บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

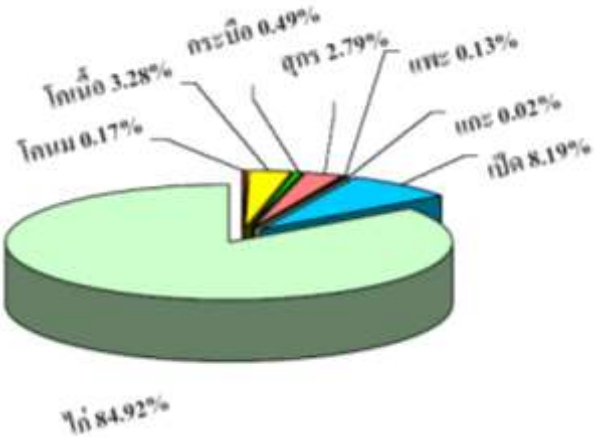
แพะจัดว่าเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย แต่ยังมีรูปแบบการเลี้ยง การปรับปรุงพันธุ์ ตลอดจนความนิยมในการบริโภคน้อยกว่าสัตว์เศรษฐกิจอื่น ๆ เช่น ไก่ และ สุกร การเลี้ยงในปัจจุบันยังไม่พัฒนาให้เป็นเชิงพาณิชย์มากนัก ส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบหลังบ้าน โดยเป็นแบบผูกล่าม และ แบบปล่อยอิสระ แต่อย่างไรก็ตามคาดว่าการเลี้ยงแพะมีแนวโน้มที่จะได้รับการพัฒนาเพื่อที่จะสามารถเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้น เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคสนใจเรื่องของสุขภาพมากขึ้น จึงมีการเลือกบริโภคแหล่งโปรตีนที่คาดว่าจะก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพ โดยเลือกแหล่งอาหารโปรตีนสูงที่มีปริมาณไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำ ดังนั้นผู้บริโภคจึงอาจจะหันมาบริโภคเนื้อแพะเพิ่มขึ้นเนื่องจากเป็นเนื้อที่มีไขมันและคอเลสเตอรอลซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือดน้อยกว่าในเนื้อสัตว์ชนิดอื่น (ไชยวรรณ, 2551) การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแพะยังมีอยู่ค่อนข้างน้อย ดังนั้น เพื่อรองรับความต้องการของตลาดที่คาดว่าจะเพิ่มขึ้นจึงต้องมีการพัฒนาและส่งเสริมให้มีการเลี้ยงแพะให้มากขึ้น จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาวิจัยโดยเฉพาะที่เกี่ยวกับคุณภาพเนื้อแพะที่มีการศึกษาอยู่น้อย

การวิจัยในครั้งนี้ มุ่งที่จะศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อแพะซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการตัดสินใจเลือกซื้อของผู้บริโภค อีกทั้งยังเป็นปัจจัยสำคัญต่อราคาของเนื้อแพะอีกด้วย กล่าวคือผู้บริโภคนิยมที่จะเลือกซื้อเนื้อที่มีความนุ่มถึงแม้จะมีราคาแพงกว่าก็ตาม ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อภายหลังขบวนการฆ่าแล้ว คือเอ็นไซม์ ซึ่งยังคงทำงานอยู่ภายหลังสัตว์ตายและสามารถย่อยโปรตีนในเนื้อได้ โดยเฉพาะกลุ่มของเอ็นไซม์ calpains ดังนั้น การวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาถึงการทำงานของเอ็นไซม์กลุ่มนี้ที่อยู่ในเนื้อแพะโดยมีสมมติฐานว่ากล้ามเนื้อต่างชนิดกันอาจมีคุณสมบัติทางชีวะเคมีรวมทั้งปริมาณและชนิดของเอ็นไซม์ โดยเฉพาะเอ็นไซม์ calpains ที่ต่างกันซึ่งอาจมีอิทธิพลทำให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีนภายหลังสัตว์ ซึ่งจะเป็นผลทำให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้น ตลอดจนศึกษาถึงอิทธิพลของการบ่มที่มีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ calpain ในเนื้อแพะ โดยผลจากการทดลองครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงคุณภาพเนื้อแพะได้ต่อไป

1.2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

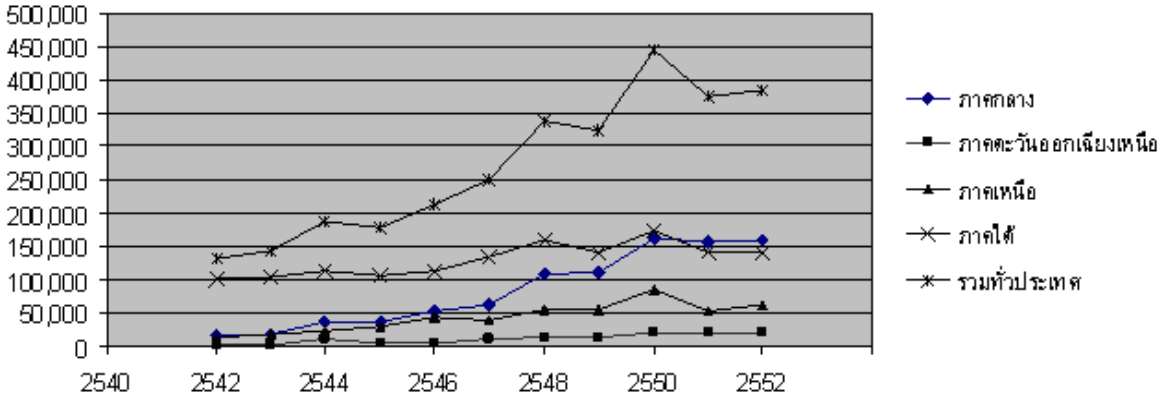
1.2.1 ปริมาณการเลี้ยงแพะในประเทศไทย

สัตว์ที่มีการเลี้ยงมากที่สุดในประเทศไทยคือสัตว์ปีก โดยเฉพาะไก่ที่มีมากถึง 85 เปอร์เซ็นต์ และ เป็ดประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มสัตว์ใหญ่ที่มีการเลี้ยงมาก 5 อันดับแรก คือ โคเนื้อ สุกร กระบือ โคนม และแพะ (ดังภาพที่ 1) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าแพะค่อนข้างมีความสำคัญต่อวงการปศุสัตว์ของประเทศไทย จากประมวลสถิติของกรมปศุสัตว์พบว่า ปริมาณการเลี้ยงแพะเนื้อมากกว่าแพะนม โดยในปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยมีปริมาณแพะเนื้อ 344,516 ตัว ส่วนแพะนม 29,513 ตัว การเลี้ยงแพะในประเทศไทยในระยะสิบปีที่ผ่านมา คือระหว่าง พ.ศ. 2542 - 2552 นั้นพบว่าจำนวนประชากรแพะทั่วประเทศเพิ่มขึ้นอย่างมากจาก 132,845 ตัวในปี พ.ศ. 2542 เป็น 383,796 ตัว ในปี พ.ศ. 2552 โดยมีการเพิ่มขึ้นในทุกภาคของประเทศ ภาคใต้มีการเลี้ยงแพะมากที่สุดและพบว่าตั้งแต่จากปีพ.ศ. 2550 เป็นต้นมาปริมาณการเลี้ยงแพะในภาคกลางเพิ่มขึ้นมาเท่ากับภาคใต้ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 สัดส่วนจำนวนปศุสัตว์ในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2551

ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2553)



ภาพที่ 2 จำนวนการเลี้ยงแพะในประเทศไทยในภาคต่างๆระหว่างปี พ.ศ. 2542-2552

ที่มา : กรมปศุสัตว์ (2553)

1.2.2 คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อแพะ

เนื้อแพะมีโปรตีนสูง แต่ให้พลังงานต่ำ ทั้งยังมีปริมาณไขมันรวม ปริมาณไขมันอิ่มตัว และคอเลสเตอรอลน้อยกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ ดังในตารางที่ 1 ดังนั้นเนื้อแพะจึงเหมาะสำหรับผู้บริโภคคำนึงถึงสุขภาพเป็นสำคัญ โดยเฉพาะเรื่องของไขมันในอาหารที่อาจก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพตามมา เช่น โรคอ้วน หรือ ไขมันอุดตันในเส้นเลือด เป็นต้น นอกจากนี้เนื้อแพะยังมีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่น อีกทั้งยังมีปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) ใกล้เคียงกับเนื้อโคและเนื้อแกะ (ตารางที่ 2) ดังนั้นคาดว่าเนื้อแพะน่าจะได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากในปัจจุบันนั้นผู้บริโภคคำนึงถึงสุขภาพมากขึ้น

