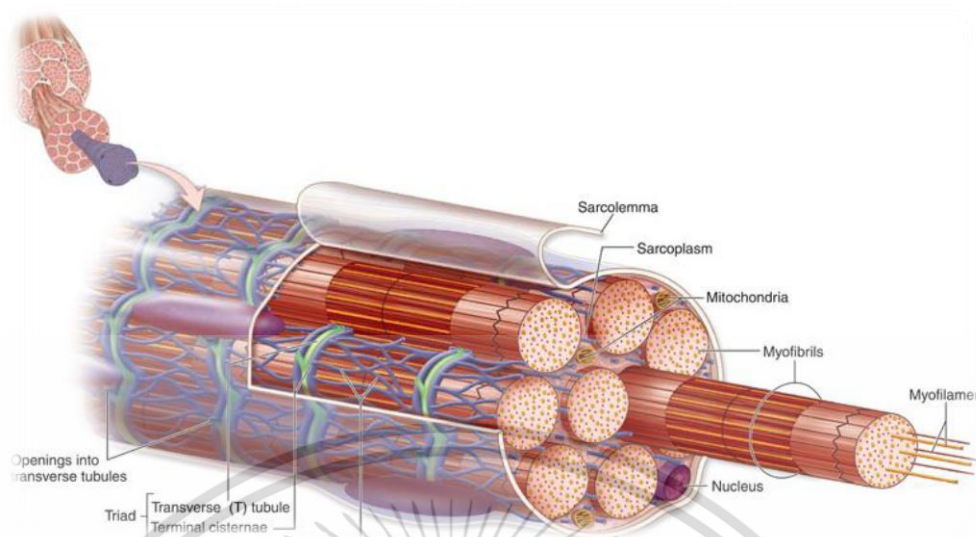
กล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) หรือกล้ามเนื้อลาย เป็นเนื้อเยื่อที่มีมากที่สุดในร่างกาย ประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว และมีการนำไปบริโภคมากที่สุด เป็นกล้ามเนื้อที่มีขนาดใหญ่และแข็งแรง เมื่อเกิดการหดตัวจะทำให้ร่างกายมีการเคลื่อนไหวของร่างกายเกิดขึ้น โดยกล้ามเนื้อโครงร่างส่วนใหญ่จะอยู่ติดกับกระดูกโดยมีเอ็น (tendon) เป็นตัวเชื่อมและถูกห่อหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยแต่ละมัดกล้ามเนื้อจะถูกห่อหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียกว่า อีพิมิเซียม (epimysium) ซึ่งเป็นแผ่นหนาที่เชื่อมต่อกับเอ็น ในแต่ละมัดกล้ามเนื้อประกอบไปด้วยหน่วยย่อยลงไปอีก เรียกว่า muscle bundle เป็นจำนวนมากโดยมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียกว่า เพอริมิเซียม (perimysium) ห่อหุ้มเอาไว้ แต่ละ muscle bundle จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร และประกอบด้วยเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fiber) หรือที่เรียกว่า เซลล์กล้ามเนื้อ (muscle cell) เป็นจำนวนมาก แต่ละเส้นใยกล้ามเนื้อจะถูกห่อหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ ที่เรียกว่า เอนโดมิเซียม (endomysium) โดยโครงสร้างของกล้ามเนื้อประกอบด้วย เส้นใยกล้ามเนื้อ ประมาณ 75-92 เปอร์เซ็นต์ (จันทร์พร เจ้าทรัพย์. 2554) ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 กล้ามเนื้อโครงร่าง

ที่มา : Anonymous (2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อ

ที่มา : Anonymous (2016)

เส้นใยกล้ามเนื้อประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้ (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529 และ จันทร์พร เจ้าทรัพย์. 2554)

2.1.1. ซาร์โคเลมมา (sarcolemma) คือ เยื่อหุ้มเส้นใย ที่ทำหน้าที่เป็นเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละเส้น

2.1.2 นิวเคลียส (nucleus) มีลักษณะรูปร่างรี เรียงตัวไปตามแนวยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยในเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละเส้นจะมีหลายนิวเคลียส (multi nucleus)

2.1.3 กอลจิคอมเพล็กซ์ (golgi complex) มีลักษณะเป็นเชิงซ้อนประกอบด้วยเยื่อบางๆ วางซ้อนกันเป็นชั้น โดยตรงกลางมีเยื่อหุ้มที่บางมาก กอลจิคอมเพล็กซ์ทำหน้าที่ในการนำโปรตีนเข้าไปรวมในถุงก่อนส่งออกนอกเซลล์ต่อไป รวมทั้งช่วยในการสร้างไลโซโซม (lysosome) อีกด้วย

2.1.4 ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) มีรูปร่างเป็นแท่งรูปร่างรี ทำหน้าที่ในการเก็บพลังงานจากอาหารโดยผ่าน Krebs' cycle แล้วจึงแปรสภาพเป็นพลังงานรูป ATP (Adenosine triphosphate)

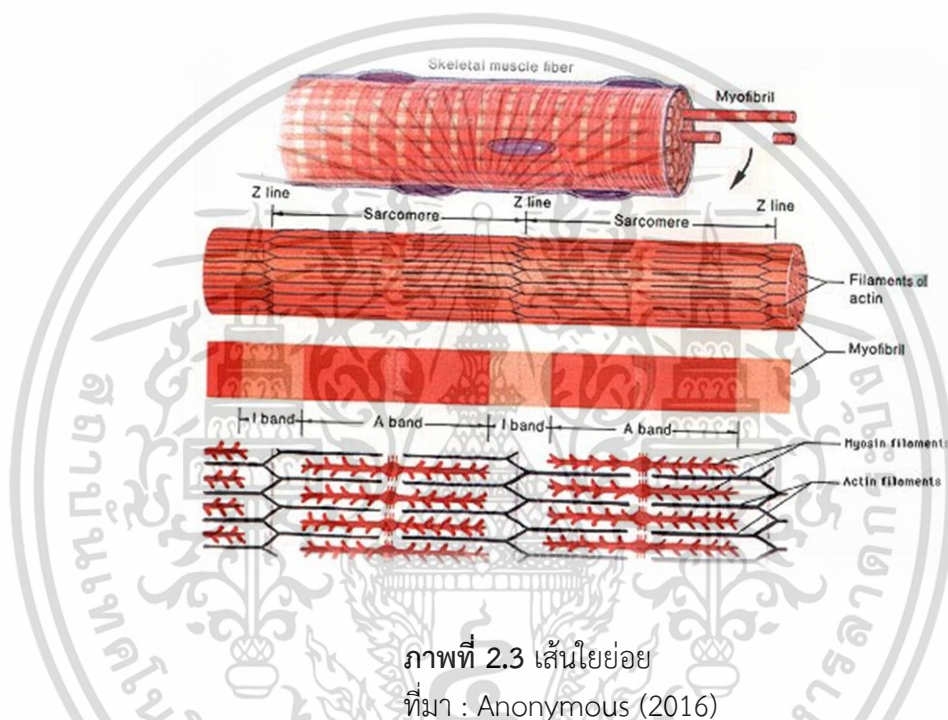
2.1.5 ซาร์โคพลาสซึม (sarcoplasm) เป็นสารกึ่งของเหลวอยู่ภายในเส้นใยกล้ามเนื้อและทำหน้าที่หล่อเลี้ยงส่วนต่างๆ ภายในเซลล์กล้ามเนื้อ

2.1.6 ไลโซโซม มีรูปร่างเหมือนถุงเล็กๆ ที่มีสารหลายชนิดอยู่ภายใน

2.1.7 ซาร์โคพลาสซึมิก เรติคูลัม (sarcoplasmic reticulum) มีรูปร่างเป็นโครงข่ายหุ้มโดยรอบเส้นใยย่อยแต่ละเส้น ซาร์โคพลาสซึมิก เรติคูลัมเป็นที่สะสมของ Ca^{2+} เมื่อเส้นใยกล้ามเนื้ออยู่ในสภาวะพักตัว (relax)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.8 ไมโอไฟบริล หรือเส้นใยย่อย (myofibril) เป็นส่วนประกอบประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์กล้ามเนื้อ ทำหน้าที่ในการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ มีรูปร่างเป็นเส้นยาวทรงกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-2 ไมครอน ไมโอไฟบริลจะอยู่ในซาร์โคพลาสซึมและมีความยาวตามความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อ ประกอบด้วยแถบมืด หรือ A-band (anisotropic band) และแถบสว่างหรือ I-band (isotropic band) สลับกันทำให้เกิดหน่วยย่อย (unit) ของกล้ามเนื้อซึ่งเรียกว่า ซาร์โคเมียร์ (sarcomere) ซึ่งทำให้เกิดเป็นลาย (striated) ในกล้ามเนื้อโครงร่าง แถบมืดและแถบสว่างในไมโอไฟบริลเกิดจากการเรียงตัวกันของเส้นใยฝอย (myofilament) 2 ชนิด คือ เส้นใยฝอยชนิดหนา (thick filament) หรืออาจเรียกว่า myosin filament เนื่องจากว่าประกอบด้วยโปรตีนไมโอซิน (myosin) เป็นหลัก และเส้นใยฝอยชนิดบาง (thin filament) หรือ actin filament เพราะประกอบด้วยแอกติน (actin) เป็นหลัก



2.2 ชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ

เส้นใยกล้ามเนื้อชนิดนี้มีหลายชนิดแตกต่างกัน ซึ่งสามารถจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อตามลักษณะการทำงานได้ดังนี้

2.2.1 Type I (slow twitch หรือ red fiber หรือ slow twitch oxidative muscle) เส้นใยกล้ามเนื้อชนิดนี้มีความสามารถในการหดตัวช้า มีหลอดเลือดฝอยไมโทคอนเดรีย และ ไมโอโกลบินจำนวนมาก ทำให้กล้ามเนื้อมีสีแดง และช่วยผลิตพลังงานสำหรับการสร้าง ATP และสามารถขนส่งออกซิเจน (O_2) ได้มากและมีกระบวนการทำงาน (metabolism) แบบใช้ออกซิเจน

2.2.2 Type IIa (fast twitch oxidative muscle) คล้ายกับเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด slow twitch คือมี metabolism แบบใช้ออกซิเจน มี ไมโทคอนเดรีย และหลอดเลือดฝอยจำนวนมากทำให้มีสีแดง แต่มีความสามารถในการหดตัวเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 Type IIb (white fiber หรือ fast twitch glycolytic muscle) เป็นกล้ามเนื้อที่มี metabolism แบบไม่ใช้ออกซิเจน ใช้พลังงานจากกระบวนการ glycolysis มี ไมโทคอนเดรีย และ ไมโอโกลบิน น้อย ความสามารถในการหดตัวช้า (Pearson and Young, 1989 อ้างใน ฉันทวัฒน์ อาชวาคม, 2552)

2.3 การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ

การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อนั้นสามารถแบ่งได้ตามลักษณะการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ (contractile) หรือแบ่งตามขบวนการเมตาบอลิซึม (metabolic properties)

2.3.1 การจำแนกเส้นใยกล้ามเนื้อตามลักษณะการหดตัวของกล้ามเนื้อ เป็นการอาศัยสภาวะที่มีรูปแบบหลายรูปแบบของโปรตีนไมโอซิน เนื่องจากโปรตีนไมโอซินเป็นส่วนประกอบหลักที่ถูกใช้เป็นตัวชี้วัดการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ ซึ่งสามารถแบ่งชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ ได้เป็นแบบ slow-twitch type I และ fast-twitch type II วิธีการวัดโดยอาศัยหลักการ Histochemistry ซึ่งสามารถแบ่ง type I และ type II ด้วย m-ATPase staining โดย type I m-ATPase จะถูกยับยั้งหลังจาก alkaline pre-incubation และ type II จะถูกยับยั้งหลังจาก pre-incubation (Picard, et. al. 2002)

2.3.2 การแบ่งตามกระบวนการเมตาบอลิซึม สามารถวัดจาก กิจกรรมการทำงานของ metabolic enzymes ในไมโทคอนเดรีย เช่น oxidative enzyme succinate dehydrogenase (SDH) โดย oxidative (red fiber) และ non-oxidative (white fiber) สามารถแยกได้ด้วย SDH staining เมื่อนำวิธี m-ATPase และ SDH staining เข้าด้วยกันจะทำให้สามารถแบ่งระหว่าง slow-type I และ fast-type II ได้ด้วย m-ATPase-based จากนั้นทำการแบ่งระหว่าง fast oxidative และ fast glycolytic ด้วย metabolic enzyme based

การจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยหลักการ Histochemistry นั้นใช้เวลาค่อนข้างมากในการตรวจสอบ ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการนำเอาวิธีการเทคนิคอื่น เพื่อนำมาใช้แบ่งชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ เช่น การแบ่งตาม Myosin Heavy Chain (MHC) Isoforms โดยหลักการ immune-histochemistry โดยอาศัย antibodies ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับ MHC isoforms หรืออาศัยหลักการของอิเล็กโตรโฟรีซิสที่ชนิดของ MHC มีการเคลื่อนที่ในเจลอะครีลาไมด์ไม่เท่ากัน นอกจากนี้แล้วยังสามารถจำแนกชนิดของ MHC ตามการแสดงออกของยีน (gene expression) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถตรวจสอบชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อได้รวดเร็วกว่าแบบ Histochemistry ที่เป็นแบบดั้งเดิม

