

# สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

## ปัญหาพิเศษ

### เรื่อง

ผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อค่า pH อุณหภูมิ และสีของเนื้อ  
สันนอกโคโตเต็มวัยเพศผู้

Effect of calcium chloride injection on pH temperature and retail color  
attribute of loin steaks from mature bulls

โดย

นายภาณุวัฒน์ สุธรรม

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์

ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

๓๖๖.

๖ ๔๔๗ ๗

๒๕๔๕

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 49751

๓ ๐ ส.ค. 2547

บ. เลคน. ๑.....

b.....
.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารของหอสมุดกลาง สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่ควรนำออกนอกห้องสมุด และต้องคืนให้หอสมุดกลาง สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง ภายในวันที่ ๒๕/๑๑/๒๕๔๕

๒๕๑๑๒๕๔๓๐

## บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

ปีการศึกษา 2545

ชื่อเรื่องภาษาไทย	ผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อค่า pH อุณหภูมิ และสีของเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัยเพศผู้
ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ	Effect of calcium chloride injection on pH temperature and retail color attribute of loin steaks from mature bulls
ชื่อนักศึกษา	นายภาณุวัฒน์ สุธรรม
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์ ภาควิชา วิศวกรรมเกษตร
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์จันทร์พร เจ้าทรัพย์

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงการใส่สารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของเนื้อโคโตเต็มวัยเพศผู้ โดยทำการทดลองเปรียบเทียบการใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในกลุ่มเนื้อสันนอกโคจำนวน 17 ตัวอายุเฉลี่ยประมาณ 10 ปี หลังจากการฆ่าแล้วทำการตัดแต่งเอากล้ามเนื้อสันนอกภายหลังจากสัตว์ตาย ประมาณ ชั่วโมงที่ 6 มาทำการตัดแบ่งออกเป็น 2 ชิ้น กำหนดให้ชิ้นที่ 1 เป็นกลุ่มทดลองที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ 5% ของน้ำหนักเนื้อ ( wt/wt ) ส่วนชิ้นที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุมโดยไม่ต้องฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์จากนั้นทำการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และอุณหภูมิในชั่วโมงที่ 6,7,8,9,10,11,12 และชั่วโมงที่ 24 และวัดค่าสีของเนื้อในรูปแบบของค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$

ผลการทดลอง พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีผลทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างเมื่อวัดที่ชั่วโมงที่ 6,7,8 และ 10 ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) และต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อวัดที่ชั่วโมงที่ 9 ( $P<0.01$ ) ส่วนผลการวัดที่ชั่วโมงที่ 11 นั้นพบว่าเนื้อที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดที่ระดับ  $P<0.01$  และเมื่อวัดที่ชั่วโมงที่ 12 และ 24 พบว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่างไม่ต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในทางสถิติแล้วไม่มีผลต่ออุณหภูมิของเนื้อทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยค่าอุณหภูมิที่วัดได้ ณ ชั่วโมงที่ 6 เท่ากับ 19.53 และ 19.76 ตามลำดับ ส่วนชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 11.02 และ 11.23 ตามลำดับ พบว่าการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 ไม่มีอิทธิพลต่อสีของเนื้อเมื่อวัดที่ชั่วโมงที่ 6 (ประมาณ 5 นาทีหลังฉีด) โดยพบว่าค่า  $L^*$  เป็น 26.5 และ 26.82 ค่า  $a^*$  เป็น 16.03 และ 16.18 ค่า  $b^*$  เป็น -1.99 และ -2.21 สำหรับเนื้อที่ฉีดและไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ตามลำดับ ส่วนผลการวัดสีเนื้อที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายพบว่า ค่า  $L^*$  ของเนื้อที่ฉีดและไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ไม่ต่างกันทางสถิติ เป็น 30.14 และ 31.85 ของเนื้อที่ฉีดและไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ แต่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ของกลุ่มที่ฉีดจะต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยค่า  $a^*$  เป็น 17.75 และ 20.07 ค่า  $b^*$  เป็น -0.26 และ 1.14 สำหรับกลุ่มที่ฉีดและไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ตามลำดับ

## กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี โดยความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์ จันทรพร เจ้าทรัพย์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและให้ความช่วยเหลือในทุกด้านในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้เป็นอย่างดี และขอขอบคุณอาจารย์ภัทรภรณ์ จางวานิชเลิศ ที่ให้คำแนะนำเพิ่มเติมเกี่ยวกับวิธีการทดลอง และเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการในการทดลองวิจัย รวมทั้งอาจารย์และเพื่อนๆ นักศึกษาภาควิชาครุศาสตร์เกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจ ตลอดจนขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนทำให้การทดลองวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ท้ายนี้ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และผู้มีพระคุณทุกท่านที่ให้กำลังใจและอุปการะในการศึกษาด้วยดีตลอดมา

ภาณุวัฒน์ สุธรรม  
มกราคม 2546

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อปัญหาพิเศษ.....	ก
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตของปัญหา.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 การศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 กลไกการทำงานของกล้ามเนื้อและสรีรวิทยาของกล้ามเนื้อ.....	3
2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์.....	9
2.3 การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค.....	16
2.4 อิทธิพลของแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อคุณภาพเนื้อ.....	18
บทที่ 3 อุปกรณ์ และ วิธีการ.....	19
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	19
3.2 วิธีการ.....	20
3.3 การบันทึกผล.....	21
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	21
3.5 สถานที่ทำการวิจัย.....	21
3.6 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย.....	22
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล.....	23
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	27
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บรรณานุกรม.....28



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ชนิดของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยของโปรตีนและช่วง pH ที่เหมาะสม.....14 ในการทำงานของเอนไซม์	14
2. อิทธิพลของแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่างของเนื้อโค.....24	24
3. อิทธิพลของแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่ออุณหภูมิของเนื้อโค.....25	25
4. อิทธิพลของแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อสีของเนื้อโค.....26	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญของปัญหา

โดยทั่วไปเนื้อโคจะถูกกำหนดมาตรฐานทางคุณภาพหลายๆด้าน นอกเหนือจากความสะอาดและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ยังพบว่าปัจจัยทางด้านความนุ่มจะเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ผู้บริโภคให้ความสำคัญ ทางหน่วยงานต่างๆทั้งส่วนราชการและเอกชนได้มีความพยายามในการยกระดับมาตรฐานความนุ่มของเนื้อโคเพื่อให้เกิดการยอมรับของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งต้องอาศัยความรู้ทางวิชาการและระยะเวลาในการปรับปรุงทางด้านสายพันธุ์ การจัดการด้านอาหารสัตว์ การจัดการด้านโรงฆ่าและกรรมวิธีในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

การปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโคด้วยการลดอุณหภูมิซาก โดยทำการเก็บในห้องเย็นเป็นวิธีที่ปฏิบัติกันมานานซึ่งหากลดอุณหภูมิไม่ได้ระดับที่ต้องการจะทำให้เนื้อโคเน่าเสียและเกิดความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคได้ และต่อมาได้ทำการปรับปรุงเพิ่มเติมโดยใช้กระแสไฟฟ้าในการกระตุ้นซากเพื่อเร่งในการใช้พลังงานในกล้ามเนื้อ ซึ่งไม่สอดคล้องต่อสภาวะการณ์ในปัจจุบันซึ่งได้มีการรณรงค์ให้มีการประหยัดพลังงานกันอย่างแพร่หลาย รวมทั้งอาจเกิดความเสียหายต่อเนื้อโคได้

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

## 1.2 วัตถุประสงค์

การศึกษาการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ และสีของเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัยเพศผู้

## 1.3 ขอบเขตของปัญหา

ศึกษาการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีอิทธิพลต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ และสีของเนื้อสันนอกโค โดยเปรียบเทียบระหว่างกล้ามเนื้อสันนอกโคที่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์กับกล้ามเนื้อสันนอกโคที่ไม่ได้ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จากโคเพศผู้อายุเฉลี่ย 10 ปี จำนวน 17 ตัว

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบปัญหาและอุปสรรคในการยกระดับมาตรฐานความนุ่มของเนื้อโคเพื่อให้เกิดการยอมรับของผู้บริโภค
2. ได้ทราบแนวทางที่จะนำไปปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