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของโภชนะในเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ

โภชนะ (เนื้อปรุงสุก 100 ก)	แพะ	ไก่	โค	หมู	แกะ
แคลอรี (กิโลแคลอรี)	143	165	208	252	290
ไขมัน (ก)	3.03	3.57	11.07	14.28	21.12
ไขมัน (Saturated) (ก)	0.93	1.01	4.07	5.25	9.08
โปรตีน (ก)	75	85	84	96	93
คอเลสเตอรอล (มก)	27.1	31	25.05	28.88	23.27
ธาตุเหล็ก (มก)	3.73	1.04	1.66	1.05	1.4

ที่มา : USDA Nutrient Database for Standard Reference (2004)

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดอะมิโนในเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ

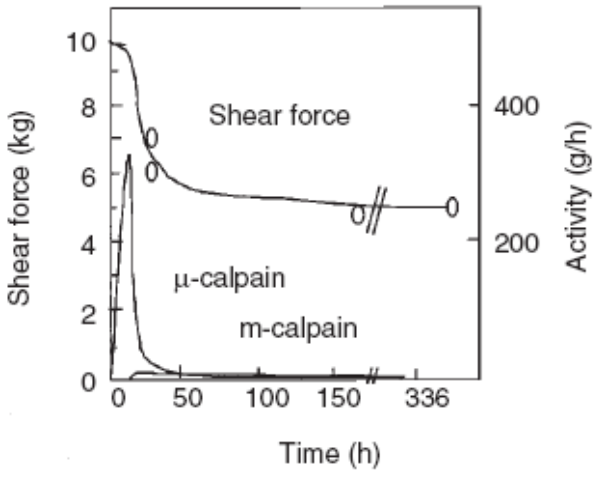
กรดอะมิโน (ก/100 ก)	แพะ	โค	แกะ
Tryptophan	0.306	0.14	0.234
Threonine	0.981	0.849	0.855
Isoleucine	1.042	0.967	0.964
Leucine	1.716	1.691	1.554
Lysine	1.532	1.797	1.765
Methionine	0.552	0.554	0.513
Cystine	0.245	0.274	0.239
Phenylalanine	0.715	0.84	0.814
Tyrosine	0.633	0.677	0.672
Valine	1.103	1.055	1.078
Arginine	1.512	1.375	1.187
Histidine	0.429	0.678	0.633

ที่มา : USDA Nutrient Database for Standard Reference (2010)

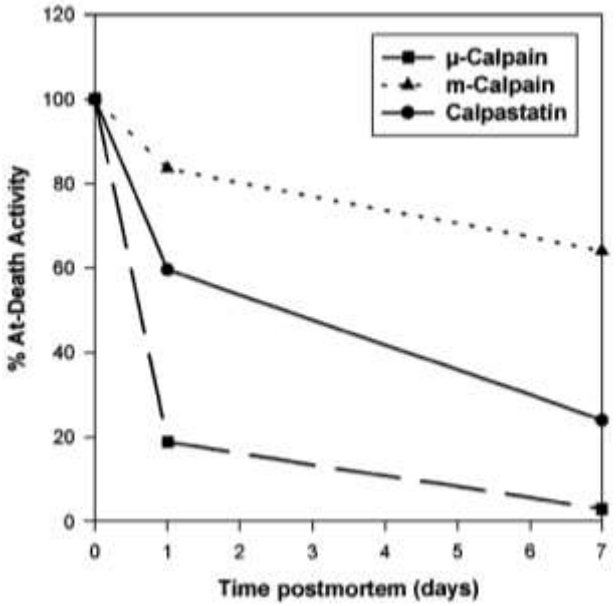
1.2.3 ความสำคัญของเอ็นไซม์ calpains ต่อความนุ่มของเนื้อ

เอ็นไซม์ Calpains จะทำงานเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+} และทำปฏิกิริยาได้ดีในสภาพเป็นกลาง calpain จะมีอยู่ 2 รูปคือ calpain 2 (m – calpain) จะถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+}ปริมาณสูง (1 - 2 mM) และ calpain 1 (μ - calpain) จะถูกกระตุ้นด้วย Ca^{2+}ปริมาณต่ำ (50 - 100 μM) เอ็นไซม์นี้จะอยู่บริเวณ z - line การทำงานของ calpain จะทำให้เกิดการแตกหักของ tropomyosin และ titin (connectin) โดยหลังจากการทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนแล้วเอ็นไซม์ calpain จะเกิดการสลายตัว (autolysis)

หลังจากสัตว์ตายแล้ว เมื่อ ATP ถูกใช้จนหมด จากนั้นกระบวนการ rigor mortis จะเริ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้ ผนังของซาร์โคพลาสมิกเรติคิวลัมและไมโตคอนเดรียไม่สามารถเก็บ Ca^{2+}ไว้ได้ ทำให้ Ca^{2+} ถูกปล่อยออกสู่ซาร์โคพลาสซึม และ ไปท่วมไมโอไฟบริล (Jeacocke, 1993) ซึ่งปริมาณของ Ca^{2+}ที่เพิ่มขึ้นนี้เองจะไปกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ calpains มีรายงานผลการทดลองว่า calpain 1 มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มขึ้นหลังการบ่มซากไว้มากกว่า calpain 2 โดยปกติเอ็นไซม์กลุ่มนี้เมื่อทำการย่อยสลายโปรตีนแล้วจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง ซึ่งวัดได้จากการลดลงของ activity นั่นเอง จากผลการทดลองของ te Pas et al. (2004) พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงในระหว่าง 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย สอดคล้องกับการลดลงของ calpain 1 activity ในช่วงเวลาเดียวกัน ในขณะที่ calpain 2 activity ที่ค่อนข้างต่ำและลดลงน้อยมากในช่วง 50 ชั่วโมงแรกหลังสัตว์ตาย (ภาพที่ 3) Boehm et al. (1998) พบว่า calpain 1 และ calpastatin มี activity ลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังสัตว์ตาย จากการศึกษาในกล้ามเนื้อสันนอกช่วงอกและกล้ามเนื้อสันในของโคพบว่า calpain 1 activity ลดลง 71 และ 93 เปอร์เซ็นต์ และ calpastatin ลดลง 76 และ 71 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ calpain 2 มี activity ลดลงเพียง 9 และ 27 เปอร์เซ็นต์ที่ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์ calpain activity และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ
ที่มา : te Pas et al. (2004)



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 (μ - calpain) calpain 2 (m – calpain) และ calpastatin ของกล้ามเนื้อ *Semimembranosus* ของโคในระหว่างการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 2 - 4 องศาเซลเซียส

ที่มา : Boehm et al. (1998)

