การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะหลังคลอดด้วยเทคนิค Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

Changes in the Protein Profile in Goat Colostrum after Postpartum by Using Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

วิลาสินี อินญาวิเลิศ[1,2*], จรรยาพร รุ่งเรืองศักดิ์[3], นันทวรรณ บุญช่วย[1], ภัทรภร ทัศพงษ์[1], และ มหัทธนี ภิญโญ[1,2]

Wilasinee Inyawilert[1,2*], Janyaporn Rungruangsak[3], Nantawan Boonchuay[1], Pattaraporn Tatsapong[1] and Mahattanee Phinyo[1,2]

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

[2]ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

[3]สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ จังหวัดปทุมธานี 12000

[1]Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000

[2]Center for Agricultural Biotechnology, Naresuan University, Phitsanulok 65000

[3]Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Pathum Thani 12000

*Corresponding author: wilasineei@nu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะหลังคลอด โดยใช้แพะพันธุ์ซาแนนเพศเมียระยะอุ้มท้อง จำนวน 4 ตัว ทำการรีดเก็บนมน้ำเหลืองหลังจากคลอด 2, 4, 12, 24, 48, 60, และ 72 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกโปรตีนออกจากไขมันด้วยความเร็ว 3000 x g ที่อุณหภูมิ 4 องศา เป็นเวลา 30 นาที และวัดความเข้มข้นของโปรตีนด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากนั้นนำมาศึกษารูปแบบการแสดงออกโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะด้วยเทคนิค Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) และวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรตีนด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ จากการศึกษาพบว่า การแสดงออกโปรตีน ในนมน้ำเหลืองที่รีดเก็บหลังจากคลอดชั่วโมงที่ 2, 4, และชั่วโมงที่ 12 มีระดับการแสดงออกของโปรตีน ที่น้ำหนักโมเลกุลที่ 52 KDa, 72 kDa, และ ระหว่าง 72 kDa - 95 kDa มีความเข้มข้นสูง และมีแนวโน้มลดลงในชั่วโมงที่ 24, 48, 60 และชั่วโมงที่ 72 อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าระยะเวลาในการรีดนมน้ำเหลืองแพะหลังคลอดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของโปรตีน

คำสำคัญ: รูปแบบการแสดงออก, โปรตีน, นมน้ำเหลือง, เทคนิค SDS-PAGE, แพะ

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the protein pattern of goat colostrum at postpartum by using Sodium Dodecyl Sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). The samples of colostrum were collected from three of female Saanen goats at time 2, 4, 12, 24, 48, 60, and 72 hours after postpartum and centrifuged at 3000 x g for 30 min at 4 °c. The colostrum protein was measured the concentration of

protein with spectrophotometer at wavelength 595 nanometer and observed the protein pattern by using SDS-PAGE gel electroresis. The results have been shown that the protein expression pattern changed at time 2, 4, 12, 24, 48, 60, and 72 hours after postpartum. The level of expression at the molecular weight of 52 kDa, 72 kDa, between 72 kDa - 95 kDa and were high expression at 2, 4, 12, hours after postpartum and slightly decreased at 24, 48, 60, and 72 hours. Therefore the alteration of protein expression in colostrum correlated with time of postpartum.