จากการรายงานของ Wimmers, et. al. (2008) พบว่าสหสัมพันธ์เชิงบวกอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างการจัดจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อที่จำแนกตามหลักการของ Histochemistry กับ real-time PCR ระหว่างการจัดจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อตามทั้ง 2 วิธี โดยมีค่าประสิทธิสหสัมพันธ์ระหว่าง 0.53-0.72 โดยจากการจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อในสุกรพบว่า ทั้งสองวิธีมีส่วนของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด MHC II เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lefaucheur, et. al. (2004) ซึ่งพบว่าชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อที่จำแนกตามปริมาณการแสดงออกของยีนสอดคล้องกับการจำแนกตามการแสดงออกของโปรตีน การจัดจำแนกชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยวิธี Histochemistry ในสุกรนั้นพบว่าแยกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อเป็น 3 ชนิด คือ type I type IIa และ type IIb (Lefaucheur and Gerrard, 1998) และวิธีที่ใช้ในการแยกระหว่าง type IIx และ type IIb รวมทั้งไฮบริดระหว่างเส้นใยทั้ง 2 ชนิดนั้น

ต้องอาศัยวิธี immunocytochemistry โดยใช้ antibodies ที่เฉพาะเจาะจงกับชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อหรือเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาศัยวิธี real-time PCR (Wimmers, et. al. 2008) ซึ่งไม่ถือว่าเป็นการจำแนกชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อโดยตรง แต่เป็นการวัดปริมาณการแสดงออกของยีนที่สร้างเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดนั้นๆ และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี histochemistry พบว่ามีความแตกต่างกันในการจำแนก fast fiber type

2.4 โพรตีนในเนื้อสัตว์

โพรตีนในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่จะได้จากกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ปริมาณโพรตีนมากที่สุดในเส้นใยย่อย ซึ่งเป็นเส้นใยขนาดเล็กมากที่อัดอยู่ในเซลล์หรือที่เรียกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อ โพรตีนเหล่านี้จึงเรียกชื่อรวมๆ ว่าโพรตีนเส้นใยย่อย (myofibrillar protein) ซึ่งมีผลต่อการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อขณะมีชีวิต โพรตีนเส้นใยย่อยนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ

2.4.1 โพรตีนที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อ ประกอบไปด้วย

2.4.1.1 โทรโปไมโอซิน (tropomyosin) มีอยู่ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ของโพรตีนเส้นใยย่อย มีลักษณะเป็นเส้นยาว โทรโปไมโอซินจะวางพาดอยู่บนร่องที่เกิดจากการบิดเป็นเกลียวของแอกติน

2.4.1.2 โทรโปนิน (troponin) มีอยู่ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ของโพรตีนเส้นใยย่อย มีลักษณะเป็นแท่งกลมสั้นอยู่ภายใต้ของเส้นโทรโปไมโอซิน โทรโปนินประกอบไปด้วย 3 หน่วยย่อย คือ
(1) troponin I (inhibitory) จับกับแอกตินช่วยทำให้โทรโปนินและโทรโปไมโอซินอยู่ในตำแหน่งที่ป้องกันการทำปฏิกิริยาของแอกตินและไมโอซิน

(2) troponin T (tropomyosin binding) จับกับโทรโปไมโอซิน
(3) troponin C (Ca^{2+} binding) จับกับ Ca^{2+} ทำให้ส่วนของโทรโปนินและโทรโปไมโอซินเลื่อนออกไป แอกตินจึงสามารถจับกับไมโอซินได้

2.4.2 โพรตีนที่เกี่ยวข้องกับการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ ประกอบไปด้วย

2.4.2.1 แอกติน เป็นโพรตีนทรงกลม มีประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ของ โพรตีนเส้นใยย่อย การรวมตัวกันของแอกตินโมเลกุลเดี่ยวหลายๆ โมเลกุล จะทำให้เกิดเป็น Fibrous actin หลังจากนั้นจะการพันเป็นเกลียวของ Fibrous actin จะทำให้เกิดเป็น actin filament

2.4.2.2 ไมโอซิน (myosin) มีประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ โพรตีนเส้นใยย่อยโดย ไมโอซินมีรูปร่างเป็นแท่งยาวประกอบไปด้วย ส่วนหัว ส่วนตัว และส่วนหาง ส่วนหัวของไมโอซินที่อยู่ใน thick filament มีอยู่ด้วยกันและเป็นส่วนที่จะจับกับแอกตินเพื่อสร้างเป็น crossbridge

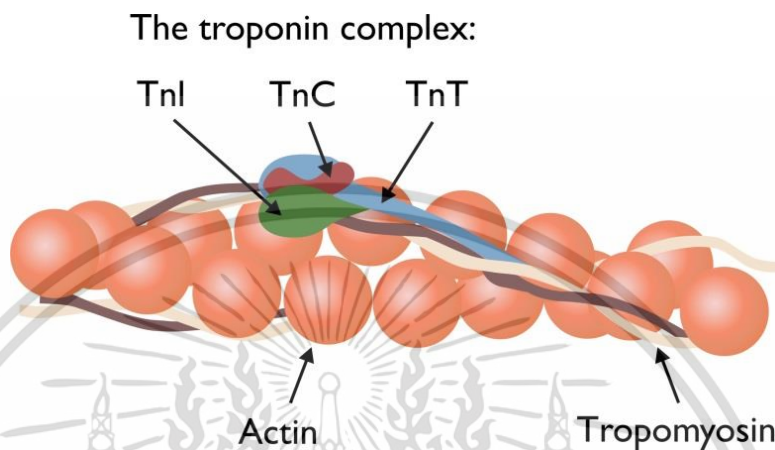
2.4.3 โพรตีนกลุ่มที่เป็นโครงสร้างของไมโอไฟบริล (cytoskeletal proteins)

2.4.3.1 ไตติน (titin) เป็นโพรตีนส่วนใหญ่ในกลุ่ม cytoskeletal proteins พบประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ของโพรตีนเส้นใยย่อย โดยไตตินมีความยาวครึ่งหนึ่งของซาร์โคเมียร์ ทำหน้าที่เชื่อมระหว่าง Z-line กับ M-line ที่อยู่ตรงกลางของ A-band ช่วยให้โครงสร้างของเส้นใยย่อย สามารถคงสภาพอยู่ได้

2.4.3.2 เนบูลิน (nebulin) พบประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ ของ โพรตีนเส้นใยย่อย จะอยู่คู่ขนานกับ thin filament จาก A-band ถึง Z-line ทำหน้าที่เพิ่มความมั่นคงให้แก่โครงสร้างของ thin filament

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3.3 C-protein มีอยู่ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนเส้นใยย่อย จะพันรอบ thick filament นอกจากนี้ยังพบโปรตีน myomesin M-protein และ skelemin ในส่วนของ Z-line พบโปรตีน alpha actinin และ Caps Z นอกจากนี้ยังมีโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของ intermediate filaments เช่น เดสมิน (desmin) ฟิลาเมนต์ (filamin) พาราเนมิน (paranemin) (จันทร์พร เจ้าทรัพย์. 2554)



ภาพที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน actin Tropomyosin และ Troponin
ที่มา : Anonymous (2017)

2.5 การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตาย

การเปลี่ยนแปลงภายในกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตาย จะเกิดหลังจากกระบวนการทางคอเอา เลือดออกทำให้ภายในกล้ามเนื้อต้องใช้พลังงานในการรักษาสภาพต่างๆ ไว้ซึ่งพลังงานดังกล่าวก็คือ ATP ที่ได้จากกระบวนการไกลโคไลซิสโดยไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้เกิดกรดแลคติก (lactic acid) ซึ่งกรดแลคติกจะไปสะสมอยู่ในกล้ามเนื้อและจะยังไม่ถูกนำเอาออกมาใช้จนกระทั่งไกลโคเจนในกล้ามเนื้อจะถูกใช้จนหมดเสียก่อน การสะสมของกรดแลคติกทำให้ค่า pH ของเนื้อต่ำลง เมื่อสัตว์ตายค่า pH จะค่อยๆ ลดต่ำลงอย่างช้าๆ จากปกติจะอยู่ที่ประมาณ 7 และจะลดลงจนเหลือประมาณ 5.3-5.7 ภายใน 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย สำหรับสัตว์ที่มีการสะสมไกลโคเจนก่อนตายน้อยทำให้เกิดการสะสมของกรดแลคติกในกล้ามเนื้อต่ำมีผลทำให้เนื้อมีค่า pH สูง ส่งผลให้เนื้อมีลักษณะดำคล้ำ แข็ง และแข็ง (dark firm dry, DFD) แต่ถ้าหากสัตว์มีการสะสมไกลโคเจนก่อนตายมากก็ทำให้เกิดการสะสมของกรดแลคติกสูง ค่า pH ต่ำ ส่งผลทำให้เนื้อมีสีซีด เหนียว จับน้ำได้ไม่ดี (pale soft exudation, PSE)

การเปลี่ยนแปลงสำคัญอีกอย่างของกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตาย คือ การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (rigor mortis) ซึ่งเกิดจากการสร้าง crossbridge ของเส้นใยย่อยแอกตินและไมโอซิน หลังจากที่สัตว์ตายทำให้ไม่มีการสร้างพลังงาน ATP ซึ่งจะเป็นพลังงานที่ช่วยแยกให้ แอกตินและไมโอซินออกจากกันจึงทำให้กล้ามเนื้อไม่มีการคลายตัว ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนของกล้ามเนื้อทางด้านกายภาพหลังจากสัตว์ตาย คือ สีของเนื้อ โดยปกติแล้วเนื้อจะมีสีแดงสดเนื่องจากมีปริมาณออกซิเจนสูงแต่เมื่อสัตว์ตายทำให้กล้ามเนื้อขาดออกซิเจนส่งผลให้เนื้อมีสีเข้ม และคล้ำ ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคแต่ถ้าหากตัดผิวหน้าของเนื้อออกจะทำให้เนื้อได้รับออกซิเจนและเนื้อจะค่อยๆ เปลี่ยนกลับมาเป็นสีแดงอีกครั้ง ความแน่นของเนื้อเมื่อสัตว์ตายแล้วกล้ามเนื้อจะมีลักษณะค่อนข้างแข็งเนื่องจากการเกร็งตัว แต่หากระยะเวลาผ่านไปโปรตีนภายในกล้ามเนื้อจะเกิดการเสื่อมสภาพทำให้กล้ามเนื้ออ่อนตัวลง แต่ถ้าหากมีการเสื่อมสภาพของโปรตีนมากก็จะทำให้กล้ามเนื้ออ่อนตัวจนเหลว รวมทั้งความสามารถในการจับน้ำลดลงเนื่องจากโดยทั่วไปแล้วน้ำภายในกล้ามเนื้อนั้นจะอยู่ในเส้นใยกล้ามเนื้อโดยจับอยู่กับโปรตีน หากเกิดการเสื่อมสภาพของโปรตีนก็จะทำให้น้ำซึมออกมาจากกล้ามเนื้อ (ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529)

2.6 การย่อยสลายของโปรตีนในกล้ามเนื้อหลังสัตว์ตาย

ความนุ่มของเนื้อหลังสัตว์ตายเป็นผลมาจากโปรตีนในกล้ามเนื้อถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ภายในเซลล์สัตว์ (androgenous proteolytic enzymes) เรียกกระบวนการนี้ว่า กระบวนการย่อยสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เนื้อมีความนุ่มมากขึ้นระหว่างการบ่มเนื้อ (Sentandreu, et. al. 2002 อ้างใน อรพิน ทิมพ์สมแดง. 2553) ซึ่งการย่อยสลายของโปรตีนหลังสัตว์ตายนั้นมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องที่สำคัญคือเอนไซม์กลุ่มคาลเพน

2.6.1 เอนไซม์กลุ่มคาลเพน

เอนไซม์กลุ่มคาลเพน (calpains) ประกอบด้วยเอนไซม์

1) calpain I หรือ μ -calpain เป็นเอนไซม์ที่ต้องการความเข้มข้นของ Ca^{2+} มากกระตุ้นให้เกิดการทำงานในระดับ 10^{-6} โมลาร์ หรือความเข้มข้นของ Ca^{2+} เท่ากับ 10 ไมโครโมล (μM)

2) calpain II หรือ m-calpain เป็นเอนไซม์ที่ต้องการความเข้มข้นของ Ca^{2+} มากกระตุ้นให้เกิดการทำงานในระดับ 200-300 ไมโครโมล (Morgan, et. al. 1993)

เอนไซม์กลุ่มคาลเพนจัดอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนซิสเตอีน เอนไซม์กลุ่มคาลเพน มีบทบาทสำคัญในการที่จะทำให้อาหารนุ่ม โดยทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนของเส้นใยกล้ามเนื้อ เอนไซม์กลุ่มคาลเพนจะทำงานเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} และทำปฏิกิริยาได้ดีในสภาพที่เป็นกลาง หลังจากสัตว์ตายและ ATP ได้ถูกใช้เกือบหมด จะเกิดกระบวนการ rigor mortis ทำให้ Ca^{2+} ในซาร์โคพลาสซึมเรติคิวลัม ถูกปล่อยมายังซาร์โคพลาสซึม ซึ่งปริมาณของ Ca^{2+} จะทำไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์คาลเพนให้ย่อยสลายโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อที่มีบริเวณ Z line ได้แก่ titin, desmin, troponin-T และ troponin-I ผลทำให้อาหารนุ่มขึ้น โปรตีนคาลปาสเตติน (calpastatin) เป็นโปรตีนที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลุ่มคาลเพน เป็นโปรตีนที่สามารถทนความร้อนสูงถึง 100 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาของ Pringle, et. al. (1997) กล่าวว่า การที่โปรตีนคาลปาสเตตินมีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังสัตว์ตายจะมีผลทำให้เอนไซม์คาลเพนทำงานได้น้อยลงและส่งผลทำให้ความนุ่มของเนื้อสัตว์ลดลง

2.6.2 การสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที

โปรตีนโทรโปนิน ที (troponin-T, Tn-T) เป็นโปรตีนที่พบในเส้นใยย่อย (myofibrillar protein) โปรตีนนี้จะสลายตัวในระหว่างการบ่มภายหลังสัตว์ตาย