1.2.4 การศึกษา activity ของ เอ็นไซม์ calpains ด้วยวิธีไซโมกราฟ

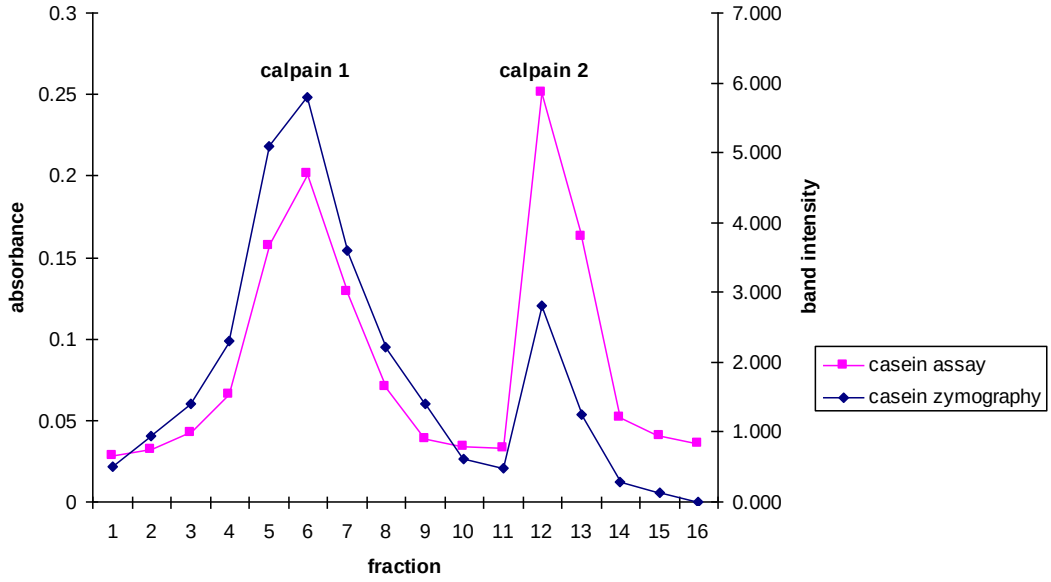
การศึกษา activity ของ เอ็นไซม์ calpains ด้วยวิธีไซโมกราฟ นั้นนับว่าเป็นวิธีที่ประหยัดทั้งเวลาและต้นทุนในการวิเคราะห์ เมื่อเปรียบเทียบกับการวัด activity ของเอ็นไซม์ calpains แบบดั้งเดิมที่ต้องทำการแยกเอ็นไซม์ให้บริสุทธิ์ก่อน โดยต้องแยกทั้ง calpain 1 calpain 2 และ calpastatin ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ calpains ด้วย ซึ่งมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและใช้เวลาค่อนข้างนาน ผลการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ว่าทั้งวิธีไซโมกราฟและแบบดั้งเดิมนั้นมีความสัมพันธ์กัน ดังผลการศึกษาของ Sensky et al. (1999) ที่ทำการแยกชนิดของเอ็นไซม์ calpain ออกจากกันด้วยเครื่อง anion-exchange liquid chromatography เมื่อนำเอา fraction ที่แยกออกมาไปทำ Western blot โดยใช้แอนติบอดีของ calpain 1 และ calpain 2 เป็นตัวทดสอบ พบว่า fraction ที่แยกออกมาก่อนทำปฏิกิริยากับ anti - calpain 1 ส่วน fraction ที่แยกออกมาทีหลังทำปฏิกิริยากับ anti - calpain 2 จึงสรุปได้ว่า calpain 1 จะถูกแยกออกมาก่อน calpain 2

Chaosap (2010) นำ fraction ที่ได้จากการแยกด้วยเครื่อง anion-exchange liquid chromatography มาทำทดสอบ activity ของเอ็นไซม์ calpains พบว่า calpain 1 จะอยู่ในตำแหน่งที่สูงกว่า calpain 2 ใน casein gel ดังภาพที่ 5 ซึ่งสอดคล้องกับ Arther and Mykles (2000), Veiseth et al. (2001) และ Camou et al. (2007) จากการศึกษาของ Chaosap (2010) ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับของ activity ของทั้งเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ด้วยวิธี casein

zymography และวิธีการดั้งเดิมที่วัดจากการย่อยเคซีนด้วยเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ตามวิธีการของ Higgins et al. (1988) นั้นพบว่า แต่ละ fraction ที่แยกออกมามีระดับของปฏิกิริยา calpain 1 และ calpain 2 ที่สอดคล้องกัน (ภาพที่ 6) จึงสรุปได้ว่าการศึกษา activity ของ calpains นั้นสามารถใช้วิธี casein zymography มาทำการทดสอบได้

ภาพที่ 5 Casein Zymography ของ fraction ที่ผ่านการแยกด้วยเครื่อง anion-exchange liquid chromatography

ที่มา : Chaosap (2010)



ภาพที่ 6 ระดับของ calpain activity เปรียบระหว่าง casein assay และ casein zymography

ที่มา : Chaosap (2010)

1.2.5 การบ่มซาก (ageing)

โรงฆ่าสัตว์ที่ได้มาตรฐานนั้น หลังจากการฆ่าและชำแหละซากแล้วจะมีการแช่ซากในห้องเย็นอุณหภูมิประมาณ 3 องศาเซลเซียสทันที เพื่อเป็นการลดอุณหภูมิจากประมาณ 38 องศาเซลเซียสเป็น 10 องศาเซลเซียส และแช่เย็นซากไว้อย่างนี้ประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อให้กระบวนการหดเกร็งตัว

ของกล้ามเนื้อเป็นไปอย่างสมบูรณ์ แล้วจึงนำไปตัดแต่งเพื่อส่งตลาดต่อไป การแช่เย็นนี้นอกจากจะทำให้การหดเกร็งตัวของเนื้อเป็นไปอย่างสมบูรณ์แล้ว ยังเป็นการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อีกทั้งทำให้ง่ายในการตัดแต่งซากอีกด้วย การบ่มซากที่ต้องการให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้นนั้นจะต้องมีระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นไปอีก ระยะเวลาในการบ่มซากสัตว์แต่ละชนิดก็ไม่เท่ากัน เช่น ในสุกรจะใช้ระยะเวลาการบ่มสั้นกว่าโค โดยสุกรใช้ระยะเวลาในการบ่มซากที่อุณหภูมิ 1 - 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วันก็เพียงพอ ในขณะที่โคอาจต้องบ่มซากนานถึง 8 - 14 วัน (ตารางที่ 3 และ ตารางที่ 4)

การบ่มซากมีผลทำให้เนื้อนุ่มขึ้น เนื่องจากการบ่มซากนั้นทำให้เนื้อมีอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมกับการทำงานของเอ็นไซม์ calpains ที่อยู่ในเนื้อ โดยหลังจากที่ผ่านกระบวนการหดเกร็งตัวของกล้ามเนื้อแล้ว แคลเซียมที่อยู่ในเอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมจะเกิดการรั่วไหลออกมาสู่ซาร์โคพลาสซึม ปริมาณแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นนี้เองจะไปกระตุ้นการทำงานของ เอ็นไซม์ calpains โดยเฉพาะอย่างยิ่ง calpain 1 ทำให้เกิดการย่อยสลายเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นผลให้เนื้อนุ่มขึ้น

ตารางที่ 3 อัตราความนุ่มของเนื้อของสัตว์แต่ละชนิดเมื่อบ่มซากไว้ที่ 1 องศาเซลเซียส

ชนิดสัตว์	จำนวนวันในการบ่มเนื้อ จนมีความนุ่ม 80 เปอร์เซ็นต์ของความนุ่มสูงสุด
โค	10.0
กระต่าย	9.5
แกะ	7.7
สุกร	4.2
ไก่	0.3

ที่มา : Warris (2000)

ตารางที่ 4 จำนวนวันที่เหมาะสมในการบ่มซากเพื่อให้เนื้อนุ่ม

ชนิดสัตว์	จำนวนวันที่ควรทำการบ่มซาก
สุกร	4-10
แกะ	7-14
โค	10-21

ที่มา : Warris (2000)

1.2.6 การศึกษาเกี่ยวกับแพะ

1.2.6.1 อัตราการเจริญเติบโตและคุณภาพซาก

ผลการศึกษาในเรื่องของสมรรถภาพการเจริญเติบโตและคุณซากเปรียบเทียบระหว่างแพะพันธุ์ลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียน และ พันธุ์พื้นเมืองเพศผู้ของ สาธิต และคณะ (2553) พบว่าแพะ

ลูกผสมพื้นเมืองและแองโกลนูเบียนมีการกินอาหารทั้งอาหารหยาบและอาหารข้นสูงกว่าแพะพื้นเมือง ($P<0.05$; ตารางที่ 5) น้ำหนักหลังสิ้นสุดการทดลองสูงกว่า ($P<0.05$) และมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงกว่า ($P<0.05$) ในขณะที่มีค่าอัตราการแลกเนื้อ (feed conversion ratio) ต่ำกว่า ($P<0.05$) ส่วนในเรื่องของคุณภาพซากพบว่าแพะลูกผสมมีน้ำหนักซาก เปอร์เซ็นต์ซาก และ พื้นที่หน้าตัดเนื้อสันใหญ่กว่าพันธุ์พื้นเมือง ($P<0.05$) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์เนื้อแดงและเปอร์เซ็นต์ไขมันในซากไม่ต่างกันทางสถิติ Pralomkarn และคณะ (1995) รายงานว่าแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียน 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์มีโครงร่างใหญ่กว่าและน้ำหนักตัวมากกว่าพันธุ์พื้นเมืองแต่เปอร์เซ็นต์ซากไม่ต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 5 ปริมาณการกินอาหาร และอัตราการเจริญเติบโตของแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกล-นูเบียนเปรียบเทียบกับแพะพื้นเมือง

