# ปัญหาพิเศษ

# เรื่อง

ผลการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อลักษณะทางคุณภาพ
ของเนื้อโคโตเต็มวัย

**Effect of Calcium Choride Injection on Mature Beef Quality Traits**

โดย

นายอาทิตย์ เชื้อทอง

ปีการศึกษา 2545

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์
ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

# ผลการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อลักษณะทางคุณภาพของเนื้อโคโตเต็มวัย

# Effect of Calcium Choride Injection on Mature Beef Quality Traits

โดย

นายอาทิตย์ เชื้อทอง

สห.
0621ง
2545

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 49773
วัน, เดือน, ปี 30 ธ.ค. 2547

b.....
i.....

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์
ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

b 11311878

# บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

## ปีการศึกษา 2545


**ชื่อเรื่องภาษาไทย** ผลการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อลักษณะทางคุณภาพของเนื้อโคโตเต็มวัย

**ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ** Effect of Calcium Chloride Injection on Mature Beef Quality Traits

**ชื่อนักศึกษา** นายอาทิตย์ เชื้อทอง

**สาขาวิชา** เทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์ **ภาควิชา** ครุศาสตร์เกษตร

**ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา** อาจารย์จันทร์พร เจ้าทรัพย์


## บทคัดย่อ


งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของเนื้อโคโตเต็มวัย โดยทำการทดลองเปรียบเทียบการใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อสันนอกโค จำนวน 17 ตัว อายุเฉลี่ยประมาณ 10 ปี หลังจากการฆ่าแล้วทำการตัดแต่งเอากล้ามเนื้อสันนอกภายหลังจากสัตว์ตาย ประมาณ ชั่วโมงที่ 6 มาทำการตัดแบ่งออกเป็น 2 ชิ้น กำหนดให้ชิ้นที่ 1 เป็นกลุ่มทดลองที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ 5% ของน้ำหนักเนื้อ ( 5% wt/wt ) ส่วนชิ้นที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุมโดยไม่ต้องฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จากนั้นทำการวัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (Water Holding Capacity) ในชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 24 หาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (Drip loss) หาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก (Cooking loss) และวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ( Shear Force)

ผลการทดลองพบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มทดลองทั้งกลุ่มที่ฉีดและกลุ่มควบคุมที่ไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยค่าแรงตัดผ่านเนื้อเท่ากับ 10.529 และ 10.728 กก. ตามลำดับ

ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อของกลุ่มทดลองทั้งกลุ่มที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 0.518 และ 0.458 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ ณ ชั่วโมงที่ 24 พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 0.456 และ 0.412 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของเนื้อที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 24 พบว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 39.966 และ 40.643 เปอร์เซ็นต์ ณ ชั่วโมงที่ 6 และมีค่าเท่ากับ 38.145 และ 37.781 เปอร์เซ็นต์ ณ ชั่วโมงที่ 24 ตามลำดับ

เปอร์เซ็นต์ การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกของเนื้อที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 24 พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน มีค่าเท่ากับ 41.844 และ 41.680 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

# กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี โดยความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์ จันทร์พร เจ้าทรัพย์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและให้ความช่วยเหลือในทุกด้านในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้เป็นอย่างดี และขอขอบคุณอาจารย์ภัทราภรณ์ จางวนิชเลิศ ที่ให้คำแนะนำเพิ่มเติมเกี่ยวกับวิธีการทดลอง และเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการในการทดลองวิจัย รวมทั้งอาจารย์และเพื่อนๆ นักศึกษาภาควิชาครุศาสตร์เกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจ ตลอดจนขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนทำให้การทดลองวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ท้ายนี้ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ชาย ที่ให้กำลังใจและอุปการะในการศึกษาด้วยดีตลอดมา

อาทิตย์ เชื้อทอง

ตุลาคม 2545

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ.....ก

กิตติกรรมประกาศ..... ค

สารบัญ..... ง

สารบัญตาราง..... จ

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์.....2

1.3 ขอบเขตของปัญหา.....2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 กลไกการทำงานของกล้ามเนื้อและสรีรวิทยาของกล้ามเนื้อ.....3

2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์.....9

2.3 กรรมวิธีในการตรวจสอบความนุ่มของเนื้อโค.....16

2.4 การปรับปรุงความนุ่มของเนื้อสัตว์.....17

บทที่ 3 อุปกรณ์ และ วิธีการ.....26

3.1 อุปกรณ์.....26

3.2 วิธีการ.....27

3.3 การบันทึกผล.....28

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล.....28

บทที่ 4 วิจารณ์ผลการทดลอง.....29

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 34

5.1 สรุป.....34

5.2 ข้อเสนอแนะ.....34

บรรณานุกรม.....36

# สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงชนิดของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อการย่อยโปรตีนและช่วง pH ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์.....14
2. แสดงอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก.....31

# บทที่1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญของปัญหา

โดยทั่วไปเนื้อโคจะถูกกำหนดมาตรฐานทางคุณภาพหลายๆด้าน นอกเหนือจากความสะอาดและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ยังพบว่าปัจจัยทางด้านความนุ่มจะเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ผู้บริโภคให้ความสำคัญ ทางหน่วยงานต่างๆทั้งส่วนราชการและเอกชนได้มีความพยายามในการยกระดับมาตรฐานความนุ่มของเนื้อโคเพื่อให้เกิดการยอมรับของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งต้องอาศัยความรู้ทางวิชาการและระยะเวลาในการปรับปรุงทางด้านสายพันธุ์ การจัดการด้านอาหารสัตว์ การจัดการด้านโรงฆ่าและกรรมวิธีในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

การปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโคด้วยการลดอุณหภูมิซาก โดยทำการเก็บในห้องเย็นเป็นวิธีที่ปฏิบัติกันมานานซึ่งหากลดอุณหภูมิไม่ได้ระดับที่ต้องการจะทำให้เนื้อโคเน่าเสียและเกิดความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้ และต่อมาได้ทำการปรับปรุงเพิ่มเติมโดยใช้กระแสไฟฟ้าในการกระตุ้นซากเพื่อเร่งในการใช้พลังงานในกล้ามเนื้อ ซึ่งไม่สอดคล้องต่อสภาวการณ์ในปัจจุบันซึ่งได้มีการรณรงค์ให้มีการประหยัดพลังงานกันอย่างแพร่หลาย รวมทั้งอาจเกิดความเสียหายต่อเนื้อโคได้

ดังนั้น การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์จึงเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งในการปรับความนุ่มของเนื้อโครวมทั้งขจัดปัญหาอันเนื่องมาจากการสูญเสียพลังงานไฟฟ้าในการกระตุ้นซากเพื่อเร่งในการใช้พลังงานในกล้ามเนื้อและการประหยัดพื้นที่บ่มซากในห้องเย็นในการลดอุณหภูมิซาก เพราะกรรมวิธีนี้ไม่จำเป็นต้องบ่มซากโคในอุณหภูมิต่ำและระยะเวลานาน อีกทั้งสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยมีการยอมรับจากนานาประเทศเช่น ในสหรัฐอเมริกาโดยองค์การอาหารและยา (FDA) มีการอนุญาตให้ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อโค โดยให้ใช้ในระดับความเข้มข้น 800 mM ที่ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อโค ดังนั้นการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จึงเป็นทางเลือกทางหนึ่งในการเพิ่มความนุ่มของเนื้อโคโดยไม่มีผลกระทบต่อผู้บริโภค อีกทั้งยังมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคอีกด้วย

จากคุณสมบัติเฉพาะตัวของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่กล่าวมาข้างต้นจึงได้ทำการศึกษาถึงการใช้สารละลายดังกล่าวในกล้ามเนื้อสันนอกของโคอายุมาก ซึ่งกล้ามเนื้อดังกล่าวจะมีความเหนียวมาก ทำให้ไม่เป็นที่นิยมบริโภค ดังนั้นความนุ่มของกล้ามเนื้อดังกล่าวจึงเป็นคุณลักษณะที่จะต้องปรับปรุงต่อไป

**1.2 วัตถุประสงค์**

1. ศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss)

2. ศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (WHC)

3. ศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก (% cooking loss)

4. ศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Shear force)

**1.3 ขอบเขตของปัญหา**

ศึกษาการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของกล้ามเนื้อสันนอกโคโดยเปรียบเทียบระหว่างกล้ามเนื้อสันนอกโคที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์กับกล้ามเนื้อสันนอกโคที่ไม่ได้ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จากจำนวนโค 17 ตัว

**1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. ได้รู้ผลว่าการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์นั้นจะมีผลหรือไม่ต่อความนุ่มของเนื้อโคโตเต็มวัย

2. ได้แนวทางการปรับความนุ่มของเนื้อโคโดยใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์

3. ได้ทราบปัญหาและอุปสรรคในการยกระดับมาตรฐานความนุ่มของเนื้อโคเพื่อให้เกิดการยอมรับของผู้บริโภค

# บทที่ 2

## เอกสารที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 กลไกการทำงานของกล้ามเนื้อและสรีรวิทยาของกล้ามเนื้อ

2.1.1 คุณสมบัติทางชีวเคมีของการหดตัวของกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อลายประกอบด้วยโปรตีนหลัก เช่น ไมโอซิน 54 เปอร์เซ็นต์ และ แอคติน 20-25 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนย่อยในส่วนที่เหลือเช่น ไททิน เนบูลินและเดสมินรวมกันอีกประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ ของมวลสารทั้งหมด

2.2.1.1 ไมโอซิน

ไมโอซินหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เส้นใยกล้ามเนื้อฝอยแบบหนา (thick filament) มีลักษณะเป็นเส้นยาวประมาณ 1.5 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 12-15 นาโนเมตรโดยประมาณ มีหัวกลมที่หักยื่นออกมาทางด้านข้างพบอยู่ตรงกลางของซาร์โคเมียร์ โดยเป็นส่วนประกอบของแถบมืด และ H-zone คุณสมบัติทางเคมีของไมโอซินขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของประจุไฟฟ้าในสารละลาย โดยสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนอื่นๆ เช่น ATP รวมทั้งสารละลายทางชีวเคมีที่มีประจุบวกเป็นสอง (divalent cation) โดยที่ไมโอซินนั้นจะทำหน้าที่คล้ายเป็นเอนไซม์ ATPase และไปรวมกับแอคตินให้กลายเป็นแอคโตไมโอซิน (actomyosin)

2.2.1.2 แอคติน

แอคตินหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เส้นใยกล้ามเนื้อฝอยแบบบาง (thin filament) มีความยาวประมาณ 1.0 ไมครอน และเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 นาโนเมตร โดยประมาณ ลักษณะเป็นเส้นยาวบางครั้งแรก F-actin ที่แท้จริงโปรตีนชนิดนี้จะประกอบด้วยเส้นโปรตีน 2 เส้น พันเป็นเกลียว (double helix) โดยแต่ละเส้นประกอบด้วยโปรตีนทรงกลม (globular actin) หรือ G-actin ที่ต่อเข้ากับ F-actin โดยมีบริเวณเฉพาะที่จะไปจับกับไมโอซินและมีร่องสำหรับโปรตีนโทรโปนินและโทรโปไมโอซินไปยึดเกาะส่วนใหญ่เส้นใยแอคติน เป็นองค์ประกอบอยู่ในส่วนแถบสว่างและจะพบในส่วนแถบมืดเมื่อเซลล์กล้ามเนื้อหดตัว

2.2.1.3 โทรโปไมโอซินและโทรโปนิน

โทรโปไมโอซิน เป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นเส้นยาวประมาณ 40 นาโนเมตร ประกอบด้วย 2 พันธะโปรตีน (polypeptide chains) และโทรโปไมโอซิน พันรอบ F-actin ส่วนโทรโปนินเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยหน่วยย่อย (subunit) คือ

1. โทรโปนิน-ที (TnT) เป็นส่วนที่ติดแน่นกับโทรโปไมโอซิน
2. โทรโปนิน-ซี (TnC) เป็นส่วนที่จับกับแคลเซียมอิออน
3. โทรโปนิน-ไอ (TnI) เป็นส่วนที่ยับยั้งไม่ให้แอคตินเกาะกับไมโอซิน

โปรตีนเหล่านี้จะพบในกล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อหัวใจของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังซึ่งเชื่อกันว่าโทรโปไมโอซิน เป็นส่วนหนึ่งของเส้นใยแอคตินและเกี่ยวข้องกับการเกิดแอคโตไมโอซิน มักพบร่วมกับโปรตีนที่เรียกว่าโทรโปนิน โดยมีหน้าที่ควบคุมการจับและปล่อยตัวของแคลเซียมในการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อ จากการรวมตัวกันระหว่างไมโอซินกับแอคตินกลายเป็นแอคโตไมโอซิน ซึ่งเป็นสารเชิงซ้อน โดยมีแคลเซียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และพบว่าเมื่อ แมกนีเซียมเพิ่มขึ้นจะทำให้แอคโตไมโอซินสลายตัวกลับเป็นแอคตินและไมโอซินอีกครั้งซึ่งจะทำให้กล้ามเนื้อคลายตัว