## 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

##### 2.1.1.1 ไมโอซิน

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

##### 2.1.1.2 แอคติน

โปรตีนแอคตินมีอยู่ประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนเส้นใยย่อย โมลิกุลของแอคตินจะมีกรดอะมิโน proline ในระดับสูง ซึ่งกรดตัวนี้เนื่องจากมีคุณสมบัติพิเศษจึงทำให้ polypeptide chain ของโมลิกุลแอคตินม้วนตัวเข้าหากันและเกาะกลุ่มเป็นรูปก้อนกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5.5 mm. เรียกว่า G-actin (globular actin) ซึ่งก็คือโมลิกุลอันหนึ่งของโปรตีนแอคติน โมลิกุลของแอคตินนี้จะอยู่เรียงตัวกันเป็นเส้นยาวโดยขบวนการ polymerization และเราเรียกเส้นยาวนี้ว่า F-actin (fibrous actin) โดย F-actin จำนวน 2 เส้นก็จะม้วนตัวเข้าหากันเป็นเกลียวเชือกสร้างลักษณะ superhelix ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของเส้นใยฝอยแอคติน (ชัยณรงค์, 2529)

### 2.1.1.3 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) เป็นส่วนที่จับกับแคลเซียมไอออน
3. โทรโปนิน-ไอ (TnI) เป็นส่วนที่ยับยั้งไม่ให้แอกตินเกาะกับไมโอซิน

โปรตีนเหล่านี้จะพบในกล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อหัวใจของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งเชื่อกันว่าโทรโปไมโอซิน เป็นส่วนหนึ่งของเส้นใยแอกตินและเกี่ยวข้องกับการเกิดแอกโตไมโอซิน มักพบร่วมกับโปรตีนที่เรียกว่าโทรโปนิน โดยมีหน้าที่ควบคุมการจับและปล่อยตัวของแคลเซียมในการหดและคลายตัวของกล้ามเนื้อ จากการรวมตัวกันระหว่างไมโอซินกับแอกตินกลายเป็นแอกโตไมโอซิน ซึ่งเป็นสารเชิงซ้อน โดยมีแคลเซียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และพบว่าเมื่อ แมกนีเซียมเพิ่มขึ้นจะทำให้แอกโตไมโอซินสลายตัวกลับเป็นแอกตินและไมโอซินอีกครั้งซึ่งจะทำให้กล้ามเนื้อคลายตัว

ร่างกายมีกลไกที่สามารถเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของแคลเซียมในซาร์โคพลาสซึมได้อย่างรวดเร็วปกติแคลเซียมถูกเก็บอยู่ในแอ่งที่เก็บของเหลวส่วนปลายของซาร์โคพลาสซึมครีตูลัม เมื่อถูกเร้าโดยคลื่นประสาทจะเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อผนังส่วนปลาย ทำให้แคลเซียมซึมผ่านมาสู่ซาร์โคพลาสซึมได้ เป็นผลให้แอกตินและไมโอซิน มารวมตัวกันเกิดเป็นแอกโตไมโอซิน ครั้นเมื่อสิ่งเร้าคลื่นประสาทหมดไป ผนังแอ่งที่เก็บของเหลวส่วนปลายจะกลับสู่สภาพปกติตามเดิม คือไม่ยอมให้แคลเซียมผ่าน ขณะเดียวกันประจุแคลเซียมที่ตกค้างอยู่ในซาร์โคพลาสซึม ก็ถูกเก็บกลับเข้าไปในซาร์โคพลาสซึมครีตูลัม โดยการเคลื่อนที่แบบกัมมันต์ (active transport) ความเข้มข้นของประจุแคลเซียมในซาร์โคพลาสซึม จึงลดลงถึงระดับที่ทำให้แอกโตไมโอซินสลายตัวกล้ามเนื้อจึงเกิดการคลายตัวขึ้นอีกครั้ง (โสภา, 2538)

บทบาทของ ATP ที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อกลไกการยึดและหดตัวนั้นเนื่องจาก ATP เกี่ยวข้องทั้งในปฏิกิริยาที่มีการรวมตัวและแตกตัวของแอกโตไมโอซินรวมทั้งการรวมตัวของโกลบูลาร์แอกติน ถ้าไม่มี ATP ในกล้ามเนื้อเลยก็จะเกิดการเกร็งตัว (rigor) เช่น การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย (rigor mortis) การยึดกล้ามเนื้อลายขณะคลายตัวจะทำได้ง่ายเพราะแอกตินและไมโอซิน จะไม่มีการเกาะกัน ทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อทั้งสองชนิดสามารถเลื่อนไถลออกจากกันได้ง่าย แต่หากจะยึดกล้ามเนื้อลายขณะหดตัว หรือภายหลังการเร้าคลื่นประสาทให้กล้ามเนื้อหดตัว จะทำได้ลำบากขึ้นเพราะ

แอกตินและไมโอซิน มีการเกาะกัน โดยมี ATP เป็นสื่อกลาง และหากว่ายังต้องการที่จะยึดกล้ามเนื้อลายนี้ให้ได้ จะต้องใช้แรงจำนวนมากเพื่อไปแยกการเชื่อมกันระหว่างแอกตินและไมโอซิน ซึ่งอาจทำให้ซาร์โคเมอร์ฉีกขาดได้ (โสภา, 2538)

#### 2.1.1.4 ไททิน หรือ คอนเนคติน (connectin)

ไททินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30 กิโลดาลตันและเป็นโปรตีนที่มีความยืดหยุ่น (elastic protein) บางครั้งอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าคอนเนคติน ซึ่งไททินหรือคอนเนคตินนี้จะยึดติดอยู่กับแอกติน ในส่วนจุดกึ่งกลางซาร์โคเมอร์ (Z-disk) ไททินจะมีความยาวประมาณ 1.25 ไมครอนและมีหน้าที่ในการยึดและหดตัวของกล้ามเนื้อ รวมทั้งเป็นศูนย์กลางให้เส้นใยไมโอซินยึดติดได้โดยมีลักษณะคล้ายสปริงทั้ง 2 ข้าง เนื่องจากคอนเนคตินมีคุณสมบัติในการมีความยืดหยุ่นสูง ไททินจะสลายตัวไปภายหลังสัตว์ตาย โดยความเร็วในการสลายตัวของไททินจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาเนื้อโคในห้องเย็น (วรวิทย์, 2543)

#### 2.1.1.5 เนบูลิน (nebulin)

เนบูลินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีเส้นใยฝอยขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุล 800 กิโลดาลตัน จะแผ่กระจายบริเวณจุดกึ่งกลางซาร์โคเมอร์ (Z-disk) รวมทั้งจุดสุดท้าย ซึ่งจะเกาะติดกันกับแอกติน ปกติพบว่าเนบูลินจะสลายตัวหลังจากการบ่มซาก 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 โดยอยู่บริเวณรอบจุดกึ่งกลางซาร์โคเมอร์ (Z-disk) และบริเวณจุดที่มีแอกตินและไมโอซินมาเชื่อมต่อกันของเส้นใย โดยเดสมินเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเซลล์ (cytoskeleton protein) รวมทั้งการหดตัวและการสลายตัว เดสมินนี้จะสลายตัวไปภายหลังการบ่มซาก (Koochmarai และคณะ, 1988a)

### 2.1.2 กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อ (mechanism of contraction muscle)

การหดตัวของกล้ามเนื้อต้องอาศัยเส้นใยกล้ามเนื้อ แอกตินและไมโอซินเมื่อเกิดการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อทั้งสองชนิดจะเกิดการคาบเกี่ยวกัน มีลักษณะคล้ายตะขอ (cross-bridges) ของเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยแอกตินจะถูกดึงให้เลื่อนผ่านไมโอซิน เข้าไปทางด้านในและจะทำให้ซาร์โคเมอร์หดตัวสั้นจนเกิดเป็นแรงดึง (tension) ขึ้น ปุ่มหรือตะขอที่ยื่นออกมาจากด้านข้างของไมโอซิน ทำให้เกิดการคาบเกี่ยวกันของตะขอ จะทำงานเป็นจังหวะๆ คือมีการเกี่ยว สลับกันกับการปล่อยจากตะขอรับ