Keywords: expression pattern, protein, colostrum, SDS-PAGE, goat

บทนำ

นมน้ำเหลือง (Colostrum) คือ น้ำนมแรกที่ผลิตจากต่อมน้ำนมและเก็บสะสมไว้ที่เต้านม 2-3 วันก่อนคลอด และหลั่งออกมาในชั่วโมงแรกหลังจากคลอดจนถึง 48-72 ชั่วโมง (Rachman et al., 2015) ซึ่งนมน้ำเหลืองที่หลั่งออกมาจะมีลักษณะแตกต่างจากน้ำนมทั่วไป คือ มีปริมาณรงควัตถุ (pigment) ที่สูงและหนืด จึงทำน้ำนมให้มีลักษณะ เป็นของเหลวข้น สีเหลืองออกส้ม อุดมไปด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อลูกสัตว์แรกคลอด ได้แก่ ไขมัน แลคโตส โปรตีน วิตามิน แร่ธาตุ อัลบูมิน ฮอร์โมน แลคโตเฟอริน ไลโซไซม์ เปปไทด์ต้านจุลชีพ โกรทแฟคเตอร์ ไซโตไคน์ และอิมมูโนโกลบูลิน (Yang et al., 2009; Moreno-Indias et al., 2012; Hernandez-Castellano et al., 2014) ดังนั้น การได้รับนมน้ำเหลืองเมื่อแรกคลอดจึงมีผลอย่างมากต่ออัตราการมีชีวิตรอดและการเจริญเติบโตของลูกสัตว์ (Nagyová et al., 2017) เนื่องจากในนมน้ำเหลืองมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างเซลล์ใหม่ของร่างกายด้วยโมเลกุลที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ช่วยกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกันในร่างกายให้กำจัดเชื้อโรคต่างๆ และช่วยให้ลูกสัตว์สามารถปรับตัวกับเข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ด้วยโปรตีนที่ซับซ้อนหลายๆ ชนิดที่รวมอยู่ในนมน้ำเหลือง Yang et al (2009) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในนมน้ำเหลืองแพะพันธุ์ซาแนนหลังจากคลอดชั่วโมงที่ 3, 12, 24, 48, 72, 120, และชั่วโมงที่ 168 พบว่า ความเข้มข้นของวัตถุแห้ง (Dry matter) ไขมัน เถ้า แลคโตส โปรตีน และอิมมูโนโกลบูลินจี (IgG) มีปริมาณสูง ในชั่วโมงที่ 3 และจะลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 168 หลังคลอด (Yang et al., 2009) ต่อมา Moreno-Indias et al (2012) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและอิมมูโนกลบบูลินในน้ำนมแพะพันธุ์ Majorera ชั่วโมงที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, และ 10 หลังจากคลอดพบว่า เปอร์เซ็นต์โปรตีน ไขมัน และอิมมูโนกลอบูลิน (IgG, IgM, และIgA) มีปริมาณที่สูงที่สุดในชั่วโมงที่ 1 และค่อยๆลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 10 หลังจากคลอด (Moreno-Indias et al., 2012) ดังกล่าวมาจะเห็นได้ว่ามีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการเปลี่ยนขององค์ประกอบทางเคมีในนมน้ำเหลืองและน้ำนมอยู่ค่อนข้างมาก แต่ในเรื่องการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในนมน้ำเหลืองหลังจากคลอดยังมีอยู่น้อยมาก

ปัจจุบันจึงมีการนำเทคนิคการแยกโปรตีนด้วย Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ง่ายมาประยุกต์ใช้ เพื่อเปรียบเทียบและการวิเคราะห์รูปแบบ (pattern) การแสดงออกของโปรตีนจากเนื้อเยื่อ เซลล์ หรือของเหลวที่มาจากแหล่งต่างๆ (Hernandez-Castellano et al., 2014) การศึกษาการแสดงออกของโปรตีนในน้ำนมโคพันธุ์ Bularian Rhodopean พบว่า โคพันธุ์ Bularian Rhodopean มีการแสดงออกของโปรตีน β–lactoglobulin ที่น้ำหนักโมเลกุล 15 kDa (Zagorchev et al., 2013) ต่อมา Rachman et al., (2015) ศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของโปรตีนแลคโตเฟอรินในนมน้ำเหลืองและน้ำนมในแพะนมแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Peranakan Etawah พันธุ์ Jawarandu และพันธุ์ลูกผสม Saanen กับ Peranakan Etawah พบว่า แพะแต่ละสายพันธุ์มีระดับการแสดงออกของโปรตีนแลคโตเฟอรินทั้งในนมน้ำเหลืองและน้ำนมที่ระดับน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน คือ การแสดงออกของโปรตีนแลคโตเฟอรินของแพะพันธุ์ลูกผสม Saanen กับ Peranakan Etawah มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 83 kDa แพะพันธุ์