Ho, et. al. (1994) ศึกษาการสลายตัวของโปรตีนเส้นใยกล้ามเนื้อและการปรากฏของ polypeptide ขนาด 30 kDa ในเนื้อบ่มที่ระยะเวลา 1, 3, 7, 14 และ 28 วันหลังสัตว์ตาย พบว่า polypeptide ขนาด 30 kDa นั้นเกิดจากการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที ด้วยเทคนิค Western blot โดยจะเริ่มพบ polypeptide ขนาด 30 kDa ในวันที่ 3 เป็นต้นไป

ฉันทวัฒน์ อาชวาคม. (2552 : 37) รายงานว่า กล้ามเนื้อสันนอกของเนื้อโคพื้นเมืองและเนื้อโคกำแพงแสนในระยะเวลาการบ่ม 1, 7, 14, 21 และ 30 วัน พบว่าเนื้อโคทั้ง 2 ชนิด โปรตีนโทรโปนิน ที ขนาด 39 kDa และ 37 kDa ของเนื้อโคทั้งสองชนิดมีการสลายตัวตามระยะเวลาการบ่มที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของโปรตีนโทรโปนิน ที ขนาด 30 kDa และ 28 kDa เกิดขึ้นตลอดช่วงระยะเวลาการบ่มเนื้อ

2.7 การตอนแบบผ่าอวัยวะออก

การตอนแบบผ่าอวัยวะออก (castration) มีวัตถุประสงค์ คือกำจัดกลิ่นเพศผู้ ในซากสุกร เพื่อให้สามารถเลี้ยงสุกรขุนตัวผู้และตัวเมียในคอกเดียวกันได้ ในการตอนสุกรเพศผู้ที่มีอยู่ด้วยกัน 3 วิธี คือ การทำให้เลือดไม่สามารถไปหล่อเลี้ยงลูกอวัยวะได้จนลูกอวัยวะฝ่อและลีบไปเอง การฉีดยาเคมีเข้าไปตรงลูกอวัยวะ และการผ่าเอาลูกอวัยวะออก ซึ่งเป็นวิธีการที่นิยมกันโดยทั่วไปในขณะนี้ การผ่าเอาลูกอวัยวะออกนั้นถือว่าการป้องกันสารที่ทำให้เกิดกลิ่นสาบในเนื้อสุกรเพศผู้ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากไม่มีการผลิตสารแอนโดรستيโนน และยังส่งผลให้ตัวสามารถสลายสกาโทล ลดลงได้ดีขึ้น จึงทำให้ปริมาณสกาโทลลดลงด้วย แต่การผ่าเอาลูกอวัยวะออกนั้นเป็นวิธีการที่ทำให้สุกรได้รับบาดเจ็บ เกิดภาวะเครียด และอาจส่งผลต่อสุขภาพของสุกรเนื่องจากสุกรได้รับความบอบช้ำ นอกจากนี้เมื่อไม่มีอวัยวะทำให้ไม่มีการผลิตฮอร์โมน เทสโทสเตอโรนซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศผู้ ทำให้อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง รวมทั้งอาจส่งผลต่อคุณภาพซาก ปริมาณเนื้อแดงและไขมันได้

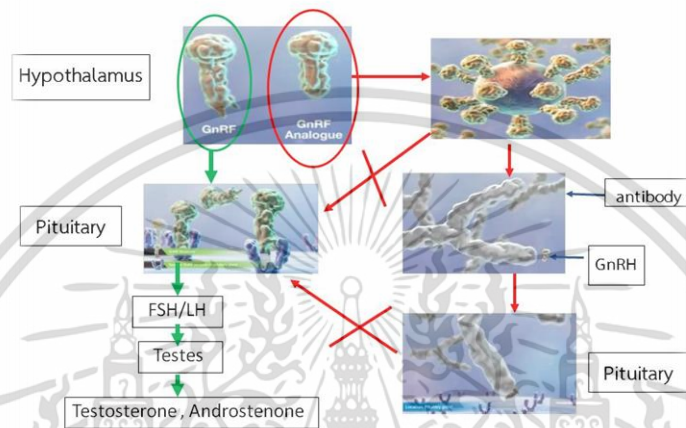
2.8 การตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา

การเกิดสารแอนโดรستيโนน ที่ผลิตจากลูกอวัยวะซึ่งจะเกิดขึ้นเป็นปกติกับสุกรเพศผู้ที่ไม่ตอน โดยเริ่มจากสมองส่วนไฮโปทาลามัส (Hypothalamus) หลั่งฮอร์โมน GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) ออกมาเพื่อที่จะกระตุ้นกับต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Pituitary) ให้หลั่งฮอร์โมน FSH (Follicle stimulating Hormone) และ LH (Lutienizing Hormone) ไปกระตุ้นให้อวัยวะสร้างฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและสารแอนโดรستيโนน ซึ่งเป็นสาเหตุของกลิ่นสาบที่ไม่พึงประสงค์

ดังนั้นวิธีการ Immunocastration เป็นการตอนที่อาศัยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา (immunology) โดยการฉีดสารแอนติเจนเข้าไปกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน สารแอนติเจนที่ฉีดเป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับฮอร์โมน GnRH เรียกว่า GnRH analogue เพื่อกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอนติบอดีที่ชื่อว่า anti-GnRH ซึ่งเรียกว่าเป็นการทำวัคซีนนั่นเอง โดยแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นนี้จะไปจับกับ GnRH ทำให้ GnRH ไม่สามารถไปกระตุ้นต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้หลั่งฮอร์โมน FSH และ LH ได้ อันตะจึงฝ่อและมีขนาดเล็กจึงผลิตฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน และสารแอนโดสติโนนลดลง ซึ่งมีผลทำให้สกาโทลลดลงด้วย (Dunshen, et. al. 2001) ทำให้กลืนสาบในสุกรลดลง ในปัจจุบันวัคซีนที่มีการนำมาใช้ในการตอนสุกรทางการค้าคือ Improvac® ซึ่งมีการทำงานดังรูปภาพที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 การทำงานของ anti-GnRH
ที่มา : ดัดแปลงจาก Pfizer (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อฮอร์โมนเพศผู้และกลืนสาบสุกร

ตารางที่ 2.1 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อฮอร์โมนเพศผู้และกลืนสาบในสุกร

Item	Early ^a				Late ^b			
	Placebo	Improvac	Barrow	P-value	Placebo	Improvac	Barrow	P-value
Plasma testosterone, ngmL ^d								
Secondary dose	13.7 ^x	12.7 ^x	0.29 ^y	<0.001	6.61 ^x	8.27 ^x	0.33 ^y	<0.001
Secondary +2 week	8.52 ^x	0.51 ^y	0.32 ^y	<0.001	7.03 ^x	0.54 ^y	0.31 ^y	<0.001
Secondary +4 week	10.5 ^x	1.16 ^y	0.28 ^y	<0.001	8.26 ^x	0.62 ^y	0.27 ^y	<0.001
Fat androstenone, $\mu\text{g}/\text{g}$ ^c	1.21 ^x	0.160 ^y	0.106 ^y	<0.001	1.05 ^x	0.126 ^y	0.103 ^y	<0.001
Fat skatole, $\mu\text{g}/\text{g}$ ^c	0.133	0.068 ^y	0.048 ^y	<0.001	0.095 ^x	0.056 ^y	0.046 ^y	<0.001
Testes width, mm								
Primary dose	68.0	67.6	-	0.80	89.4	87.2	-	0.29
Secondary dose	100.6	98.7	-	0.32	109.3	110.6	-	0.56
Secondary dose +2 week	112.3	94.8	-	<0.001	108.5	99.3	-	<0.001
Secondary dose +4 week	124.0	93.9	-	<0.001	133.0	102.6	-	<0.001
Chang after secondary dose	23.1	-4.8	-	<0.001	23.7	-8.3	-	<0.001
Testes weight, g ^c	421.6	182.6	-	<0.001	509.6	254.4	-	<0.001

^a Pigs receive primary treatment and secondary treatment, and were slaughtered at 15, 19, or 23 wk of age

^b Pigs receive primary treatment and secondary treatment, and were slaughtered at 18, 22, or 26 wk of age

^c Examination of residuals showed that the assumptions of analysis of variance did not hold. Thus, these data have been analyzed using the Kruskal-Wallis nonparametric analysis of variance and Mann-Whitney U-test to test difference between groups. Values with different superscripts an age group are different at the 1% level. Data are presented as mean \pm SD with the median value in parentheses.

^{xy} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Dunchae, et. al. (2001)

จากการศึกษาอิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อฮอร์โมนเพศผู้และกลืนสาบสุกร ของ Dunchea, et. al. 2001 ที่ทำการเปรียบเทียบระหว่างสุกรเพศผู้ไม่ตอน สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก พบว่าหลังจากการฉีดวัคซีน Improvac เข็มที่ 2 ในสุกรเพศผู้ไม่ตอนและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา มีระดับฮอร์โมนเพศผู้ในเลือด (testosterone) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก ($P<0.001$) แต่เมื่อหลังจากการฉีดวัคซีนเข็มที่ 2 ไปแล้ว 2 สัปดาห์ สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีระดับฮอร์โมนเพศผู้ในเลือดลดลงอยู่ที่ 0.51 ng/mL ซึ่งแตกต่างกับสุกรเพศผู้ไม่ตอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) จากการศึกษาในระดับแอนโดรสตีโนนในไขมัน (Fat androstenone) และระดับของสกาโทลไขมัน (Fat skatole) พบว่า ในสุกรเพศผู้ไม่ตอนนั้นมีปริมาณแอนโดรสตีโนนในไขมันและระดับของสกาโทลไขมัน สูงที่สุดซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.001$) กับสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาและสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต

ตารางที่ 2.2 อิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

Item	Early ^a				Late ^b			
	Placebo	Improvac	Barrow	P-value	Placebo	Improvac	Barrow	P-value
Live weight, kg								
15 week	52.4	52.7	56.6	<0.001	52.9	52.6	56.6	<0.001
Secondary dose	74.1	74.0	77.3	0.032	89.3	88.8	93.4	0.086
Slaughter	96.2	98.3	99.9	0.125	113.3	120.7	117.1	0.013
Average daily gain, g/d ^c	786	868	809	0.051	858	1119	847	<0.001
Feed intake, kg/d ^c	2.44	2.81	2.91	0.006	2.79	3.40	3.13	0.097
Feed intake conversion ratio, g/g ^c	3.03	3.05	3.39	0.022	3.30	3.10	3.79	0.035
P2 backfat, mm	11.1	11.9	14.4	<0.001	12.6	15.1	17.1	<0.001
Hot carcass weight, kg	72.9	74.4	77.1	0.024	88.6	92.7	93.0	0.03
Dressing, g/kg ^d	758 ^x	757 ^x	771 ^y	<0.01	781 ^x	768 ^y	793 ^z	<0.01

^a Pigs receive primary treatment and secondary treatment, and were slaughtered at 15, 19, or 23 wk of age

^b Pigs receive primary treatment and secondary treatment, and were slaughtered at 18, 22, or 26 wk of age

^c Examination of residuals showed that the assumptions of analysis of variance did not hold. Thus, these data have been analyzed using the Kruskal-Wallis nonparametric analysis of variance and Mann-Whitney U-test to test difference between groups. Values with different superscripts an age group are different at the 1% level. Data are presented as mean ±SD with the median value in parentheses.

^{x,y} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Dunchae, et. al. (2001)

จากการศึกษาอิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของ Dunchea, et. al. (2001) พบว่าที่อายุ 15 สัปดาห์สุกรเพศผู้ที่ตอนแบบผ่าอัมชะออกมีน้ำหนักมากกว่าสุกรเพศผู้ไม่ตอนและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา ที่น้ำหนัก 56.6 52.4 และ 52.7 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) โดยที่สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีอัตราการเจริญเติบโต/ตัว/วัน (ADG) ดีกว่าสุกรเพศผู้ไม่ตอนและสุกรที่ตอนแบบผ่าอัมชะออก เท่ากับ 868 786 และ 809 กรัม/วัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) พบว่าในกลุ่มสุกรที่มีอายุเข้าฆ่าที่ 18 22 หรือ 26 สัปดาห์ สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าสุกรเพศผู้ไม่ตอนและสุกรที่ตอนแบบผ่าอัมชะออก โดยมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 3.10 3.30 และ 3.13 ตามลำดับ การศึกษาความหนาไขมันสันหลัง ในกลุ่มสุกรที่มีอายุเข้าฆ่าที่อายุ 15 19 และ 23 สัปดาห์ พบว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างสุกรเพศผู้ไม่ตอนและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา แต่ในสุกรที่แบบผ่าอัมชะออกที่มีความหนาไขมันสันหลังมากที่สุด คือ 14.4 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$)



2.11 อิทธิพลของการตอนด้วยวิธีอาศัยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพซาก

ตารางที่ 2.3 อิทธิพลของการตอนด้วยวิธีอาศัยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพซาก

Reference	Animal	% Hot carcass	% cold carcass	LEA (cm ²)	% Lean
Grela, et. al. (2012)	EM	-	78.34	45.6 ^a	6.1 ^a
	IM	-	78.63	45.9 ^a	55.8 ^a
	SC	-	79.43	43.1 ^b	53.2 ^b
	FM	-	78.19	45.4 ^a	55.5 ^a
	P-value	-	NS	<0.05	<0.05
Gispert, et. al. (2010)	EM	-	79.81 ^b	-	61.45 ^a
	IM	-	78.65 ^c	-	57.90 ^b
	SC	-	80.76 ^a	-	57.27 ^b
	FM	-	81.02 ^a	-	61.18 ^a
	P-value	-	<0.0001	-	<0.0001
Fabiana, et. al. (2013)	EM	-	-	-	-
	IM	80.64	78.67	37.74	54.82
	SC	79.85	77.98	35.46	53.29
	FM	81.37	79.45	34.33	53.17
	P-value	NS	NS	NS	NS
Font-i-Furnols, et. al. (2012)	EM	-	-	-	-
	IM	-	73.0 ^c	-	48.1 ^{ab}
	SC	-	76.9 ^a	-	46.1 ^b
	FM	-	75.7 ^b	-	51.1 ^a
	P-value	-	<0.05	-	<0.05