(hook) บนแอกตินตลอดเวลาที่ถูกเร้า บริเวณที่มีการคาบเกี่ยวกันจะเรียกว่า binding site แรงที่เกิดจากการคาบเกี่ยวกันนี้เองทำให้แอกตินถูกดึงให้เลื่อนเข้าสู่กึ่งกลางของแถบมืด เมื่อการหดตัวเต็มที่ Z-line จะเข้าไปแตะกับปลายของไมโอซินทั้งสองข้าง ทำให้ความยาวของแถบมืดมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาของช่วงการหดตัวแต่แถบสว่างจะค่อยๆหายไปและจะไม่พบเมื่อมีการหดตัวเต็มที่ (อมรา และคณะ, 2532)

#### 2.1.2.1 แหล่งพลังงานสำหรับหดตัว

กล้ามเนื้อมีเอนไซม์ครีเอทีนไคเนส (creatine kinase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชัน (rephosphorelation) ของ ADP ในภาวะวิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน (oxidative phosphorelation pathway) ดำเนินไปอย่างปกติ กล้ามเนื้อจะใช้ ATP เป็นแหล่งพลังงานในการหดและคลายตัว แต่ถ้าหากวิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันเกิดขัดข้องกล้ามเนื้อจะดึงพลังงานออกมาจากครีเอทีนฟอสเฟต (creatine phosphate) หรือ CP ครีเอทีนฟอสเฟตจะทำงานโดยเป็นที่สะสมหมู่ฟอสเฟตที่มีพลังงานสูงไว้สำรองใช้ แต่ในขณะที่ปริมาณออกซิเจนที่ได้รับไม่เพียงพอกับความต้องการของกล้ามเนื้อขณะทำงานหนัก (oxygen debt) เมื่อถึงระยะพัก ออกซิเจนที่มาเลี้ยงกล้ามเนื้อจะมีพอที่จะให้วิถีออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน ดำเนินไปอย่างปกติใหม่อีกครั้ง จะทำให้ ATP ถูกสังเคราะห์และมีการเก็บสะสมไว้สำหรับการหดตัวและคลายตัวในครั้งต่อไปและในขณะที่เดียวกัน ATP ส่วนหนึ่ง จะถูกนำไปเปลี่ยนแปลงให้เกิดการเปลี่ยนกลับ (rephosphorelate creatine) ให้กลายเป็นครีเอทีนฟอสเฟตสะสมไว้เช่นกัน

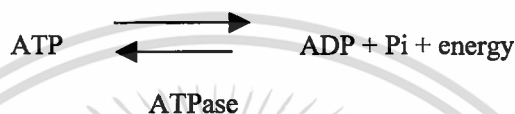
นอกจากกล้ามเนื้อใช้ ATP และครีเอทีนฟอสเฟตแล้วยังสามารถใช้ระบบไกลโคไลซิสสำหรับให้พลังงานในภาวะที่ขาดออกซิเจนจะได้ผลผลิตสุดท้ายนอกจากจะได้ ATP ในปริมาณน้อยแล้วยังจะได้กรดแลคติก อันเนื่องจากการแตกตัวของกลูโคสให้กลายเป็นกรดไพรูวิก โดยไม่ต้องใช้ออกซิเจน ซึ่งจะผ่านเข้าระบบไหลเวียนโลหิตไปยังตับและตับจะทำการเปลี่ยนกรดแลคติกให้เป็นไกลโคเจนได้อีกครั้ง

#### 2.1.2.2 การเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย

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

### 2.1.3.3 ปฏิกริยาและการเปลี่ยนแปลงต่างๆที่เกิดขึ้นภายหลังจากสัตว์ตาย

การเกิดขบวนการไกลโคไลซิสในกล้ามเนื้อภายหลังจากสัตว์ตาย (post-mortem glycolysis) การพยายามคงสภาพของกล้ามเนื้อ จะดำเนินขึ้นทันทีหลังจากจัดเอาเลือดออก เพื่อที่จะพยายามดำรงสภาพต่างๆ เช่นเดียวกับในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ ให้เหมือนเดิมซึ่งต้องอาศัยพลังงานอย่างมาก พลังงานเหล่านี้จะได้ออกมาจากการย่อยสารประกอบ ATP โดยเอนไซม์ ATPase ที่อยู่ในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ดังสมการที่ 1



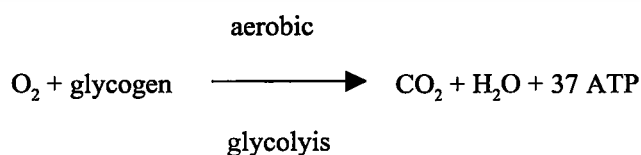
(สมการที่ 1)

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



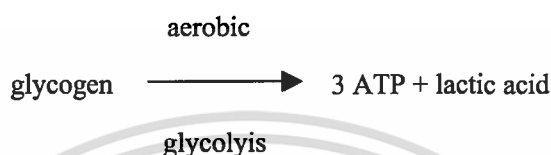
(สมการที่ 2)

ขบวนการนี้เกิดขึ้นในระยะเวลาดสั้นๆ เพราะครีเอทีนฟอสเฟตที่มีปริมาณจำกัดจะถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็ว แต่ไกลโคเจนซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ถูกสะสมไว้ในกล้ามเนื้อจะถูกนำมาย่อยสลายโดยขบวนการที่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้องกับหลายขั้นตอน เพื่อให้เกิดพลังงานขึ้นในรูปแบบของ ATP ออกมาเพื่อทดแทนส่วนที่ถูกใช้ ขบวนการนี้เรียกว่าขบวนการไกลโคไลซิส หากยังมีออกซิเจนในกล้ามเนื้อเพียงพอ ขบวนการนี้ก็จะเกิดขึ้น ดังสมการที่ 3



(สมการที่ 3)

แต่เนื่องจากการขจัดเลือดออกจากกระบวนการฆ่าสัตว์ ดังนั้น ปริมาณของออกซิเจนที่เข้าไปหล่อเลี้ยงกล้ามเนื้อ โดยมีเลือดเป็นตัวกลางในการขนส่งจะลดปริมาณลงอย่างรวดเร็วขบวนการไกลโคไลซิส ซึ่งมีออกซิเจนเข้ามาเกี่ยวข้องนี้จึงเกิดขึ้นไม่ได้อีกต่อไป จึงเป็นผลให้เกิดขบวนการไกลโคไลซิส ซึ่งไม่มีออกซิเจนมาเกี่ยวข้องเกิดขึ้นมาแทนที่ในทันที เพื่อการสร้าง ATP ดังสมการที่ 4



(สมการที่ 4)

ขบวนการสุดท้ายนี้เองที่เรียกว่า ขบวนการไกลโคไลซิสภายหลังสัตว์ตาย (post-mortem glycolysis) จากสมการดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการสลายไกลโคเจนมากขึ้นก็จะได้พลังงานคือ 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 ถ้าปริมาณของไกลโคเจนมีน้อย เนื้อสัตว์ที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงเนื่องจากการผลิตกรดแลคติกออกมาน้อย เนื่องจากเอนไซม์ต่างๆ ที่ใช้ในขบวนการไกลโคไลซิสจะไม่ทำงานเมื่อ pH ต่ำกว่า 5.4 ดังนั้น การสะสมของกรดแลคติกจึงหยุดเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.3-5.7 อัตราความเร็วในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายจะเป็นค่าใด มีหลายปัจจัย เช่น ชนิดของสัตว์และประเภทของมัดกล้ามเนื้อ (Lansdell และคณะ, 1995) นอกจากนี้อาจมีปัจจัยอื่นเช่นการได้รับยาหรือสารเคมีใดๆ ก่อนที่สัตว์จะถูกฆ่า เช่นถ้าสัตว์ได้รับยาระบายประเภทแมกนีเซียมซัลเฟตก่อนถูกฆ่า ขบวนการไกลโคไลซิสภายหลังสัตว์ตายจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ แต่ถ้าได้รับสารประกอบของเกลือแคลเซียมหรือได้รับแอดรีนาลิน (adrenalin) จะทำให้ขบวนการไกลโคไลซิสภายหลังสัตว์ตายเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นต้น รวมทั้งอุณหภูมิหรือสภาพแวดล้อมต่างๆ ก็จะมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายโดยอุณหภูมิที่สูงจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขบวนการไกลโคไลซิสระยะเวลาของขบวนการไกลโคไลซิสจะมีผลต่อเวลาในการบ่มซากรวมทั้งอิทธิพลต่อขบวนการสลายตัวเองโดยเอนไซม์ต่างๆ ดังนั้นในการปรับปรุงความนุ่มควรมีการคำนึงถึงขบวนการไกลโคไลซิสภายหลังสัตว์ตาย