Peranakan Etawah มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 86 kDa และแพะพันธุ์ Jawarandu มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 80 kDa (Rachman et al., 2015) ดังที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่ายังไม่มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะในแต่ละชั่วโมงหลังคลอด ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะหลังจากคลอดชั่วโมงที่ 2, 4, 12, 24, 48, 60, และ ชั่วโมงที่ 72 ด้วยเทคนิค Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่างนมน้ำเหลือง

งานวิจัยนี้ใช้แม่แพะสายพันธุ์ซาแนน ช่วงอายุ 2.5 -3 ปี น้ำหนัก 35-45 กก. จำนวน 4 ตัว ที่อยู่ในระยะอุ้มท้องจากหน่วยทดลองอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก การรีดเก็บตัวอย่างนมน้ำเหลืองจากเต้านมด้านซ้ายหลังจากคลอด ในชั่วโมงที่ 2, 4, 12, 24, 48, 60, และ 72 นมน้ำเหลืองถูกเก็บไว้ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างนมน้ำเหลืองที่รีดได้มาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 x g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อแยกส่วนของไขมันออกจากหางนมน้ำเหลือง และเก็บตัวอย่างส่วนที่เป็นหางนมน้ำเหลืองไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การวัดความเข้มข้นของโปรตีนจากนมน้ำเหลือง

นำตัวอย่างโปรตีนจากหางนมน้ำเหลืองที่เก็บไว้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาทำการละลายและเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนหางนมน้ำเหลืองต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1 ต่อ 20 จากนั้นนำโปรตีนที่ได้ไปวัดความเข้มข้นโปรตีนตามวิธีของ Bradford (1976) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์โปรตีน Bio-Rad protein assay (Bio-Rad Laboratories, USA) โดยใช้ Bovine serum albumin; BSA เป็นโปรตีนมาตรฐานในการอ้างอิง ใช้ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสง (O.D) ที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงจากโปรตีนมาตรฐานมาสร้างกราฟและสมการเส้นตรง

การศึกษารูปแบบการแสดงออกของโปรตีนด้วยเทคนิค Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

เตรียม polyacrylamide gel โดยใช้ 4.5% (w/v) stacking gel และ 9 % (w/v) separating gel นำตัวอย่างโปรตีนจากหางนมน้ำเหลืองหลังคลอดชั่วโมงที่ 2, 4, 12, 24, 48, 60 และ 72 อย่างละ 30 µg ผสมกับ loading buffer นำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปแช่ในน้ำแข็ง 5 นาที และทำการแยกโปรตีนโดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 85 โวลต์ เป็นเวลา 15 นาที สำหรับ 4.5 % stacking gel และ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที สำหรับ 9 % separating gel เมื่อโปรตีนตัวอยางเคลื่อนที่ถึงด้านลางของเจลแล้ว ย้อมสีแผนเจลด้วยสี Coomassie Brilliant เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างสีออกด้วยสารละลายล้างสี (Destained solution) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาแช่ด้วยน้ำกลั่น 1 คืน จนกระทั่งสังเกตเห็นแผนเจลมีแถบโปรตีนบันทึกผลรูปแบบโปรตีนบนแผนเจล โดยใช้เครื่อง gel document system และคำนวณค่าความเข้มข้นของแบนโปรตีนด้วยโปรแกรม Image Lab

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองนี้วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) ด้วยการเปรียบเทียบพหุคูณแบบ Turkey ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป statistical software (SPSS)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเปลี่ยนความเข้มข้นของโปรตีนด้วยวิธี Bradford's Assay