ลักษณะที่ศึกษา	ลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียน	พื้นเมือง
สมรรถภาพการเจริญเติบโต		
ปริมาณการกินอาหาร (ก/ตัว/วัน)		
อาหารข้น	349.99 ± 21.90^{ก}	296.76 ± 19.35^{ข}
อาหารหยาบ	938.45 ± 138.23^{ก}	754.34 ± 132.47^{ข}
รวมปริมาณการกินทั้งหมด	1288.43 ± 150.23^{ก}	1051.12 ± 146.54^{ข}
นน.เริ่มต้น (กก.)	16.45 ± 2.38^{ก}	15.52 ± 1.33^{ข}
นน.สิ้นสุดการทดลอง (กก.)	30.18 ± 4.46^{ก}	25.69 ± 2.28^{ข}
อัตราการเจริญเติบโต อายุ 0-180 วัน (ก./วัน)	72.47 ± 16.85^{ก}	56.85 ± 9.70^{ข}
อัตราการแลกเนื้อ อายุ 0-180 วัน	10.51 ± 1.41^{ก}	13.73 ± 0.47^{ข}
คุณภาพซาก		
นน.ซากร้อน (กก.)	14.51 ± 2.27^{ก}	11.89 ± 1.31^{ข}
นน.ซากเย็น (กก.)	13.75 ± 2.82^{ก}	10.75 ± 1.37^{ข}
เปอร์เซ็นต์ซาก	51.06 ± 1.28	50.72 ± 1.96
พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน ($ซม^2$)	10.49 ± 0.39^{ก}	8.64 ± 0.30^{ข}
เปอร์เซ็นต์เนื้อแดง	69.99 ± 0.94	70.38 ± 0.81
เปอร์เซ็นต์ไขมัน	6.88 ± 1.76	7.03 ± 1.39

ที่มา : ดัดแปลงจาก สาธิต และคณะ (2553)

$^{ก ข}$ อักษรต่างกันในแถวเดียวต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

1.2.6.2 คุณภาพเนื้อ

ลักษณะทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อแพะ เฉลิมขวัญ และคณะ (2552) ศึกษาถึงอิทธิพลของพันธุ์และวิธีการเลี้ยงแพะ โดยเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พื้นเมืองกับลูกผสมพื้นเมือง

กับแองโกลนูเบียน ที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลาโดยให้กินหญ้าอย่างเต็มที่ กับ แบบกึ่งขังคอกคือปล่อยในแปลงหญ้าและเข้าคอกตอนเย็น โดยทั้งสองกลุ่มได้รับอาหารข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์และวิธีการเลี้ยงมีผลต่อระดับของคอเลสเตอรอลโดยพันธุ์ลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลา มีคอเลสเตอรอลสูงที่สุด รองลงมาคือแพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนที่เลี้ยงแบบกึ่งขังคอก และแพะพื้นเมืองที่เลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลา ส่วนแพะพื้นเมืองที่เลี้ยงแบบกึ่งขังคอกมีระดับคอลเรสเตอรอลต่ำที่สุด ($P < 0.05$) แพะพื้นเมืองมีปริมาณคอลลาเจนกว่าลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนในขณะเดียวกันก็มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อของกล้ามเนื้อสันนอกสูงกว่าด้วย การเลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลาเนื้อสันนอกแพะมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นและโปรตีนสูงกว่าแบบกึ่งขังคอก ($P<0.05$) แพะลูกผสมพื้นเมืองกับแองโกลนูเบียนมีเปอร์เซ็นต์ไขมันในเนื้อสันนอกสูงกว่าแพะพื้นเมือง ($P < 0.05$; ตารางที่ 6) นอกจากนี้ เฉลิมขวัญ และคณะ (2552) ยังรายงานว่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จัดว่าดีต่อสุขภาพโดยเฉพาะลิโนเลอิก (C18:2) นั้นพบว่ามีในแพะพันธุ์พื้นเมืองสูงกว่าแพะลูกผสม และยังพบว่าการเลี้ยงแบบขังคอกตลอดเวลามีลิโนเลอิกมากกว่าการแบบกึ่งขังคอก รวมทั้งพบอิทธิพลร่วมระหว่างวิธีการเลี้ยงและพันธุ์แพะอีกด้วย ($P < 0.05$) Casey (1992) รายงานว่าเนื้อแพะมีปริมาณคอลลาเจน 5 มก/ก ของเนื้อ และมีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้อยู่ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด ปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อแพะที่มีค่าต่ำกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่นดังรายงานของ USDA Park และคณะ (1991) พบว่ากล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสะโพกของแพะมีปริมาณคอเลสเตอรอลต่างกันคือ 57.80 และ 69.50 มก./100 ก ตามลำดับ Beserra และคณะ (2004) รายงานการเพิ่มขึ้นของคอเลสเตอรอลตามอายุของแพะโดยพบว่าแพะที่อายุ 4-6 เดือนมีปริมาณคอเลสเตอรอล 20.5 - 28.5 มก/100 ก แต่ที่อายุมากขึ้นมีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงขึ้นเป็น 52 - 74 มก/100 ก

การศึกษาในเรื่องคุณภาพของเนื้อแพะในเรื่องของความนุ่ม ลักษณะทางกายภาพ ตลอดจนเรื่องขององค์ประกอบทางเคมีนั้นมีค่อนข้างมาก แต่ในเรื่องของการศึกษาถึงเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายโปรตีนในเนื้อซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อ โดยเฉพาะเอ็นไซม์ calpains นั้นยังไม่มีการศึกษามากนักโดยเฉพาะในประเทศไทย ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างที่จะได้มีการศึกษาในเรื่องนี้เพื่อที่จะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อแพะในประเทศต่อไป

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์แพะและระบบการเลี้ยงที่มีต่อคุณลักษณะและส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อแพะ

Item	TI		TI x AN		Level of significant		
	Intensive	Semi-intensive	Intensive	Semi-intensive	A	B	A x B
Longissimus dorsi							
L*	34.4±5.05	34.3±3.48	37.4±3.88	37.2±6.23	ns	ns	ns
a*	13.2±3.92	11.5±2.08	10.9±1.99	11.4±1.83	ns	ns	ns
b*	12.3±5.98	11.3±4.44	10.6±4.20	10.2±3.34	ns	ns	ns
Cooking loss (%)	36.0±2.28	37.9±3.55	35.7±3.20	36.4±3.34	ns	ns	ns
Shear force values (kg)	2.84±0.47	3.05±0.63	2.43±0.32	2.47±0.17	*	ns	ns
Moisture (%)	76.1±0.35	74.6±0.87	75.4±0.48	74.6±0.66	ns	*	ns
Protein (%)	22.1±0.54	23.1±0.95	22.1±0.37	23.0±0.74	ns	*	ns
Fat (%)	0.90±0.08	0.90±0.03	1.32±0.11	1.39±0.21	*	ns	ns
Ash (%)	1.24±0.00[b]	1.38±0.06[a]	1.25±0.04b	1.29±0.07[b]	ns	*	*
Total collagen (mg/g muscle)	6.39±0.58	8.69±0.16	4.95±0.55	7.69±0.31	*	*	ns
Soluble collagen (% of total collagen)	36.9±0.48	35.8±0.78	35.4±1.00	35.7±0.84	ns	ns	ns
Cholesterol (mg/100g)	26.77±0.00[c]	27.17±0.00[c]	35.82±0.00[a]	27.79±0.00[b]	*	*	*
Biceps femoris							
L*	34.0±3.37	37.7±5.26	34.5±6.04	33.2±3.24	ns	ns	ns
a*	12.1±2.09	12.8±2.43	12.7±2.73	14.3±4.05	ns	ns	ns
b*	10.1±3.78	10.9±5.04	10.5±4.39	12.3±6.87	ns	ns	ns
Cooking loss (%)	38.1±1.09	38.9±1.82	37.9±3.40	36.7±5.85	ns	ns	ns
Shear force values (kg)	5.13±0.21[ab]	5.67±1.32[a]	4.42±0.66[b]	5.32±0.45[ab]	ns	ns	*
Moisture (%)	76.2±0.63	76.2±0.81	75.3±0.46	75.0±1.39	*	ns	ns
Protein (%)	21.3±0.69	21.4±0.78	22.3±0.45	22.7±1.22	*	ns	ns
Fat (%)	1.01±0.06	1.16±0.17	1.02±0.10	1.14±0.18	ns	ns	ns
Ash (%)	1.29±0.13	1.22±0.08	1.30±0.06	1.42±0.06	*	ns	ns
Total collagen (mg/g muscle)	8.01±0.09[b]	8.99±0.34[a]	5.77±0.26[c]	8.59±0.29[a]	*	*	*
Soluble collagen (% of total collagen)	37.8±0.21	37.4±0.59	37.7±0.31	37.8±0.29	ns	ns	ns
Cholesterol (mg/100g)	26.6±0.00[c]	27.8±0.00[a]	25.3±0.00[d]	27.2±0.00[b]	*	*	*
Number of goat	6	6	6	6	-	-	-

