

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสภาวะในการสกัดต่อปริมาณผลผลิตโปรตีน
ที่ได้จากรำข้าว

Effect of extraction conditions on crude rice protein yield



RCH
SF
99
R52
ย395 ๗

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 64431
วัน,เดือน,ปี 1 1 ก.ย. 2549

b.....
i.....

รายงานผลการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนเงินรายได้

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปีงบประมาณ 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการวิจัย : ผลของสภาวะในการสกัดต่อปริมาณผลผลิตโปรตีนที่ได้จากรำข้าว

Effect of extraction conditions on crude rice protein yield

ชื่อผู้วิจัย : นางยุพร พิษกมฺพร

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปีงบประมาณ 2548

หน่วยงานที่สังกัด : โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

รำข้าวคือส่วนประกอบของเนื้อเยื่อสีน้ำตาลที่ตัดจากเปลือกหุ้มเมล็ด แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ รำหยาบและรำละเอียด การศึกษาสภาวะต่างๆในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวโดยใช้ตัวอย่างรำข้าวพันธุ์หอมมะลิ105 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการสวนพระองค์ฯสวนจิตรลดา โดยรำหยาบและรำละเอียดมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบคือ 3.53% และ 10.95% ตามลำดับ

ในการทดลองได้แบ่งสภาวะที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้ออกเป็น 3 สภาวะ คือ 1. ชนิดของรำข้าว พบว่ารำละเอียดให้ปริมาณผลผลิตโปรตีนสูงกว่ารำหยาบซึ่งสอดคล้องกับองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว 2. อัตราส่วนรำข้าวต่อสารละลายต่างที่สกัดพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของสารละลายต่างจาก 1:5 ไปเป็น 1:9 จะให้ปริมาณผลผลิตโปรตีนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ 3. ค่าพีเอชและเวลาที่ใช้ พบว่าเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 7 ไปเป็น 12 จะให้ปริมาณผลผลิตโปรตีนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามเวลาที่เพิ่มจาก 1 ไปเป็น 4 ชั่วโมงไม่มีผลต่อปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้

คำนิยม

ขอขอบคุณ โครงการส่วนพระองค์ฯสวนจิตรลดาที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ไร่ข้าวสดซึ่งเป็น
วัตถุดิบในการทำการทดลอง

ยุพร พีชกมฺพร

กุมภาพันธ์ 2549



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้าที่
บทคัดย่อ	II
คำนิยาม	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VI
1. คำนำ	1
2. วัตถุประสงค์	2
3. ทฤษฎี	3
3.1 ไร่ข้าว	3
3.2 กระบวนการขั้ดสีไร่ข้าว	5
3.3 องค์ประกอบทางเคมีของไร่ข้าว	8
3.4 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไร่ข้าวเนื่องจากเอนไซม์	9
3.5 การรักษาความคงตัวให้กับไร่ข้าว	10
3.6 โปรตีนไร่ข้าว	11
4. อุปกรณ์และวิธีการ	15
4.1. วัตถุประสงค์	15
4.2. สารเคมี	15
4.3. อุปกรณ์	15
4.4. ขั้นตอนและวิธีการ	16
5. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	19
5.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไร่ข้าว	19
5.2 ผลของการศึกษาปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้จากไร่ข้าว 2 ชนิด	19
5.3 ผลการศึกษาของอัตราส่วนไร่ข้าวต่อสารละลายต่างที่มีต่อปริมาณ ผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้	20
5.4 ผลของการศึกษาผลของ พีเอช และ เวลา ในการสกัดต่อปริมาณ ผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้	21
6. สรุป	23
7. เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	8
2 การจำแนกชนิดของโปรตีนในธัญชาติ	12
3 ชนิดและปริมาณของโปรตีนในรำข้าวจากข้าวสายพันธุ์ต่างๆ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	13
4 ร้อยละของผลผลิตโปรตีนและองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนรำข้าวเข้มข้น ที่ผลิตจากรำข้าวสด และ รำสกัดไขมัน	14
5 องค์ประกอบทางเคมีของรำละเอียดและรำหยาบ (กรัม / 100 กรัม)	19
6 ปริมาณของผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้จากรำละเอียดและรำหยาบ (กรัม / 100กรัม)	19
7 ปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้เมื่อใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อสารละลายต่าง ที่ระดับต่างๆ	20
8 ปริมาณของผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้เมื่อใช้พีเอชและเวลาที่ระดับต่างๆ	21