จากการเก็บตัวอย่างนมน้ำเหลืองจากแพะหลังคลอดชั่วโมงที่ 2, 4, 12, 24, 48, 60 และ 72 เมื่อนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของหางนมน้ำเหลืองจากไขมัน (Hernandez-Castellano et al., 2014) และนำไปวัดความเข้มข้นตามวิธีของ Bradford (1976) โดยใช้ Bovine serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน โดยใช้ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสง (O.D) ที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงจากโปรตีนมาตรฐาน โดยสมการเส้นตรงที่มีค่าเท่ากับ y = 0.0215x + 0.0153 มีค่า R^2= 0.9968 ทำการวิเคราะห์โปรตีนหางนมน้ำเหลืองของแพะหลังคลอดชั่วโมงที่ 2, 4, 12, 24, 48, 60 และ 72 โดยนำมาแทนในสมการ พบว่า ค่าความเข้มข้นของโปรตีนทั้งหมดจากหางนมน้ำเหลืองแพะหลังคลอดชั่วโมงที่ 2 และ 4 มีความเข้มข้นสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 23.78 ± 5.61 และ 20.78 ± 8.18 ตามลำดับ จากนั้นค่าความเข้มข้นของโปรตีนทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในนมน้ำเหลืองและน้ำนมแพะพันธุ์ Majorera หลังจากคลอด 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, และ 10 ชั่วโมง ด้วยเครื่องวิเคราะห์นม (DMA2001 Milk Analyzer) พบว่า โปรตีนมีปริมาณสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 1 และลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 10 หลังคลอด (Moreno-Indias et al., 2012)

รูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะหลังจากคลอด

การศึกษารูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะหลังจากคลอดชั่วโมงที่ 2, 4, 12, 24, 48, 60 และ 72 ด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีนในแถบที่เด่นชัด 6 แถบ ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุล 26 kDa - 34 kDa (จำนวน 3 แถบ), 52 kDa (จำนวน 1 แถบ), 72 kDa (จำนวน 1 แถบ) และระหว่าง 72 kDa – 95 kDa (จำนวน 1 แถบ) ดังแสดงในFigure 2 โดยแถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลดังกล่าวเป็นโปรตีนหลักที่พบได้ทั้งในนมโคและนมแพะ (Rachman et al., 2015; Xing et al., 2015; Yaseen et al., 2015; Vijayan et al., 2017; Wahyu Harjanti et al., 2017; W Harjanti et al., 2018) โดยแถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 26 kDa - 34 kDa คือ casien ซึ่งตรงตามรายงานการวิจัยของ Maga et al (2009) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ casien ในแพะนมอเมริกัน (Maga et al., 2009) ขณะที่แถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุล 52 kDa คือ serum albumin (Xing et al., 2015) แถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุล 72 kDa คือ lactoperoxidase (Wahyu Harjanti et al., 2017) และแถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 72 kDa – 95 kDa คือ lactoferrin ((Rachman et al., 2015; Yaseen et al., 2015; Vijayan et al., 2017)

จากผลการศึกษา พบว่า รูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะหลังจากคลอดชั่วโมงที่ 2, 4, 12, 24, 48, 60 และ 72 ที่แถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุล 26 kDa - 34 kDa (Caseins) มีการแสดงออกของโปรตีนเล็กน้อย ในชั่วโมงที่ 2 และ 4 หลังจากคลอด จากนั้นแถบความเข้มข้นของโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามลำดับจนถึงชั่วโมงที่ 72 หลังจากคลอด ซึ่งสังเกตได้จากขนาดความกว้างของแถบโปรตีนและผลจากการวัดความเข้มข้นของแถบโปรตีน ซึ่งสอดคล้องการการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนเคซีน (Caseins) ในนมน้ำเหลืองและน้ำนมของมนุษย์ พบว่า โปรตีนเคซีนมีปริมาณน้อยมากในนมน้ำเหลืองขณะที่ในน้ำนมมีความเข้มข้น คือ 2.7 $g.L^{-1}$ (Golinelli et al., 2014) ในทางตรงกันข้าม พบว่าแถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุล 52 kDa (Albumin) , 72 kDa (Lactoperoxidase), และระหว่าง 72 kDa – 95 kDa (Lactoferrin) มีการแสดงออกของโปรตีนที่สูงในชั่วโมงที่ 2, 4 และ 12 หลังจากคลอด และมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 72 ซึ่งสังเกตได้จากขนาดความกว้างของแถบโปรตีน จากรายงานการศึกษาเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ serum albumin และ lactoferrin ในนมน้ำเหลืองและน้ำนมในโคโดยนักวิจัยหลายๆท่าน พบว่า ในนมน้ำเหลืองมีความเข้มข้นของ serum albumin และ lactoferrin สูงกว่าในน้ำนม (McGrath et al., 2016) ซึ่งก็มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุล 52 kDa (Albumin) และ72 kDa – 95 kDa (Lactoferrin)

