

### บทที่ 3

## วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

### 3.1 วัสดุ

#### 3.1.1 วัสดุดิบ

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา เป็นน้ำมันแพะจากผู้ประกอบการในพื้นที่ 3 จังหวัดภาคใต้ ดอนล่าง 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) เก็บตัวอย่างในช่วงปี พ.ศ.2552 รายละเอียดแสดงในตารางที่ 23

ตารางที่ 23 สถานที่เก็บตัวอย่างน้ำมันแพะ

ผู้ประกอบการ	อำเภอ	จังหวัด
P-1	เมือง	ปัตตานี
P-2	แม่ลาน	ปัตตานี
P-3	กะพ้อ	ปัตตานี
Y-1	เมือง	ยะลา
Y-2	เมือง	ยะลา
N-1	ยี่งอ	นราธิวาส
N-2	สุไหงโก-ลก	นราธิวาส

#### 3.1.2 สารเคมี

##### ก. สารเคมีในกลุ่มกรด

- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl), กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), กรดบอริก (Boric acid, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), กรดไนตริก (Nitric acid, HNO<sub>3</sub>) และกรดฟอมิก (Formic acid, CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Analytical grade (Labscan Asia co, Ltd., ประเทศไทย)

#### ข. สารเคมีในกลุ่มต่าง

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) Analytical grade (Labsan 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. สารเคมีสำหรับเจลอิเล็กโทรโฟลิซิส

- อะคริลามิโดบิส (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,  $NH_2C(CH_2OH)_3$ ), เมอแคปโทเอทานอล (2-mercaptoethanol) แอมโมเนียมเพอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate,  $(NH_4)_2S_2O_8$ ), เทมเมท (Tetramethylethylenediamine,  $(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)_2$ ), คอมมิสซี บิลเลียน บลู (Commissie brilliant blue)

### 3.2 เครื่องมือวิเคราะห์และอุปกรณ์

#### ข. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องวัดความเป็นกรดค่า (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)
- เครื่องย่อยและกลั่นโปรตีน (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 จำนวน 7 ฟาร์ม ดังรายละเอียดในตารางที่ 23 แต่ละแห่งเก็บตัวอย่างในช่วงต้นเดือน เดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 เดือน ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2552 โดยทำการติดต่อผู้ประกอบการล่วงหน้า แพะที่ใช้ในการทดลองอายุ 1-4 ปี ผู้ประกอบการจะรีดน้ำนมแพะในช่วงเช้า รวบรวมน้ำนมในถังเดียวกัน สุ่มตัวอย่างจากถังมาครั้งละ 3 กิโลกรัม บรรจุน้ำนมในถุงพลาสติก ซิลิโคนใส่ในถังโฟมพร้อมน้ำแข็งเพื่อควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการเดินทางประมาณ 20 นาทีถึง 2 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความใกล้-ไกลของฟาร์มหรือสถานประกอบการ หลังจากได้น้ำนมมาจะทำการวิเคราะห์ค่าพีเอชและขนาดเม็ดไขมันทันที และหลังจากนั้นเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน โปรตีน ของแข็งทั้งหมด วิตามินเอและวิตามินอี แคลเซียม ฟอสฟอรัส พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียดสายพันธุ์แพะ ลักษณะการเลี้ยงและอาหารจากผู้ประกอบการและเกษตรกรดังรายละเอียดในแบบสอบถาม (ภาคผนวก ก)

### 3.3.2 ศึกษาสมบัติของน้ำมันแพะ

ศึกษาสมบัติของน้ำมันแพะ คือ สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการ ดังนี้

#### 1. สมบัติทางกายภาพของน้ำมันแพะ

โดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพในตัวอย่างน้ำมันแพะในช่วงเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2552 ซึ่งแสดงวิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก ดังต่อไปนี้

1.1 ค่าพีเอช วิเคราะห์ทันทีหลังได้รับตัวอย่าง

1.2 ขนาดเม็ดไขมันด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ร่วมกับโปรแกรม motic image plus 2.0 วิเคราะห์ทันทีหลังได้รับตัวอย่าง

#### 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 โดยศึกษาชนิดและปริมาณของโปรตีนเคซีน ซึ่งแสดงวิธีการวิเคราะห์ตามภาคผนวก ข วิเคราะห์ในพารามิเตอร์ต่อไปนี้

3.2 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณโปรตีนชนิด  $\alpha$ s1-casein,  $\alpha$ s2-casein,  $\beta$ -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 Songkhla University  
Pattani Campus