^{a,b} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

Em : Entire male pigs , IM : Immunocastration pigs, SC : Surgical castration pigs, FM : Female pigs

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาอิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพซาก Fabiana, et. al. (2013) พบว่า เปอร์เซ็นต์ซากร้อน (% Hot carcass) ของสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา สุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออก และสุกรเพศเมียไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสุกรเพศเมียมีเปอร์เซ็นต์ซากร้อนมากที่สุด รวมทั้งเปอร์เซ็นต์ซากเย็น (% cold carcass) สุกรเพศเมียก็มีเปอร์เซ็นต์ซากเย็นสูงที่สุดเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Gispert, et. al. (2010) ที่ได้รายงานว่าสุกรเพศเมียมีเปอร์เซ็นต์ซากเย็นมากที่สุดคือ 81.02 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.0001$) กับสุกรเพศผู้ไม่ตอนและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา ที่มีเปอร์เซ็นต์ซากเย็นเท่ากับ 79.81 และ 78.65 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์เนื้อแดง (% Lean) พบว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาและสุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสุกรเพศผู้ไม่ตอนและสุกรเพศเมีย ($P<0.05$) แต่ Grela, et. al. (2012) รายงานว่าเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา สุกรเพศผู้ไม่ตอน และสุกรเพศเมียไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับสุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออก ในขณะที่ Font-i-Furnols, et. al. (2012) รายงานว่าเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงของสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา สุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออก และสุกรที่เพศเมียไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงเท่ากับ 48.1 46.1 และ 51.1 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (LEA) Fabiana, et.al. (2013) รายงานว่า สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา สุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออก และสุกรเพศเมียนั้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันมากที่สุดที่ 37.74 ตารางเซนติเมตร และสุกรเพศเมียมีพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันน้อยที่สุดเท่ากับ 34.33 ตารางเซนติเมตร ซึ่งขัดแย้งกับการรายงานของ Grela, et.al. (2012) ที่พบว่า พื้นที่หน้าตัดเนื้อสันของสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา สุกรเพศผู้ไม่ตอน และสุกรเพศเมียนั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับสุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออก ดังตารางที่ 2.3

2.12 อิทธิพลของการตอนด้วยวิธีอาศัยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพเนื้อสุกร

ตารางที่ 2.4 อิทธิพลของการตอนด้วยวิธีอาศัยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพเนื้อสุกร

Reference	Animal	pH 45 min	pH 24 h	L*	a*	b*	% Drip loss 48 h	% Thawing loss	% cooking loss	SF
Gispert, et. al. (2010)	SC	6.29	-	48.26 ^a	5.76 ^b	1.38	-	-	-	-
	IM	6.27	-	48.84 ^a	6.39 ^{ab}	1.61	-	-	-	-
	FM	6.25	-	47.89 ^{ab}	5.87 ^b	1.25	-	-	-	-
	EM	6.25	-	47.02 ^b	6.60 ^a	1.33	-	-	-	-
	P-value	0.850	-	0.004	0.005	0.240	-	-	-	-
ŠKRLEP, et. al. (2012)	SC	6.40 ^b	5.44 ^a	53.5 ^b	7.1 ^a	3.4a ^b	6.4 ^a	-	26.6	136
	IM	6.31a ^b	5.52 ^b	50.6 ^a	6.89 ^a	2.9 ^a	5.5 ^a	-	28.6	144
	FM	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EM	6.27 ^a	5.42 ^a	54.2 ^b	7.8 ^b	3.6 ^b	8.5 ^b	-	28.4	139
	P-value	0.04	<0.001	<0.001	0.01	0.01	<0.001	-	0.29	0.54
Fabiana, et. al. (2013)	SC	6.15	5.60	60.45 ^a	13.47	7.79	-	-	-	-
	IM	6.01	5.61	57.29 ^b	14.24	6.87	-	-	-	-
	FM	6.04	5.71	58.93 ^{ab}	13.75	7.03	-	-	-	-
	EM	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P-value	NS	NS	<0.05	NS	NS	-	-	-	-
Pauly, et. al. (2009)	SC	6.20	5.50	50.1	6.5	2.8	4.06	11.19	15.80	3.70 ^a
	IM	6.22	5.49	51.0	6.1	2.7	4.22	12.09	15.61	3.45 ^b
	FM	6.28	5.49	50.3	6.5	2.7	4.56	12.52	16.84	3.77 ^a
	EM	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P-value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	<0.05

^{a,b} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001)

SC : Surgical castration pigs, IM : Immunocastration pigs, FM : Female pigs, Em : Entire male pigs

จากการศึกษาอิทธิพลของการตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพเนื้อ จากการรายงานของ Pualy, et. al. (2009) พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย และค่าสีของสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรเพศเมียไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่ Škrlep, et. al. (2012) รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตายของสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรเพศผู้ไม่ตอน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และพบว่าค่าสีของสุกรทั้ง 3 กลุ่มนั้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Gispert, et. al. (2010) ได้รายงานค่าสี L^* และ a^* ของสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา สุกรเพศเมีย และสุกรเพศผู้ไม่ตอน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรเพศเมียมีค่าสี L^* ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสุกรเพศผู้ไม่ตอน ($P<0.05$) ดังตารางที่ 2.4

การศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาที่ Pualy, et. al. (2009) รายงานว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรเพศเมียมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งขัดแย้งกับการรายงานของ Škrlep, et. al. (2012) ที่พบว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) กับสุกรเพศผู้ไม่ตอน

การศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการทำให้ละลาย (Thawing loss) Pualy, et. al. (2009) สุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรเพศเมีย ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

การศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุก ตามการรายงานของ ŠKRLEP, et. al. (2012) พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกของสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรเพศผู้ไม่ตอนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Pualy, et. al. (2009)

การศึกษาค่าแรงตัดผ่านเนื้อตามการรายงานของ Škrlep, et. al. (2012) พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรเพศผู้ไม่ตอนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งขัดแย้งกับการรายงานของ Pualy, et. al. (2009) พบว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรเพศเมียมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา ($P<0.05$)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ใช้สุกรขุนลูกผสมสามสายพันธุ์ ([ลาร์จไวท์ x แลนด์เลซ] x ดุรอก) เพศผู้ 2 กลุ่ม กลุ่มละ 15 ตัว น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 30 กิโลกรัม อายุ 10 สัปดาห์ สุกรกลุ่มที่ 1 เป็นสุกรที่ตอนแบบผ่าเอาอวัยวะออกเมื่ออายุไม่เกิน 1 สัปดาห์ หลังคลอด สุกรกลุ่มที่ 2 เป็นสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา จะทำการฉีควัคซีนเข็มแรกเมื่อสุกรอายุ 16 สัปดาห์ และเข็มที่ 2 เมื่อสุกรมีอายุ 20 สัปดาห์ หลังจากสุกรทั้งสองกลุ่มมีน้ำหนักมีชีวิตประมาณ 120 กิโลกรัม จึงนำเข้าฆ่าที่โรงฆ่าสุกรมาตรฐานของกรมปศุสัตว์ในจังหวัดนครปฐม

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 เลี้ยงสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ที่ฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่ง ในจังหวัดนครปฐม ด้วยอาหารและการจัดการที่เหมือนกันทุกประการ จนกระทั่งสุกรมีอายุประมาณ 24 สัปดาห์ หรือมีน้ำหนักประมาณ 120 กิโลกรัม จึงนำเข้าฆ่าที่โรงฆ่าสัตว์

3.2.2 เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*; LD) จากซากซากชีกขวา ประมาณ 100 กรัม โดยเก็บให้เร็วที่สุดหลังสัตว์ตาย (ภายในประมาณ 1 ชั่วโมง) แล้วแช่ตัวอย่างในน้ำแข็งแห้ง จากนั้นทำการขนส่งตัวอย่างเนื้อ จากโรงฆ่ามายังห้องปฏิบัติการ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เพื่อเก็บตัวอย่างในตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -40 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์หาค่าต่างๆ ในเนื้อของสุกรทั้ง 2 กลุ่มดังนี้

3.2.1.1 การศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิด (Myosin heavy chain isoforms) โดยใช้เทคนิค real-time PCR ตามวิธีที่แนะนำโดย Wimmers, et. al. (2008)

การสกัด RNA

นำตัวอย่างเนื้อสุกรที่บดด้วย ไนโตรเจนเหลว และแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก 0.19 กรัม ลงในหลอดทดลองสำหรับการปั่น เติมสารละลาย Trizol (Invitrogen, Karlsruhe, Germany) 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องผสมสาร (Ika, Switzerland) ประมาณ 20 วินาที จำนวน 2 รอบ เพื่อเป็นการสกัด RNA ในตัวอย่างออกมาให้หมด (มีน้ำแข็งหล่อเย็นอยู่ตลอดเวลา) จากนั้นทำการดูดเอาสารละลายที่ปั่นได้นำมาใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร (Eppendorf) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Labogene, Denmark)

ที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบ/นาที (rpm) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำออกมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา ให้เติมสาร chloroform 200 ไมโครลิตร เขย่าด้วยมือประมาณ 15 วินาที จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 3 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 13,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อปั่นเหวี่ยงเรียบร้อยแล้วจะสังเกตเห็นการแยกชั้นของของเหลว ให้ดูดเอาของเหลวส่วนใสไม่มีสีออกมาใส่ในหลอดทดลองใหม่ แล้วเติม Isopropanol 250 ไมโครลิตร และ สารละลาย NaCl/NaCl 250 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที เมื่อถึงขั้นตอนนี้จะสามารถสังเกตเห็นตะกอนสีขาวเป็นแผ่นเกล็ดเล็กๆ ติดอยู่บริเวณก้นหลอดทดลอง ทำการดูดเอาส่วนใสออกมาให้ได้มากที่สุดโดยที่ยังคงมีตะกอนสีขาวอยู่ เมื่อนำส่วนใสออกมาหมดแล้วเติม 75% Ethanol 1 มิลลิตร นำเข้าไปปั่นเหวี่ยงด้วย เครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็ว 13,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสทั้งหมดออกแล้วตั้งทิ้งให้แห้งเติม RNase free water 40 ไมโครลิตร สามารถเก็บ stock RNA ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ได้นาน ถึง 6 เดือน

นำ Stock RNA จำนวน 2 ไมโครลิตร ผสมกับ RNase free water 198 ไมโครลิตร ไปวัดความเข้มข้นของ RNA ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Bio-Rad, USA) ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร เพื่อตรวจสอบคุณภาพของ RNA โดยสัดส่วนค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 1.8 ถึง 2.0 แสดงว่า RNA ที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์หรือมีคุณภาพดี

$$\text{สัดส่วนค่าการดูดกลืนแสง} = A_{260}/A_{280}$$

การเตรียม cDNA

ทำการสังเคราะห์ First-strand cDNA จากตัวอย่าง RNA ที่สกัดได้ ด้วย RevertAid First Stand cDNA synthesis kit (Invitrogen, USA) โดยการเติม random primer หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมด้วย transcription mixture ซึ่งประกอบด้วย first strand 5X buffer 4 ไมโครลิตร, deoxynucleoside triphosphate 2 ไมโครลิตร, RevertAid reverse transcriptase 1 ไมโครลิตร และ Ribolock RNase inhibitor 1 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายของตัวอย่างให้ได้ 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยใช้ความร้อน

การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน Myosin heavy chain isoforms ด้วยเทคนิค real-time PCR

ศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค real-time PCR โดยใช้เครื่อง Bio-Rad CFX96 system (Bio-Rad, USA) ส่วนประกอบของปฏิกิริยาประกอบด้วยตัวอย่าง cDNA, forward และ reverse primers และ SYBR Green (SensiFast™ SYBR, BIOLINE) ซึ่งประกอบไปด้วย SYBR Green I dye, DNA polymerase, deoxynucleoside triphosphate และ deoxyuridine triphosphate และ stabilizers and enhancers ในปฏิกิริยาปริมาตร 10 ไมโครลิตร

ขั้นตอนการ polymerase activation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที การ denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วินาที จำนวนรอบ 40 รอบ (cycles) ขั้นตอนการ annealing และ extension ใช้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที เปรียบเทียบความเข้มข้นของตัวอย่างที่วัดได้จากกราฟมาตรฐาน (standard curve) จากโปรแกรม Biorad-Rad CFX Manager นำค่า E (PCR reaction efficiencies) และ C_T ที่ได้ไปคำนวณหาสัดส่วนของชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ (MyHC) ด้วยสมการ (Hemming, et. al. 2009)

$$rER = \frac{[1 + E(\text{MHC target gene})]^{-C_T(\text{MHC target gene})}}{[1 + E(\text{MHC control gene})]^{-C_T(\text{MHC control gene})}}$$

เมื่อ E : PCR reaction efficiencies

rER : relative expression ratio

C_T : cycle threshold

ตารางที่ 3.1 primer ในการศึกษา Myosin Heavy Chain (MyHC) isoforms

Gene	Primer sequence (5' to 3')	Annealing temperature, °C	accession no.
MyHC I	Forward: AAGGGCTTGAACGAGGAGTAGA Reverse: TTATTCTGCTTCCTCCAAAGGG	60	AB053226
MyHC IIa	Forward: GCTGAGCGAGCTGAAATCC Reverse: ACTGAGACACCAGAGCTTCT	60	AB025260
MyHC IIx	Forward: AGAAGATCAACTGAGTGAAC Reverse: AGAGCTGAGAACTAACGTG	60	AB025262
MyHC IIb	Forward: ATGAAGAGGAACACATTA Reverse: TTATTGCCTCAGTAGCTTG	57	AB025261