สรุป

จากผลการศึกษาครั้งนี้ จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในนมน้ำเหลืองแพะนั้นขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการหลั่งนมน้ำเหลืองหลังจากคลอด และโปรตีนสำคัญที่ใช้บ่งบอกถึงคุณค่าของนมน้ำเหลือง คือ โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 72 kDa และที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 72 kDa – 95 kDa :ซึ่งต่อไปโปรตีนทั้งสองชนิดนี้อาจจะสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องหมายบงชี้ถึงคุณค่าของโปรตีนในนมน้ำเหลืองในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรและสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ จังหวัดปทุมธานี ที่ให้การสนับสนุนสถานและเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 72: 248-254.

Hernandez-Castellano, L. E., A. M. Almeida, N. Castro, and A. Arguello. 2014. The colostrum proteome, ruminant nutrition and immunity: a review. Curr Protein Pept Sci 15: 64-74.

Maga, E., P. Daftari, D. Kültz, and C. Penedo. 2009. Prevalence of s1-casein genotypes in American dairy goats.

McGrath, B. A., P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, and A. L. Kelly. 2016. Composition and properties of bovine colostrum: a review. Dairy Science & Technology 96: 133-158.

Moreno-Indias, I. et al. 2012. Chemical composition and immune status of dairy goat colostrum fractions during the first 10h after partum. Small Ruminant Research 103: 220-224.

Nagyová, V., C. Tóthová, and O. Nagy. 2017. The impact of colostrum intake on the serum protein electrophoretic pattern in newborn ruminants. Journal of Applied Animal Research 45: 498-504.

Rachman, A. B., R. R. A. Maheswari, and M. S. Bachroem. 2015. Composition and Isolation of Lactoferrin from Colostrum and Milk of Various Goat Breeds. Procedia Food Science 3: 200-210.

Vijayan, S., U. R, L. Eldho, and K. Jayavardhanan. 2017. Isolation and purification of lactoferrin from colostrum of Malabari goats.

W Harjanti, D., R. Ciptaningtyas, F. Wahyono, and E. T. Setiatin. 2018. Isolation and identification of bacterial pathogen from mastitis milk in Central Java Indonesia.

Wahyu Harjanti, D., R. Ciptaningtyas, A. Al-Baarri, and E. Kusumanti. 2017. Isolation and Identification of Lactoferrin and Lactoperoxidase from the Colostrum of Indonesian Ettawa Crossbred Goat.

Xing, H. et al. 2015. Analysis of polymorphisms in milk proteins from cloned and sexually reproduced goats.

Yang, X.-Y., J. P. Chen, and F. X. Zhang. 2009. Research on the chemical composition of Saanen goat colostrum.

Yaseen, N., Z. H. Abbas, Doosh, and Yaseen. 2015. Isolation, Purification and Characterization of Lactoferrin from Goat Colostrum Whey.

Zagorchev, L., M. Dimitrova, M. Odjakova, D. Teofanova, and P. Hristov. 2013. Electrophoretic characterization of milk proteins from bulgarian rhodopean cattle.