ร่างกายมีกลไกที่สามารถเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของแคลเซียมในซาร์โคพลาสซึมได้อย่างรวดเร็ว ปกติแคลเซียมถูกเก็บอยู่ในแอ่งที่เก็บของเหลวส่วนปลายของซาร์โคพลาสมิคเรติคูลัม เมื่อถูกเร้าโดยคลื่นประสาทจะเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อผนังส่วนปลาย ทำให้แคลเซียมซึมผ่านมาสู่ซาร์โคพลาสซึมได้ เป็นผลให้แอคตินและไมโอซินมารวมตัวกันเกิดเป็นแอคโตไมโอซิน ครั้นเมื่อสิ่งเร้าคลื่นประสาทหมดไป ผนังแอ่งที่เก็บของเหลวส่วนปลายจะกลับสู่สภาพปกติตามเดิม คือไม่ยอมให้แคลเซียมผ่าน ขณะเดียวกันประจุแคลเซียมที่ตกค้างอยู่ในซาร์โคพลาสซึม ก็ถูกเก็บกลับเข้าไปในซาร์โคพลาสมิคเรติคูลัม โดยการเคลื่อนที่แบบกัมมันต์ (active transport) ความเข้มข้นของประจุแคลเซียมในซาร์โคพลาสซึม จึงลดลงถึงระดับที่ทำให้แอคโตไมโอซินสลายตัวกล้ามเนื้อจึงเกิดการคลายตัวขึ้นอีกครั้ง (โสภา, 2538)

บทบาทของ ATP ที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อกลไกการยืดและหดตัวนั้นเนื่องจาก ATP เกี่ยวข้องทั้งในปฏิกิริยาที่มีการรวมตัวและแตกตัวของแอคโตไมโอซิน รวมทั้งการรวมตัวของโกลบูลาร์แอคติน ถ้าไม่มี ATP ในกล้ามเนื้อเลยก็จะเกิดการเกร็งตัว (rigor) เช่น การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย (rigor mortis) การยืดกล้ามเนื้อลายขณะคลายตัวจะทำได้ง่ายเพราะแอคตินและไมโอซิน จะไม่มีการเกาะกัน ทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อทั้งสองชนิดสามารถเลื่อนไถลออกจากกันได้ง่าย แต่หากจะยืดกล้ามเนื้อลายขณะหดตัว หรือภายหลังการเร้าคลื่นประสาทให้กล้ามเนื้อหดตัว จะทำได้ลำบากขึ้นเพราะ

แอคตินและไมโอซิน มีการเกาะกันโดยมี ATP เป็นสื่อกลาง และหากว่ายังต้องการที่จะยืดกล้ามเนื้อลายนี้ให้ได้ จะต้องใช้แรงจำนวนมากเพื่อไปแยกการเชื่อมกันระหว่างแอคตินและไมโอซิน ซึ่งอาจทำให้ซาร์โคเมียร์ฉีกขาดได้ (โสภา, 2538)

2.1.1.4 ไททิน หรือ คอนเนคติน (connectin)

ไททินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30 กิโลดาลตันและเป็นโปรตีนที่มีความยืดหยุ่น (elastic protein) บางครั้งอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าคอนเนคติน ซึ่งไททินหรือคอนเนคตินนี้จะยึดติดอยู่กับแอคติน ในส่วนจุดกึ่งกลางซาร์โคเมียร์ (Z-disk) ไททินจะมีความยาวประมาณ 1.25 ไมครอนและมีหน้าที่ในการยืดและหดตัวของกล้ามเนื้อ รวมทั้งเป็นศูนย์กลางให้เส้นใยไมโอซินยึดติดได้โดยมีลักษณะคล้ายสปริงทั้ง 2 ข้าง เนื่องจากคอนเนคตินมีคุณสมบัติในการมีความยืดหยุ่นสูง ไททินจะสลายตัวไปภายหลังสัตว์ตาย โดยความเร็วในการสลายตัวของไททินจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อโคในห้องเย็น

2.1.1.5 เนบูลิน (nebulin)

เนบูลินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีเส้นใยฝอยขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุล 800 กิโลดาลตัน จะแผ่กระจายบริเวณจุดกึ่งกลางซาร์โคเมียร์ (Z-disk) รวมทั้งจุดสุดท้าย ซึ่งจะเกาะติดกันกับแอคติน ปกติพบว่าเนบูลินจะสลายตัวภายหลังจากการบ่มซาก โดยพบกับสัตว์ทุกชนิด ซึ่งเนบูลิน กระจายตัวออกเป็นเส้นใยย่อย (subfilament) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน เช่น 200 180 40 30 และ 23 กิโลดาลตัน (อมรา และคณะ, 2532)

2.1.1.6 เดสมิน (desmin)

เดสมิน เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน โดยอยู่บริเวณรอบจุดกึ่งกลางซาร์โคเมียร์ (Z-disk) และบริเวณจุดที่มีแอคตินและไมโอซินมาเชื่อมต่อกันของเส้นใย โดยเดสมินเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเซลล์ (cytoskeleton protein) รวมทั้งการหดตัวและการสลายตัว เดสมินนี้จะสลายตัวไปภายหลังการบ่มซาก (Koohmaraie และคณะ, 1988a)

2.1.2 กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อ (mechanism of contraction muscle)

การหดตัวของกล้ามเนื้อต้องอาศัยเส้นใยกล้ามเนื้อ แอคตินและไมโอซินเมื่อเกิดการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อทั้งสองชนิดจะเกิดการคาบเกี่ยวกัน มีลักษณะคล้ายตะขอ (cross-bridges) ของเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยแอคตินจะถูกดึงให้เลื่อนผ่านไมโอซิน เข้าไปทางด้านในและจะทำให้ซาร์โคเมียร์หดตัวสั้นจนเกิดเป็นแรงดึง (tension) ขึ้น ปุ่มหรือตะขอที่ยื่นออกมาจากด้านข้างของไมโอซิน ทำให้เกิดการคาบเกี่ยวกันของตะขอ จะทำงานเป็นจังหวะๆ คือมีการเกี่ยว สลับกันกับการปล่อยจากตะขอรับ (hook)

บนแอคตินตลอดเวลาที่ถูกเร้า บริเวณที่มีการคาบเกี่ยวกันจะเรียกว่า binding site แรงที่เกิดจากการคาบเกี่ยวกันนี้เองทำให้แอคตินถูกดึงให้เลื่อนเข้าสู่กึ่งกลางของแถบมืด เมื่อการหดตัวเต็มที่ Z-line จะเข้าไปแตะกับปลายของไมโอซินทั้งสองข้าง ทำให้ความยาวของแถบมืดมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาของช่วงการหดตัว แต่แถบสว่างจะค่อยๆหายไป และจะไม่พบเมื่อมีการหดตัวเต็มที่ (อมรา และคณะ, 2532)

2.1.2.1 แหล่งพลังงานสำหรับหดตัว

กล้ามเนื้อมีเอนไซม์ครีเอทีนไคเนส (creatine kinase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยารีฟอสโฟรีเลชั่น (rephosphorelation) ของ ADP ในภาวะวิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชั่น (oxidative phosphorelation pathway) ดำเนินไปอย่างปกติ กล้ามเนื้อจะใช้ ATP เป็นแหล่งพลังงานในการหดและคลายตัว แต่ถ้าหากวิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชั่นเกิดขัดข้องกล้ามเนื้อจะดึงพลังงานออกมาจากครีเอทีนฟอสเฟต (creatine phosphate) หรือ CP ครีเอทีนฟอสเฟตจะทำงานโดยเป็นที่สะสมหมู่ฟอสเฟตที่มีพลังงานสูงไว้สำรองใช้ แต่ในขณะที่ปริมาณออกซิเจนที่ได้รับไม่เพียงพอกับความต้องการของกล้ามเนื้อขณะทำงานหนัก (oxygen debt) เมื่อถึงระยะพัก ออกซิเจนที่มาเลี้ยงกล้ามเนื้อจะมีพอที่จะให้วิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชั่นดำเนินไปอย่างปกติใหม่อีกครั้ง จะทำให้ ATP ถูกสังเคราะห์และมีการเก็บสะสมไว้สำหรับการหดตัวและคลายตัวในครั้งต่อๆไปและในขณะเดียวกัน ATP ส่วนหนึ่ง จะถูกนำไปเปลี่ยนแปลงให้เกิดการเปลี่ยนกลับ (rephosphorelate creatine) ให้กลายเป็นครีเอทินฟอสเฟตสะสมไว้เช่นกัน

นอกจากกล้ามเนื้อใช้ ATP และครีเอทินฟอสเฟตแล้วยังสามารถใช้ระบบไกลโคไลซีสสำหรับให้พลังงานในภาวะที่ขาดออกซิเจนจะได้ผลผลิตสุดท้ายนอกจากจะได้ ATP ในปริมาณน้อยแล้วยังจะได้กรดแลคติก อันเนื่องจากการแตกตัวของกูลโคสให้กลายเป็นกรดไพรูวิค โดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน ซึ่งจะผ่านเข้าระบบไหลเวียนโลหิตไปยังตับและตับจะทำการเปลี่ยนกรดแลคติกให้เป็นไกลโคเจนได้อีกครั้ง

2.1.2.2 การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย

ภายหลังจากที่สัตว์ถูกฆ่าตายแล้ว กล้ามเนื้อของสัตว์ซึ่งมิได้หยุดดำเนินกิจกรรมในการคงสภาพของกล้ามเนื้อและเปลี่ยนเป็นเนื้อสัตว์ในทันทีทันใด แต่ตรงกันข้าม การเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมีและกายภาพหลายๆ อย่างได้เกิดขึ้น และดำเนินอยู่ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง จนกระทั่งเมื่อกล้ามเนื้ออยู่ในสภาพที่เกิดการเกร็งตัวอย่างถาวรหรือที่เรียกว่า เกร็ง (rigor mortis)

ปฏิกิริยาและการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นนี้ เป็นผลมาจากความพยายามที่จะคงสภาพของกล้ามเนื้อไว้ของสัตว์ เมื่อเกิดการเกร็งตัวภายหลังสัตว์ตายโดยสมบูรณ์แล้ว ถือได้ว่ากล้ามเนื้อนั้นได้กลายเป็นเนื้อสัตว์

2.1.3.3 ปฏิกิริยาและการเปลี่ยนแปลงต่างที่เกิดขึ้นภายหลังสัตว์ตาย

การเกิดขบวนการไกลโคไลซีสในกล้ามเนื้อภายหลังจากสัตว์ตาย (post-mortem glycolysis) การพยายามคงสภาพของกล้ามเนื้อ จะดำเนินขึ้นทันทีหลังจากขจัดเอาเลือดออก เพื่อที่จะพยายามดำรงสภาพต่างๆ เช่นเดียวกับในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ ให้เหมือนเดิมซึ่งต้องอาศัยพลังงานอย่างมาก พลังงานเหล่านี้จะได้จากการย่อยสารประกอบ ATP โดยเอนไซม์ ATPase ที่อยู่ในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ดังสมการที่ 1

$$ATP \xrightleftharpoons[ATPase]{} ADP + Pi + energy$$

(สมการที่1)

เมื่อสัตว์ตายแล้วขบวนการสร้าง ATP ในสภาพปกติได้หยุดชะงักไป ดังนั้นปริมาณ ATP ที่สะสมไว้เมื่อถูกใช้ไปจึงหมดลงอย่างรวดเร็ว จึงต้องหาพลังงานจากขบวนการอื่นๆ มาทดแทนพลังงานแรกที่จะถูกใช้เป็นแหล่งแรก คือการแลกเปลี่ยนกลุ่มฟอสเฟตระหว่าง ครีเอทินฟอสเฟต ADP ดังสมการที่ 2

$$\text{creatine phosphate} + ADP \xrightleftharpoons[\text{creatine kinase}]{} ATP + \text{creatine}$$

(สมการที่ 2)

ขบวนการนี้เกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นๆ เพราะครีเอทีนฟอสเฟตที่มีปริมาณจำกัดจะถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็ว แต่ไกลโคเจนซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรทที่ถูกสะสมไว้ในกล้ามเนื้อจะถูกนำมาย่อยสลายโดยขบวนการที่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้องหลายขั้นตอน เพื่อให้เกิดพลังงานขึ้นในรูปแบบของ ATP ออกมาเพื่อทดแทนส่วนที่ถูกใช้ ขบวนการนี้เรียกว่าขบวนการไกลโคไลซีส หากยังมีออกซิเจนในกล้ามเนื้อเพียงพอ ขบวนการนี้ก็จะเกิดขึ้น ดังสมการที่ 3

$$O_2 + \text{glycogen} \xrightarrow[\text{glycolisis}]{\text{aerobic}} CO_2 + H_2O + 37\ ATP$$

(สมการที่ 3)

แต่เนื่องจากมีการขจัดเลือดออกจากกระบวนการฆ่าสัตว์ ดังนั้น ปริมาณของออกซิเจนที่เข้าไปหล่อเลี้ยงกล้ามเนื้อ โดยมีเลือดเป็นตัวกลางในการขนส่งจะลดปริมาณลงอย่างรวดเร็วขบวนการไกลโคไลซีส ซึ่งมีออกซิเจนเข้ามาเกี่ยวข้องนี้จึงเกิดขึ้นไม่ได้อีกต่อไป จึงเป็นผลให้เกิดขบวนการไกลโคไลซีส ซึ่งไม่มีออกซิเจนมาเกี่ยวข้องเกิดขึ้นมาแทนที่ในทันที เพื่อการสร้าง ATP ดังสมการที่ 4

$$\text{glycogen} \xrightarrow[\text{glycolisis}]{\text{aerobic}} 3\ \text{ATP} + \text{lactic acid}$$

(สมการที่ 4)