ที่มา : Wimmers, et. al. (2008)

3.2.1.2 การศึกษาการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์กลุ่มคาลเพนด้วยเทคนิค real-time PCR

ศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค real-time PCR โดยใช้เครื่อง Bio-Rad CFX96

system (Bio-Rad, USA) ส่วนประกอบของปฏิกิริยาประกอบด้วยตัวอย่าง cDNA (1:5), forward และ reverse primers และ SYBR Green (SensiFast™ SYBR, BIOLINE) ซึ่งประกอบไปด้วย SYBR Green I dye, DNA polymerase, deoxynucleoside triphosphate และ deoxyuridine triphosphate และ stabilizers and enhancers ในปฏิกิริยาปริมาตร 10 ไมโครลิตร

ขั้นตอนการ polymerase activation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที การ denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วินาที ขั้นตอนการ annealing และ extension ใช้อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที จำนวนรอบ 40 รอบ (cycles) โดยแต่ละตัวอย่างทำ 2 ซ้ำ เปรียบเทียบความเข้มข้นของตัวอย่างที่วัดได้จาก standard curve จากโปรแกรม Biorad-Rad CFX Manager โดยผลการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนกลุ่มเอนไซม์ calpains ในยีน CAPN I จะสร้างเอนไซม์ calpain I ยีน CAPN II จะสร้างเอนไซม์ calpain II ยีน CAST จะสร้างโปรตีน calpastatin โดยจะนำเสนอในรูปของอัตราส่วนระหว่าง ค่า SQ (starting quantity) ของตัวอย่างต่อค่า SQ ของยีนอ้างอิง คือ GAPDH

ตารางที่ 3.2 Primer ในการศึกษา calpains

Gene	Primer sequence (5' to 3')	Accession no.
Cast ¹	Forward: AGGCTGTAAAAACAGAACCTG Reverse: ATTTCTCTGATGTTGGCTGCTC	M20160
CAPN I ²	Forward: GACACCCTCCTGCACCGA Reverse: TCCACCCACTCCCCAAACT	AF263610
CAPN II ²	Forward: ACATGCACACCATCGGCTTT Reverse: CGCTCTGTGCGTCAGGAAG	U01181
GAPDH ¹	Forward: GCGTGAACCATGAGAAGTATGA Reverse: GGTAGAAGCAGGGATGATGTTC	AF017079

ที่มา : ¹Lindholm-Perry, et. al. (2009), ²Chaosap, et. al. (2011)

3.2.1.3 วิเคราะห์การสลายของโปรตีนโทรโปนิน ที่ ที่การระยะเวลาการบ่ม 5 วัน โดยใช้เทคนิค Western blot ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Biorad , USA

การเตรียมเจล TGX Stain-Free gel for SDS-PAGE

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 แสดงการเตรียมเจล TGX stain-Free gel for SDS-PAGE

	1.0 mm Bio-Rad Glass Plates (n = gels)	
	Stacker	Resolver
Resolver A	-	3 ml x n
Resolver B	-	3 ml x n
Stacker A	1 ml x n	-
Stacker B	1 ml x n	-
TEMED	2µl x n	3µl x n
10% APS	10µl x n	30µl x n

ชั่งตัวอย่างเนื้อ 0.3 กรัม และ Extraction buffer + Protein inhibitor 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปผสมด้วยเครื่องผสมสาร จากนั้นทำการตัดตัวอย่างเนื้อออกมา 100 ไมโครลิตร ร่วมกับ 2X SDS จำนวน 100 ไมโครลิตร ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำมาให้ความร้อน ด้วยเครื่อง Heat block ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปรันเจล ด้วยเครื่องแยกโปรตีน แบบ vertical slab gel กำลังไฟ 200 โวลต์ ประมาณ 45 นาที ต่อมานำเจลที่รันแล้ว เข้าสู่เทคนิค Western blot โดยเครื่องเคลื่อนย้ายโปรตีน (Biorad, USA) จากเจล polyacrylamide ไปสู่แผ่นเมมเบรน รันใน w-blot buffer กำลังไฟ 200 mA หล่อเย็นด้วยน้ำแข็งตลอดเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อรัน Western blot เสร็จแล้ว นำแผ่นเมมเบรนไปถ่ายรูปด้วยเครื่อง Gel Doc (Biorad, USA) ใช้โปรแกรม Image Lab เพื่อให้เห็นแถบโปรตีน จากนั้นนำแผ่นเมมเบรนมา block ด้วย 5% skim milk TBS-T เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วเทออก เติม Anti-Troponin-T (sigma) (1:15,000) เขย่าเบาๆ 30 นาที แล้วทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้น ล้างด้วย 1% skim milk TBS-T 5 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที เติม Anti-rabbit (1:7,500) เขย่า 1 ชั่วโมง ล้างด้วย 1% skim milk TBS-T 5 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที จากนั้นล้างอีกครั้งด้วย TBS-T และหยด Substrate (TMB) รอจนกว่าจะเห็นแถบโปรตีน (ขั้นตอนนี้ไม่ควรโดนแสง) หยดปฏิกิริยาด้วยน้ำกลั่น นำ blot ไปถ่ายรูปด้วยเครื่อง Gel Doc (Biorad, USA) ใช้โปรแกรม Image Lab เข้าโปรแกรม Image Lab เพื่อคำนวณค่าของแถบโปรตีนโทรโปนิน ที่ มีขนาด 37 kDa และขนาด 30 kDa จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างแถบโปรตีน ทั้งหมดกับการย่อยสลายของแถบโปรตีนโทรโปนิน ที่ โดยใช้สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{Normalized Quantity} = \frac{\text{Relative Quantity of Target Protein}}{\text{Relative Quantity of Target Protein Lane}}$$

เมื่อ Relative Quantity of Target Protein คือ ค่าแถบโปรตีนทั้งหมด
Relative Quantity of Target Protein Lane คือ ค่าแถบโปรตีน troponin-T

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิด การแสดงออกของยีนแอนไซม์กลุ่มคาลเพน การสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที่ หลังสัตว์ตาย คุณภาพเนื้อสุกรขุน และสหสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา ของลูกผสมสามสายเพศผู้ที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา กับสุกรขุนที่ตอนแบบผ่าเอาอวัยวะออก โดยทำการวิเคราะห์การกระจายของข้อมูลโดยหาค่าสูง-ต่ำ ค่าเฉลี่ย และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบอิทธิพลของปัจจัยที่ศึกษาโดยใช้ Independent T-Test และ Pearson Correlation



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาการแสดงออกของยีนชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ

ผลการศึกษาชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดในรูปของ Myosin Heavy Chain ในสุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออก และสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา ในกล้ามเนื้อสันนอก โดยใช้เทคนิค qPCR พบว่า ปริมาณการแสดงออกของยีนชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ MyHC I, MyHC IIa และ MyHC IIb ของสุกรทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ปริมาณการแสดงออกของยีนชนิด MyHC IIx ของสุกรทั้งสองกลุ่มนั้น มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสุกรที่ตอนด้วยการผ่าอวัยวะออก และสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา มีปริมาณการแสดงออกของยีน MyCH IIx เท่ากับ ร้อยละ 77.06 และ 86.74 ตามลำดับ

การศึกษาพบว่าการตอนด้วยวิธีต่างกัน 2 วิธีมีผลทำให้ปริมาณการแสดงออกของยีนชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด MyHC IIx ในกล้ามเนื้อสันนอก ต่างกัน เนื่องจากยีน MyHC IIx เป็นยีนที่ควบคุมการสร้างกล้ามเนื้อประเภท Fast-twitch type ซึ่งอาจมีผลทำให้สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา มีการสร้างกล้ามเนื้อมากกว่า ดังการทดลองของ Lefaucheur, et. al. (2004) ที่รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอกของสุกรลาร์จไวท์ที่โตเร็วและให้เนื้อแดงมากมีปริมาณการแสดงออกของยีน fastest MHC IIb ที่มากกว่าสุกรหมุยซานซึ่งเป็นพันธุ์สุกรที่โตช้า ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Jaros, et. al. (2004) ที่พบว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีเนื้อแดง เท่ากับ 54.50 เปอร์เซ็นต์ และสุกรที่ด้วยแบบผ่าอวัยวะออก มีเนื้อแดงเท่ากับ 53.76 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.01$) เนื่องจากในระยะแรกจนกระทั่งถึงการทำวัคซีนเข็มที่ 2 อายุประมาณ 20 สัปดาห์ สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยายังคงมีการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับสุกรเพศผู้ไม่ตอน ดังรายงานของ Dunchea, et. al. (2001) ที่พบว่าปริมาณฮอโมนเทสโทสเตอโรนและขนาดของอวัยวะของสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาจะไม่แตกต่างจากสุกรที่ไม่ตอน จนกระทั่งถึงหลังจากผ่านการทำวัคซีนเข็มที่สองที่อายุ 19 สัปดาห์ไปแล้ว 2 สัปดาห์จึงมีปริมาณฮอโมนเทสโทสเตอโรนลดลงและขนาดของอวัยวะเล็กกว่าสุกรที่ไม่ตอน ($P<0.001$)

ตารางที่ 4.1 อิทธิพลของวิธีการตอนต่อปริมาณการแสดงออกของยีนชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ (ร้อยละ)

Trait	Surgical castration	Immunocastration	P-value
MyHC I	0.04 ±0.03	0.04 ±0.03	0.743
MyHC IIa	7.60 ±14.3	1.20 ±1.41	0.105
MyHC IIx	77.06 ±15.70 ^b	86.74 ±9.16 ^a	0.049
MyHC IIb	15.30 ±10.22	12.01 ±8.37	0.345

^{a,b} ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2 ผลการศึกษาปริมาณการแสดงออกของยีนเอนไซม์กลุ่มคาลเพนและคาลปาสเตติน

ผลการศึกษาปริมาณการแสดงออกของยีนเอนไซม์กลุ่มคาลเพนและคาลปาสเตติน ของสุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา พบว่าปริมาณการแสดงออกของยีนเอนไซม์กลุ่มคาลเพนของสุกรทั้งสองกลุ่ม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะออกมีการแสดงออกของยีนเอนไซม์ calpain I เท่ากับ 0.464 เอนไซม์ calpain II เท่ากับ 0.586 และ calpastatin เท่ากับ 1.308 ในสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา มีการแสดงออกของยีนเอนไซม์ calpain I เท่ากับ 0.381 เอนไซม์ calpain II เท่ากับ 0.506 และ calpastatin เท่ากับ 0.962 ดังแสดงในตารางที่ 4.2

การศึกษาพบว่าการตอนต่างกัน 2 วิธี ไม่มีผลต่อการปริมาณการแสดงออกของยีนเอนไซม์กลุ่มคาลเพน และคาลปาสเตติน ซึ่งสอดคล้องกับผลของค่าแรงตัดผ่านเนื้อในการทดลองครั้งนี้ที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาและที่ตอนแบบผ่าอวัยวะ นอกจากนั้นยังสอดคล้องกับ Caldara, et. al. (2013) ในขณะที่ Pauly, et. al. (2009) พบว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะ ($P<0.05$) โดยให้เหตุผลว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยานั้นมีการเจริญเติบโตดีกว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าอวัยวะในระยะสุดท้ายก่อนเข้าฆ่า จึงอาจมีผลทำให้คล้ายกับการเจริญเติบโตแบบชดเชย (compensatory growth) ซึ่งจะมีศักยภาพในการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหลังสัตว์ตายเพิ่มขึ้นจึงทำให้เนื้อนุ่มกว่า โดยพบว่าอัตราส่วนคาลเพน : คาลปาสเตติน สูงกว่าทำให้การย่อยสลายโปรตีนได้ดีกว่า (Kristensen, et. al. 2002 ; Bee, et. al. 2006)

ตารางที่ 4.2 อิทธิพลของวิธีการตอนต่อปริมาณการแสดงออกของยีนของเอนไซม์กลุ่มคาลเพน และคาลปาสเตติน

Trait	Surgical castration ¹	Immunocastration ¹	P-value
CAPN I	0.464 ±1.06	0.381 ±0.16	0.392
CAPN II	0.586 ±0.35	0.506 ±0.87	0.505
CAST	1.308 ±0.95	0.962 ±7.23	0.461

¹หน่วย ปริมาณการแสดงออกของยีน CAPN I , CAPN II และ CAST / ปริมาณการแสดงออกของยีน GAPDH

4.3 ผลการศึกษาการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที

ผลการศึกษาการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที ของสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาพบว่า ผลผลิตจากการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที ที่มีขนาด 30 kDa ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที เท่ากับ 1.10 และ 0.99 ตามลำดับ

ผลการศึกษาผลผลิตที่ได้จากการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที ที่มีขนาด 30 kDa ของสุกรทั้งสองกลุ่มพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีผลผลิตจากการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที เท่ากับ 0.80 และ 0.60 ตามลำดับ เนื่องจากเอนไซม์ที่ทำให้การย่อยสลายโปรตีนโทรโปนิน ที คือเอนไซม์คาลเพน ที่มีบทบาทในการย่อยสลายโปรตีนโทรโปนิน ที ตามการรายงานของ Ho, et. al. (1994) รายงานว่า โปรตีนโทรโปนิน ที ขนาด 37 kDa จะถูกเอนไซม์คาลเพน ย่อยสลายกลายเป็นโพลีเปปไทด์ขนาดเล็ก ประมาณ 30 kDa

ตารางที่ 4.3 อิทธิพลของวิธีการตอนต่อการสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที

Trait	Surgical castration ¹	Immunocastration ¹	P-value
37 kDa	1.10 ±0.51	0.99 ±0.37	0.501
30 kDa	0.80 ±0.21	0.63 ±0.80	0.446