TI = Thai Native, TI x AN = Thai Native x Anglonubian (50:50%)
A = Breeds, B = Rearing System, A x B = Breeds x Rearing System
* = $p<0.05$, ns = non significance
[abcd] Mean within row with differing superscripts are significant differences between breeds and rearing systems

ที่มา : เฉลิมขวัญ และคณะ (2552)

1.3 วัตถุประสงค์

1. วิเคราะห์หาเอ็นไซม์ calpain activity ในกล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันใน

2. ตรวจสอบค่าแรงตัดผ่านในกล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในที่ระยะเวลาภายใน 1 วันหลังสัตว์ตาย และที่บ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

3. หาความสัมพันธ์ระหว่างเอ็นไซม์ calpain activity และความนุ่มของเนื้อ

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ จะทำการศึกษาเอ็นไซม์ calpain activity ในกล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอก และกล้ามเนื้อสันในของแพะลูกผสม เพศเมีย จำนวน 4 ตัว สำหรับการวิเคราะห์หาเอ็นไซม์ calpain activity ทำการเก็บตัวอย่างที่ระยะไม่เกิน 1 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย และ หลังการบ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน ด้วยเทคนิค casein zymography ส่วนการวิเคราะห์หาค่าแรงตัดผ่านเนื้อนั้นทำการศึกษาในกล้ามเนื้อทั้ง 3 ชนิด และใน 2 ระยะเวลาการบ่มเนื้อ คือที่ระยะเวลาภายใน 1 วันหลังสัตว์ตาย และที่บ่มเนื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป
2. บริการความรู้แก่ประชาชน
3. บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจ
4. นำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์
5. สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

เกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ กรมปศุสัตว์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม

1.6 ระยะเวลาและสถานที่ในการทำวิจัย

1.5.1 ระยะเวลาในการทำวิจัยครั้งนี้ ตั้งแต่ ตุลาคม พ.ศ. 2553 – เมษายน พ.ศ. 2554

1.5.2 สถานที่ในการทำวิจัย มี ดังนี้

สถานที่ทำการทดลองคือห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์เกษตร และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร-การผลิตสัตว์ ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทที่ 2

เนื้อเรื่อง

2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1.1 ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย การเก็บข้อมูล

การวิจัยแบ่งออกเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้เป็นกล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอกและกล้ามเนื้อสันในของแพะลูกผสม เพศเมีย จำนวน 4 ตัว น้ำหนักมีชีวิตประมาณ 25-30 กก. โดยใช้แพะที่โตเต็มวัย อายุมากกว่า 2 ปี โดยทำการเก็บตัวอย่างที่โรงฆ่าแพะ เขตทุ่งครุ กรุงเทพมหานคร เมื่อแพะถูกฆ่าและชำแหละแล้ว เก็บตัวอย่างดังกล่าวภายใน 1 ชั่วโมงหลังฆ่าแล้วแช่ในไนโตรเจนเหลวจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์หา calpain activity ต่อไป ส่วนตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์หาค่าแรงตัดผ่านเนื้อนั้นทำการห่อด้วยพลาสติกใส ใส่ลงในกล่อมโฟมที่มีน้ำแข็ง แล้วนำมาบรรจุในถุงสุญญากาศ (vacuum) บ่มที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส จนถึงครบ 1 วัน และ 7 วัน เมื่อครบเวลาการบ่มจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่อไป

สารเคมี และ อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. สารเคมี

1.1 Extraction buffer

50 mM Tris/HCl pH 7.5

5 mM EDTA

added the following proteinase inhibitors before use

200 µg/ml AEBSF (20 mg/ml stock solution)

1 µg/ml leupeptin (5 mg/ml stock solution)

1 µg/ml pepstatin (5 mg/ml stock solution)

1.2 Gel sample buffer

2 ml glycerol

1.25 ml 1 M Tris/HCl

1 ml 1 M DTT (from a 0.154 g/ml solution)

make to 10 ml with distilled water

add few grains of Bromophenol blue

1.3 Casein solution

10 mg/ml casein in 0.75 M Tris-HCl, pH 8.8

for 0.75 M Tris-HCl take 3.75 mls of 2 M Tris/HCl pH 8.8 plus 6.25 mls H_2O

1.4 Gel solutions

- เตรียม 40% acrylamide ในอัตราส่วน 75:1 ของ Acrylamide:Bis ถ้าต้องการเตรียม 10 ml จะต้องใช้ 5 ml of 40% (w/v) Acrylamide/Bis-acrylamide solution 37.5:1 ผสมกับ 5 ml of 40% (w/v) Acrylamide solution

- 2M Tris-HCl, pH 8.8

- 1M Tris-HCl, pH 6.8

- Ammonium Persulphate (Sigma, UK)

- N,N,N',N' tetramethylethylenediamine (Sigma, UK)

1.5 Electrophoresis buffer (5 x stock):

125 mM Tris base

625 mM glycine

5mM EDTA

pH 8.3

จากนั้นละลายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1x ก่อนใช้และเติม 1mM DTT 0.154g/ml solution (1 mM DTT 500µl ต่อ buffer 500ml) และต้องทำให้เย็นก่อนนำไปใช้โดยแช่ไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

1.6 Ca^{2+} incubation buffer

50 mM Tris/HCl pH 7.0

5 mM $CaCl_2$

10 mM DTT

1.7 Fixing solution

10% (v/v) acetic acid

1.8 Staining solution

0.2% (w/v) coomassie blue, 0.2% (w/v) amido black, 10% (v/v) acetic acid)

1.9 Destain solution

10% (v/v) acetic acid

1.10 การเตรียม non reducing gel

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

2. อุปกรณ์

2.1 การวัด calpain activity

1) ชุดอิเลคโตรโฟรีซิส (Biorad, USA)

2) Scanner Epson Perfection V700 Photo

3) Software Quantity One (Biorad, USA)

2.2 การวิเคราะห์หาค่าความนุ่มของเนื้อ

1) เครื่อง Hounsfield S-Series

2) มีด และเขียง

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การวัด calpain activity

1.1 การสกัดโปรตีน

ทำการสกัดโปรตีนจากตัวอย่างกล้ามเนื้อไหล่ (IF, Infraspinatus) สันนอก (LD, Longissimus dorsi) และ สันใน (PM, Psoas major) ที่เก็บทันทีหลังสัตว์ตายและที่ผ่านการบ่มไว้ 7 วันแล้วเก็บไว้ที่ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส โดยชั่งเนื้อตัวอย่าง 1 ก. แล้วเติม extraction buffer ลง

ไป 3 มล. นำไปปั่นด้วยเครื่อง Homogenizer (Ika, Germany) ที่ความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centurion , UK) ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เก็บสารละลายส่วนใส 200 µl และเติม sample buffer 200 µl ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัด calpain activity ด้วยวิธี casein zymography ทันที เก็บสารละลายส่วนใส 20 µl ผสมกับ 0.1 M NaOH 900 µl จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C ก่อนนำไปวัดความเข้มข้นของโปรตีนต่อไป

1.2 การทำอิเลคโตรโฟรีซิส แบบ Native PAGE

ทำการแยกเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 โดยการทำอิเลคโตรโฟรีซิส แบบ Native PAGE ด้วยเครื่องแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า รุ่น Mini-Protein Tetra Cell (Biorad, USA) ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก (Arther and Mykle, 2000) ใช้เจลชั้นล่าง (separating gel) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และเจลชั้นบน (stacking gel) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ดังวิธีการเตรียมใน ข้อ 1.10 นำส่วนใสที่ได้จากการสกัดโปรตีนของตัวอย่างเนื้อแพะผสมกับ loading buffer ในอัตราส่วน 1 : 2 ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ประมาณ 30 วินาที ก่อนนำไปใส่ลงในหลุม (well) บนเจล

ก่อนใส่ตัวอย่างลงไปในเจล จะต้องทำการ pre run ก่อนเป็นเวลา 30 นาที โดยเจลอยู่ในชุดอิเล็กโตรโฟริซีสที่มี running buffer อยู่และต้องทำการใส่เครื่องแยกโปรตีนลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งหล่อเย็นตลอดเวลา จากนั้นต่อขั้วบวก (Anode) เข้ากับ Chamber ล่างและขั้วลบ (Cathod) เข้ากับ Chamber บน และเปิดสวิทช์ของเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า โดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 125 โวทย์ เมื่อครบ 30 นาทีแล้วปิดสวิทช์ก่อนแล้วใช้ไมโครปิเปตค่อยๆ ใส่ตัวอย่าง 6 ไมโครลิตรลงไปในเจล แล้วทำการ run ต่อโดยใช้ไฟที่ความต่างศักย์คงที่ 125 โวทย์ ประมาณ 4 ชั่วโมง หรือหลังจากเห็น Bromophenol blue หลุดออกจากเจลให้ run ต่อไปอีกประมาณ 1 ชั่วโมง