ขบวนการสุดท้ายนี้เองที่เรียกว่า ขบวนการไกลโคไลซีสภายหลังสัตว์ตาย (post-mortem glycolysis) จากสมการดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการสลายไกลโคเจนมากขึ้นก็จะได้พลังงาน คือ ATP และกรดแลคติก การสะสมของกรดแลคติกโดยขบวนการนี้ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือค่า pH ของกล้ามเนื้อค่อยๆ ลดลงจาก pH ประมาณ 7 ในสภาพปกติก่อนถูกฆ่าเป็น pH ประมาณ 5.6-5.7 ภายใน 6-8 ชั่วโมง ภายหลังถูกฆ่าตายและเป็น 5.3-5.7 ภายใน 24 ชั่วโมง ภายหลังถูกฆ่าตาย เราเรียกค่าความเป็นกรด-ด่างนี้ว่าเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อ (ultimate pH) ค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายนี้จะมีค่าเท่าใดขึ้นอยู่กับปริมาณไกลโคเจนที่สัตว์สะสมไว้ ถ้าปริมาณของไกลโคเจนมีน้อยเนื้อสัตว์ที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงเนื่องจากมีการผลิตกรดแลคติกออกมาน้อย เนื่องจากเอนไซม์ต่างๆ ที่ใช้ในขบวนการไกลโคไลซีสจะไม่ทำงานเมื่อ pH ต่ำกว่า 5.4 ดังนั้น การสะสมของกรดแลคติกจึงหยุดเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.3-5.7 อัตราความเร็วในการลดลงของความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายจะเป็นค่าใด มีหลายปัจจัย เช่น ชนิดของสัตว์และประเภทของมัดกล้ามเนื้อ (Lansdell และคณะ, 1995) นอกจากนี้อาจมีปัจจัยอื่นเช่นการได้รับยาหรือสารเคมีใดๆ ก่อนที่สัตว์จะถูกฆ่า เช่นถ้าสัตว์ได้รับยาระบายประเภทแมกนีเซียมซัลเฟตก่อนถูกฆ่า ขบวนการไกลโคไลซีสภายหลังสัตว์ตายจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ แต่ถ้าได้รับสารประกอบของเกลือแคลเซียมหรือได้รับแอดรีนาลีน (adrenalin) จะทำให้ขบวนการไกลโคไลซีสภายหลังสัตว์ตายเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นต้น รวมทั้งอุณหภูมิหรือสภาพแวดล้อมต่างๆ ก็จะมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้าย โดยอุณหภูมิที่สูงจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขบวนการไกลโคไลซีส ระยะเวลาของขบวนการไกลโคไลซีสจะมีผลต่อเวลาในการบ่มซากรวมทั้งอิทธิพลต่อขบวนการสลายตัวเองโดยเอนไซม์ต่างๆ ดังนั้นในการปรับปรุงความนุ่มควรมีการคำนึงถึงขบวนการไกลโคไลซีสภายหลังสัตว์ตาย

2.1.3 การเกิดภาวะการเกร็งตัว

ภาวะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ มีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณ ATP ในกล้ามเนื้อในขณะที่สัตว์ถูกฆ่าตายในระยะแรก เส้นใยแอคตินและเส้นใยไมโอซินที่อยู่ในซาร์โคเมียร์ของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดต่างๆ จะถูกดันไม่ให้เข้ามาจับกันได้ เพราะปริมาณ ATP ที่อยู่ในไซโตพลาสซึมยังคงมีปริมาณสูง

เมื่อสัตว์ตายปริมาณของ ATP จะค่อยๆ ลดลง และเมื่อปริมาณของ ATP ลดลงจนถึงระดับหนึ่ง เส้นใยแอคตินและเส้นใยไมโอซิน ก็จะเข้ามาจับกันอย่างถาวร เพราะปริมาณของ ATP ที่มีอยู่ไม่เพียงพอที่จะแยกเส้นใยทั้งสองออกจากกันได้ จึงเกิดเป็นสารประกอบแอคโตไมโอซินที่ไม่สามารถจะดึงให้ยืดตัวออกมาได้ ปรากฏการณ์นี้จะเป็นจุดเริ่มต้นของขบวนการที่เรียกว่าการเกิดภาวะการเกร็งตัว ดังนั้นเนื้อของสัตว์ที่ได้ในช่วงนี้ถ้านำไปบริโภคจะรู้สึกว่าเหนียวมาก การเกิดภาวะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วเพียงใดขึ้นอยู่กับอัตราความเร็วของการลดลงของค่า pH ในกล้ามเนื้อและจะเกิดได้รวดเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิยิ่งสูง ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิยิ่งสูงขึ้น การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตายก็จะเกิดเร็วขึ้นด้วย

2.1.4 การเปลี่ยนแปลงหลังเกิดภาวะการเกร็งตัว

เนื้อสัตว์ที่อยู่ในขณะเกิดภาวะการเกร็งตัว จะมีความเหนียวมาก แต่ในเมื่อผ่านภาวะการเกร็งตัวอย่างสมบูรณ์แล้ว เนื้อนั้นจะนุ่มขึ้น เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงในคุณสมบัติของเซลล์ ซึ่งสารประกอบแอคโตไมโอซินจะค่อยๆ แยกออกจากกันบริเวณ Z-line จะเกิดการเสื่อมสลาย (disintegration) ซึ่งเชื่อว่าเป็นสาเหตุหนึ่งซึ่งทำให้กล้ามเนื้อค่อยๆ อ่อนตัวลงนอกจากนี้ในเส้นใยของกล้ามเนื้อขณะมีชีวิต จะมีสารที่ใช้สลายโปรตีนชนิดหนึ่งเก็บไว้ภายในเซลล์ไลโซโซม เรียกว่า เอนไซม์คาเธพซินส์ (cathepsins) เมื่อสัตว์ตายลงและระดับ pH ของเนื้อสัตว์จะลดลงถึง pH 5.3-5.7 เหมาะสมของการทำงานของคาเธพซินส์ เอนไซม์นี้จะรั่วออกมาจากผนังเซลล์ไลโซโซมและจะทำการสลายโปรตีนและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเส้นใยกล้ามเนื้อได้บางส่วนจึงเป็นสาเหตุทำให้เนื้อสัตว์นุ่มขึ้น

**2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์**

2.2.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องก่อนสัตว์ตาย (Ante-mortem factors)

เป็นปัจจัยที่เกิดขึ้นภายในตัวของสัตว์เอง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

2.2.1.1 ชนิดของสัตว์

สัตว์ที่มีขนาดใหญ่เช่น โค-กระบือ จะมีความหยาบของกล้ามเนื้อและความเหนียวของเนื้อมากกว่าสัตว์ที่มีขนาดเล็กเช่น สุกร ไก่

2.2.1.2 พันธุ์ของสัตว์

สายพันธุ์ของโคจะให้เนื้อโคที่มีความนุ่มหรือความเหนียวที่ต่างกัน (Koch, 1982) เนื้อโคที่เหนียวจะมีค่าแรงตัดผ่านสูงกว่าเนื้อโคที่นุ่มและพบว่าเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดีย (*Bos Indicus*) ที่สูงขึ้น จะมีผลทำให้ค่าแรงตัดผ่านสูงขึ้น เช่น โคสายพันธุ์ Brahman Nellore และ Sahiwal มีเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดีย 50 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่า เนื้อจะมีความเหนียวมากกว่าเนื้อโคสายพันธุ์ Jersey Pinzganer South Devon และ Pried Montese ซึ่งจะมีเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดียน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้ จะให้เนื้อที่มีคุณภาพความนุ่มมากกว่าสายพันธุ์อื่น ระดับเลือดของโคสายพันธุ์ *Bos Indicus* มีอิทธิพลอย่างมากต่อการลดลงของความนุ่มและความแตกต่างในด้านความนุ่ม เนื้อโคที่มีระดับเลือด *Bos Indicus* อยู่มากกว่า 25 % จะมีอิทธิพลต่อลักษณะต่างๆ อย่างมาก เช่น ความหยาบของกล้ามเนื้อ ทำให้เนื้อที่ได้มีความนุ่มน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับโคจากสายพันธุ์อื่น (Koch และคณะ, 1982)

2.2.1.3 สารเร่งเนื้อแดง

การใช้สารอาหารกลุ่ม beta-agronist ผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์จะทำให้เนื้อมีความเหนียวขึ้น ทั้งนี้พบว่ามีผลทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อมีพื้นที่หน้าตัดใหญ่ขึ้นกว่าปกติ (Morgan และคณะ, 1989) รวมทั้งเอนไซม์ calpastatin ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ calpain จะทำงานได้ดียิ่งขึ้น

2.2.1.4 อายุ

อายุของสัตว์มีความเกี่ยวข้องต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์แต่เนื่องจากการคำนึงถึงอายุเพียงอย่างเดียวไม่สามารถสรุปได้อย่างแท้จริง เนื่องจากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความนุ่ม แต่อย่างไรก็ดีสัตว์ที่มีอายุน้อยโดยปกติจะมีความนุ่มมากกว่าสัตว์ที่มีอายุมาก (Bailey and Zobrisky, 1996)

2.2.1.5 เพศ

สัตว์เพศผู้ส่วนมากเนื้อจะมีความเหนียวมากกว่าเนื้อของสัตว์เพศเมียและเนื้อของสัตว์เพศผู้ที่ถูกตอนแล้ว โคเพศผู้ตอนจะมีความนุ่มมากกว่าโคเพศผู้ไม่ตอน (Bailey และคณะ, 1966) รวมทั้งอายุของโคในแต่ละช่วงเวลาจะมีผลต่อความนุ่มซึ่งเนื้อโคที่มาจากโคเพศผู้ที่ตอนและไม่ตอนที่อายุ 300-399 วัน จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของค่าแรงตัดผ่าน แต่เมื่ออายุที่ 500-699 วัน จะพบว่าโคเพศผู้ที่ตอนจะมีความนุ่มมากกว่าโคเพศผู้ที่ไม่ตอน ส่วนโคสาวเพศเมียในแต่ละช่วงอายุจะมีค่าแรงตัดผ่านที่ใกล้เคียงกับโคเพศผู้ที่ตอน

2.2.1.6 ชนิดของกล้ามเนื้อ

ชนิดของกล้ามเนื้อของสัตว์ในแต่ละส่วนจะมีความนุ่มที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ถ้ากล้ามเนื้อบริเวณปลายกระดูกเชิงกรานจะมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อบริเวณกลางลำตัว Christensen และคณะ (1991) ได้รายงานเพิ่มเติมว่า กล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* ของโคสายพันธุ์อินเดียจะมีค่าแรงตัดผ่านสูงตามระดับของสายเลือดของโคสายพันธุ์อินเดียที่สูงขึ้น ค่าแรงตัดผ่านเนื้อจากโคสายพันธุ์ *Bos Indicus* ในกล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* จะมีค่าสูงกว่าในกล้ามเนื้อชนิดอื่นๆ ซึ่งหมายความว่าจะมีความนุ่มน้อยกว่าโคชนิดอื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีระดับเลือดของโคสายพันธุ์ *Bos Indicus* ที่สูงขึ้น

2.2.1.7 ปริมาณไขมันที่แทรกอยู่ภายในเส้นใยกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อสัตว์ส่วนที่มีไขมันแทรกอยู่ภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อ จะทำให้เนื้อมีความนุ่มขึ้นเนื่องจากไขมันที่แทรกอยู่ในระหว่างเซลล์นั้น ทำให้แรงยึดระหว่างเซลล์ของกล้ามเนื้อน้อยลงและไขมันเหล่านี้จะทำหน้าที่หล่อลื่น ในขณะที่เคี้ยวเนื้อ ทำให้เกิดความชุ่มฉ่ำภายในปากและรู้สึกว่านุ่มขึ้น ปริมาณไขมันแทรกในเนื้อจากสัตว์ที่มีอายุมากขึ้นอาจจะมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อ แต่ในสัตว์ที่มีอายุน้อยจะมีไขมันแทรกน้อย ประมาณไขมันแทรกก็จะไม่มีความหมายแต่อย่างใดเลย (ชัยณรงค์, 2529)

2.2.1.8 ความเครียดของสัตว์ก่อนถูกฆ่า

การที่สัตว์เครียดก่อนถูกฆ่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายหลังสัตว์ตายและมีผลต่อคุณภาพของเนื้อนอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของไกลโคเจนที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อว่ามีปริมาณมากเพียงใด ถ้ามีหากมีปริมาณมาก การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อจะลดลงต่ำเนื่องจากการผลิตของกรดแลคติกออกมามาก จะพบว่าปัจจัยในการสะสมไกลโคเจน ใน เนื้อสัตว์จะเป็นปัจจัยที่สำคัญของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อ

การลดต่ำลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อเป็นผลเนื่องมาจากความเครียดพบว่าสัตว์ที่มีความเครียดง่ายมักจะขี้ตื่นและมีรูปร่างค่อนข้างอุดมไปด้วยกล้ามเนื้อ เช่น สุกร ซึ่งสัตว์พวกนี้เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่ทำให้เกิดความเครียดต่างๆ จะมีการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกล้ามเนื้อถูกลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 1 ชั่วโมง ภายหลังจากสัตว์ตาย ประกอบกับในขณะที่ซากมีอุณหภูมิสูงอยู่แล้ว เนื่องจากมีเมตาบอลิซึม (metabolism) สูง จึงเป็นเหตุให้โปรตีนของกล้ามเนื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพอย่างรุนแรง ทำให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการละลาย ทั้งนี้โปรตีนจะจับตัวกันและเกิดการตกตะกอน ทำให้สูญเสียความสามารถในการจับน้ำ สูญเสียความเข้มของรงควัตถุ ทำให้เนื้อมีสีซีด และ