### 2.1.3 การเกิดภาวะการเกร็งตัว

ภาวะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ มีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณ ATP ในกล้ามเนื้อ ในขณะที่สัตว์ถูกฆ่าตายในระยะแรก เส้นใยแอกตินและเส้นใยไมโอซินที่อยู่ในซาร์โคเมอร์ของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดต่างๆ จะถูกคั่นไม่ให้เข้ามาจับกันได้ เพราะปริมาณ ATP ที่อยู่ในไซโตพลาสซึมยังคงมีปริมาณสูง

เมื่อสัตว์ตายปริมาณของ ATP จะค่อยๆ ลดลง และเมื่อปริมาณของ ATP ลดลงจนถึงระดับหนึ่ง เส้นใยแอกตินและเส้นใยไมโอซิน ก็จะเข้ามาจับกันอย่างถาวร เพราะปริมาณของ ATP ที่มีอยู่ไม่เพียงพอที่จะแยกเส้นใยทั้งสองออกจากกันได้ จึงเกิดเป็นสารประกอบแอกโตไมโอซินที่ไม่สามารถจะดึงให้ยืดตัวออกมาได้ ปรากฏการณ์นี้จะเป็นจุดเริ่มต้นของขบวนการที่เรียกว่าการเกิดภาวะการเกร็งตัว ดังนั้น เนื้อของสัตว์ที่ได้ในช่วงนี้ถ้านำไปบริโภคจะรู้สึกว่ายืดเหนียวมาก การเกิดภาวะการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ จะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วเพียงใดขึ้นอยู่กับอัตราการเร็วของการลดลงของค่า pH ในกล้ามเนื้อและจะเกิดได้รวดเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิยิ่งสูง ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิยิ่งสูงขึ้น การเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ ภายหลังสัตว์ตายก็จะเกิดเร็วขึ้นด้วย (วรวิทย์, 2543)

### 2.1.4 การเปลี่ยนแปลงหลังเกิดภาวะการเกร็งตัว

เนื้อสัตว์ที่อยู่ในขณะเกิดภาวะการเกร็งตัว จะมีความเหนียวมาก แต่ในเมื่อผ่านภาวะการเกร็งตัวอย่างสมบูรณ์แล้ว เนื้อนั้นจะนุ่มขึ้น เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงในคุณสมบัติของเซลล์ ซึ่งสารประกอบแอกโตไมโอซินจะค่อยๆ แยกออกจากกันบริเวณ Z-line จะเกิดการเสื่อมสลาย (disintegration) ซึ่งเชื่อว่าเป็นสาเหตุหนึ่งซึ่งทำให้กล้ามเนื้อค่อยๆ อ่อนตัวลงนอกจากนี้ในเส้นใยของกล้ามเนื้อขณะมีชีวิต จะมีสารที่ใช้สลายโปรตีนชนิดหนึ่งเก็บไว้ภายในเซลล์ไลโซโซม เรียกว่า เอนไซม์คาเทพซินส์ (cathepsins) เมื่อสัตว์ตายลงและระดับ pH ของเนื้อสัตว์จะลดลงถึง pH 5.3-5.7 เหมาะสมของการทำงานของคาเทพซินส์ เอนไซม์นี้จะรั่วออกมาจากผนังเซลล์ไลโซโซมและจะทำการสลายโปรตีนและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเส้นใยกล้ามเนื้อ ได้บางส่วนจึงเป็นสาเหตุทำให้เนื้อสัตว์นุ่มขึ้น

## 2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อสัตว์

### 2.2.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องก่อนสัตว์ตาย (Ante-mortem factors)

เป็นปัจจัยที่เกิดขึ้นภายในตัวของสัตว์เอง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

### 2.2.1.1 ชนิดของสัตว์

สัตว์ที่มีขนาดใหญ่เช่น โค-กระบือ จะมีความหนาของกล้ามเนื้อและความเหนียวของเนื้อ มากกว่าสัตว์ที่มีขนาดเล็กเช่น สุกร ไก่

### 2.2.1.2 พันธุ์ของสัตว์

สายพันธุ์ของโคจะให้เนื้อโคที่มีความนุ่มหรือความเหนียวที่ต่างกัน (Koch และคณะ, 1982) เนื้อโคที่เหนียวจะมีค่าแรงตัดผ่านสูงกว่าเนื้อโคที่นุ่มและพบว่าเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดีย (*Bos Indicus*) ที่สูงขึ้น จะมีผลทำให้ค่าแรงตัดผ่านสูงขึ้น เช่น โคสายพันธุ์ Brahman Nellore และ Sahiwal มีเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดีย 50 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่า เนื้อจะมีความเหนียวมากกว่าเนื้อโคสายพันธุ์ Jersey Pinzganer South Devon และ Fried Montese ซึ่งจะมีเปอร์เซ็นต์ของสายเลือดโคอินเดียน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้ จะให้เนื้อที่มีคุณภาพความนุ่มมากกว่าสายพันธุ์อื่น (Crockett และคณะ, 1979) ระดับเลือดของโคสายพันธุ์ *Bos Indicus* มีอิทธิพลอย่างมากต่อการลดลงของความนุ่มและความแตกต่างในด้านความนุ่ม เนื้อโคที่มีระดับเลือด *Bos Indicus* อยู่มากกว่า 25 % จะมีอิทธิพลต่อลักษณะต่างๆ อย่างมาก เช่น ความหนาของกล้ามเนื้อ ทำให้เนื้อที่ได้มีความนุ่มน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับโคจากสายพันธุ์อื่น (Koch และคณะ, 1982)

### 2.2.1.3 สารเร่งเนื้อแดง

การใช้สารอาหารกลุ่ม beta-agonist ผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์จะทำให้เนื้อมีความเหนียวขึ้น ทั้งนี้พบว่ามีผลทำให้เส้นใยกล้ามเนื้อที่มีพื้นที่หน้าตัดใหญ่ขึ้นกว่าปกติ (Morgan และคณะ, 1989) รวมทั้งเอนไซม์ calpastatin ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ calpain จะทำงานได้ดียิ่งขึ้น

### 2.2.1.4 อายุ

ในการพิจารณาอายุสัตว์นี้ จะยึดหลักโดยทั่วไปว่า ยิ่งสัตว์อายุมากก็ยิ่งจะได้เนื้อซึ่งเหนียวมากขึ้นไปเรื่อยๆ (ชัยณรงค์, 2529)

### 2.2.1.5 เพศ

โดยทั่วไปแล้วสัตว์ตัวผู้จะมีปริมาณไขมันแทรกน้อยกว่าสัตว์ตัวเมีย และสัตว์ตัวผู้ตอนจะมีไขมันแทรกสูงกว่าสัตว์ตัวผู้ที่ไม่ตอน เป็นเพราะว่ากล้ามเนื้อของสัตว์ที่มีไขมันแทรกอยู่ระหว่างภายในเซลล์ (intramuscular fat) และไขมันที่อยู่ระหว่างกล้ามเนื้อ (intermuscular fat) ตลอดจนไขมันที่หุ้มซากสูง (subcutaneous fat) จะนุ่มมากกว่าซากที่มีการสะสมไขมันต่ำ ทั้งนี้เนื่องมาจากตัวของไขมันเองซึ่งจะป้องกันการสูญเสียไอน้ำออกจากโปรตีนของเนื้อในระหว่างขบวนการ cooking (จุฑารัตน์, 2540)

### 2.2.1.6 ชนิดของกล้ามเนื้อ

ชนิดของกล้ามเนื้อของสัตว์ในแต่ละส่วนจะมีความนุ่มที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น ถ้ากล้ามเนื้อบริเวณปลายกระดูกเชิงกรานจะมีความนุ่มมากกว่ากล้ามเนื้อบริเวณกลางลำตัว Christensen และคณะ (1991) ได้รายงานเพิ่มเติมว่า กล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* ของโคสายพันธุ์อินเดียจะมีค่าแรงตัดผ่านสูงตามระดับของสายเลือดของโคสายพันธุ์อินเดียที่สูงขึ้น ค่าแรงตัดผ่านเนื้อจากโคสายพันธุ์ *Bos Indicus* ในกล้ามเนื้อ *Longissimus dorsi* จะมีค่าสูงกว่าในกล้ามเนื้อชนิดอื่นๆ ซึ่งหมายความว่า จะมีความนุ่มน้อยกว่าโคชนิดอื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีระดับเลือดของโคสายพันธุ์ *Bos Indicus* ที่สูงขึ้น