¹ หน่วย ค่าแถบโปรตีนทั้งหมด/ค่าแถบโปรตีนโทรโปนิน ที

4.4 ผลการศึกษาคุณภาพเนื้อสุกร

ผลการศึกษาคุณภาพเนื้อสุกรของสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 45 นาที หลังสัตว์ตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 45 นาทีหลังสัตว์ตายเท่ากับ 7.13 และ 6.94 ตามลำดับ และพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเมื่อ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ 24 ชั่วโมง หลังสัตว์ตายเท่ากับ 5.6 และ 5.59 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Pauly, et. al. (2009) และ Gispert, et. al. (2010) ที่รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยานั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ผลการศึกษาค่าสี (L^* , a^* , b^*) ของเนื้อสุกรทั้งสองกลุ่มพบว่าค่าสี L^* (Lightness) a^* (Redness) และ b^* (yellowness) ของสุกรทั้งสองกลุ่มนั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก มีค่าสี L^* , a^* และ b^* เท่ากับ 47.09 , 3.21 และ 9.95 ตามลำดับ สุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีค่าสี L^* , a^* และ b^* เท่ากับ 48.95 , 2.73 และ 9.78 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Pauly, et. al. (2009) และ Gispert, et. al. (2010) ที่ไม่พบความแตกต่างระหว่างสีเนื้อของสุกรที่ที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา

ผลการศึกษาค่าความยาวซาร์โคเมียร์ ของสุกรทั้งสองกลุ่มพบว่าค่าความยาวซาร์โคเมียร์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีค่าความยาวซาร์โคเมียร์เท่ากับ 1.04 และ 1.03 ไมครอน ตามลำดับ

ผลจากการศึกษาความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ ของสุกรทั้งสองกลุ่มพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อเท่ากับ 72.28 และ 68.18 ไมครอน ตามลำดับ

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาของสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกมีค่ามากกว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยา โดยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษามีค่าเท่ากับ 3.88 และ 4.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ($P = 0.051$) ในขณะที่ Pauly, et. al. (2009) ได้รายงานว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาเท่ากับ 4.56 และ 4.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ผลจากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุก ของสุกรทั้งสองกลุ่ม พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกเท่ากับ 17.83 และ 15.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ Pauly, et. al. (2009) ไม่พบความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกของสุกรทั้งสองกลุ่ม ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Škrlep, et. al. (2012) ที่ได้รายงานว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกไม่ต่างกันทางสถิติกับสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก โดยมีค่าเท่ากับ 28.6 และ 26.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ผลการศึกษาค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ของสุกรทั้งสองกลุ่มพบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออกและสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 4.14 และ 4.15 กิโลกรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.4 ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Škrlep, et. al. (2012) ที่พบว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างจากสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก ซึ่งสอดคล้องกับ Fabiana, et. al. (2013) ในขณะที่ Pauly, et. al. (2009) พบว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก ($P<0.05$) ซึ่งเป็นผลการเจริญเติบโตแบบชดเชยในระยะสุดท้ายก่อนเข้าฆ่า จึงทำให้มีศักยภาพในการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อหลังสัตว์ตายเพิ่มขึ้นจึงทำให้เนื้อนุ่มมากกว่านั่นเองซึ่งค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อดังผลการศึกษาของ Destefanis, et. al. (2008) ที่รายงานสหสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าแรงตัดผ่านเนื้อกับคะแนนความนุ่มของเนื้อ ($r = -0.072$)

ตารางที่ 4.4 อิทธิพลของวิธีการตอนต่อคุณภาพเนื้อสุกร

Trait	Surgical castration	Immunocastration	P-value
pH ₄₅	7.13	6.94	0.103
pH ₂₄	5.60 ±0.03	5.59 ±0.05	0.705
L*	47.09 ±1.44	48.95 ±1.38	0.361
a*	3.21 ±0.15	2.73 ±0.23	0.091
b*	9.95 ±0.53	9.78 ±0.59	0.832
Sarcomere length (µm)	1.04 ±0.01	1.03 ±0.01	0.648
Muscle Fiber Diameter (µm)	72.78 ±2.51	68.18 ±1.54	0.128
Water holding capacity			
Drip loss (%)	3.88 ±0.21	4.66 ±0.32	0.051
Cooking loss (%)	17.83 ^a ±0.79	15.04 ^b ±0.78	0.021
Shear force 1 day (kg)	4.14 ±0.18	4.15 ±0.21	0.962

^{a,b} ตัวอักษรที่ต่างกันแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.5 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อ

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อ พบสหสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างปริมาณการแสดงออกของยีน MyHC I และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา ($r = 0.49, P < 0.05$) ซึ่งขัดแย้งกับการรายงานของ Don Kim, et. al. (2013) ที่ได้พบสหสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างปริมาณการแสดงออกของยีน MyHC I และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา ($r = -0.41$)

ในการศึกษาครั้งนี้พบสหสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างปริมาณการแสดงออกของยีน MyHC IIa และ MyHC IIb ($r = -0.56$) และพบสหสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างปริมาณการแสดงออกของยีน MyHC IIb และ MyHC IIx ($r = -0.71$) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงาน Chang, et. al. (2002) ที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดในกล้ามเนื้อสันนอกของสุกรพันธุ์ดูรอด และลาร์จไวท์โดยพบว่าชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ MyHC IIa มีสหสัมพันธ์เชิงลบ MyHC IIb ในสุกรพันธุ์ดูรอด ($r = -0.46, P < 0.10$) และได้รายงานถึงสหสัมพันธ์เชิงลบระหว่างชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ MyHC IIb กับ MyHC IIx ในสุกรพันธุ์ดูรอด ($r = -0.54, P < 0.05$) และลาร์จไวท์ ($r = -0.44, P < 0.10$) ตามลำดับ

ในการศึกษาครั้งนี้พบสหสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาและค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ($r = -0.44$ และ -0.51) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Miroslav Jůzl, et. al. (2012) พบค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการปรุงสุกและค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายในเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r = -0.29, P < 0.01$)

ในการศึกษาครั้งนี้ เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษามีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า L^* ($r = 0.47$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Ryu, et. al. เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด ไม่ว่ากรณิใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2005) ที่รายงานค่าสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาและค่า L^* ($r = 0.58, P < 0.001$)

ในการศึกษาครั้งนี้พบค่า b^* มีสหสัมพันธ์เชิงบวกลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่า L^* และค่า a^* ($r = 0.91$) และ ($r = 0.46$) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Miroslav Jůzl, et. al. (2012) ที่พบสหสัมพันธ์เชิงบวกลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ระหว่างค่า b^* และ L^* ($r = 0.67, P < 0.001$) และสอดคล้องกับการรายงานของ Ryu, et. al. (2005) ที่พบสหสัมพันธ์เชิงบวกลักษณะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างค่า b^* และค่า a^* ($r = 0.63, P < 0.001$)

ในการศึกษาครั้งนี้พบค่าแรงตัดผ่านเนื้อ มีสหสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ($r = -0.55$) ซึ่งขัดแย้งกับการรายงานของ Ryu, et. al. (2005) ที่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อ มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ($r = 0.26, P < 0.01$)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 สหสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อ

Trait	MyHC Ila	MyHC Iix	MyHC IIb	CAPN I	CAPN II	CAST	Tn-T30kDa	pH45	pH24	L*	a*	b*	Sar	Dia	DL	CL	SF
MyHC I	-0.36	-0.141	-0.33	-0.84	0.16	-0.03	-0.07	0.02	-0.36	0.195	0.11	0.15	-0.15	0.097	0.49*	0.191	-0.058
MyHC Ila		0.294	-0.56*	-0.03	0.274	0.104	0.171	0.001	0.22	-0.06	-0.04	0.06	0.11	-0.05	-0.34	0.103	-0.06
MyHC Iix			-0.71*	-0.03	-0.14	-0.21	-0.24	-0.25	0.197	0.23	-0.2	0.33	-0.17	-0.42	-0.11	-0.17	0.06
MyHC IIb				0.08	-0.164	-0.09	-0.21	0.12	-0.03	-0.27	0.08	-0.34	0.132	0.232	-0.18	-0.274	0.05
CAPN I					0.33	0.17	0.02	0.09	-0.20	0.004	0.27	0.05	-0.07	0.06	0.006	-0.09	0.31
CAPN II						0.204	-0.44	-0.01	-0.28	0.11	0.44*	0.19	0.03	0.18	0.002	-0.09	0.07
CAST							-0.23	-0.15	-0.15	-0.09	0.33	0.01	0.24	0.184	0.028	0.04	0.31
Tn-T30kDa								-0.002	0.29	0.27	0.19	0.39	-0.34	-0.10	-0.19	-0.01	-0.42
pH45									0.003	-0.33	0.267	-0.17	-0.35	-0.44	-0.44*	-0.03	0.06
pH24										-0.29	-0.13	-0.08	-0.07	0.012	-0.51*	-0.311	-0.55*
L*											0.26	0.91**	-0.63*	-0.386*	0.47*	0.399	0.211
a*												0.46*	-0.33	0.29	0.09	0.32	-0.102
b*													-0.72**	-0.32	0.29	0.24	0.004
Sar														0.26	-0.1	-0.01	0.26
Dia															-0.21	-0.28	-0.07
DL																0.167	0.12
CL																	0.40

*P<0.05, **P<0.0001, Sar =Sarcomere length, Dia = Muscle fiber diameter, DL = % drip loss, CL = % cooking loss, SF = share force

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการแสดงออกของยีนชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อ ปริมาณการแสดงออกของยีนเอนไซม์กลุ่ม

คาลเพน การย่อยสลายของโปรตีนหลังสัตว์ตาย และคุณภาพเนื้อสุกร ของสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาและสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก กล้ามเนื้อที่ใช้ศึกษาคือกล้ามเนื้อสันนอก ผลการศึกษาพบว่า

1. การแสดงออกของยีนชนิดเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละชนิดในรูปแบบ Myosin Heavy Chain ในกล้ามเนื้อของสุกรทั้งสองกลุ่ม ที่ทำการจำแนกโดยใช้วิธีเทคนิค qPCR โดยพบว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยามีการแสดงออกของยีน MyHC Iix มากกว่าสุกรที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก

2. การแสดงออกของยีนของเอนไซม์กลุ่มคาลเพนและโปรตีนคาลปาสเตตินซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คาลเพนในสุกรทั้งสองกลุ่มไม่ต่างกันทางสถิติ

3. วิธีการตอนไม่มีอิทธิพลต่อการสลายตัวของโปรตีน troponin - T

4. การศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษาต่อคุณภาพเนื้อพบว่าการแสดงออกของยีน MyHC I มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษามีสหสัมพันธ์เชิงลบกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 45 นาทีหลังสัตว์ตายและมีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย

นอกจากนี้พบว่าค่า L^* มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า b^* และเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษา แต่มีสหสัมพันธ์เชิงลบกับค่าความยาวซาร์โคเมอร์และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยกล้ามเนื้อ

ในขณะที่ค่าแรงตัดผ่านเนื้อมีสหสัมพันธ์เชิงลบกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย

5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าคุณภาพเนื้อของสุกรที่ตอนโดยใช้หลักภูมิคุ้มกันวิทยาไม่ต่างจากคุณภาพเนื้อที่ตอนแบบผ่าอั้นทะออก ยกเว้นในเรื่องของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำที่สูงกว่า อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีว่าสุกรที่ตอนด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาจะไม่ใช่วิธีการตอนที่เหมาะสม สุกรจะยังมีการสร้างฮอริโมนเพศผู้อยู่บ้าง จึงส่งผลทำให้เกิดกลิ่นสาบในเนื้อ ดังนั้นการศึกษาเรื่องคุณภาพเนื้อเพียงอย่างเดียวอาจยังไม่เพียงพอควรศึกษาถึงผลของการตอนสุกรด้วยหลักภูมิคุ้มกันวิทยาต่อการเกิดกลิ่นสาบในเนื้อสุกรด้วยว่ามีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคอย่างไร ซึ่งถ้าสุดท้ายแล้วไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคก็ต้องใช้วิธีการตอนแบบผ่าอั้นทะออกดังเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- จันทร์พร เจ้าทรัพย์. 2554. เทคโนโลยีการฆ่าสัตว์. กรุงเทพฯ : มินเซอร์วิส ซัพพลาย. 201 น.
- ฉันทวัฒน์ อาชวาคม. 2552. การสลายตัวของโปรตีน Troponin-T และความนุ่มของเนื้อโค
กำแพงแสนและเนื้อโคพื้นเมืองที่ระยะเวลาการบ่มต่างกัน. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์
- ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช. 276 น.
- สกนธ์ ชุณหวิจิตรรา. 2559. ผลของการตอนด้วยเทคนิคภูมิคุ้มกันวิทยาต่อคุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ
และกลิ่นสาบของสุกรขุน. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์
- อรพิน พิมพ์สมแดง. 2556. การย่อยสลายโปรตีนและกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์กลุ่มคาลเพน
ในกล้ามเนื้อสันนอกของกวางรูซ่า (Cervus timorensis) หลังการฆ่า. กรุงเทพฯ :
วิทยานิพนธ์.
- Anonymous. 2016a. [Online] Available: http://medicallook.com/human_anatomy/organs/Skeletal_muscle_fiber.html. [4-10-2016].
- Anonymous. 2016b. [Online] Available: <http://humananatomylibrary.com/anatomy-of-transverse-tubules/anatomy-of-transverse-tubules-anatomy-of-a-skeletal-muscle-fiber-skeletal-muscle-physiology>. [4-10-2016].
- Anonymous. 2016c. [Online] Available: <http://www.thelevelbiologist.co.uk/the-sliding-filament-theory-of-muscle-contraction> [4-10-2016].
- Anonymous. 2017. [Online] Available: [http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/IntroductionToPracticalBiochemistry/ch07s06.html](http://www.http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/IntroductionToPracticalBiochemistry/ch07s06.html). [4-5-2017].
- Bee, G., C. Biolley, G. Guex, W. Herzog, S. M. Lonergan and E. Huff-Lonergan. 2006. Effects of available dietary carbohydrate and preslaughter treatment on glycolytic potential, protein degradation, and quality traits of pig muscles. **J. Anim. Sci.** 84:191-203.
- Chang K.C., Costa N.da., Blackley R., Southwood O., Evans G., Plastow G., Wood J.D., Richardson R.I. 2002. "Relationships of myosin heavy chain fibre types to meat quality traits in traditional and modern pigs." **Meat Sci.** 64(2003) 93-103.
- Chaosap, C., Parr T., and Wiseman J. 2011. Effect of compensatory growth on forms of glycogen, postmortem proteolysis, and meat quality in pigs. **J. Anim. Sci.** 2011, 89:2231-2242.
- Destefanis G., Brugiapaglia A., Barge M.T., Dal Molin E. "Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner-Bratzler shear force." **Meat Sci.** 78 : 153-156.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Dunshea, F.R., Colantoni, C., Howard, k., McCauley, I., Jackson, P. and Long, K.A. 2001. "Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac®) eliminates boar taint and increases growth performance." **J. Anim. Sci.** 79 : 2524-2535.
- Fabiana Ribeiro Caldara, Marta Moi, Luan Sousa dos Santos, Ibiara de Lima Almeida Paz, Rodrigo Garófalho Garcia, Irenilza de Alencar Nääs, and Alexandre Rodrigo Mendes Fernades. 2013. "Carcass Characteristics and Qualitative Attributes of Pork from Immunocastrated Animals." **J. Anim. Sci.** 26 : 1630-1636.
- Font-i-Furnols, M., Gispert, M., Soler, J., Diaz, M., Garcia-Regueiro, J.A., Diaz, I. and Pearce, M.C. 2012. "Effect of vaccination against gonadotrophin-releasing factor on growth performance, carcass, meat and fat quality of male duroc pigs for dry-cured ham production" **MeatSci.** 91:148-154.
- Gispert, M., Oliver, M.A., Velarde, A., Suarez, P., Pérez, J. and Font-i-Furnols, M. 2010. "Carcass and meat quality characteristics of immunocastrated male, surgically castrated male entire male and female pigs." **Meat Sci.** 85 : 664-670.
- Grela E.R., Kowalczyk-Vasilev, Klebaniuk.R. 2013. "Performance, pork quality and fatty acid composition of entire males, surgically castrated or immunocastrated males, and female pigs reared under organic system." **Journal of Veterinary Sciences.** 16 : 107-114.
- Hemming, K.M. Parr, T. Daniel, Z.C.T.R. Picard, B. Butter, P.J. and Brameld, J.M. 2009. "Examination of myosin heavy chain isoform expression in ovine skeletal muscle." **Journal of animal science.** 87: 3915-3922
- Ho, C. Y., Stromer, M. H. Rousek, G. and Robson, R. M. 1997. "Effects of electrical stimulation and postmortem skeletal muscle as a degradation product of troponin-T." **Biochimie.** 7: 369-375.
- Jaros, P., Burgi, E., K. Stark, K.D.C., Claus, R., Hennessy, D. and Thun., R. 2005. "Effect of active immunization against GnRH on androstenone concentration growth performance and carcass quality in intact male pigs." **Lives. Prod. Sci.** 92 : 31-38.
- Gap-Don Kim, Youn-Chul Ryu, Jin-Yeon Jeong, Han-Sul Yang, and Seon-Tea Joo. 2013. "Relationship between pork quality and characteristics of muscle fibers classified by the distribution of myosin heavy chain isoforms." **J.Anim.Sci.** 91:5525-5534.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Kristensen, L., M. Therkildsen, B. M. Riis, M. T. Sorensen, N. Oksbjerg, P. Purslow, and P. Ertbjerg. 2002. Dietary induced changes of muscle growth rate in pigs: Effects on in vivo and post-mortem muscle proteolysis and meat quality. *J. Anim. Sci.* 80:2862–2871.
- Lefaucheur L., Gerrard, D. 1998. “Muscle fiber plasticity in farm mammals”. *Proceedings of Animal science.* 1-19.
- Lefaucheur L., Milant D., Ecolan P. and Le Callennec C. “Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in large white and meishan pigs.” 2004. *J. Anim. Sci.* 80 : 1931-1941.
- Lindholm-Perry AK, Rohrer GA, Holl JW, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M, Nonneman D. 2009. “Relationships among calpastatin single nucleotide polymorphism, calpastatin expression and tenderness in pork longissimus.” *AnimGenet.* 713-21 : 1365-2052.
- Miroslav Jůzl ,Hana Šulcerova ,Tomáš Gregor , Tomáš Urban ,Petr Sláma ,Pavla Chalupová ,Tat’ana Sedláčková ,Kateřina Kaplanová ,Filip Weisz. 2012. “The relationship between colour and other meat quality traits in Czech Large White pigs.” *Maso international Journal of food science and technology.* 2012:131-136.
- Morgan, J.B., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Savell, J.W. and Crouse, J.D. 1993. “Meat Tenderness and the calpain proteolytic system in longissimus muscle of young bulls and steers.” *J. Anim. Sci.* 71:1471-1476.
- Muhlisin, Panjono, Sung-Jin Lee, Jeong Koo Lee, and Sung Ki Lee. 2014 “Effect of crossbreeding and Gender on the Carcass Traits and Meat Quality of Korean Native Black pig and Duroc Crossbred.” *J. Anim. Sci.* 27(7) : 1019-1025.
- Pauly, C., P. Spring, J.V. O’Doherty, et al. 2009. “Growth performance, carcass characteristic and meat quality of group-penned surgically castrated, immunocastrated (Improvac[®]) and entire male pigs and individually penned entire male pigs” *Animal.* 3:7, 1057-1066.
- Pearson, A.M. and Young, R.B. 1989. *Muscle and Meat Biochemistry.* San Diego : Academic Pres.
- Pfizer. 2009. **IMPROVAC[®] is the first commercial vaccine against boar taint.** [online]. Available : <http://www.improvac.co.nz/sites/improvac>. [1/10/2014].

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Picard, B., Lefaucheur, L., Berri, C. and Duclos, M.J. 2002. "Muscle fiber ontogenesis in farm animal species". **Reproduction Nutrition Development** 42:415-431.
- Pringle, T.D., Williams S.E., Lamb B.S., John D.D. and West R.L. 1997. "Carcass aged tenderness of Angus and Brahman crossbred steers". *J. Anim. Sci.* 75:2955-2961
- Prunier, A., Bonneau, M., VaonBorell, E.H., Cinotti, S., Gunn, M., Fredrikse, B., Giersing, M., Morton, D.B., Tuytten, F.A.M. and Morton, D.B. 2006. "A review of welfare consequences of surgical castration in piglets and the evaluation of non-surgical methods." *Anim. Welf.* 15: 227-289.
- Ryu Y.C., Kim B.C. "The relationship between muscle fiber characteristics, postmortem metabolic rate, and meat quality of pig *longissimus dorsi* muscle." **Meat Science.** 71:351-357.
- Sentandreu, M. A., Coulis, G., Ouali, A. 2002. "Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness." **Trends Food Sci. Tech.** 13: 400-421.
- Škrlep M., Batorek N., Bonneau M., Prevolnik M., Kubale V., Čandek-Potokar. 2012. "Effect of immunocastration in group-housed commercial fattening pigs on reproductive organs, malodorous compounds, carcass and meat quality" **J. Anim. Sci.** 57 (6) : 290-299.
- Tuma, H.J., Venable, J.H., Wuthier, P.R. and Henrickson, R.L. 1962. "Relationship of fiber diameter to tenderness and meatiness as influenced by Bovine age". **J. Anim. Sci.** 21:33-36.
- Wimmers K., N.T. Ngu, D. G. J. Jennen, D. Tesfaye, E. Murani, K. Schellander and S. Ponsuksili. 2008 "Relationship between myosin heavy chain isoform expression and muscling in several diverse pig breeds." **Journal of animal science.** 794-805.



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

วิเคราะห์การสลายตัวของโปรตีนโทรโปนิน ที

- Extraction buffer ที่เติม protein inhibitor

a) 50 mM tris pH 7.5	6.057	กรัม
5 mM EDTA	1.8612	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

b) Protein inhibitor

AEBSF	20	mg/ml
Leupeptin	5	mg/ml
Pepstatin	1	mg/ml

การคำนวณ protein inhibitor ที่ต้องการใส่ใน extraction buffer

ถ้าต้องการ extraction buffer ในการสกัดตัวอย่าง 15 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น AEBSF } 20 \text{ mg/ml ต้องการความเข้มข้น } 200 \text{ } \mu\text{g/ml} &= \frac{15 \text{ ml} \times 200 \text{ } \mu\text{g/ml}}{20 \text{ mg/ml}} = 150 \text{ } \mu\text{l} \\ \text{Leupeptin } 5 \text{ mg/ml ต้องการความเข้มข้น } 1 \text{ } \mu\text{g/ml} &= \frac{15 \text{ ml} \times 1 \text{ } \mu\text{g/ml}}{5 \text{ mg/ml}} = 3 \text{ } \mu\text{l} \\ \text{Pepstatin } 1 \text{ mg/ml ต้องการความเข้มข้น } 1 \text{ } \mu\text{g/ml} &= \frac{15 \text{ ml} \times 1 \text{ } \mu\text{g/ml}}{1 \text{ mg/ml}} = 15 \text{ } \mu\text{l} \end{aligned}$$

นำสารละลาย a) มาผสมในโปรตีน b) ที่คำนวณได้ ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่สกัดตัวอย่าง

- 10 เปอร์เซ็นต์ Ammonium persulphate solution (APS 1 มิลลิลิตร) เตรียมใหม่ทุกครั้ง

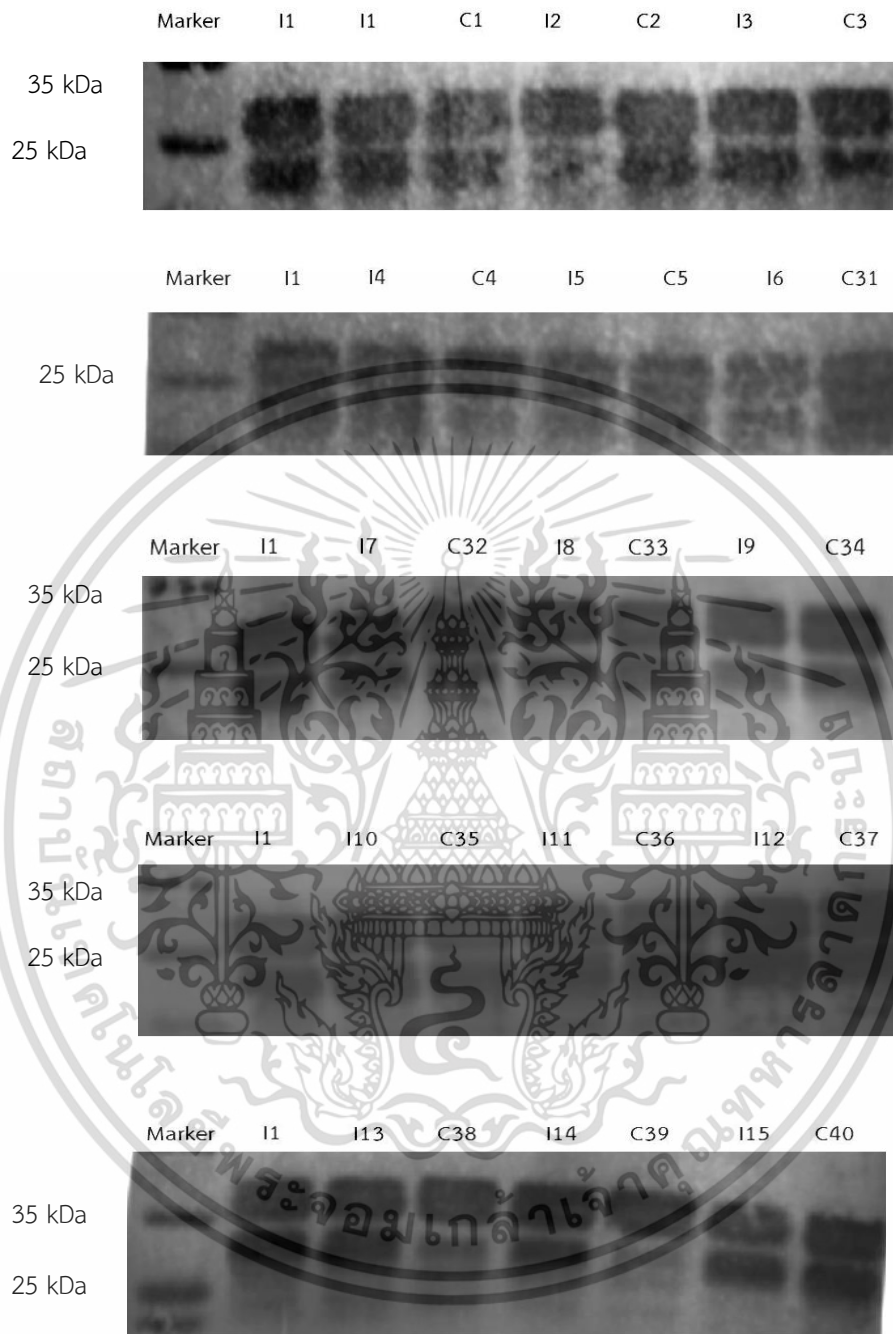
Ammonium persulphate	0.01	กรัม
Distilled water	10	มิลลิลิตร