มีน้ำไหลซึมออกมานอกกล้ามเนื้อรวมทั้งกล้ามเนื้อจะอ่อนตัวจนเป็นลักษณะเหลวหรือที่เราเรียกว่า PSE (pale soft and exudative) ซึ่งเป็นเนื้อที่ไม่พึงปรารถนาของผู้บริโภค มักจะเกิดขึ้นในสุกร แต่กับกรณีของสัตว์ทนเครียด เช่น โค กระบือ เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะความเครียดต่างๆ ร่างกายสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าสัตว์ที่เครียดง่าย จึงทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อมีค่าสูง โปรตีนของกล้ามเนื้อก็จะสามารถจับน้ำได้มากกว่าปกติ

2.2.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องภายหลังสัตว์ตาย

2.2.2.1 ความเป็นกรด-ด่าง

ขบวนการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตายจะพบว่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อคุณภาพความนุ่มของเนื้อ ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อภายหลังสัตว์ตายคือ ความเป็นกรด-ด่างในกล้ามเนื้อซึ่งจะเป็นผลทำให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความนุ่มของเนื้อภายหลังสัตว์ตายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ouali, 1984 ; Koohmaraie, 1988 ; Dransfield, 1996) โดยค่าปกติความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตายจะมีความผันแปรระหว่าง 5.4-7.2 ตามเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น การที่เนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อสูง จะมีผลเสียต่อคุณภาพเนื้อเช่น มีสีคล้ำ ถูกแบคทีเรียทำลายได้ง่าย รวมทั้งการสูญเสียความน่ากิน

2.2.2.2 อุณหภูมิในการเก็บรักษาเนื้อ

อุณหภูมิในการเก็บรักษาเนื้อเป็นปัจจัยสำคัญต่อความนุ่มของเนื้อโค การเก็บรักษาเนื้อไว้ที่อุณหภูมิต่ำในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิ 0-15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตั้งแต่ 1 สัปดาห์ขึ้นไป จะทำให้ได้เนื้อที่นุ่มขึ้น เนื่องจากโปรตีนบริเวณ Z-line ในซาร์โคเมียร์ถูกย่อยสลายจึงทำให้เนื้อนุ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันอาจทำให้เกิดปัญหา cold shortening ขึ้นได้หากเก็บในอุณหภูมิและระยะเวลาในการลดอุณหภูมิที่ไม่เหมะสม โดยทั่วไปพบว่า อุณหภูมิที่มีแนวโน้มให้เกิดปัญหาดังกล่าว จะอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส อาจทำให้เกิดปรากฏการณ์ rigor shortening ได้ ซึ่งปรากฏการณ์นี้สามารถเริ่มต้นการเกิดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.0-6.3 และมี ATP อยู่ที่ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกันกับในขณะมีชีวิตอยู่ ซึ่งจะตรงข้ามกับปรากฏการณ์ cold shortening ซึ่งจะเริ่มต้นที่ประมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 และมี ATP ใกล้เคียงกันกับขณะมีชีวิต

เนื้อโคเมื่อถูกเก็บไว้ในห้องเย็นภายหลังถูกฆ่า พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างจะลดลงอย่างช้า แต่ถ้าเก็บเนื้อโคภายหลังถูกฆ่าที่อุณหภูมิสูงจะพบว่า membrane-bond lysosomal เอนไซม์จะถูกปล่อยออกมา ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะทำงานได้ดียิ่งขึ้นเพราะเนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงอย่างรวดเร็ว

และอุณหภูมิที่สูงพอเหมาะ (Koohmaraie และคณะ, 1986 ; Dransfield, 1996) กระบวนการเกิดภายหลังการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อที่อุณหภูมิสูงเนื้อจะมีความนุ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของ μ-glucoronidese และ cathepsin ซึ่งเป็นเอนไซม์ประเภท lysosomal ทั้งสองชนิดที่ทำงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น ความนุ่มของเนื้อจะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิในช่วงเวลา 2-4 ชั่วโมงแรกภายหลังสัตว์ตาย การเก็บรักษาเนื้อโค ภายใน 3 ชั่วโมงแรกภายหลังสัตว์ตาย ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เนื้อจะมีความนุ่มมากกว่าที่เก็บในอุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส

2.2.2.3 การทำให้เนื้อสุก

การทำให้เนื้อสุกโดยการให้ความร้อนจะมีผลต่อการลดขนาดของเส้นใยกล้ามเนื้อคล้ายกับการเกิด cold shortening แต่จุดที่ต่างกันคือการให้ความร้อนจะทำให้ขนาดเส้นใยมีความหนาลดลง แต่การเกิด cold shortening จะทำให้ความยาวของเส้นใยลดลง การใช้ความร้อน อาจจะทำให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้นหรือลดลง ซึ่งขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเส้นใยของกล้ามเนื้อ อันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเนื้อสัตว์ (Purchas, 1993) เนื้อสัตว์ที่มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันค่อนข้างมาก เช่นเนื้อสัตว์บริเวณส่วนขาหลัง การทำให้สุกนั้นต้องคำนึงว่าทำอย่างไร จึงจะทำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันนั้นคลายความเหนียวลงให้มาก ควรใช้วิธีให้ความร้อนชื้น (moist heat) เป็นระยะเวลานานพอสมควรเพราะน้ำเป็นสื่อในการนำความร้อนที่ดี เนื่องจากโปรตีนคอลลาเจนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะถูกทำให้เกิดการแปลงสภาพและถูกไฮโดรไลซ์ให้กลายเป็นเจลาติน (gelatin) ซึ่งเป็นสารประกอบตัวใหม่ที่มีลักษณะกึ่งเหลวกึ่งแข็ง ทำให้ความเหนียวลดลง (Bouton, 1982)

สำหรับเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันค่อนข้างน้อย เช่น เนื้อบริเวณสันหลัง การทำให้สุกควรคำนึงเสมอว่าจะต้องให้ความเหนียวของเส้นใยกล้ามเนื้อเกิดขึ้นน้อยที่สุด ดังนั้นการทำให้เนื้อสุกควรใช้ความร้อนไม่สูงมากนัก และใช้ระยะเวลาสั้นๆ จึงเหมาะกับการใช้ความร้อนแห้ง (dry heat) เช่นการย่าง ปิ้ง หรืออบ เพราะอากาศเป็นสื่อในการนำความร้อนที่ไม่ดี ความร้อนจะผ่านทะลุเข้าไปในก้อนเนื้อได้ช้า เพื่อช่วยลดการเปลี่ยนแปลงสภาพโปรตีน ในเส้นใยกล้ามเนื้อให้น้อยลง เนื้อที่ได้จึงนุ่มขึ้น

2.2.2.4 เอนไซม์

ความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อจะอยู่ที่ค่าประมาณ 5.5 ภายในเวลา 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย การสูญเสียพลังงาน ATP ในการที่จะดำเนินขบวนการขนถ่ายอิเล็กตรอน ทำให้ lipoprotein membrane จะถูกเปลี่ยนสภาพไปในระหว่างขบวนการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย รวมทั้งโปรตีนกลุ่มหลักได้แก่ เดสมิน โทรโปนินที และเป็นส่วนน้อยที่เป็นโปรตีนจำพวก

ไททิน โทรโปนินไอ โทรโปนิน ซี จะปรากฏหลักฐานที่ส่วนปลายของ แอคตินที่อยู่ใน Z-disk จะเกิดรอยแตกในระหว่างมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังสัตว์ตาย ลักษณะรอยเหล่านี้เป็นส่วนที่อธิบายได้ว่าภายหลังสัตว์ตาย การถูกทำลายของโมเลกุลแอคตินรวมทั้งบริเวณรอย Z-disk การเลือนหายไปของเดสมินซึ่งอยู่บริเวณรอบๆ Z-disk จะพบว่าแยกตัวออกตามแนวยาวได้ง่ายขึ้นโดยพบได้ง่ายมากขึ้นเมื่อกล้ามเนื้อได้ผ่านขบวนการบ่มซาก อัตราการสูญเสียของโทรโปนิน ที จะไม่มีความสัมพันธ์กันกับการเปลี่ยนแปลงบริเวณ Z-disk แต่จะพบความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง สุดท้ายที่ลดลงอย่างรวดเร็ว (Koohmaraie, 1988) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยโปรตีน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม non-lyzosomal และ lyzosomal รายละเอียดดังตารางที่ 1

**ตารางที่1** แสดงชนิดของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อการย่อยโปรตีนและช่วง pH ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

| เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน | ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ทำให้เอ็นไซม์ทำงาน |
|---|---|
| Non-lyzosomal | |
| Calcium activated neutral proteinases (CANP) | 6.5-8.0 |
| Trypsin-like (serine) proteinase | 6.5-6.8 |
| Neutral (thiol) proteinase | 6.5-6.8 |
| Alkaline serine proteinase Lyzosomal | 7.5-10.5 |
| Lyzosomal | |
| Cathepsin B | 3.0-6.0 |
| Cathepsin D | 2.5-4.5 |
| Cathepsin H | 5.0-7.0 |
| Cathepsin L | 3.0-6.0 |

ที่มา :Koohmaraie (1990 : 659-663)

เอนไซม์ Calcium Activated Neutral Proteinases (CANP) เป็นเอนไซม์ที่ต้องการแคลเซียมเป็นตัวกระตุ้นในการทำงาน แบ่งเป็น 2 รูปแบบ

1. μCANP (μ-calpain) เป็นเอนไซม์ที่ต้องการ $Ca^{2+}$ ปริมาณน้อยหรือประมาณ 1-20 mM ในการทำงานได้ มีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า calpain-I (Dayton และคณะ, 1981)

2. μmCANP (m-calpain) เป็นเอนไซม์ที่ต้องการ $Ca^{2+}$ ปริมาณสูงหรือประมาณ 50-300 mM มีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า calpain-II (Dayton และคณะ, 1981)

เอนไซม์ calpain เป็นกลุ่ม cystein proteinase และถูกยับยั้งโดย leupeptin และกลุ่ม chelator ได้แก่ธาตุสังกะสี หรือพวก EDTA จะทำงานได้ดีที่ค่า pH 7.5 แต่ขณะที่ค่า pH ลดลงถึง 5.5-5.8 ประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ calpain จะเหลือประมาณ 25% ของที่ทำได้ปกติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ calpain จะดีในระยะแรกแต่เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อเริ่มลดลง ประสิทธิภาพของเอนไซม์ calpain จะเริ่มลดลงด้วย

เนื่องจาก calpain เป็นเอนไซม์ที่ต้องการ $Ca^{2+}$ เข้าไปกระตุ้นการทำงาน ซึ่งสามารถพิสูจน์ได้โดยการฉีด $Ca^{2+}$ เข้าไปในเนื้อโคในช่วงก่อนการเกิดสภาวะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ(prerigor mortis) พบว่า ไม่สามารถตรวจพบ μ-calpain แต่จะพบเอนไซม์ m-calpain และ cathepsin ในระดับต่ำ ซึ่งปกติเราจะไม่พบเอนไซม์ m-calpain อยู่ในกล้ามเนื้อ เนื่องจากระดับความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ไม่เพียงพอที่กระตุ้นให้เอนไซม์ทำงานได้ (Dayton และคณะ, 1981)

ความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ในกล้ามเนื้อเป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการทำงานของเอนไซม์ calpain โดยปกติกล้ามเนื้อในระยะพักจะมีความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ อยู่ในระดับ $10^{-8}$ M (Dayton และคณะ 1981) และเมื่อกล้ามเนื้อหดตัว ความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ อยู่ในระดับ $10^{-5}$ แต่เมื่อภายหลังสัตว์ตาย $Ca^{2+}$ จะเพิ่มขึ้นถึงระดับ $10^{-4}$ ซึ่งจะเพียงพอในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain (Goll และคณะ, 1964) calpastatin เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ calpain โดยทั่วไปการทำงานของเอนไซม์ calpastatin จะถูกทำลายเมื่อประมาณ 3-5 วัน ภายหลังสัตว์ตายโดยพบว่าเมื่อมีการบ่มซากโคที่ 3 วันและแช่แข็งจะมีเอนไซม์ calpastatin อยู่ในระดับใกล้เคียงกับการบ่มเนื้อโคที่ 6 วัน เนื่องจากเอนไซม์ calpastatin ถูกทำลายไป (Koohmaraie, 1996)

Cathepsin เป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในกลุ่ม lyzosomal enzyme (Koohmaraie, 1988) เอนไซม์ cathepsin ที่สำคัญมี 5 ชนิด โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มเอนไซม์ cathepsin B, H และ L เป็น cystein endopeptidase และกลุ่มเอนไซม์ cathepsin D และ E เป็นกรด (acid) หรือ carboxyl endopeptidase

Cathepsin H เป็น aminopeptidase ที่ทำงานได้ใกล้เคียงกับ เอนไซม์ Cathepsin H จากตับหนู สามารถย่อยสลายไมโอซินได้มากกว่าเอนไซม์ Cathepsin B ถึง 5 เท่าไมโอซินจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ Cathepsin L ได้ที่ค่า pH 4.2 ส่วนแอคตินถูกย่อยสลายได้ที่ pH 5 โดยมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 30-40 kDA