จากนั้นนำเจลไปแช่ใน Ca^{2+} incubation buffer โดยเปลี่ยน buffer 3 ครั้งทุกๆ 10 นาที แล้วแช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องจนครบ 1 คืน แล้วนำเจลมาแช่ใน Fixing solution เป็นเวลา 20 นาที นำไปย้อมสีด้วย Staining solution เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างด้วย 10 % Acetic acid จนกระทั่งมองเห็นแถบสว่างอย่างชัดเจนซึ่งแถบสว่างนี้เกิดจากเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ย่อยสลายเคซีนที่อยู่ในเจล

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

1.3 การวัดความเข้มข้นของโปรตีน

วัดความเข้มข้นของโปรตีนด้วยเทคนิค Lowry โดยแต่ละตัวอย่างทำการวัด 2 ซ้ำ นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่เจือจางของ Bovine serum albumin (BSA; Sigma, UK) ด้วย 0.1 M NaOH ให้มีความเข้มข้น ระหว่าง 0 – 90 ไมโครกรัม จากนั้นปิเปต 50 ไมโครลิตรของสารละลายมาตรฐาน ตัวอย่างที่เจือจางด้วย 0.1 M NaOH จนมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงเดียวกับสารละลายมาตรฐาน และใช้ 0.1 M NaOH เป็น blank ลงในหลุมของไมโครเพลท แล้วเติม solution 1 ลงไป 50 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน (solution 1 ประกอบด้วย 5 ml of 2%(w/v) Na_2CO_3 in 0.1 M NaOH, 0.5 ml 1%(w/v) $CuSO_4$, 0.5 ml KNaTartate) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาทีแล้วเติม solution 2 ลงไป 50 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน (solution 2 ประกอบด้วย 5 ml 0.1 M NaOH, 0.5 ml Folin Ciocalteu reagent) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Elisa (Tecan Sunrise, UK) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของ BSA ไปสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวณหาสมการถดถอยเชิงเส้น $Y = aX \pm b$ โดยค่า Y เป็นค่าการดูดกลืนแสงและค่า X เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย BSA จากนั้นทำการคำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนตัวอย่างโดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นของกราฟมาตรฐาน

2. การวิเคราะห์หาความนุ่มของเนื้อ

1) ตัดชิ้นเนื้อส่วนกล้ามเนื้อไหล่ สันนอก และสันใน เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดประมาณ 2 x 3 นิ้ว หนา 1 นิ้ว

2) นำก้อนเนื้อบรรจุในถุงสูญญากาศ แล้วนำไปต้มด้วยเครื่อง Water Bath (Memmert WB-14, Germany) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 30 นาที

3) จากนั้นนำถุงพลาสติกที่บรรจุเนื้อไปทำให้เย็นจนเท่าอุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำไหลผ่านถุงพลาสติกที่บรรจุเนื้อประมาณ 2 ชั่วโมง

4) นำเนื้อที่เย็นแล้วมาทำการตัดตามความยาวของเส้นใยกล้ามเนื้อโดยมีขนาดพื้นที่หน้าตัด 1 ตารางเซนติเมตรและยาวประมาณ 1 นิ้ว แล้วนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ การโดยตัดขวางตามเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเครื่อง Texture Analyser (Hounsfield, UK)

2.1.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1) ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9 โดยทำการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ calpains และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ซึ่งมี 2 ปัจจัย คือ ชนิดของกล้ามเนื้อที่มีอยู่ 3 ชนิดคือ กล้ามเนื้อไหล่ กล้ามเนื้อสันนอก และ กล้ามเนื้อสันใน และปัจจัยที่ 2 คือระยะเวลาการบ่มเนื้อ มี 2 ระยะคือที่ระยะเวลาภายใน 1 วันหลังสัตว์ตาย และที่บ่มเนื้อไว้ที่

อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน โดยใช้แบบหุ่นเชิงเส้นตรงทั่วไป (General Linear Model) ซึ่งมีแบบหุ่นทางสถิติ ดังนี้

$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$

Y_{ijk} = ลักษณะที่ศึกษา

μ = ค่าเฉลี่ยรวมที่เกิดขึ้นกับทุก ๆ ค่าสังเกต

A_i = อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อที่ i (i = 1, 2, 3)

B_j = อิทธิพลของการบ่มเนื้อ ที่ j (j = 1, 2)

AB_{ij} = อิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อ ที่ i การบ่มเนื้อ ที่ j

e_{ijk} = ความคลาดเคลื่อนรวมที่วัดไม่ได้

ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (LSMeans) ของปัจจัยต่างๆ โดยใช้ PDIFF (SAS, 2000)

2) วิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของเอ็นไซม์ calpains และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยใช้ Pearson correlation ในโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9

2.2 ผลการวิจัยและวิจารณ์

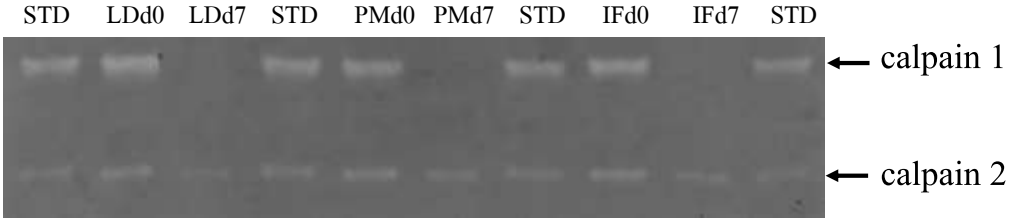
2.2.1 การทำงานของเอ็นไซม์ calpains

ผลการศึกษาการทำงานของเอ็นไซม์ calpains ดังภาพที่ 7 พบว่าอิทธิพลของชนิดกล้ามเนื้อมีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ calpain 1 แต่ไม่มีผลต่อเอ็นไซม์ calpain 2 โดยพบว่า IF และ LD มีระดับของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 สูงกว่า PM ($P < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาของ Gheisari et al (2007) ที่ศึกษาในแพะเพศผู้พันธุ์พื้นเมืองของประเทศอิหร่านพบว่า activity ของเอ็นไซม์ calpain ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกล้ามเนื้อ Triceps brachii Longissimus dorsi และ Biceps femoris ($P < 0.05$) Nagaraj et al (2002) รายงานความแตกต่างของ calpastatin activity ซึ่งเป็น calpain inhibitor ว่ามีความแตกต่างกันระหว่างกล้ามเนื้อต่างชนิดกันซึ่งอาจเป็นผลทำให้กล้ามเนื้อแต่ละชนิดมีอัตราการย่อยสลายตัวของโปรตีนต่างกันเป็นผลทำให้มีความนุ่มแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Woodward et al (2000)

การทดลองครั้งนี้พบว่าระยะเวลาการบ่มซากมีผลต่อระดับ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 มากกว่า calpain 2 โดยพบว่าหลังบ่มซากไว้ 7 วัน ระดับ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 เหลืออยู่ไม่ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) ในขณะที่ ระดับ activity ของเอ็นไซม์ calpain 2 ยังคงเหลืออยู่ถึงประมาณ 48 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) ซึ่งสอดคล้องกับ Nagaraj et al (2002) ทดลองบ่มเนื้อแพะไว้เป็นเวลา 20 วัน พบว่าระดับ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 ลดลงมากกว่า calpain 2 คือ 85 และ 34 เปอร์เซ็นต์สำหรับ LD กล้ามเนื้อสะโพก 3 ชนิดคือ Bicep femoris (BF) Semimembranosus (SM)