### 2.2.1.7 ปริมาณไขมันที่แทรกอยู่ในเส้นใยกล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อสัตว์ส่วนที่มีไขมันแทรกอยู่ในเซลล์ของกล้ามเนื้อ จะทำให้เนื้อมีความนุ่มขึ้นเนื่องจากไขมันที่แทรกอยู่ในระหว่างเซลล์นั้น ทำให้แรงยึดระหว่างเซลล์ของกล้ามเนื้อน้อยลงและไขมันเหล่านี้จะทำหน้าที่หล่อลื่น ในขณะที่เคี้ยวเนื้อ ทำให้เกิดความชุ่มฉ่ำภายในปากและรู้สึกว่ามันนุ่มขึ้น ปริมาณไขมันแทรกในเนื้อจากสัตว์ที่มีอายุมากขึ้นอาจมีความสัมพันธ์กับความนุ่มของเนื้อ แต่ในสัตว์ที่มีอายุน้อยจะมีไขมันแทรกน้อย ปริมาณไขมันแทรกก็จะไม่มีความหมายแต่อย่างใดเลย (ชัยณรงค์, 2529)

### 2.2.1.8 ความเครียดของสัตว์ก่อนถูกฆ่า

การที่สัตว์เครียดก่อนถูกฆ่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายหลังสัตว์ตายและมีผลต่อคุณภาพของเนื้อนอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของไกลโคเจนที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อว่ามีปริมาณมากเพียงใด ถ้าหากมีปริมาณมาก การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อจะลดต่ำลงเนื่องจากการผลิตของกรดแลคติกออกมามาก จะพบว่าปัจจัยในการสะสมไกลโคเจนในเนื้อสัตว์จะเป็นปัจจัยที่สำคัญของค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อ

การลดต่ำลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของกล้ามเนื้อเป็นผลเนื่องมาจากความเครียดพบว่า สัตว์ที่มีความเครียดง่ายมักจะขี้ตื่นและมีรูปร่างค่อนข้างอึดไปด้วยกล้ามเนื้อ เช่น สุกร ซึ่งสัตว์พวกนี้เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่ทำให้เกิดความเครียดต่างๆ จะมีการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกล้ามเนื้อถูกทดลองอย่างรวดเร็วภายใน 1 ชั่วโมง ภายหลังจากสัตว์ตาย ประกอบกับในขณะที่ซากมีอุณหภูมิสูงอยู่แล้ว เนื่องจากมีเมตาบอลิซึม (metabolism) สูง จึงเป็นเหตุให้โปรตีนของกล้ามเนื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพอย่างรุนแรง ทำให้โปรตีนสูญเสียความสามารถในการละลาย ทั้งนี้โปรตีนจะจับตัวกันและเกิดการตกตะกอน ทำให้สูญเสียความสามารถในการจับน้ำ สูญเสียความเข้มข้นของรงควัตถุ ทำให้เนื้อมีสี

ซิด และมีน้ำไหลซึมออกมานอกกล้ามเนื้อรวมทั้งกล้ามเนื้อจะอ่อนตัวจนเป็นลักษณะเหลวหรือที่เราเรียกว่า 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-ด่างของเนื้อเนื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อคุณภาพความนุ่มของเนื้อ ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อภายหลังสัตว์ตายคือ ความเป็นกรด-ด่างในกล้ามเนื้อซึ่งจะเป็นผลทำให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความนุ่มของเนื้อภายหลังสัตว์ตายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Quali, 1984 ; Koohmaraie, 1988 ; Dransfield, 1996) โดยค่าปกติความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตายจะมีความผันแปรระหว่าง 5.4-7.2 ตามเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น การที่เนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อสูง จะมีผลเสียต่อคุณภาพเนื้อเช่น มีสีคล้ำ ถูกแบคทีเรียทำลายได้ง่าย รวมทั้งการสูญเสียความนุ่มกิน

### 2.2.2.2 อุณหภูมิในการเก็บรักษาเนื้อ

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

เนื้อโคเมื่อถูกเก็บไว้ในห้องเย็นภายหลังถูกฆ่า พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างจะลดลงอย่างช้า แต่ถ้าเก็บเนื้อโคภายหลังถูกฆ่าที่อุณหภูมิสูงจะพบว่า membrane-bound lysosomal เอนไซม์จะถูกปล่อยออกมา ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะทำงานได้ดียิ่งขึ้น เพราะเนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงอย่าง

รวดเร็วและอุณหภูมิที่สูงพอเหมาะ ( Koochmaraie และคณะ, 1986 ; Dransfield, 1996 ) กระบวนการเกิดภายหลังการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อที่อุณหภูมิสูงเนื้อจะมีความนุ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของ  $\mu$ -glucuronidase และ cathepsin ซึ่งเป็นเอนไซม์ประเภท lysosomal ทั้งสองชนิดที่ทำงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น ความนุ่มของเนื้อจะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิในช่วงเวลา 2-4 ชั่วโมงแรกภายหลังสัตว์ตาย การเก็บรักษาเนื้อโค ภายใน 3 ชั่วโมงแรกภายหลังสัตว์ตาย ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเนื้อจะมีความนุ่มมากกว่าที่เก็บในอุณหภูมิ 6-10 องศาเซลเซียส

### 2.2.2.3 การทำให้เนื้อสุก

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

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

### 2.2.2.4 เอนไซม์

ความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายของกล้ามเนื้อจะอยู่ที่ค่าประมาณ 5.5 ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังสัตว์ตาย การสูญเสียพลังงาน ATP ในการที่จะดำเนินขบวนการขนถ่ายอิเล็กตรอน ทำให้ lipoprotein membrane จะถูกเปลี่ยนแปลงไปในระหว่างขบวนการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อภายหลังสัตว์ตาย รวมทั้งโปรตีนกลุ่มหลักได้แก่ เดสมีน โทรโปนินที และเป็นส่วนน้อยที่เป็นโปรตีนจำพวก

ไททิน โทรโปนินไอ โทรโปนินซี จะปรากฏหลักฐานที่ส่วนปลายของ แอคตินที่อยู่ใน Z-disk จะเกิดรอยแตกในระหว่างมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังสัตว์ตาย ลักษณะรอยเหล่านี้เป็นส่วนที่อธิบายได้ว่าภายหลังสัตว์ตาย การถูกทำลายของโมเลกุลแอคตินรวมทั้งบริเวณรอย Z-disk การเลือนหายไปของเดสมิน ซึ่งอยู่บริเวณรอบๆ Z-disk จะพบว่าแยกตัวออกตามแนวยาวได้ง่ายขึ้น โดยพบได้ง่ายมากขึ้นเมื่อกล้ามเนื้อได้ผ่านขบวนการบ่มซาก อัตราการสูญเสียของโทรโปนิน ที จะไม่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงบริเวณ Z-disk แต่จะพบความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง สุดท้ายที่ลดลงอย่างรวดเร็ว (Koochmaraie, 1988) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยโปรตีน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม non-lysosomal และ lysosomal รายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อการย่อยโปรตีนและช่วง pH ที่เหมาะสมในการทำงาน ของเอนไซม์

เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ทำให้เอนไซม์ทำงาน
<b>Non-lysosomal</b>	
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 Lysosomal	7.5-10.5
<b>Lysosomal</b>	
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 :Koochmaraie (1990)

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

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

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

ความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ในกล้ามเนื้อเป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการทำงานของเอนไซม์ calpain โดยปกติกล้ามเนื้อในระยะพักจะมีความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  อยู่ในระดับ  $10^{-8}$  M (Dayton และคณะ, 1981) และเมื่อกล้ามเนื้อหดตัว ความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  อยู่ในระดับ  $10^{-7}$  แต่เมื่อภายหลังสัตว์ตาย  $\text{Ca}^{2+}$  จะเพิ่มขึ้นถึงระดับ  $10^{-4}$  ซึ่งจะเพียงพอในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ calpain (Goll และคณะ, 1964) calpastatin เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ calpain โดยทั่วไปการทำงานของเอนไซม์ calpastatin จะถูกทำลายเมื่อประมาณ 3-5 วัน ภายหลังสัตว์ตาย โดยพบว่าเมื่อมีการบ่มซากโคที่ 3 วันและแช่แข็งจะมีเอนไซม์ calpastatin อยู่ในระดับใกล้เคียงกับการบ่มเนื้อโคที่ 6 วัน เนื่องจากเอนไซม์ calpastatin ถูกทำลายไป (Koochmarai, 1996)