**2.3 กรรมวิธีในการตรวจสอบความนุ่มของเนื้อโค**

(1) การวัดความยาวซาร์โคเมียร์ กล้ามเนื้อที่เหนียวซาร์โคเมียร์จะมีการหดตัวสั้นกว่ากล้ามเนื้อที่นุ่ม กรรมวิธนี้มีข้อจำกัดคือการวัดความยาวซาร์โคเมียร์ ควรจะทำภายใน 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย เนื่องจากค่าความยาวซาร์โคเมียร์นั้นสามารถคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากการเกิด cold shortening โดยจะพบความยาวของซาร์โคเมียร์ที่ลดลงผิดปกติเพราะการเกยซ้อนกันของ M-line, I-band และ thick filament รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของกายภาพและสัณฐานของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและร่างแหเรติคูลัม (Koohmaraie, 1996)

(2) การวัดปริมาณของคอลลาเจนทั้งหมด ถ้ากล้ามเนื้อมีปริมาณของคอลลาเจนสูงจะมีผลทำให้เนื้อโคเหนียว ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดในกล้ามเนื้อจะผันแปร ตามชนิดของกล้ามเนื้อปัจจุบันได้มีการปรับปรุงกรรมวิธีในการวัดปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดเป็นดัชนีในการวัดความนุ่ม โดยเปลี่ยนเป็นการวัดปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้แทนการวัดปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด ซึ่งจะให้ความแม่นยำมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโคที่มีอายุน้อยจะมีคอลลาเจนที่ละลายได้ในปริมาณสูงกว่าโคที่มีอายุมาก ซึ่งเนื้อที่มีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้สูงจะเหนียวน้อยกว่า ปริมาณคอลลาเจนจะไม่ขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์ ในทางกลับกันชนิดของคอลลาเจนจะขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์ โดยระดับคอลลาเจนที่ละลายได้จะลดลงเมื่อสัตว์อายุมากขึ้น ดังนั้นเนื้อสัตว์อายุมากจึงเหนียว กล้ามเนื้อทุกกลุ่มจะมีปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดในระดับที่ใกล้เคียงกันอย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่สิ่งที่น่าสนใจคือ ปริมาณคอลลลเจนที่ละลายได้ในกลุ่มกล้ามเนื้อที่มีความนุ่มจะมีปริาณสูงสุดและกล้ามเนื้อที่มีความเหนียวจะมีปริมาณต่ำสุดปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้จะมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของกล้ามเนื้อ ดังนั้นหากการตรวจสอบความนุ่มของเนื้อโคโดยใช้องค์ประกอบทางชีวเคมี ควรใช้ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในการตรวจสอบเพื่อจัดระดับความนุ่มของเนื้อโค

(3) การใช้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ เป็นการวัดความนุ่มทางฟิสิกส์โดยการอาศัยแรงกดของใบมีดที่กระทำต่อเนื้อโคซึ่งสุกแล้ว โดยใบมีดจะตัดผ่านตามแนวขวางของเส้นใยกล้ามเนื้อ ถ้าหากค่าแรงตัดผ่านยิ่งสูง ก็แสดงว่ามีความเหนียวมากขึ้นตามการใช้แรงในการตัดเนื้อให้ขาดออกจากกัน

(4) การวัดการสลายตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ (myofibril fragmentation index (MFI)) เป็นการวัดความนุ่มอีกวิธีหนึ่ง การใช้ความยาวของคลื่นแสงที่ 540 mM กับเส้นใยของกล้ามเนื้อที่ยังคงเหลือจากการสลายตัวแล้วนำค่าที่ได้มา เปรียบเทียบกับมาตรฐานที่ตั้งไว้โดยกำหนดไว้ดังนี้

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| MFI | 60 | หรือมากกว่า | = | นุ่มมาก |
| MFI | 50-59 | | = | ปานกลาง |

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



MFI ต่ำกว่า 50 = เหนียว

การวัดค่า MFI เป็นการวัดความนุ่มที่ได้ผลใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุดวิธีหนึ่งและสามารถลดปัจจัยที่อาจทำให้คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงได้ เช่น การวัดความยาวซาร์โคเมียร์ ซึ่งอาจให้ผลคลาดเคลื่อนเนื่องจากปัจจัยก่อนสัตว์ตาย เช่น กรรมวิธีในการฆ่า หรือ การหดตัวของกล้ามเนื้อเนื่องจากการลดอุณหภูมิของเนื้ออย่างรวดเร็ว (cold shortening) หรือปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดและปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ (Koohmaraie, 1996)

(5) การใช้ electrophoresis 10 % gel sodium dodecyl sulfate polyacrylamide (SDS-PAGE) โดยมีหลักการคือ เมื่อมีการสลายตัวของโปรตีนให้เปลี่ยนเป็นโปรตีนที่มีหน่วยโมเลกุลเล็กลง เป็นกรดอะมิโน หรือ โพลีเปปไทด์ เป็นต้น และเมื่อทำการทดสอบโดยใช้วิธีโครมาโตกราฟี่ ทำให้การเดินทางของกรดอะมิโนต่างกันไปตามน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งสามารถที่จะตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ใน pH อุณหภูมิ และเวลาต่าง ๆ ได้ โดยการวัดการสลายตัวจากโปรตีนอิสระที่เกิดขึ้น

ถ้าพบ 30 kDA แสดงว่ามาจากการสลายตัวของโทรโปนิน-ที
ถ้าพบ 44 kDA แสดงว่ามาจากการสลายตัวของครีเอทีน
ถ้าพบ 55 kDA แสดงว่ามาจากการสลายตัวของเดสมิน
ถ้าพบ 115 kDA แสดงว่ามาจากการสลายตัวของไมโอซิน
ถ้าพบ 300-400 kDA แสดงว่ามาจากการสลายตัวของ Z-line

**2.4 การปรับปรุงความนุ่มของเนื้อสัตว์**

2.4.1 การใช้ไฟฟ้ากระตุ้น

การใช้กระแสไฟฟ้ากระตุ้นซากโคในปัจจุบันมี 2 ระบบคือ

(1) ระบบที่กระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลท์ต่ำ (low voltage stimulation) ระบบนี้จะใช้กระแสไฟฟ้าโวลท์ต่ำหรือประมาณ 20-29 โวลท์ ซึ่งจะสามารถกระตุ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ภายในระยะเวลาเพียงไม่เกิน 8 นาที หลังจากทำให้สัตว์ตาย ซึ่งเร็วเกิดไปและไม่เหมาะในการตัดแต่งซาก

(2) ระบบที่กระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลท์สูง (high voltage stimulation) ระบบนี้จะใช้กระแสไฟฟ้าโวลท์สูงหรือประมาณ 500-700 โวลท์ ซึ่งระบบนี้จำเป็นจะต้องใช้ต้นทุนที่สูงขึ้นกว่าระบบกระตุ้นด้วนกระแสโวลท์ต่ำเพราะต้องมีระบบปลอดภัยเป็นพิเศษ และใช้กระแสไฟฟ้ามาก

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของทั้งสองระบบดังกล่าว พบว่าจะให้ผลที่ไม่แตกต่างกันในลักษณะต่างๆ ของคุณภาพซากโค แต่ระบบกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลท์ต่ำจะมีประสิทธิภาพด้อยกว่าระบบกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลท์สูง ทั้งนี้ระบบการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าโวลท์สูงมีการพัฒนาวิธี

49773

การใช้อย่างมากในเวลาต่อมา การใช้กระแสไฟฟ้ากระตุ้นซากโคทั้ง 2 ระบบ มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโคได้เท่าเทียมกัน แต่ระบบการใช้กระแสไฟฟ้าโวลท์สูงจะมีประสิทธิ ภาพดีกว่าในการปรับปรุงคุณภาพของเนื้อ

กรรมวิธี eletrophoresis เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงการย่อยโปรตีน ได้พบว่า โทรโปนินที จะหายไปและเกิดเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนักโมเลกุล 30 kDA เนื้อสันนอกของซีกที่ได้รับการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าจะพบว่ามีรอยแตกของเซลล์เนื้อเยื่อเป็นช่วงๆ ตลอดเส้นใยกล้ามเนื้อซึ่งแสดงว่าการกระตุ้นโดยกระแสไฟฟ้าจะเพิ่มความนุ่มของเนื้อโค โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายภาพของกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อสันนอกหลังจากกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนทันที จะพบ Z-line เกิดการหดตัวและบริเวณ I-band จะแคบกว่าพวกที่ไม่ได้รับการกระตุ้น ทั้งนี้ความยาวซาร์โคเมียร์จะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ระหว่างเนื้อซึ่งได้รับและไม่ได้รับการกระตุ้น ส่วนพวกที่ได้รับการกระตุ้นแล้ว นำไปเก็บบ่มที่ 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะพบว่าบริเวณ Z-line มีการแตกออก ซึ่งไม่พบในเนื้อที่ไม่ได้รับการกระตุ้น

ภายหลังจากสัตว์ตาย 24 ชั่วโมง ซีกที่ได้รับการกระตุ้น เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน จะพบว่ามีรอยแยกและแตกของเซลล์เนื้อเยื่อเป็นช่วงๆ การขาดหายไปของ I-band, A-band หรือ Z-line และการฉีกขาดของเส้นใยฝอยทำให้เกิดที่ว่างบริเวณ Z-line เพราะเนื่องจากเกิดการทำลายโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยกล้ามเนื้อและการสลายตัวของโปรตีน (autolytic proteolysis) ในเนื้อเยื่อที่ได้รับการกระตุ้น จึงทำให้เนื้อนุ่มขึ้น

2.4.2 การใช้เอนไซม์จากธรรมชาติในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

การใช้สารต่าง ๆ จากพืชเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้ใช้มานาน เช่น Papain , Ficin และ Bromelain สารเหล่านี้เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนจากพืชธรรมชาติ ซึ่งได้รับความสนใจมากและใช้กันมานาน หรือแม้แต่เอนไซม์ที่ได้รับการผลิตจากเชื้อรา เช่น *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus flavus-oryzae* Papain ถูกนำมาใช้มากกว่า 800 ปี โดยชาวแมกซิกันอินเดียน ด้วยการใช้ใบมะละกอหรือเนื้อมะละกอคั้นเอาน้ำยางจากใบมะละกอใส่ลงไปในเนื้อโค

2.4.3 การบ่มซาก (aging)

การบ่มซากเป็นวิธีการหนึ่งในการปรับความนุ่มของเนื้อซึ่งเกิดขึ้นภายหลังจากการเกิดสภาวะ rigor mortis ซึ่งเกิดจากการทำลายของเอนไซม์ในเนื้อ มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังภายในเซลล์ทำให้แอคโตไมโอซินถูกตัดขาด ณ บริเวณ Z-line ทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อลดลง จนเป็นเหตุ

ให้เนื้อนุ่ม การเปลี่ยนแปลงทางเคมีนี้ส่วนหนึ่งเนื่องมาจากเอนไซม์เข้าไปย่อยโปรตีนที่บริเวณ Z-line รวมทั้ง M-line และไมโอซิน ตลอดจนพบการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลโดยพบว่าไททิน 1 จะเปลี่ยนเป็นไททิน 2 รวมทั้งมีการสลายตัวของเนบูลิน ซึ่งสามารถตรวจสอบโดยวิธี electropholysis (SDS-PAGE) (Koohmaraie และคณะ, 1987)

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มซากแบ่งเป็น 2 ระดับ คือ

1. Cold temperature ageing หมายถึง การเก็บซากแขวนไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส

2. High temperature ageing หมายถึง การเก็บซากไว้ที่อุณหภูมิห้องเย็นที่สูงกว่า 5 องศาเซลเซียส

Koohmaraie และคณะ, (1986) ได้สรุปผลของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของกล้ามเนื้อที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส จนเกิดความนุ่มจากงานทดสอบต่าง ๆ ดังนี้

1. Z-disk จะเกิดการแยกตัวขึ้น และมีการแยกสลายของเส้นใยกล้ามเนื้อจากการสลายตัวของไททินและเดสมิน

2. เกิดการเลือนหายไปของโทรโปนินที และเกิด 30 kDA ขึ้นแทนที่

3. เกิดการเลือนหายไปของเดสมินและเกิด 95 kDA ขึ้นมาแทนที่

4. เกิดการเลือนหายของไททิน 1 กลายเป็นไททิน 2 และเนบูลิน โดยปกติไททินและเนบูลินเป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ สามารถใช้ในการเปลี่ยนแปลงไททิน 1 ให้เป็นไททิน 2 และการสลายตัวของเนบูลินเป็นดัชนีในการตรวจสอบ

5. โปรตีนหลักที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวไมโอซินและแอคตินจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง

ปรากฏการณ์ต่างๆ เหล่านี้จะเกิดขึ้นภายหลังจากการบ่มซาก เนื่องจากเอนไซม์ calpain เป็นเอนไซม์หลักในการย่อยสลายโปรตีน Ouali (1984) รายงานว่าในความเป็นจริงแล้วเอนไซม์ calpain สามารถทำงานได้ดีที่ pH 7.8-8.0 แต่เมื่อระดับ pH เปลี่ยนแปลงไปอยู่ที่ระดับ 5.5-5.8 Calpain จะทำงานได้เพียง 24-28 % จากปรกติ (Goll และคณะ, 1983 ) ทั้งนั้นจะทำให้ค่าความนุ่มที่เกิดขึ้นนั้นยังคงเพิ่มขึ้นได้ เนื่องจากทุก ๆ 1 ซาร์โคเมียร์ใน 250 ซาร์โคเมียร์ ที่เกิดการแยกตัวก็จะสามารถทำให้เกิดความนุ่มได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ Wheeler และคณะ, (1993) ได้สรุปกลไกที่ทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อ ดังต่อไปนี้

