

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัสดุ

3.1.1 วัสดุดิบ

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา เป็นน้ำมันแพะจากผู้ประกอบการในพื้นที่ 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ โดยเป็นตัวอย่างจากจังหวัดปัตตานี 3 ฟาร์ม (P-1, P-2 และ P-3) จังหวัดยะลา 2 ฟาร์ม (Y-1 และ Y-2) และจังหวัดนราธิวาส 2 ฟาร์ม (N-1 และ N-2) ดังตารางที่ 23

ตารางที่ 23 สถานที่เก็บตัวอย่างน้ำมันแพะ

ผู้ประกอบการ	อำเภอ	จังหวัด	ปีที่เก็บ
P-1	เมือง	ปัตตานี	พ.ศ. 2552
P-2	แม่ลาน	ปัตตานี	พ.ศ. 2552
P-3	กะพ้อ	ปัตตานี	พ.ศ. 2552
Y-1	เมือง	ยะลา	พ.ศ. 2552
Y-2	เมือง	ยะลา	พ.ศ. 2552
N-1	ยี่งอ	นราธิวาส	พ.ศ. 2552
N-2	สุไหงโก-ลก	นราธิวาส	พ.ศ. 2552

3.1.2 สารเคมี

ก. สารเคมีในกลุ่มกรด

- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl), กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid, H₂SO₄), กรดบอริก (Boric acid, H₃BO₃), กรดไนตริก (Nitric acid, HNO₃) และกรดฟอร์มิก (Formic acid, CH₂O₂) Analytical grade (Labscan Asia co, Ltd., ประเทศไทย)

ข. สารเคมีในกลุ่มด่าง

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) Analytical grade (Labscan Asia co, Ltd., ประเทศไทย)

ค. สารเคมีในกลุ่มอินดิเคเตอร์

- เมทิลเรด (Methylred, $C_{15}H_{15}N_3O_2$) และ โบรโมครีโซลกรีน (Bromocresolgreen, $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) (Merck, ประเทศเยอรมัน)

ง. สารเคมีในกลุ่มตัวทำละลาย

- เอทานอล (Ethanol, C_2H_6O), คลอโรฟอร์ม (Chloroform, $CHCl_3$), ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleumether), ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethylether, CH_3OCH_3), เมทานอล (Methanol, CH_3OH) Analytical grade และเมทานอล (Methanol, CH_3OH) HPLC grade (Labsan Asia co, Ltd., ประเทศไทย)

จ. สารเคมีในกลุ่มอื่นๆ

- โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl), คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate, $CuSO_4$), โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate, K_2SO_4), โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide, KOH) Analytical grade (Labsan Asia co, Ltd., ประเทศไทย)

ฉ. สารเคมีสำหรับเจลอเล็กโตรโพลีซิส

- อะคริลาไมด์/บิส (Acrylamide/bis 30%T,2.67%C), โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium Dodecyl Sulfate, $CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$), กลีเซอรอล (Glycerol, NH_2CH_2COOH), ทริส-ไฮโดรคลอริก (Tris-HCl, $NH_2C(CH_2OH)_3HCl$), โบรโมครีโซลบลู (Bromocresolblue, ทริส-เบส (Tris-base, $NH_2C(CH_2OH)_3$), แอมโมเนียมเพอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate, $(NH_4)_2S_2O_8$), เททราเมท (Tetramethylethylenediamine, $(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)_2$), คอมมิสซี บิลเลียตบลู (Commissie brilliant blue)

3.2 เครื่องมือวิเคราะห์และอุปกรณ์

ข. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) (Model SevenEasy, Mettler Toledo, Switzerland)

- ตู้อบแบบลมร้อน (Hot air oven) (Model UNB 500, Memert, German)

- อ่างน้ำร้อน (Water bath) (Model WB-22, Memert, German)

- เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) (Model R-210, Buchi, Switzerland)

- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) (Model HARRIER 15/80 Bench Top Refrigerated Centrifuge, Sanyo, Japan)

- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Model TE 313S-DS 310, Sartorius, USA)