และ Semitendinosus (ST) เป็น 98 และ 40 เปอร์เซ็นต์สำหรับ BF เป็น 96 และ 42 เปอร์เซ็นต์สำหรับ SM และ 98 และ 31 เปอร์เซ็นต์สำหรับ ST ตามลำดับ โดย calpain 1 activity ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หลังการบ่มซากไว้ 3 วัน ส่วน calpain 2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หลังการบ่มซากไว้ 6 วัน Nagaraj and Santhanam (2006) ทดลองเก็บเนื้อแพะที่เก็บไว้ที่อุณภูมิ 27 องศาเซลเซียสเป็นเวลาต่างๆ กัน พบว่า หลังจากเก็บเนื้อไว้ 24 ชั่วโมง calpain 1 activity มากกว่า calpain 2 activity โดยเป็น 21 และ 18 เปอร์เซ็นต์สำหรับ LD เป็น 39 และ 16 เปอร์เซ็นต์สำหรับ BF เป็น 53 และ 31 เปอร์เซ็นต์สำหรับ SM และ 38 และ 18 เปอร์เซ็นต์สำหรับ ST ตามลำดับ Koohmaraie (1992) รายงานว่า calpain 1 ทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนหลังสัตว์ตายทำให้ความนุ่มของเนื้อเพิ่มขึ้น โดยหลังจากการทำงานของเอ็นไซม์ calpain แล้วนั้นระดับของ activity จะลดลงเนื่องจากเกิดการย่อยสลายตนเอง Boehm et al. (1998) และ te Pas et al. (2004) รายงานการลดลงของ calpain 1 activity อย่างมีนัยสำคัญตามระยะเวลาการบ่มเนื้อ อีกทั้งพบว่า activity ของ calpain 1 ลดลงมากกว่า calapin 2 ซึ่งแสดงว่า calpain 1 ทำงานในการย่อยสลายโปรตีนในเส้นใยกล้ามเนื้อมากกว่า calpain 2 นั่นเอง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้

การศึกษาครั้งนี้พบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มซากนั้นมีผลต่อ calpain 1 activity โดยพบว่าตัวอย่างกล้ามเนื้อไหล่ และกล้ามเนื้อสันนอกที่เก็บหลังสัตว์ตายทันที มี calpain 1 activity สูงกว่ากล้ามเนื้อสันในที่เก็บตัวอย่างในเวลาเดียวกัน ($P < 0.05$) และพบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างของกล้ามเนื้อทั้ง 3 ชนิดที่ไม่ผ่านการบ่มซากมีระดับ calpain 1 activity สูงกว่าเนื้อกลุ่มที่บ่มซากไว้ 7 วัน ($P < 0.05$) ดังตารางที่ 7



ภาพที่ 7 ไซโมแกรมของ activity ของ เอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ของกล้ามเนื้อไหล่ (IF) กล้ามเนื้อสันนอก (LD) และกล้ามเนื้อสันใน (PM) ที่เก็บตัวอย่างทันทีหลังสัตว์ตาย (d0) และที่ผ่านการบ่มเนื้อไว้ 7 วัน (d7) ในแต่ละเจลมีตัวอย่างมาตรฐาน (STD) เพื่อใช้ในการเทียบระหว่างเจล

2.2.2 ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าชนิดของกล้ามเนื้อมีอิทธิพลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยกล้ามเนื้อสันนอกมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่ากล้ามเนื้อไหล่และกล้ามเนื้อสันใน ($P < 0.05$; ตารางที่ 7) เฉลิมขวัญและคณะ (2552) รายงานว่ากล้ามเนื้อสันนอก และกล้ามเนื้อสะโพก (Bicep femoris) ของแพะเพศผู้

อายุประมาณ 12-13 เดือน น้ำหนักมีชีวิตเฉลี่ย 16 กก. ที่ผ่านการเลี้ยงแบบกึ่งขังคอกมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็น 3.05 และ 5.67 กก. ตามลำดับ สำหรับแพะพื้นเมืองไทย และ 2.47 และ 5.32 กก. ตามลำดับ สำหรับแพะลูกผสมพื้นเมืองและแองโกลนูเบียน ซึ่งเนื้อสันนอกมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ต่ำกว่าผลการทดลองครั้งนี้เป็นอย่างมากซึ่งอาจเนื่องมาจากพันธุ์ เพศ รวมทั้งอายุของสัตว์ที่ต่างกัน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Werdi et al (2004) ที่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อของแพะพันธุ์บอร์เพศผู้ตอนที่มีน้ำหนักมีชีวิตเพิ่มขึ้นจะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงขึ้นตามไปด้วย โดยพบว่าแพะที่น้ำหนักตัว 5 กกมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าแพะที่มีน้ำหนักตัวตั้ง 15 กกขึ้นไป ($P < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของค่าแรงตัดผ่านเนื้อในแพะที่มีน้ำหนักตัวตั้งแต่ 15 ถึง 105 กก. Arguello et al. (2005) พบว่าลูกแพะที่น้ำหนักมีชีวิต 5 กก. และ 10 กก. มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างกัน ($P > 0.05$)

การบ่มซากไว้ 7 วันมีผลทำให้ความนุ่มของเนื้อแพะเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) แต่ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของกล้ามเนื้อและระยะเวลาในการบ่มซากมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P > 0.05$) ดังตารางที่ 7

การทดลองครั้งนี้พบว่าการบ่มซากมีผลทำให้ความนุ่มของเนื้อแพะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Karami et al (2010) ที่รายงานว่า กล้ามเนื้อไหล่ Infraspinatus เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 วัน และ 7 วันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อไม่ต่างกัน ($P < 0.05$) แต่พบว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ 0 มีค่าสูงกว่าที่ 14 วัน ($P < 0.05$) โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็น 5.03 4.57 และ 3.97 กก. ตามลำดับ Gadiyaram et al (2008) กล้ามเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมเพศผู้ตอนที่ผ่านการบ่มไว้ที่อุณหภูมิที่ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำการบ่มไว้ 1 วัน ($P < 0.05$) โดยมีค่าเป็น 4.6 และ 3.8 กก.ตามลำดับ ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าเนื้อแพะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อค่อนข้างสูง ดังค่าแรงตัดผ่านเนื้อสันนอกของการทดลองครั้งนี้เท่ากับ 11.82 กก. ในขณะที่ Johnson et al. (2010) รายงานว่าเนื้อสันนอกของแพะลูกผสมบอร์เลี้ยงแบบปล่อยแปลงหญ้าที่มีน้ำหนักซากร้อนเฉลี่ย 17.39 กก. มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ 3.48 กก.

ตารางที่ 7 Effect of muscle types and ageing time on least squares means and standard error of calpain 1 and calpain 2 activity and shear force value of goat meat

Factor		calpain 1		calpain 2		shear force	
		LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE
Muscle	IF	12.09[a]	1.033	5.51	0.802	6.54[f]	0.710
	LD	11.51[a]	1.033	3.77	0.802	11.82[e]	0.710
	PM	8.07[b]	1.033	3.78	0.802	8.70[f]	1.119
Ageing	d0	20.92[e]	0.844	5.89[e]	0.655	10.28[a]	0.578
	d7	0.19[f]	0.844	2.81[f]	0.655	7.76[b]	0.817
Interaction	IF x d0	24.06[a]	1.461	7.91	1.135	6.80	1.001
	IF x d7	0.12[c]	1.461	3.10	1.135	6.27	1.001
	LD x d0	22.73[a]	1.461	4.53	1.135	12.79	1.001
	LD x d7	0.30[c]	1.461	3.01	1.135	10.85	1.001
	PM x d0	15.98[b]	1.461	5.24	1.135	11.24	1.001
	PM x d7	0.15[c]	1.461	2.31	1.135	6.16	2.003

[abcd] LSmeans within a column within main effect and interaction with different letter differ significantly(P<0.05)

[ef] LSmeans within a column within main effect and interaction with different letter differ significantly(P<0.01)

2.2.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง calpain activity และ ค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตัดผ่านเนื้อและ activity ของเอ็นไซม์ calpain (ตารางที่ 8) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของค่าแรงตัดผ่านเนื้อและ activity ของทั้งเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2 มีค่าเท่ากับ 0.661 ($P < 0.05$) Gheisari et al (2007) รายงานว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อและ activity ของเอ็นไซม์ calpain มีความสัมพันธ์เชิงลบต่อกัน ($r = -0.81$) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 8 Correlation between calpain 1 and calpain 2 activity and shear force value of goat meat

	calpain 1 activity	calpain 2 activity
WBSF	0.256	-0.032
calpain 1 activity		0.661**