1. เกิดการปลดปล่อยสารบางอย่างที่อยู่รอบ ๆ ของเส้นใยกล้ามเนื้อออกมารอบเซลล์

2. มีการย่อยสลายโปรตีนจำพวกไททินและเนบูลิน ซึ่งโปรตีนทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นโปรตีนที่ค้ำจุนความแข็งแรงของเส้นใยกล้ามเนื้อ จึงทำให้เนื้อเกิดความนุ่มได้

3. บริเวณ Z-disk มีการสลายตัว อันเนื่องจากการเสื่อมสภาพของเส้นใยกล้ามเนื้อและเป็นที่สังเกตว่าการบ่มซาก จะไม่มีผลต่อแอคตินและไมโอซิน การบ่มซากที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างกัน จะทำให้ผลของความนุ่มต่างกัน ถ้าเก็บเนื้อโคที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน จะมีการหดตัวของกล้ามเนื้อมากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 10-15 องศา การสลายตัวของไททิน จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาในการบ่มซากโค รวมทั้งปัจจัยอื่น ๆ ในการทำงาน เช่น ระดับความเป็นกรด-ด่าง ในเนื้อและการทำงานของสารยับยั้งต่างๆ เช่น เอนไซม์ calpastatin รวมทั้งขบวนการไกลโคไลซีส ขณะที่ทำการบ่มซาก เนื้อจะเกิดความนุ่มขึ้นโดยค่าของ MFI จะสูงขึ้นและจะมีความสัมพันธ์ในทางเดียวกันกับการพบกรดอะมิโนอิสระพวก ลิวซีน (leucine) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ทรีโอนีน (threonine) เมทไธโอนีน (methionine) และ ไฮโดรไซโปรลีน (hydroxyproline) ซึ่งค่า MFI จะขึ้นอยู่กับชนิดของกล้ามเนื้อด้วย รวมทั้งเอนไซม์ในแต่ละชนิดจะมีตัวยับยั้งเช่น calpain จะมีเอนไซม์ยับยั้งคือ calpastatin หรือ systatin จะเป็นเอนไซม์ยับยั้งของ cathepsin ในขบวนการบ่มซาก ไม่เพียงแต่การย่อยสลายของโปรตีนเท่านั้น แต่จะมีการเปลี่ยนแปลงคอลลาเจนด้วย เช่นปกติเราจะพบคอลลาเจนที่ละลายได้อยู่ในกล้ามเนื้อประมาณ 4.4 ug/ml ภายหลังสัตว์ตาย 1 ชั่วโมงและเมื่อเวลาผ่านไป 14 วัน จะเพิ่มขึ้นเป็น 10.6 ug/ml ซึ่งคอลลาเจนที่ละลายได้ที่พบดังกล่าวนั้นคือ ไฮดรอกซิโปรลีน ซึ่งมาจากการย่อยสลายพันธะ แอลฟาเฮลิก ของคอลลาเจนในระหว่างการบ่มซาก Bailey and Light (1989) กล่าวถึงการทำงานร่วมกันของ calpain และ cathepsin และ $Zn^{2+}$ metalloprotease ว่าการทำงานของ calpain และ cathepsin จะ depolymerize collagen ให้เป็นหน่วยเล็กลงและ $Zn^{2+}$ metalloprotease จะทำหน้าที่สลายเกลียวออกหลังจากนั้น cathepsin จะทำการย่อยสลายคอลลาเจนในไลโซโซมอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งจะทำให้เกิด single alpha-helix ในไฮดรอกซิโปรลีนและเกิดกรดอะมิโนอิสระด้วย ยังได้รายงานเพิ่มเติมว่า โดยปกติพบไฮดรอกซิโปรลีนอิสระประมาณ 5.5% ของไฮดรอกซิโปรลีนทั้งหมดและเมื่อเวลาผ่านไปจะพบไฮดรอกซิโปรลีนอิสระเพิ่มมากขึ้น

เอ็นโดมายเซียม (endomysium) และ เพอริมายเซียม (perimysium) เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดที่มีคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบหลักทำหน้าที่ในการหุ้มมัดกล้ามเนื้อให้คงรูป โดยเอ็นโดมายเซียมจะหุ้ม

รอบเส้นใยของกล้ามเนื้อ ส่วนเพอริมายเซียมจะหุ้มมัดกล้ามเนื้อซึ่งจะลดความแข็งแรงลงเมื่อบ่มซากโคเกิน 21 วัน

2.4.4 การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

ภายหลังสัตว์ตาย ผนังซาร์โคพลาสมิกเรติคิวลัมและไมโตรคอนเดรีย จะเกิดการเสื่อมสลายโดยมีเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนที่ต้องอาศัยการกระตุ้นของ $Ca^{2+}$ ซึ่งเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า CDP ($Ca^{2+}$ dependent protease) เอนไซม์นี้แบ่งได้เป็น 2 รูปแบบ ตามระดับความต้องการ $Ca^{2+}$ ในการกระตุ้นคือ calpain-I ต้องการความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ในปริมาณต่ำ คือที่ประมาณ 10 μm และ calpain-II ต้องการความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ในปริมาณสูงคือที่ประมาณ 250 μm จึงจะสามารถทำงานได้เต็มประสิทธิภาพ calpain จะพบที่ไซโตซอลและตำแหน่งที่ถูกย่อยสลายมากที่สุดคือ Z-line

สิ่งที่มีผลต่อการทำงาน calpain นอกจากขึ้นอยู่กับความเข้มข้น $Ca^{2+}$แล้วยังขึ้นอยู่กับ pH ในเนื้อและอุณหภูมิ (Whipple and Koohmaraie, 1992) ซึ่งการทดลองของ Koohmaraie (1990) พบว่า calpain-I เกิดปฏิกิริยาได้ดีที่สุดที่ค่า pH 7 ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

เนื่องจากว่า calpain-II เป็นเอนไซม์ที่ต้องการความเข้มข้นของแคลเซียมในการกระตุ้นปฏิกิริยาในปริมาณมาก จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่า calpain-I ซึ่ง calpain-II จะเกิดได้ดีหลังจากเวลา 24ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย เพราะว่าผนังซาร์โคพลาสมิกเรติคิวลัมและไมโตรคอนเดรียเสื่อมสภาพ จะหลั่ง $Ca^{2+}$ ออกมาซึ่งมีปริมาณมากพอที่จะกระตุ้นการทำงานของ calpain-II โดย calpain-II สามารถทำปฏิกิริยาได้ในสภาพค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำหรือที่ค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายได้

Dransfield (1994) สรุปในเรื่องของขั้นตอนการเกิดความนุ่มของเนื้อที่เกี่ยวข้องกับเอ็นไซม์ calpain และระดับความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ดังนี้

(1) Initiation calpain ที่อยู่ในสภาวะเฉื่อย (innert) จะถูกกระตุ้นด้วยระดับความเข้มข้นของ $Ca^{2+}$ ที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากร่างกายใช้พลังงานจนหมด จึงไม่เกิดการยืดหดตัวอีก ทำให้มีปริมาณ $Ca^{2+}$ สะสมในซาร์โคพลาสซึมสูงขึ้นประกอบกับการเสื่อมสภาพของซาร์โคพลาสมิกเรติคิวลัมและไมโตคอนเดรีย ซึ่งเป็นแหล่งสะสมแคลเซียมในเซลล์กล้ามเนื้อ จึงปล่อย $Ca^{2+}$ ออกมามากขึ้น ซึ่งเมื่อระดับที่มากพอก็จะกระตุ้นให้ calpain เริ่มปฏิกิริยาได้ เป็นการเริ่มขบวนการสร้างความนุ่มในเนื้อ

(2) Binding เอนไซม์ calpain ที่ถูกกระตุ้นด้วย $Ca^{2+}$ จะถูกยับยั้งการทำงานโดย inhibitor ที่ชื่อ calpastatin ซึ่งการยับยั้งจะเกิดได้ดีในระยะแรกๆ ซึ่งค่า pH ยังคงสูงอยู่ ต่อมาเมื่อค่า pH ลดลงการยับยั้งก็จะลดลง

(3) Inactivation of free activated calpain แม้ว่าที่ pH ต่ำกว่า 5.7 ลงมา การยับยั้งจาก calpastatin จะต่ำ และ calpain-I จะสูญเสียความสามารถในการทำปฏิกิริยาไปถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังสัตว์ตายประมาณ 24 ชั่วโมง แต่ที่ pH 5.7 นี้ calpain-II จะทำปฏิกิริยาได้เต็มที่ จึงสามารถทำให้เกิดความนุ่มต่อไปได้อีก

(4) Inactivation of calpastation เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ย่อยโปรตีน ที่หมู่ thoil ในที่นี้คือเอนไซม์ calpain ซึ่งสามารถทำลายเอนไซม์ calpastatin ได้

(5) Tenderization ขบวนการนี้เกิดจากการสลายตัวของโปรตีนในเนื้อสัตว์ เนื่องมาจากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ calpain ซึ่งถูก $Ca^{2+}$ กระตุ้นนั่นเอง โดยบริเวณที่เกิดการสลายตัวของโปรตีนจะเกิดที่ Z-line ของโปรตีนเส้นใยย่อย ซึ่งเป็นผลมาจากการที่โทรโปนิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่เส้นใยฝอย (myofilament) ถูกทำลาย

$Ca^{2+}$ จะเหนี่ยวนำให้เอนไซม์ calpain ทำงานและสลาย collagen network โดยทำให้สัดส่วนของ heat-stable collagen จะลดลงโดยไปมีผลต่อ perimysial collagen แต่ว่าความยาวของซาร์โคเมียร์จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากการลดการซ้อนกัน (crossbridge) ของแอคตินและไมโอซิน

การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เป็นอีกวิธีหนึ่งในการปรับความนุ่มของเนื้อโคได้ โดยการเพิ่ม $Ca^{2+}$ จากภายนอก (exogenous source) ในการกระตุ้นเอนไซม์ calpain ซึ่งโดยปกติเอนไซม์ calpain โดยเฉพาะอย่างยิ่ง calpain-II จะคงตัวภายหลังสัตว์ตาย $Ca^{2+}$ ที่ฉีดเข้าสู่กล้ามเนื้อจะทำหน้าที่กระตุ้นเอนไซม์ calpain-I และ calpain-II (Koohmaraie และคณะ 1988b ; Kendall และคณะ 1993)

การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับคุณภาพความนุ่มของเนื้อโค ต้องอยู่ในระดับหรือปริมาณที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีกฎหมายควบคุมในการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ให้อยู่ในระดับไม่เกิน 3%ของน้ำหนักเนื้อโคที่ระดับความเข้มข้น 0.8M (Wheeler และคณะ 1992) ระดับการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีความสัมพันธ์กับ 2 ปัจจัยคือ

1. สัดส่วนเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อน้ำหนักของเนื้อที่จะทำการฉีด (wt/wt)
2. ความเข้มข้นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ในการทดลองของ Wheeler และคณะ(1992) เพื่อหาความสัมพันธ์ของสัดส่วนน้ำหนักของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ พบว่า ในสัดส่วน 5 หรือ 10 % wt/wt พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 250 mM จะมีค่าแรงตัดผ่านที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และพบว่ายิ่งใช้ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียม

คลอไรด์เพิ่มมากขึ้น จะทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อโคมากขึ้น ส่วนในด้านรสชาติและความชุ่มฉ่ำของเนื้อโค (Juiciness) พบว่า ถ้ามีการใช้ในปริมาณที่สูงขึ้น ทั้งในด้านความเข้มข้นหรือเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะยิ่งทำให้เนื้อมีกลิ่นและรสชาติไม่พึงประสงค์ (off-flavor) มากขึ้น (Diles และคณะ, 1994)

กรรมวิธีในการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เพื่อการปรับความนุ่มของเนื้อโคนั้นสามารถทำได้ 2 แบบคือ แบบก่อนการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (pre-rigor) และหลังการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (post-rigor) ซึ่งแบบแรกเหมาะสำหรับการทำร่วมกับการทำชำแหละซากอุ่น (hot-boning) โดยลดขั้นตอนการแช่เย็นซากได้ (Etherington และคณะ, 1987) หรือถ้ากรณีการทำหลังการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อควรทำร่วมกับการแช่เย็นซากโค และควรฉีดภาหลังสัตว์ตายภายใน 24 ชั่วโมง จะทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด (Wheeler และคณะ, 1991)

ผลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์พบว่า เนื้อโคจะมีการเปลี่ยนแปลงภายในจุลกายวิภาค ในระหว่างกระบวนการบ่มซากจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ Z-line รวมทั้งมีการสลายของโทรโปนิน ที, ไอ, ซี โปรตีน, แอคโตไมโอซิน ไททิน, เนบูลิน, เดสมิน, คอลลาเจน และมิวโคโพลีแซคคาไรด์

โดยทั่วไป Z-disk มีองค์ประกอบ 2 ส่วน คือ ส่วนที่มีลักษณะเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อ (Z-filament) และส่วนที่มีรูปทรงไม่แน่นอน (amorphous matrix) ในส่วนที่มีลักษณะเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อ จะมีแอลฟา-แอกตินินเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการค้ำจุนโครงสร้างที่ทำให้เกิดความแข็งแรง