- เครื่องย่อยและกลั่น โปรตีน (Model VAP20, Gerhardt, Germany)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Libra S22, Biochrom, England)
- กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) (Model CH30, Olympus, Japan)
- Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) (Model 100 Analyzer, Perkin Elmer, Germany)
- Gas Chromatography (GC) (Model 6890N Series, Agilent, USA)
- Gel Electrophoresis (Mini-Protean 3 cell. Bio-Rad, USA)
- Densitometer (GS-800 Calibrated. Bio-Rad, USA)
- High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Model 1200 Series, Agilent, USA)

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มหรือสถานประกอบการที่มีปริมาณน้ำนมไม่ต่ำกว่า 10 ลิตร/วัน รวม 7 ฟาร์ม ดังรายละเอียดในตารางที่ 22 แต่ละแห่งเก็บตัวอย่างเดือนละ 1 ครั้ง ครั้งละ 1-3 กิโลกรัม ภายในเวลา 6 เดือน ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2552 โดยทำการติดต่อผู้ประกอบการล่วงหน้า ซึ่งผู้ประกอบการจะบรรจุน้ำนมในถังโพนพร้อมน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการเดินทางประมาณ 20 นาทีถึง 2 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความใกล้-ไกลของฟาร์มหรือสถานประกอบการ หลังจากได้น้ำนมมาทำการวิเคราะห์ค่าพีเอชและขนาดเม็ดไขมัน และหลังจากนั้นเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อบอกการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน โปรตีน ของแข็งทั้งหมด วิตามินเอและวิตามินอี แคลเซียม ฟอสฟอรัส พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียดสายพันธุ์แพะ ลักษณะการเลี้ยงและอาหารจากผู้ประกอบการและเกษตรกรดังรายละเอียดในแบบสอบถาม (ภาคผนวก ก)

3.3.2 ศึกษาสมบัติของน้ำนมแพะ

ศึกษาสมบัติของน้ำนมแพะ คือ สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการ ดังนี้

1. สมบัติทางกายภาพของน้ำนมแพะ

โดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพในตัวอย่างน้ำนมแพะในช่วงเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2552 ซึ่งแสดงวิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก ดังต่อไปนี้

1.1 ค่าพีเอช

1.2 ขนาดเม็ดไขมันด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ร่วมกับโปรแกรม motic image plus 2.0

2. สมบัติทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการ

โดยวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการ ในตัวอย่างน้ำมันแพะ ซึ่งแสดงวิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ข ดังต่อไปนี้

2.1 องค์ประกอบหลัก ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2552

2.1.1 ปริมาณโปรตีน โดยวิธี kjeldahl method (AOAC, 2000)

2.1.2 ปริมาณไขมัน โดยใช้วิธี gerber method (AOAC, 2000)

2.1.3 ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) (AOAC, 2000)

2.2 สารอาหารบางชนิด

2.2.1 ชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเทคนิค Gas Chromatography (GC) (Lepage and Roy, 1986; Carreau and Dubacq, 1978; Yu, *et al.*, 2002) ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2552

2.2.2 ปริมาณฟอสฟอรัส โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลางประเทศไทย จำกัด (จังหวัดสงขลา) ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2553

2.2.3 ปริมาณธาตุแคลเซียมด้วยเทคนิค Flame Atomic Absorption Spectrophotometer (FAAS) (AOAC, 2000) ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2552

2.2.4 ปริมาณวิตามินเอและวิตามินอีด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Kondyli *et al.*, 2007) ในช่วงเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2552

3. ชนิดและปริมาณของโปรตีนเคซีน (Profile of casein protein)

3.1 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างจากฟาร์มหรือสถานประกอบการ ในช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม พ.ศ. 2553 โดยศึกษาชนิดและปริมาณของโปรตีน ซึ่งแสดงวิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ข วิเคราะห์ในพารามิเตอร์ต่อไปนี้

3.2 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณโปรตีนชนิด α s1-casein, α s2-casein, β -casein และ k-casein ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis (Criscione *et al.*, 2009) โดยใช้ Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

3.3.3 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomize Design, CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's New Range Test (Steel and Torrie, 1980)

Prince of Songkla University
Pattani Campus