Cathepsin เป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในกลุ่ม lysosomal enzyme (Koochmarai, 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 ส่วนแอสตินถูกย่อยสลายได้ที่ pH 5 โดยมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 30-40 kDA

### 2.3 การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับปรุงความนุ่มของเนื้อโค

ภายหลังสัตว์ตาย ผนังซาร์โคพลาสมิกรีติคิวลัมและไมโทคอนเดรีย จะเกิดการเสื่อมสลาย โดยมีเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนที่ต้องอาศัยการกระตุ้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ซึ่งเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า CDP ( $\text{Ca}^{2+}$  dependent protease) เอนไซม์นี้แบ่งได้เป็น 2 รูปแบบ ตามระดับความต้องการ  $\text{Ca}^{2+}$  ในการกระตุ้นคือ calpain-I ต้องการความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ในปริมาณต่ำ คือที่ประมาณ  $10 \mu\text{M}$  และ calpain-II ต้องการความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ในปริมาณสูงคือที่ประมาณ  $250 \mu\text{M}$  จึงจะสามารถทำงานได้เต็มประสิทธิภาพ calpain จะพบที่ไซโทซอลและตำแหน่งที่ถูกย่อยสลายมากที่สุดคือ Z-line

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

เนื่องจากว่า calpain-II เป็นเอนไซม์ที่ต้องการความเข้มข้นของแคลเซียมในการกระตุ้นปฏิกิริยาในปริมาณมาก จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่า calpain-I ซึ่ง calpain-II จะเกิดได้ดีหลังจากเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังสัตว์ตาย เพราะว่าผนังซาร์โคพลาสมิกรีติคิวลัมและไมโทคอนเดรียเสื่อมสภาพ จะหลั่ง  $\text{Ca}^{2+}$  ออกมาซึ่งมีปริมาณมากพอที่จะกระตุ้นการทำงานของ calpain-II โดย calpain-II สามารถทำปฏิกิริยาได้ในสภาพค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำหรือที่ค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายได้ Dransfield (1994) สรุปในเรื่องของขั้นตอนการเกิดความนุ่มของเนื้อที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ calpain และระดับความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ดังนี้

(1) Initiation calpain ที่อยู่ในสภาวะเฉื่อย (innert) จะถูกกระตุ้นด้วยระดับความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  ที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากร่างกายใช้พลังงานจนหมด จึงไม่เกิดการยึดหดตัวอีก ทำให้มีปริมาณ  $\text{Ca}^{2+}$  สะสมในซาร์โคพลาสซึมสูงขึ้น ประกอบกับการเสื่อมสภาพของซาร์โคพลาสมิกรีติคิวลัมและไมโทคอนเดรีย ซึ่งเป็นแหล่งสะสมแคลเซียมในเซลล์กล้ามเนื้อ จึงปล่อย  $\text{Ca}^{2+}$  ออกมามากขึ้น ซึ่งเมื่อระดับที่มากพอที่จะกระตุ้นให้ calpain เริ่มปฏิกิริยาได้ เป็นการเริ่มขบวนการสร้างความนุ่มในเนื้อ

(2) Binding เอนไซม์ calpain ที่ถูกกระตุ้นด้วย  $\text{Ca}^{2+}$  จะถูกยับยั้งการทำงานโดย inhibitor ซึ่งค่า pH ยิ่งคงสูงอยู่ 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 calpastatin เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ย่อยโปรตีน ที่หมู่ thiol ในที่นี้คือเอนไซม์ calpain ซึ่งสามารถทำลายเอนไซม์ calpastatin ได้

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

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

การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เป็นอีกวิธีหนึ่งในการปรับความนุ่มของเนื้อโคได้ โดยการเพิ่ม  $Ca^{2+}$  จากภายนอก (exogenous source) ในการกระตุ้นเอนไซม์ calpain ซึ่งโดยปกติเอนไซม์ calpain โดยเฉพาะอย่างยิ่ง calpain-II จะคงตัวภายหลังสัตว์ตาย  $Ca^{2+}$  ที่ฉีดเข้าสู่กล้ามเนื้อจะทำให้หน้าทีกระตุ้นเอนไซม์ calpain-I และ calpain-II (Koochmarai 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 และพบว่ายิ่งใช้ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มมากขึ้น จะทำให้เกิดความนุ่มของเนื้อโคมากขึ้น ส่วนในด้านรสชาติและความชุ่มฉ่ำของเนื้อโค (Juiciness) พบว่า ถ้ามีการใช้ในปริมาณที่สูงขึ้น ทั้งในด้านความเข้มข้นหรือเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะยิ่งทำให้เนื้อมีกลิ่นและรสชาติไม่พึงประสงค์ (off-flavor) มากขึ้น

กรรมวิธีในการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เพื่อการปรับความนุ่มของเนื้อโคนั้นสามารถทำได้ 2 แบบคือ แบบก่อนการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ (pre-rigor) และหลังการเกิดการเกร็งตัว

ของกล้ามเนื้อ (post-rigor) ซึ่งแบบแรกเหมาะสำหรับการทำร่วมกับการทำชำแหละซากอ่อน (hot-boning) โดยลดขั้นตอนการแช่เย็นซากได้ (Etherington และคณะ, 1987) หรือถ้ากรณีการทำหลังการเกิดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อควรทำร่วมกับการแช่เย็นซากโค และควรฉีดภายในหลังสัตว์ตายภายใน 24 ชั่วโมง จะทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด (Wheeler และคณะ, 1991)

ผลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์พบว่า เนื้อโคจะมีการเปลี่ยนแปลงภายในจุลกายวิภาค ในระหว่างกระบวนการบ่มซากจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ Z-line รวมทั้งมีการสลายของโทรโปนิน ที, ไอ, ซี โปรตีน, แอคโตไมโอซินไททิน, เนบูลิน, เดสมิน, คอลลาเจน และมิวโคโพลีแซคคาไรด์ (Dayton และคณะ, 1975)

#### 2.4 อิทธิพลของแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อคุณภาพเนื้อ

##### 1. ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของเนื้อ

ผลการทดลองของ Calkins และคณะ (2003) ทดลองหมักเนื้อโคด้วยแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 300 mM โดยการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ 10 ml ก่อนแล้วนำไปหมักในสารละลายคลอไรด์อีก 600 ml นาน 24 ชั่วโมง ส่วนกลุ่มควบคุม นำไปบ่มในน้ำธรรมดาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเนื้อทั้ง 2 กลุ่มมีค่า pH ไม่ต่างกันทางสถิติ

##### 2. สีของเนื้อ

การทดลองของ Landell และคณะ (1995) พบว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ 200 mM 5% (wt / wt) ในกล้ามเนื้อสันนอกของโค *Bos indicus* จำนวน 22 ตัว พบว่าแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อค่าสีเนื้อในรูปของค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  จากการเก็บรักษาไว้ 1, 2 และ 3 วัน แต่ในวันที่ 4 พบว่าค่า  $L^*$  ของกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์สูงกว่ากลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) เป็น 44.0 และ 42.3 ตามลำดับในขณะที่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ไม่ต่างกัน การทดลองของ Kerth และคณะ (1995) พบว่าแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อค่าสีเนื้อในรูปของค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  สอดคล้องกับผลการทดลองของ Wheeler และคณะ (1993) พบว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับ 250 mM (wt/wt) ในกล้ามเนื้อส่วน *longissimus* ของโค พบว่าแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อค่าสีเนื้อตลอดช่วงการทดลอง 3 วัน และเช่นเดียวกันกับการทดลองของ Diles และคณะ (1994) พบว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับ 200 mM (wt/wt) ในกล้ามเนื้อโคพบว่าไม่มีอิทธิพลต่อค่า  $L^*$ ,  $a^*$ , และ  $b^*$  ตลอดช่วงการทดลอง 3 วัน

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

##### 3.1.1 สารเคมี

- สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 200 mM

##### 3.1.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ (Digital Balancing)
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือค่า pH และอุณหภูมิ (Knickmodel 651-2)
- เครื่องวัดสี Minolta chromameter
- เครื่องบรรจุถุงสุญญากาศ
- มีด
- เขียง
- ถุงพลาสติกใส
- เข็มฉีดยา
- ปีกเกอร์
- สมุดบันทึกข้อมูล