เอนไซม์ calpain จะมีบทบาทในการเปลี่ยนแปลงของไมโอไฟบริลเป็นผลทำให้เกิดการย่อยสลายของ Z-line ซึ่งจะมีการปลดปล่อย แอลฟา-แอคตินิน (alpha-actin) และการย่อยสลายของ troponin T และ I รวมทั้ง desmin, tropomyosin, titin และ C-protein การให้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จึงเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของ calpain

การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์จะมีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (drip loss) เนื่องจากเป็นการเพิ่มปริมาณของเหลวเข้าสู่กล้ามเนื้อดังนั้นการที่จะพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-holding capacity) ของกล้ามเนื้อแต่ละชนิด รวมทั้งวิธีการในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Lansdell และคณะ 1995) ซึ่งสอดคล้องต่อรายงานของ Wheeler และคณะ (1993) ที่กล่าวว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ให้เข้าสู่กล้ามเนื้อมากที่สุดควรทำการฉีดขนานและในทิศทางเดียวกันกับเส้นใยกล้ามเนื้อ ส่วนระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา โดย Boleman และคณะ (1993) ได้ทำการ

ศึกษาอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาโดยทำการศึกษาในกล้ามเนื้อ *Semimembranosus* พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับ 200 250 และ 300 mM ไม่มีความแตกต่างกันของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา และเมื่อทำการศึกษาเพิ่มเติมของอิทธิพลของระยะเวลาที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา จะสูงขึ้นเมื่อทำการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตายนานขึ้นกล่าวคือเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในชั่วโมงที่ 1 6 และ 24 ภายหลังสัตว์ตาย พบว่าในชั่วโมงที่ 24 จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาสูงสุดรองลงมาคือที่ 6 และ1 ชั่วโมงตามลำดับ

จะให้ผลแตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก Wheeler และคณะ (1991) กล่าวว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ซึ่งสอดคล้องต่องานทดลองของ Morgan และคณะ (1991) ที่ได้ทำการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 300 mM 10% wt/wt และทำการบ่มเนื้อโคที่ 1 7 และ 14 วัน โดยทำการทดสอบในกล้ามเนื้อ *Semimembranosus* และ *longissimus dorsi* ผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกระหว่างชนิดกล้ามเนื้อรวมทั้งการบ่มเนื้อโคที่ระยะวันต่างๆ ซึ่งขัดแย้งต่องานทดลองของ Morris และคณะ (1997) ที่พบว่าการบ่มซากโคที่นานขึ้น จะมีผลต่อการลดลงของการกักเก็บน้ำในเนื้อทำให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกลดลง ในขณะที่ Boleman และคณะ (1993) กล่าวว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก แต่จะพบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก จะสูงขึ้นตามระยะเวลาที่นานขึ้นในการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย โดยพบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายหลังสัตว์ตาย ที่ 24 ชั่วโมงจะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกสูงกว่าในชั่วโมงที่ 6 ทั้งนี้สามารถอธิบายได้จากเมื่อสัตว์ตาย โปรตีนต่างๆในกล้ามเนื้อจะเริ่มสลายตัวโดยเฉพาะโกลบูลาร์โปรตีนซึ่งมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ ทำให้ความสามารถในการกักเก็บน้ำลดลง Koohmaraie และคณะ (1990) พบว่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก จะมีหลายปัจจัยที่ทำให้เกิดความแตกต่างได้ เช่น ชนิดของสัตว์ โดยพบว่า ในเนื้อแกะการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก แต่จะพบได้ในเนื้อโค รวมทั้งยังพบเพิ่มเติมว่าระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

วรวิทย์ (2543) ศึกษาอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อพบว่า โดยทำการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ 4 ระดับคือ 0 200 250 และ 300 mM พบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในระดับ 250 และ 300 mM ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ฉีดและ 200 mM

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าเนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 200 250 และ 300 mM มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาไม่ต่างกัน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาต่ำที่สุด

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P<0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ทุกระดับความเข้มข้น

# บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 3.1 อุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

- สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 200 mM

3.1.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งอิเลคทรอนิคส์ (Digital Balancing)
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด- ด่าง หรือค่า pH และอุณหภูมิ (Knickmodel 651-2)
- เครื่องมือวัดค่าแรงตัดผ่าน (Hounsfield model 1000n)
- เครื่องบรรจุถุงสูญญากาศ
- เครื่องมือวัดความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ
- มีด
- เขียง
- ถุงพลาสติกใส
- เข็มฉีดยา
- บีกเกอร์
- เตาอบไฟฟ้า
- สมุดบันทึกข้อมูล
- กระดาษอลูมิเนียมฟลอยด์

3.1.3 ตัวอย่าง

- กล้ามเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัย เพศผู้ พันธุ์ลูกผสมอเมริกันบราห์มันพื้นเมือง อายุเฉลี่ย 10 ปี น้ำหนักซากเฉลี่ย 433.76 กิโลกรัม จำนวน 17 ตัว

**3.2 วิธีการทดลอง**

การทดลองเปรียบเทียบการฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อสันนอกโค

3.2.1 การวางแผนการทดลอง

แผนการทดลอง เป็นการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยการฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มี 2 ทรีทเมนตร์ คือการฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยแต่ละทรีทเมนตร์ใช้ 17 หน่วยทดลอง คือการใช้กล้ามเนื้อสันนอกจากโคโตเต็มวัยอายุเฉลี่ยประมาณ 10 ปี จำนวน 17 ตัว

3.2.2 การเตรียมการทดลอง

นำกล้ามเนื้อสันนอกโคที่ได้หลังจากสัตว์ตายประมาณ 6 ชั่วโมง มาทำการเลาะเอาไขมันและเยื่อหุ้มต่างๆออกให้หมดเหลือแต่เพียงกล้ามเนื้อล้วนๆ

3.2.2.1 ทำการตัดแบ่งกล้ามเนื้อสันนอกโคออกเป็น 2 ชิ้น กำหนดให้ชิ้นที่ 1 เป็นกลุ่มทดลองที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อ (5% wt/wt) ส่วนชิ้นที่ 2 นั้นเป็นกลุ่มควบคุมโดยไม่ต้องฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จากนั้น 5 นาทีทำการชั่งน้ำหนักเริ่มต้นการทดลองเป็นค่า W1

3.2.2.2 นำตัวอย่างเนื้อชิ้นที่ 1 และชิ้นที่ 2 ไปทำการวัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ (WHC) ในชั่วโมงที่ 6 จากนั้นบรรจุในถุงสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 24 ชั่วโมงภายหลังสัตว์ตาย ทำการวัดค่า WHC อีกครั้ง บันทึกค่า WHC โดยการคำนวณตามวิธีดังนี้

$$\text{WHC} = \frac{\text{Meat area}}{\text{Total area}}$$

3.2.2.3 เมื่อครบ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายแล้วนำตัวอย่างเนื้อ มาชั่งน้ำหนักอีกครั้งแล้วบันทึกเป็นค่า W2 เพื่อทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (% drip loss) โดยการคำนวณตามวิธีดังนี้

$$\%\ \text{Drip loss} = \frac{(W1 - W2)}{W1} \times 100$$

3.2.2.4 หลังจากนั้นนำตัวอย่างเนื้อไปอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส โดยที่ก้อนเนื้อถูกห่อหุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟลอยด์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนกระทั่งอุณหภูมิแกนกลางเนื้ออยู่ในระดับ 72 องศาเซลเซียส นำไปชั่งน้ำหนักภายหลังอบและทำการบันทึกเป็น W3 เพื่อทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก (% cooking loss) โดยการคำนวณตามวิธีดังนี้

$$\% \text{ cooking loss} = \frac{(W2 - W3)}{W2} \times 100$$

จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อมาทำการตัดเป็นแท่งสี่เหลี่ยมผืนผ้ายาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร โดยให้มีพื้นที่หน้าตัดของขนาดชิ้นเนื้อประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร ทำการตัดผ่านเนื้อขนาดดังกล่าวให้อยู่ในแนวตัดขวางเส้นใยกล้ามเนื้อและทำการบันทึกค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Shear force)

**3.3 การบันทึกผล**

3.3.1บันทึกน้ำหนักของกล้ามเนื้อสันนอกโคทั้ง 2 ชิ้น โดยมีการชั่งน้ำหนัก 3 ครั้งต่อไปนี้

- ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นการทดลองเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาตรที่ต้องฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (W1)ในตัวอย่างเนื้อชิ้นที่ 1 และชิ้นที่ 2
- ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหลังจากเก็บจนครบ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา (W2) ในชิ้นตัวอย่างทั้ง 2 ชิ้น
- ชั่งน้ำหนักตัวอย่างทั้ง 2 ชิ้นหลังจากออกจากตู้อบเพื่อนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก (W3)

3.3.2 บันทึกค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ ทั้ง 2 ชิ้น ในชั่วโมงที่ 6 และ24

3.3.3 บันทึกค่าแรงตัดผ่านของชิ้นส่วนเนื้อทั้ง 2 ชิ้นหลังจากผ่านขบวนการทำให้เนื้อสุก

**3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล**

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดย t-test โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1998)

# บทที่ 4

## วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอิทธิพลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อกล้ามเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัย โดยการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้ากล้ามเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัยในปริมาณ 5% (wt/wt) ณ ชั่วโมงที่ 6 ภายหลังสัตว์ตาย หลังจากนั้นนำเนื้อมาทดสอบคุณภาพในด้านความนุ่มโดยพิจารณาจากค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา และเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

4.1 อิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีผลทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้และกลุ่มที่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีค่าเท่ากับ 10.529 และ10.728 กก. ตามลำดับ ดังผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 2

โดยผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Diles และคณะ (1994) ที่ทำการทดลองฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในกล้ามเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัย พันธุ์เฮียร์ฟอร์ด อายุเฉลี่ยเกิน 8 ปี ปริมาณ 10% (wt/wt) ที่ระดับความเข้มข้น 0 150 และ 200 mM พบว่าสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P<0.05$) แต่พบว่าคะแนนการตรวจชิม คะแนนความนุ่ม ความชุ่มฉ่ำของเนื้อ และความน่ากินของการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับ 200 mM มีค่าสูงกว่าระดับ 0 mM ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าแรงตัดผ่านของการบ่มเนื้อระหว่าง 7 วัน และ 14 วัน ปรากฏว่า ค่าของการบ่มไว้ 14 วัน ต่ำกว่าการบ่มไว้ 7 วัน ($P<0.05$) คือ 4.4 และ 5.3 กก. ตามลำดับ แต่ไม่สอดคล้องกับผลการทดลองของ Koohmaraie และคณะ (1988a) ที่กล่าวว่าการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์สามารถปรับความนุ่มของเนื้อโคได้เนื่องจากเป็นการเพิ่ม $Ca^{2+}$ จากภายนอกทำให้เอนไซม์ Calpain II สามารถทำงานได้

นอกจากนี้ผลการทดลองยังขัดแย้งต่อรายงานของ Wheeler และคณะ (1992) ที่ได้ทดลองฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อของซากโคเพศผู้ไม่ตอน ลูกผสมพันธุ์อเมริกันบราห์มัน อายุ

16 เดือน ภายหลังสัตว์ตาย ที่เวลา 30 นาที และ 24 ชั่วโมง พบว่า มีผลทำให้ค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Morgan และคณะ (1991) ได้ทดลองฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.3 mM ในปริมาณ 10% (wt/wt) ในโคลูกผสม เฮียร์ฟอร์ด, แองกัส, อเมริกันบราห์มัน X เจอร์ซีย์, เฮียร์ฟอร์ด X โฮล์สไตน์, X เจอร์ซีย์ อายุ 12-17 ปี เวลา 30 ชั่วโมง ภายหลังสัตว์ตาย ปรากฏว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อสันนอกของกลุ่มที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 3.88 และ 6.72 ตามลำดับ

จากผลการทดลองที่ได้ซึ่งขัดแย้งต่อรายงานของ Koohmaraie และคณะ (1988a); Wheeler และคณะ (1992); Morgan และคณะ (1991) นั้นอาจเนื่องมาจากว่า การทดลองครั้งนี้ใช้ตัวอย่างซากโคโตเต็มวัยตระกูลโคอินเดีย ซึ่งได้แก่พันธุ์ลูกผสมอเมริกันบราห์มันพื้นเมือง ซึ่งแตกต่างจากรายงานที่ใช้ตัวอย่างโคลูกผสมตระกูลอินเดียและตระกูลยุโรป อิทธิพลของสายเลือดโคอินเดียมีผลต่อความเหนียวของเนื้อมากกว่าโคยุโรป ดังรายงานของ Pringle และคณะ (1997) ที่ทำการศึกษาค่า activities ของ μ-calpain, m-calpain และ calpastatin ในกล้ามเนื้อสันนอกโคที่มีสายเลือดบราห์มันในระดับต่างๆ คือ 0%B, 25%B, 37%B, 50%B, 75%B และ 100%B ปรากฏว่าระดับ activities ของ μ-calpain ที่ระดับ 0%B สูงกว่า 100%B ($P<0.05$) แต่ระดับ activities ของ m-calpain ไม่แตกต่างกัน ส่วนระดับ activities ของ calpastatin นี้พบว่า 100%B สูงที่สุด โคแตกต่างจากระดับ 0%B, 25%B, 37%B และ 50%B, อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

รวมถึงวิธีการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ด้วย ซึ่ง Wheeler และคณะ (1993) ได้รายงานว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ให้เข้าสู่กล้ามเนื้อมากที่สุดควรทำการฉีดขนานและในทิศทางเดียวกันกับเส้นใยกล้ามเนื้อ