** $P < 0.01$

สรุปผลการวิจัย

กล้ามเนื้อต่างชนิดกันมีระดับการทำงานของเอ็นไซม์ที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนหลังสัตว์ตายที่ต่างกันจึงมีผลทำให้มีความนุ่มเหนียวของเนื้อต่างกันด้วย โดยเอ็นไซม์ที่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้ออย่างมีนัยสำคัญคือเอ็นไซม์ calpain 1 แต่อย่างไรก็ตามยังมีอีกหลายปัจจัยนอกจากการทำงานของเอ็นไซม์กลุ่มที่ทำการย่อยสลายโปรตีนที่มีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อ เช่น ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน หรือปริมาณไขมันแทรก เป็นต้น ดังผลการทดลองครั้งที่พบว่ากล้ามเนื้อสันนอก และกล้ามเนื้อไหล่ มี calpain activity ไม่ต่างกันแต่กล้ามเนื้อไหล่มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่ากล้ามเนื้อสันนอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง calpain activity และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ แต่พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่าง activity ของเอ็นไซม์ calpain 1 และ calpain 2

ข้อเสนอแนะและการนำไปใช้

ในการวิจัยครั้งต่อไปควรที่จะมีการศึกษาข้อมูลทางด้านคุณภาพเนื้อแพะให้เพิ่มขึ้นจากครั้งนี้ ซึ่งทำได้เพียงการศึกษาค่าแรงตัดผ่านเนื้อ อีกทั้งควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างและพันธุ์แพะให้มากขึ้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มากพอในการเพิ่มระดับความน่าเชื่อถือทางสถิติ อีกทั้งเป็นการเชื่อมโยงข้อมูลใหม่ของเอ็นไซม์ calpains ที่ยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อยในขณะนี้ ให้เข้ากับข้อมูลทางด้านคุณภาพของเนื้อแพะก็จะทำให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการนำไปปรับปรุงคุณภาพเนื้อแพะในประเทศไทยต่อไปได้

บรรณานุกรม

กรมปศุสัตว์. สถิติแพะในประเทศไทยรายภาค. [Online]. เข้าถึงได้จาก: ศูนย์สารสนเทศและข้อมูลสถิติกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2553.

ไชยวรรณ วัฒนจันทร์. 2551. บทสังเคราะห์เรื่องการเลี้ยงแพะของประเทศไทยและของภาคใต้ [แพะที่ไม่ใช่ (คนเลี้ยง) แพะรับบาป]. เอกสารนำเสนอในการประชุมสัมมนา เรื่อง “เชื่อมโยงงานวิจัยเพื่อรับใช้การพัฒนาจังหวัด : ความท้าทายที่สตูล”. ณ โรงเรียนอนุบาลรุ่งทิพย์ อ.เมือง จ.สตูล. วันที่ 21 กรกฎาคม 2551.

สาธิต เขาไข่แก้ว, ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ และ วันวิศาข์ งามผ่องใส. 2553. ผลของพันธุ์และระบบการเลี้ยงแพะที่มีต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต ลักษณะซาก ต้นทุนการเลี้ยง และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ. ว วิทย เทคโน มมส 29(1) : 32-43.

เฉลิมขวัญ สุขเนียม, ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ และ เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์. 2552. ผลของพันธุ์และระบบการเลี้ยงแพะที่มีต่อลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อ. ว วิทย เทคโน มมส 28(4) : 424-433.

Arguello A., Castro N., Capote J., and Solomon M. 2005. Effects of diet and live weight at slaughter on kid meat quality. Meat Sci. 70, 173-179.

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

Beserra, F. J., Madruga, M. S., Leite, A. M., Silva, E. M., & Maia, E. L. 2004. Effect of age at slaughter on chemical composition of meat from Moxotó goats and their crosses. Small Rumin. Res. 55 : 177–181.

Boehm, M.L., Kendall, T.L., Thompson, V.F., and Goll, D.E. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. J. Anim. Sci. 76, 2415–2434

Camou, J.P., Marchello, J.A., Thompson, V.F., Mares, S.W., and Goll, D.E. 2007. Effect of postmortem storage on activity of μ- and m-calpain in five bovine muscles, J. Anim. Sci. 85 : 2670–2681.

Casey N.H. 1992. Goat meat in human nutrition. In V International Conference on Goats, March 1992. p. 581-598.

Chaosap C. 2010. The Effect of Compensatory Growth on Performance and Muscle Biochemistry in Pigs. Thesis present to The University of Nottingham.

Gheisari, H. R., Shekarforoush, S.S. and Aminlari, M. 2007. Comparative studies on calpain activity of different muscles of cattle, camel, sheep and goat. Iranian J. of Vet. Res. 8(20) Retrieved January, 1, 2011, from http://www.sid.ir/en/VEWSSID/J_pdf/102320070305.pdf

Gadiyaram, K.M., Kannan, G., Pringle, T.D., Kouakou, B., McMillin, K.W., and Park Y.W. 2008. Effects of postmortem carcass electrical stimulation on goat meat quality characteristics. Small Rumin. Res. 78 : 106-114.

Higgins, J.A., Lasslett, Y.V., Bardsley, R.G. and Buttery, P.J. 1988. The relation between dietary restriction or clenbuterol (a selective β2 agonist) treatment on muscle growth and calpain proteinase(EC 3.4.22.17) and calpastatin activities in lambs. British Journal of Nutrition 60, 645-652.

Jeacocke, R. E. 1993. The concentrations of free magnesium and free calcium ions both increase in skeletal muscle fibres entering rigor mortis. Meat Sci. 35(1), 27–45.

Johnson, C.R., Doyle, S.P., and Long, R.S. 2010. Effect of Feeding System on Meat Goat Growth Performance and Carcass Traits. Sheep and Goat Research J. Retrieved January, 1, 2011, from http://www.sheepusa.org/user_files/file_855.pdf.

Karami , M., Alimon , A.R., Sazili A.Q., and Goh Y.M. 2010. Meat Quality and Lipid Oxidation of Infraspinatus Muscle and Blood Plasma of Goats under Dietary Supplementation of Herbal Antioxidants. J. Anim.Vet. Adv. 9 (24) : 3039-3047.

Koohmaraie, M. 1992. Ovine skeletal muscle multicatalytic proteinase complex (proteasome): purification, characterization, and comparison of its effect on myofibrils with m calpain. J. Anim. Sci. 70 : 3697-3708.

Maltin, C., Balcerzak, D., Tilley, R. and Delday, M. 2003. Determinants of meat quality: tenderness. Proc. Nutri. Soc. 62 : 337- 347.

Nagaraj, N. S., K. R. Anilakumar, and K. Santhanam. 2002. Changes in the calpain-calpastatin and cathepsin (B, B+L, H and D) during postmortem storage of goat muscles. J. Food Biochem. 26:75–89.

Nagaraj, N. S.and Santhanam, K. 2006. Effects of muscle proteases, endogenous protease inhibitors and myofibril fragmentation on postmortem aging of goat meat. J. Food. Biochem. 30 (3) : 269–291.

Park, Y. W., M. A. Kouassi, and K. B. Chin. 1991. Moisture, total fat and cholesterol in goat organ and muscle meat. J. Food Sci. 56(5):1191-1193.

Pralomkarn W, Ngampongsai W, Kochapakdee S, Lawpetchara A. 1995. Effect of age and sex on body composition of Thai native and cross-bred goat. Asian-Australasian. J. Anim. Sci. 32:255-61.

Sensky, P.L., Parr, T., Lockley, A.K., Bardsley, R.G., Buttery, P.J., Wood, J.D., and Warkup, C. 1999. Altered calpain levels in longissimus muscle from normal pigs and

heterozygotes with the ryanodine receptor mutation. J. Anim. Sci. 77 : 2956–2964.

te Pas, M.F., Visscher, A.H., and de Greef, K.H. 2004. Molecular genetic and physiologic background of the growth hormone-IGF-I axis in relation to breeding for growth rate and leanness in pigs. Domestic Animal Endocrinology 27: 287-301.

USDA. 2004. Nutrient database for standard reference, release 14. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

USDA Nutrient Database for Standard Reference, (2010) Retrieved May, 1, 2011, from http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/.

Veiseth, E., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., and Koohmaraie M. 2001. Effect of postmortem storage on -calpain and m-calpain in ovine skeletal muscle. J. Anim. Sci. 79 : 1502–1508.

Warriss, P.D. 2000. Meat Science: An Introductory Text. CAB International, Wallingford, UK.

Werdi Pratiwi,N. M., Murray, P. J. and Taylor, D. G. 2004. Meat quality of entire and castrated male Boer goats raised under Australian conditions and slaughtered at different weights: physical characteristics, shear force values and eating quality profiles. Anim. Sci. 79:213-219.

Woodward, B. W., DeNise S. K. , and Marchello J. A. 2000. Evaluation of calpastatin activity measures in ante- and postmortem muscle from half-sib bulls and steers. J. Anim Sci. 78:804-809.