##### 3.1.3 ตัวอย่าง

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

### 3.2 วิธีการ

การทดลองเปรียบเทียบการใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในกล้ามเนื้อสันนอกโค

#### 1. การวางแผนการวิจัย

แผนการทดลองมีหนึ่งปัจจัยคือ อิทธิพลสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มี 2 ทริทเมนต์ คือ การใช้และไม่ใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ โดยแต่ละทริทเมนต์ใช้ กล้ามเนื้อสันนอกจากโคโตเต็มวัยเพศผู้ 17 ตัว

กลุ่มตัวอย่างได้จากการซื้อกล้ามเนื้อสันนอกของโคโตเต็มวัยเพศผู้ไม่ตอน อายุเฉลี่ยประมาณ 10 ปี โดยทำการซื้อที่โรงฆ่าในเขตหนองจอก เนื้อตัวอย่างที่ซื้อได้มาหลังทำการฆ่าโคไปแล้วประมาณ 6 ชั่วโมง

#### 2. การเตรียมการวิจัย

นำกล้ามเนื้อสันนอกโคที่ได้หลังจากสัตว์ตายประมาณ 6 ชั่วโมง มาทำการละลายเอาไขมันและเยื่อหุ้มต่างๆออกให้หมดเหลือเพียงแต่กล้ามเนื้อล้วนๆ

#### 3. วิธีการวิจัย

3.1 ทำการตัดแบ่งกล้ามเนื้อสันนอกโคออกเป็น 2 ชั้น คือชั้นที่ 1 หาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และอุณหภูมิ (Temperature) ชั้นที่ 2 หาค่าสีของเนื้อวัดในรูปของค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ซึ่งค่า  $L^*$  นี้จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเข้มของแสงจะมีค่า 100 หมายถึงสว่างสุด ถึงค่า 0 หมายถึงดำมืดที่สุด ส่วนค่า  $a^*$  และ  $b^*$  นั้นหมายถึงกลุ่มสี ค่า  $a^*$  จะบ่งบอกถึงสีเขียวและแดง โดยสีเขียวที่สุดจะมีค่า  $a^*$  เท่ากับ  $-60$  และ  $+60$  จะบ่งบอกถึงสีแดงที่สุด ในขณะที่ค่า  $b^*$  จะแสดงถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน โดยค่า  $-60$  หมายถึงสีน้ำเงิน และ  $+60$  หมายถึงสีเหลือง

3.2 การวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างและ อุณหภูมิ นำเนื้อชั้นที่ 1 มาทำการแบ่งออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน ส่วนแรกไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ส่วนที่ 2 ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 250 mM 5% ( wt/wt) จากนั้นทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และ อุณหภูมิ (6 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย) จากนั้นบรรจุเนื้อแต่ชั้นในถุงสุญญากาศแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส แล้วทำการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และ อุณหภูมิ ในชั่วโมงที่ 7, 8, 9, 10, 11, 12 และ 24 หลังสัตว์ตาย

3.3 การวัดค่าสีของเนื้อ วัดในรูปของค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  นำเนื้อชั้นที่ 1 มาทำการแบ่งออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน ส่วนแรกไม่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ส่วนที่ 2 ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 250 mM 5% ( wt/wt) จากนั้นทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปวัดค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$

ณ ชั่วโมงที่ 6 บันทึกค่าสีเนื้อไว้แล้วนำไปบรรจุถุงสุญญากาศ เก็บในอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำมาวัดค่า สี อีกครั้งแล้วบันทึกค่าสีเนื้อ ชั่วโมงที่ 24 หลังสัต์ว์ตาย

### 3.3 การบันทึกผล

3.3.1 บันทึกน้ำหนักตัวอย่างเนื้อที่ต้องการทดสอบ โดยชั่งน้ำหนักก่อนเริ่มต้นทดลอง เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาตรที่ต้องฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

3.3.2 บันทึกค่าความเป็นกรดเป็นด่างและอุณหภูมิ ในชิ้นส่วนต่างๆของโคที่ต้องการทดสอบในชั่วโมงที่ 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 และ 24 หลังสัต์ว์ตายตามลำดับ

3.3.3 บันทึกในรูปของค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ในชิ้นส่วนต่างๆของโคที่ต้องการทดสอบในชั่วโมงที่ 6 และ 24 หลังสัต์ว์ตายตามลำดับ

### 3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทริตเมนต์โดยใช้ t-test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป ( SAS, 1988 )

### 3.5 สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถนนฉลองกรุง แขวงลำประทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

### 3.6 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย

เริ่มดำเนินการตั้งแต่เดือน มีนาคมพ.ศ.2545 ถึงเดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546

ขั้นตอนการดำเนินงาน	มีนาคม พ.ศ.2545 ถึงเดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546											
	มี. ค.	เม. ย.	พ. ค.	มิ. .ย.	ก. ค.	ส. ค.	ก. ย.	ต. ค.	พ. ย.	ธ. ค.	ม. ค.	ก. พ.
1.ศึกษาเนื้อหาเรื่องสารละลาย แคลเซียมคลอไรด์	↔											
2.ศึกษาเนื้อหาเรื่องกลัมน้ำแข็ง	↔											
3.จัดทำโครงร่างปัญหาพิเศษ		↔										
4.ปรับปรุงโครงร่างปัญหาพิเศษ			↔									
5.จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์และสถานที่ ทดลอง			↔									
6.ทำการทดลอง ทริตเมนต์ที่ 1 ซึ่งนำหนักของเนื้อ ตัวอย่าง ไม่ฉีดสารละลายแคลเซียม คลอไรด์ ทริตเมนต์ที่ 2 ซึ่งนำหนักของเนื้อ ตัวอย่างแล้วฉีดสารละลายแคลเซียม คลอไรด์				↔								
7.เก็บรวบรวมข้อมูล						↔						
8.นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ								↔				
9.จัดทำรูปเล่มปัญหาพิเศษ										↔		
10.ปรับปรุงแก้ไขทั้งหมด											↔	
11.นำเสนอผลงาน												↔

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การศึกษาอิทธิพลของการใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อกล้ามเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัย โดยการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์เข้ากล้ามเนื้อสันนอกโคโตเต็มวัยในปริมาณ 5% (wt/wt) ณ ชั่วโมงที่ 6 ภายหลังจากสัตว์ตาย หลังจากนั้นนำเนื้อมาวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ และสีของเนื้อโคว่ามีความแตกต่างกันอย่างไร

#### 4.1 อิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

พบว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ มีผลทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเมื่อวัดที่ชั่วโมงที่ 6, 7, 8 และ 10 ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อวัดที่ชั่วโมงที่ 9 ( $P < 0.01$ ) ส่วนผลการวัดที่ชั่วโมงที่ 11 นั้นพบว่าเนื้อที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดที่ระดับ  $P < 0.10$  และเมื่อวัดที่ชั่วโมงที่ 12 และ 24 พบว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่างไม่ต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 2

ผลการทดลองของ Calkins และคณะ (2003) ทดลองหมักเนื้อโคด้วยแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 300 mM โดยการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ 10 ml ก่อนแล้วนำไปหมักในสารละลายคลอไรด์อีก 600 ml นาน 24 ชั่วโมง ส่วนกลุ่มควบคุมนำไปหมักในน้ำธรรมดาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเนื้อทั้ง 2 กลุ่มมีค่า pH ไม่ต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 2 อิทธิพลของ  $\text{CaCl}_2$  ที่มีต่อค่า pH ของเนื้อโค

ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)	ควบคุม	$\text{CaCl}_2$	P>T
ชั่วโมงที่ (หลังสัตว์ตาย)			
6	5.94	5.74	0.029
7	5.93	5.77	0.045
8	5.90	5.72	0.032
9	5.87	5.70	0.003
10	5.77	5.62	0.017
11	5.71	5.59	0.071
12	5.69	5.60	0.134
24	5.68	5.63	0.234

#### 4.2 อิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อ อุณหภูมิ ของเนื้อโคโตเต็มวัย

การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ไม่มีอิทธิพลต่ออุณหภูมิของเนื้อ โดยพบว่าเนื้อที่ได้รับการฉีดและไม่ได้รับการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ มีอุณหภูมิไม่ต่างกันทางสถิติเลยในการวัดเปรียบเทียบกันทุกครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อิทธิพลของ  $\text{CaCl}_2$  ที่มีต่ออุณหภูมิของเนื้อโค