4.2 อิทธิพลต่อค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ

พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีผลทำให้ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ ณ ชั่วโมงที่ 6 ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 0.458 และ 0.518 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้อธิบายได้ว่ากล้ามเนื้อสันนอกโคที่ทำการทดลอง ณ ชั่วโมงที่ 6 ภายหลังสัตว์ตาย มีค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็วกว่าปกติ คือ 6.74 (ภานุวัฒน์, 2545) ทำให้โปรตีนในเนื้อไม่สามารถดูดซับน้ำไว้ได้ทำให้สูญเสียน้ำที่อยู่ในเนื้อ (จุฑารัตน์, 2540) ประกอบกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ฉีดเข้าไปก็มีส่วนเป็นน้ำอยู่ด้วย จึงเป็นผลทำให้กลุ่มที่

ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ สูญเสียปริมาณน้ำสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ส่วนค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ ณ ชั่วโมงที่ 24 ในกลุ่มที่ได้รับการฉีดและไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 0.412 และ 0.456 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 2

**ตารางที่2** แสดงอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

| ข้อมูลที่ศึกษา | ทรีทเมนต์ | |
|---|---|---|
| | ควบคุม | $CaCl_2$ |
| ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ | | |
| - ชั่วโมงที่ 24 | 10.529 | 10.728 |
| ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ | | |
| - ชั่วโมงที่ 6 | 0.518[ก] | 0.458[ข] |
| - ชั่วโมงที่ 24 | 0.456 | 0.412 |
| เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา | | |
| - ชั่วโมงที่ 6 | 39.966 | 40.643 |
| - ชั่วโมงที่ 24 | 38.145 | 37.781 |
| เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก | | |
| - ชั่วโมงที่ 24 | 41.844 | 41.68 |

ตัวอักษร ก และ ข ในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P< 0.05$)

4.3 อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา

พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 24 ทำให้เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ณ ชั่วโมง

ที่ 6 และชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 40.643 และ 37.781 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ณ ชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงที่ 24 ของกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เท่ากับ 39.966 และ 38.145 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 2

จากผลการศึกษาพบว่าเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ของเนื้อที่ใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์นั้นไม่แตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lansdell และคณะ (1995) ซึ่งกล่าวว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลโดยตรงต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา แต่อาจมีผลทางอ้อมได้ ทั้งนี้เนื่องจากการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เป็นการเพิ่มปริมาณของเหลวในกล้ามเนื้อโดยตรง ดังนั้น การที่เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาของกลุ่มที่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 สูงและชั่วโมงที่ 24 ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ อาจเนื่องมาจากความสามารถในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อมีอิทธิพลจากปัจจัยอื่นๆ เช่นการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ลดลงจนถึงจุดต่ำสุด (ultimate pH) เร็วกว่าปกติซึ่งจะทำให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำและมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาได้ สอดคล้องกับวรวิทย์ (2543) ศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเนื้อที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 200 250 และ 300 mM มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาไม่ต่างกัน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาต่ำที่สุด

4.4 อิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ทำให้เปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกของกลุ่มที่ใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีค่าเท่ากับ 41.680 และ 41.844 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 2

ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Morris และคณะ (1997) ที่พบว่า การใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก ทั้งนี้การสูญเสีย

น้ำหนักในระหว่างการทำให้สุกเกิดขึ้นเนื่องจากโปรตีนที่จับกับน้ำถูกทำลาย เนื่องจากในระหว่างขบวนการทำให้สุกนั้น โปรตีนในเนื้อสัตว์จะเสื่อมสลายและโครงสร้างของเซลล์จะถูกทำลายก็จะมีผลทำให้น้ำสูญเสียออกมาจากเนื้อสัตว์ น้ำที่สูญเสียออกมานี้เป็นน้ำจากภายในเนื้อและมาจากสารละลายที่ฉีดเข้าไปด้วย สอดคล้องกับวรวิทย์ (2543) ศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก พบว่าไม่แตกต่างกัน ($P<0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ฉีดและไม่สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ทุกระดับความเข้มข้น

# บทที่ 5 สรุป

## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุป

การศึกษาการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อโคโตเต็มวัย โดยพิจารณาจากค่าแรงตัดผ่านเนื้อ พบว่า เนื้อที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ผลการศึกษาพบว่า ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ ณ ชั่วโมงที่ 6 ของเนื้อที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$) คือมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสูงกว่า ส่วนค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ ณ ชั่วโมงที่ 24 ของเนื้อที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการศึกษาพบว่าเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษา ของเนื้อที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์นั้นไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากความสามารถในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้อมีอิทธิพลจากปัจจัยอื่นๆ เช่นการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงจนถึงจุดต่ำสุด (Ultimate pH) เร็วกว่าปกติซึ่งจะทำให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำและมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาได้

การศึกษาผลสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักใน ระหว่างการทำให้สุก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ดังนั้นการฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการทำให้สุก

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโคโตเต็มวัยพันธุ์ลูกผสมอเมริกันบราห์มันพื้นเมือง โดยการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์นั้น เพื่อให้การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เกิดประสิทธิภาพ

สูงที่สุดสามารถปฏิบัติได้โดยหลังจากที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์แล้วควรทำการบ่มซากตัวอย่างไว้อย่างน้อย 7-14 วัน จึงจะทำให้เนื้อมีความนุ่มมากขึ้น

รวมถึงวิธีการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ด้วย ซึ่งการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ให้เข้าสู่กล้ามเนื้อมากที่สุดควรทำการฉีดขนานและในทิศทางเดียวกันกับเส้นใยกล้ามเนื้อ

# บรรณานุกรม


จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540. การจัดการโรงฆ่าสัตว์. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 260 น.

ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 276 น.

ภานุวัฒน์ สุธรรม. 2545. ผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อค่า pH อุณหภูมิ และสี ของเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัยเพศผู้. ปัญหาพิเศษ. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. (กำลังตีพิมพ์)

วรวิทย์ พันธ์เมธิศร์. 2543. การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อโค. วิทยานิพนธ์. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 134 น.

โสภา ดอนดี. 2538. เอกสารประกอบคำสอน. สรีรวิทยาทางสัตวแพทย์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร. 64 น.

อมรา มลิลาและคณะ. 2532. สรีรวิทยาเบื้องต้น. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์อักษรเจริญทัศน์. 247 น.

Bailey, C. M. and Zobrisky. 1996. "Quality Factors of the Longissimus dorsi of Young Bulls and Steers." J. Anim. Sci. 25. pp. 504-522.

Bouton, P. E. 1982. "The Effect of Temperature and Ultimate pH on the Increase in Meat Toughness Resulting from During Cooking." Meat Sci. 6. pp. 235-241.

Christensen, K. L., D. D. Johnson, R. L. West, T. T. Marshall and D. D. Hargrove. 1991. "The Effect of Breed of Sire and Age at Feeding on Muscle Tenderness in the Beef Chuck." J. Anim. Sci. 69. pp. 3673.

Crouse, J. D., L. V. Cundiff, R. M. Koch, M. S. Koohmaraie and S. C. Sideman. 1989. "Comparisons of Bos indicus and Bos taurus Inheritance for carcass beef characteristics and meat palatality." J. Anim. Sci. 67. pp. 2661.

Culler, R. D., F. C. Parrish, Jr., G. C. Smith and J. R. Crooss. 1978. "Relationship of Myofibill Fragmentation Index to Certain Chemical Physical and Sensory Characteristics of Bovine Longissmuss Musscle." J. Food Sci. 43. pp. 177-1180

Dayton, W. R., J. V. Schollmeyer, R. A. Lepley and L. R. Cortes. 1981. "The Role of Muscle Proteolytic Enzymes in Degradation of the Myofibrill." Proc. Recip. Meat Conf. 34. pp. 17-20.

Diles , J. J. B., M. F. Miller and B. L. Owen. 1994. "Calcium Chloride Concentration Injecttion and Aging Period Effects on Tenderness , Sensory and retail colour attributes of Lion Steaks from Masture Cows. J. Anim. Sci. 72. pp. 2017-2021.

Dransfield, E. 1994a. "Optimisation of Tenderisatio , Aging and Tenderness." Meat Sci. 36. pp. 105-121.

Dransfield, E. 1994a. "Modelling Post-Mortem Tenderisation-V : Inactivation of Calpains." Meat Sci. 37. pp. 391-409.

Dransfield, E. 1996. "troponin-I Preporation and Physiological Function." J. Biochem. 64. pp. 465-472.

Etherington, D. J., M. A. Taylor and E. Dransfield. 1987. "Relationship between Temderising and the Levels of Cathepsin-B Cathepsin-L Cathepsin-I Cathepsin-II and Beta-Glucoronicase." Meat Sci. 20. pp. 1-15.

Goll, D. E., Y. Otsuka, P. A. Nagginis, J. D. Shannon, K. S. Sheridnark and M. Muguruma. 1983. "Role of Muscle Proteinases in Maintenance of Muscle Integrity and Mass." J. Food Biochem. 7. pp. 137-142.

Keendall, T. L., M. S. Koohmaraie, J. R. Argona, S. E. Williams, and L. L. Young. 1993. "Effect of pH and Ionic Strenght on Bovine m-Calpain and Calpastin Activity." J. Anim. Sci. 71. pp. 96-104.

Koch, R. M., M. E. Dikeman and J. D. Crouse. 1982. "Characterization of Biological Types of Cattle (Cycle III). II. Carcass Composition , Quality and Palatability. J. Anim. Sci. 54. pp. 35-41.

Koohmaraie, M. S. 1988. "The Role of Endogenous Proteases in Tenderness." Proc. Recip. Meat Conf. 41. pp. 89-93.

Koohmaraie, M. S. 1990. "Quantification of Calcium Dependent Protease Activities by Hydrophobic and Ion-exchange Chromatography." J. Anim. Sci. 68. pp. 659-663.

Koohmaraie, M. S. 1996. "Biochemical Factors Regulation the Toughening and Tenderization Process of Meat." Meat Sci. 43. pp. 193-201.

Koohmaraie, M. S., J. E. Schollmeyer and T. R. Dutson. 1986. "Effectof Low-Calcium-Requiring Calcium Activated Factor on Myofibrils under Varying pH and Temperature Conditions." J. Food Sci. 51. pp. 28-32.

Koohmaraie, M. S., S. C. Sideman, J. E. Schollmeyer, T. R. Dutson and J. D. Crouse. 1987. "Effect of Postmortem Storage on Calcium Dependent Proteases their Inhibitor and Myofibril Fermentation." Meat Sci. 19. pp. 187-192.

Koohmaraie, M. S., S. C. Sideman, J. E. Schollmeyer, T. R. Dutson and A. S. Babiker. 1988a. "Factor Associated with the Tenderness of Three Bovine Muscle." J. Food Sci. 53. pp. 407-415.

Koohmaraie, M. S., A. S. Babiker, A. L. Schroeder, R. A. Merkel and T. R. Dutson 1988b. "Acceleration of Postmortem tenderization in Ovine Carcass Through Activation of Ca++ Dependent Proteases." J. Food Sci. 53. pp. 1638-1641.

Landsdell, T. L. 1995. "Postmortem Injection of Calcium Choride Effects on Beef Quality Traits." J. Anim. Sci. 73. pp. 1735-1740.

Morgan, J. B., R. K. Miller, F. M. Mendez, D. S. Hale and J. W. Savell. 1989. "Muscle Protein Turnover and Tenderness in Broiler Chickens Fed Cimaterol." J. Anim. Sci. 67. pp. 112-118.

Morgan, J. B., R. K. Miller, F. M. Mendez, D. S. Hale and J. W. Savell. 1991. "Using Calcium Chloride Injection to Improve Tenderness of Beef from Mature Cows. J. Anim. Sci. 68. pp. 4469-4476.

Ouali, A. 1984. "Sensitivity to Ionic Strengh of Mg-Ca-Enhanced ATPase Acitivity as an Index of Myofibrillar Ageing in Beef." Meat Sci. 11. pp. 79-88.

Pringle, D. 1997. "Carcass Characteristics, the Calpain Proteinase System, and Aged, Tenderness of Angus and Brahman Crosebred Steers. J. Anim. Sci. 75. pp. 2955-2961.

Purchas, R. W. and Aungsupakorn , R. 1993. "Further Investigations into the Relationship Between Ultimate pH and Tenderness for Beef Samples from Bulls and Steers." Meat Sci. 34. pp. 163-178.

Taylor, D. G. and Cornell , J. G. 1985. "The Effects of Electrical Stimulation and Aging on Beef Tenderness." Meat Sci. 12. pp. 243-251.

Wheeler, T. L.,M. S. Koohmaraie and I. D. Crouse. 1991. "Effect of Calcium Chloride Injection and Hot Boning on the Tenderness of Round Muscle." J. Anim. Sci. 69. pp. 4871-4875.

Wheeler, T. L.,M. S. Koohmaraie and I. D. Crouse. 1992. "The Effect of Postmortem time of Injecttion and Freezing on the Effectiveness of Calcium Chloride for Improving Beef Tenderness." J. Anim. Sci. 70. pp. 3451-3457.

Wheeler, T. L.,M. S. Koohmaraie and I. L. Lansdell. 1993. "Effect of Postmortem Injection Time, Injection Level , and Concentration of Calcium Chloride on Beef Quality Traits." J. Anim. Sci. 71. pp. 2965-2974.