- Western blot buffer

Glycine	60	กรัม
Tris	6	กรัม
Isopropanol	100	มิลลิลิตร
Distilled water		

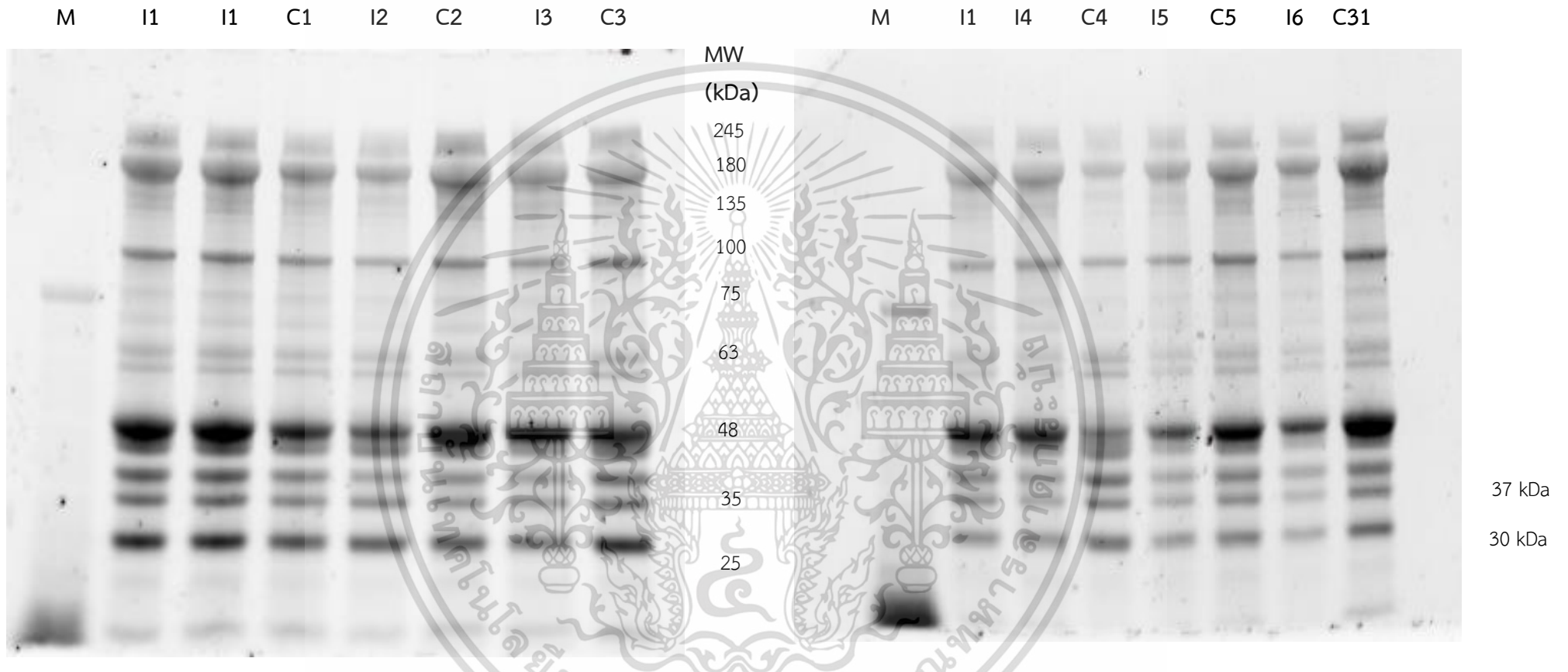
ละลาย Glycine และ Tris ใน Isopropanol แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 2 ลิตร

ภาคผนวก ข



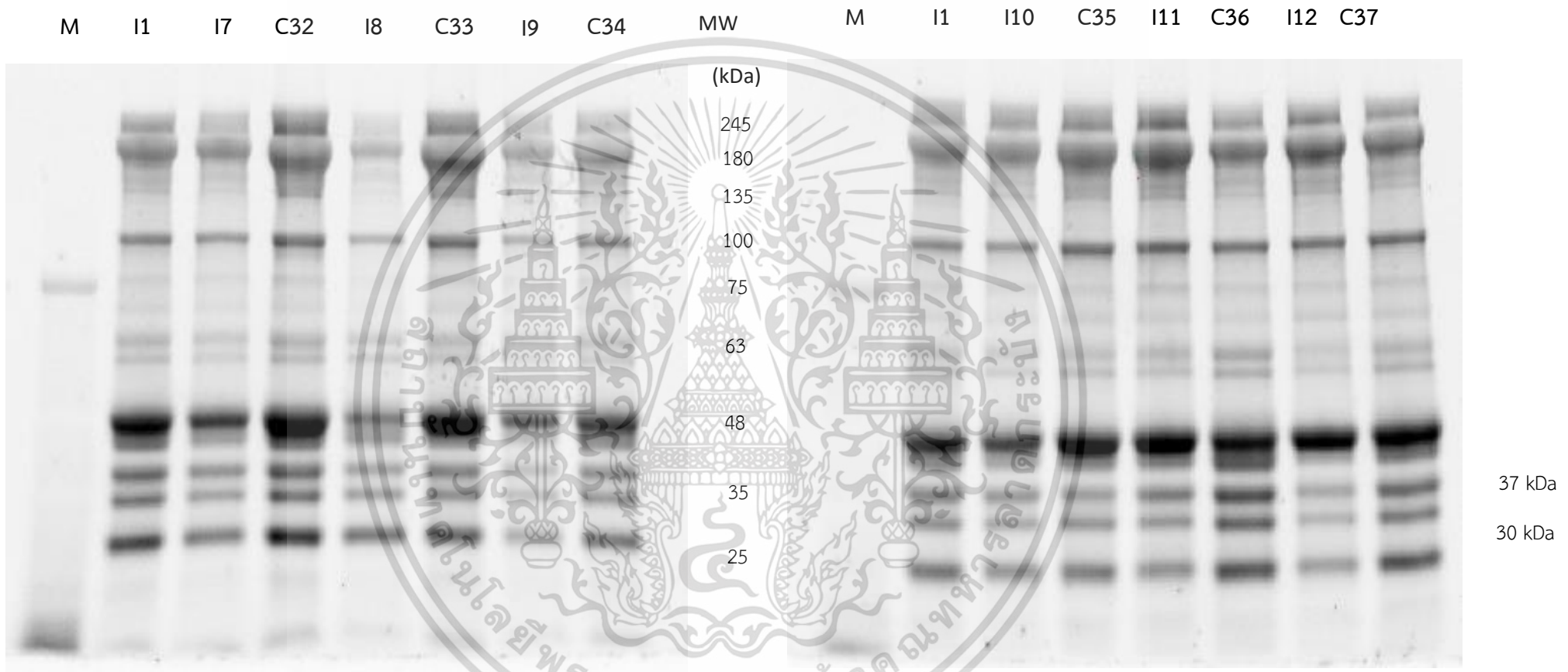
ภาพภาคผนวกที่ 1 แสดงผลการศึกษาการสลายตัวของโพรตีนโทรโปนิน ที่ ของสุกรที่ตอนด้วยหลัก ภูมิคุ้มกันวิทยา และสุกรที่ตอนแบบผ่าอ้นทะออก ในกล้ำมเนื้อสันนอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



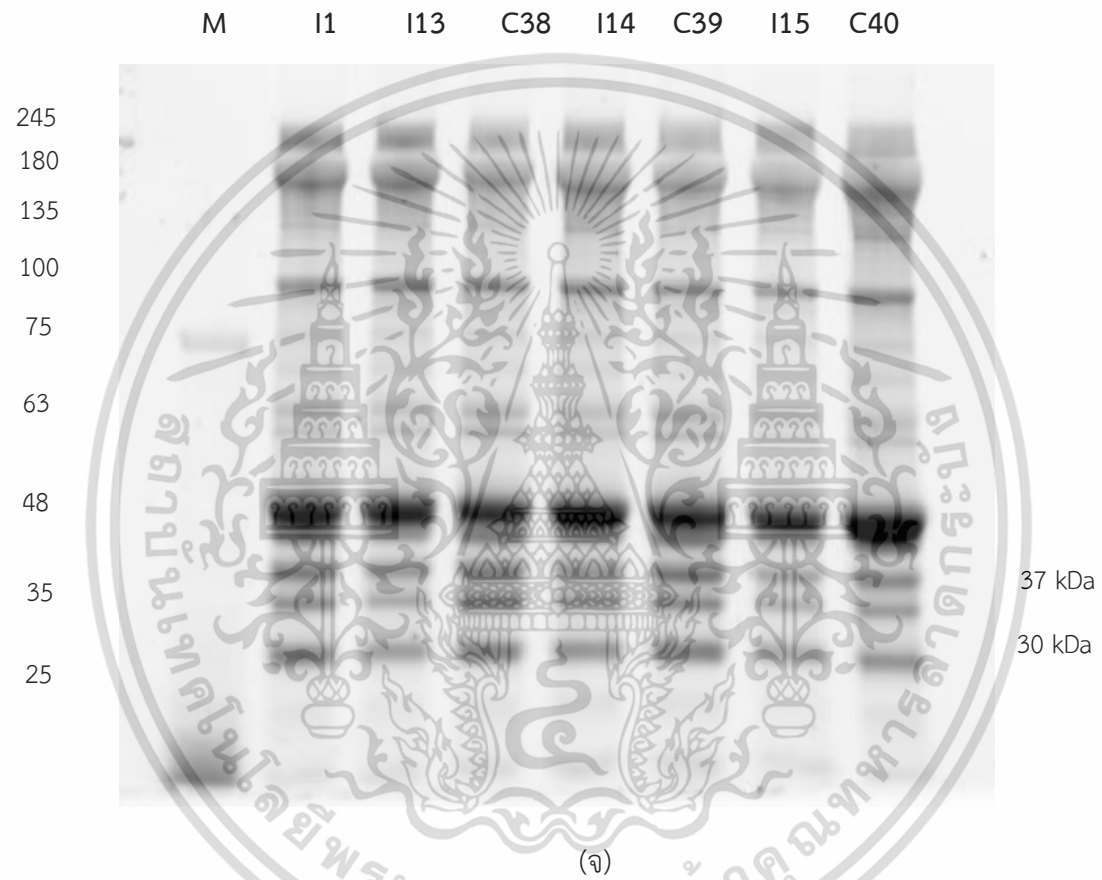
(ก)

(ข)



(ค)

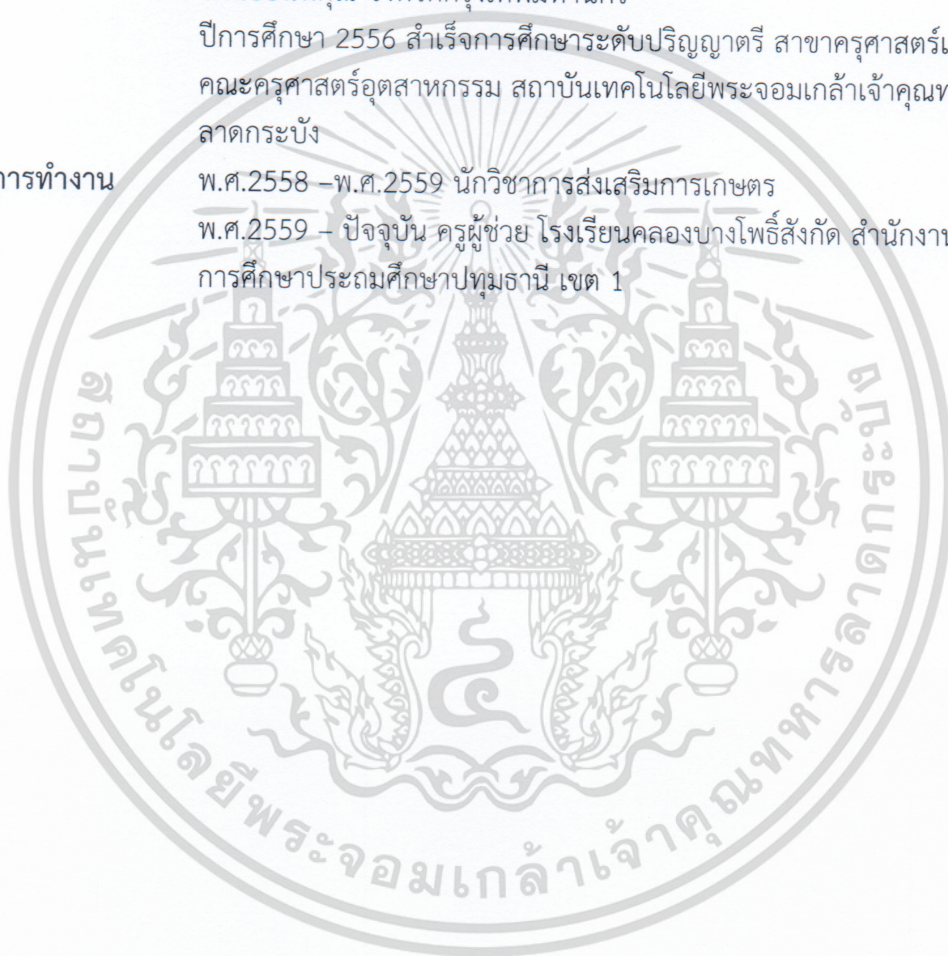
(ง)



ภาพภาคผนวกที่ 2 (ก) (ข) (ค) (ง) (จ) แสดงผลการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่ระยะการบ่ม 5 วัน ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ฐิติพร สง่าเพชร
วันเดือนปีเกิด	30 ธันวาคม 2533
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ที่อยู่ปัจจุบัน	245/26 บ้านพักรถไฟบางซื่อ แขวงบางซื่อ เขตบางซื่อ กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2551 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียน วัดน้อยนพคุณ จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปีการศึกษา 2556 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
ประวัติการทำงาน	พ.ศ.2558 –พ.ศ.2559 นักวิชาการส่งเสริมการเกษตร พ.ศ.2559 – ปัจจุบัน ครูผู้ช่วย โรงเรียนคลองบางโพธิ์สังกัด สำนักงานเขตพื้นที่ การศึกษาประถมศึกษาปทุมธานี เขต 1



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้