อุณหภูมิของเนื้อโค (T) ชั่วโมงที่ (หลังสัตว์ตาย)	ควบคุม	$\text{CaCl}_2$	$P>T$
6	19.53	19.76	0.866
7	17.62	18.13	0.657
8	16.99	17.23	0.804
9	16.38	19.93	0.539
10	16.42	16.32	0.901
11	15.10	15.29	0.824
12	14.86	15.32	0.594
24	11.02	11.23	0.893

#### 4.3 อิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อ สีของเนื้อโค

พบว่า การฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ณ ชั่วโมงที่ 6 ไม่มีอิทธิพลต่อสีของเนื้อเมื่อวัดที่ ชั่วโมงที่ 6 ( ประมาณ 5 นาทีหลังฉีด ) โดยพบว่าค่า  $L^*$  เป็น 26.5 และ 26.82 ค่า  $a^*$  เป็น 16.03 และ 16.18 ค่า  $b^*$  เป็น -1.99 และ -2.21 สำหรับเนื้อที่ฉีดและไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ตามลำดับ ส่วนผลการวัดสีเนื้อที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตายพบว่า ค่า  $L^*$  ของเนื้อที่ฉีดและไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ไม่ต่างกันทางสถิติ เป็น 30.14 และ 31.85 แต่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ของกลุ่มที่ฉีดจะต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P<0.01$ ) โดยค่า  $a^*$  เป็น 17.75 และ 20.07 ค่า  $b^*$  เป็น -0.26 และ 1.14 สำหรับกลุ่มที่ฉีดและไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

ผลการทดลองครั้งนี้ขัดแย้งกับผลการทดลองส่วนใหญ่ที่ศึกษาถึง อิทธิพลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีต่อสีเนื้อ โดยพบว่าผลจากการวัดสีเนื้อหลังฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ภายใน 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ได้พบว่าสีของเนื้อทั้งในรูปของค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ไม่ต่างกันทางสถิติเลย ดังผลการทดลองของ Landell และคณะ (1995) พบว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ 200 mM 5% (wt / wt) ในกล้ามเนื้อสันนอกของโค *Bos indicus* จำนวน 22 ตัว พบว่าแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อค่าสีเนื้อในรูปของค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  จากการเก็บรักษาไว้ 1, 2 และ 3 วัน แต่ในวันที่ 4 พบว่าค่า  $L^*$  ของกลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์สูงกว่ากลุ่มควบคุม ( $P<0.05$ ) เป็น 44.0 และ 42.3 ตามลำดับ ในขณะที่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ไม่ต่างกัน การทดลองของ Kertth และคณะ (1995) พบว่าแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพล

ต่อค่าสีเนื้อในรูปของค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  สอดคล้องกับผลการทดลองของ Wheeler และคณะ(1993) พบว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับ 250 mM (wt/wt) ในกล้ามเนื้อส่วน *longissimus* ของโค พบว่าแคลเซียมคลอไรด์ไม่มีอิทธิพลต่อค่าสีเนื้อตลอดช่วงการทดลอง 3 วัน และเช่นเดียวกันกับการทดลองของ Diles และคณะ (1994) พบว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับ 200 mM (wt/wt) ในกล้ามเนื้อโค พบว่าไม่มีอิทธิพลต่อค่า  $L^*$ ,  $a^*$ , และ  $b^*$  ตลอดช่วงการทดลอง 3 วัน

ตารางที่ 4 อิทธิพลของ  $\text{CaCl}_2$  ที่มีต่อสีของเนื้อโค

ลักษณะที่ศึกษา	ควบคุม	$\text{CaCl}_2$	P>T
วัดที่ 6 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย			
$L^*$	26.50	26.82	0.808
$a^*$	16.18	16.03	0.831
$b^*$	-2.21	-1.99	0.603
วัดที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย			
$L^*$	30.14	31.85	0.218
$a^*$	20.07	17.75	0.006
$b^*$	1.14	-0.26	0.002

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่าง พบว่าเนื้อที่วัดในชั่วโมงที่ 6, 7, 8 และ 10 นั้น กลุ่มที่ไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และชั่วโมงที่ 9 กลุ่มที่ไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ส่วนชั่วโมงที่ 11, 12 และ 24 พบว่าไม่ต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ฉีดและไม่ฉีดแคลเซียมคลอไรด์ แต่กลุ่มที่ไม่ฉีดยังมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ฉีดเช่นกัน

การศึกษาผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่ออุณหภูมิของเนื้อโคโตเต็มวัย พบว่าไม่ต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

การศึกษาผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อสีของเนื้อโคโตเต็มวัย พบว่าสีของเนื้อที่วัดในชั่วโมงที่ 6 ไม่ต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ฉีดและไม่ฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ส่วนสีของเนื้อที่วัดในชั่วโมงที่ 24 พบว่าค่า  $L^*$  ไม่ต่างกันทางสถิติ แต่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ของกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ( $P < 0.01$ ) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการฉีดแคลเซียมคลอไรด์ทำให้สีของเนื้อซีดลง โดยสังเกตจากค่า  $a^*$  และค่า  $b^*$  ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมมาก

## บรรณานุกรม

- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2540. การจัดการโรงฆ่าสัตว์. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 260 น.
- ชัยณรงค์ คันธพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 276 น.
- วรวิทย์ พันธุ์เมธีศรี. 2543. การใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในการปรับความนุ่มของเนื้อโค. วิทยานิพนธ์. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 134 น.
- โสภา ดอนดี. 2538. เอกสารประกอบคำสอน. สรีรวิทยาทางสัตวแพทย์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร. 64 น.
- อมรา มลิลลาและคณะ. 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.
- Crockett, J. R., F. S. Baker, Jr., J. W. Carpenter and M. Koger. 1979. Prewearing, feedlot and carcass characteristics of calves sired by Continental, Brahman and Brahman-derivative sires in subtropical Florida. J. Anim. Sci. 49:900.
- 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 Injettion and Aging Period Effects on Tenderness , Sensory and retail colour attributes of Lion Steaks from Masture Cows. J. Anim. Sci. 72. pp. 2017-2021.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Dransfield, E. 1994. "Optimisation of Tenderisation , Aging and Tenderness." Meat Sci. 36. pp. 105-121.
- Dransfield, E. 1996. "troponin-I Preparation and Physiological Function." J. Biochem. 64. pp. 465-472.
- Etherington, D. J., M. A. Taylor and E. Dransfield. 1987. "Relationship between Tenderising and the Levels of Cathepsin-B Cathepsin-L Cathepsin-I Cathepsin-II and Beta-Gluconicase." 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 Strength on Bovine m-Calpain and Calpastin Activity." J. Anim. Sci. 71. pp. 96-104.
- Kerth, C. R., M. F. Miller, and C. R. Ramsey. 1995. Improvement of beef tenderness and quality traits with calcium chloride injection in beef loins 48 hours postmortem. J. Anim. Sci. 73: 750-756.
- 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. "Effect of Low-Calcium-Requirement 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<sup>++</sup> Dependent Proteases." J. Food Sci. 53. pp. 1638-1641.
- Landsdell, T. L. 1995. "Postmortem Injection of Calcium Chloride 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 Strength of Mg-Ca-Enhanced ATPase Activity as an Index of Myofibrillar Ageing in Beef." Meat Sci. 11. pp. 79-88.
- 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., I. D. Crouse, and M. Koohmaraie. 1992. The effect of postmortem time of injection and freezing on the effectiveness of calcium chloride for improving beef tenderness. J. Anim. Sci. 70:3451.

- Wheeler, T. L., and M. F. Miller. 1993. Calcium Injection. Proc. Recip. Meat Conf. University of Nebraska, Lincoln. Pp. 81-82.
- Whipple, G., and Koochmariaie.1992. Freezing and calcium chloride marination effects on beef tenderness and calpastatin activity. Journal of Animal Science, 70, 3081-3085.
- Calkins, Jerez, and Velazco. 2003. Glycolytic Inhibition in Pre-rigor Muscle. An Alternative Method to Improve Beef Tenderness. www. Ianr. unl. Edu/ pubs/ beef/ report/ mp71-29.htm



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้