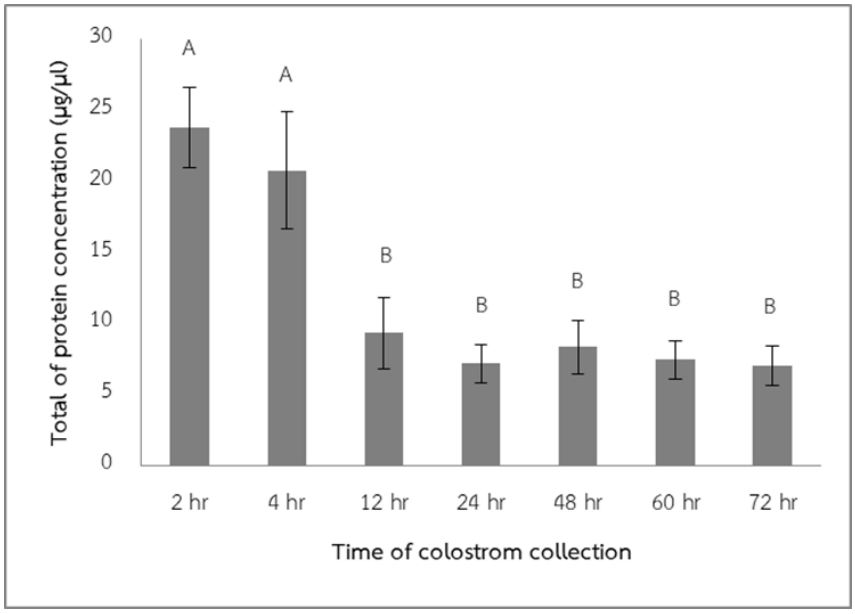

Figure 1 The concentration of colostrum protein at time 2, 4, 12, 24, 48, 60, and 72 hours after postpartum by using Bradford (1976) method.

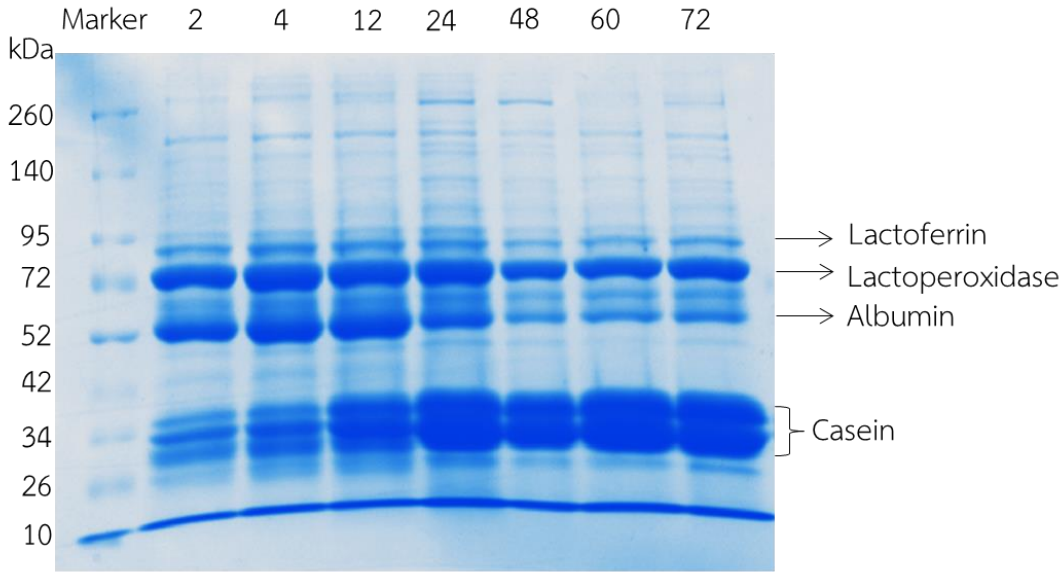

Figure 2 The test results by using SDS-PAGE gel electroresis shown colostrum from saanen goats at time 2, 4, 12, 24, 48, 60, and 72 hours after postpartum. lane 1: marker, lane 2: 2 hrs after postpartum, lane 3: 4 hrs after postpartum, lane 4: 12 hrs after postpartum, lane 5: 24 hrs after postpartum, lane 6: 48 hrs after postpartum, lane 7: 60 hrs after postpartum, lane 8: 72 hrs after postpartum.