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของเมล็ดข้าวและชั้นต่างๆ	3
2	ภาพตัดขวางของเซลล์เอลิวโรน ; Ag = โปรตีนรูปร่าง , N = นิวเคลียส , C = ผนังเซลล์ , L = เม็ดไขมัน	5
3	ลักษณะการขีดร่าแบบขีดสีกับวัตถุ	6
4	เครื่องขีดร่าแบบขีดสีกับวัตถุ	6
5	ลักษณะการขีดสีระหว่างเมล็ดข้าวด้วยกัน	7
6	เครื่องขีดสีระหว่างเมล็ดข้าวด้วยกันเอง	7
7	การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไขมันร่าข้าวเนื่องจากเอนไซม์ ไลเปสและฟอสโฟไลเปส	10
8	ขั้นตอนการสกัดไขมันจากร่าข้าว	16
9	ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากร่าข้าวที่สกัดไขมันออกแล้ว	17
ภาคผนวก		
ภาพที่ 1	ร่าหยาบ	27
ภาพที่ 2	ร่าละเอียด	27
ภาพที่ 3	ลักษณะของโปรตีนที่สกัดได้	28
ภาพที่ 4	ขั้นตอนการกวนผสมด้วยเครื่องกวนแบบแท่งแม่เหล็ก	28
ภาพที่ 5	ขั้นตอนการอบไล่ความชื้น	29
ภาพที่ 6	เครื่องย่อยโปรตีน	29

1. คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการผลิตและส่งออกข้าวที่สำคัญประเทศหนึ่งของโลก โดยมีผลผลิตในปี 2546/2547 ถึง 17.58 ล้านตัน ซึ่งเป็นอันดับที่ 6 ของโลก (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) และสามารถส่งข้าวที่ผ่านการขัดสีไปยังต่างประเทศในปี 2547 สูงถึง 8 ล้านตัน (USDA, 2004)

รำข้าว ผลพลอยได้จากการขัดสีข้าวกล้องและมีปริมาณมาก คิดเป็น 1.25 ล้านตัน (ร้อยละ 8 ของข้าวกล้อง) รวมทั้งยังราคาถูกและเป็นแหล่งสะสมของโปรตีนชนิดไกลบูลิน, กลูเตนิน และ โพลีและมีการสะสมโมโนจำเป็น เช่น ลิวซีน, ไลซีน, ฟีนิลอะลานีน และ วาลีน ในปริมาณสูง (Prakash and Ramanatham, 1995c) โปรตีนรำข้าวจึงเป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Lasztity, 1995) รำข้าว จึงถูกนำไปใช้ในค่านต่างๆมากมาย ตัวอย่างเช่น การสกัดน้ำมัน อาหารสัตว์ ปุ๋ย และสามารถแปรรูปเป็นอาหารได้หลายชนิดทั้งอาหารเส้น อาหารว่าง อาหารหวาน และ อาหารเสริมคุณค่าทางโภชนาการ (อรอนงค์, 2534)

เนื่องด้วยโปรตีนจากรำข้าวมีความซับซ้อน ความสามารถในการละลายต่ำ เพราะโปรตีนรวมตัวอย่างแน่นหนาด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (Disulfide bond) อีกทั้งยังประกอบด้วยไฟเตต (Phytate) ในปริมาณสูง (1.7 เปอร์เซ็นต์) และปริมาณเยื่อใย (Fiber) ประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรตีนในรำข้าว เรียงตัวอยู่รอบๆไฟเตต (Phytate ion) ทำให้เกิด insoluble protein-phytate complex ทำให้การแยกโปรตีนในรำข้าวออกจากองค์ประกอบอื่นๆ เป็นไปได้ยาก (Wang et al. 1999)

ในงานวิจัยนี้ ศึกษาสถานะที่มีผลต่อการสกัดโปรตีนออกจากรำข้าว เพื่อกระตุ้นให้มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนในรำข้าวของไทย เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับรำข้าว

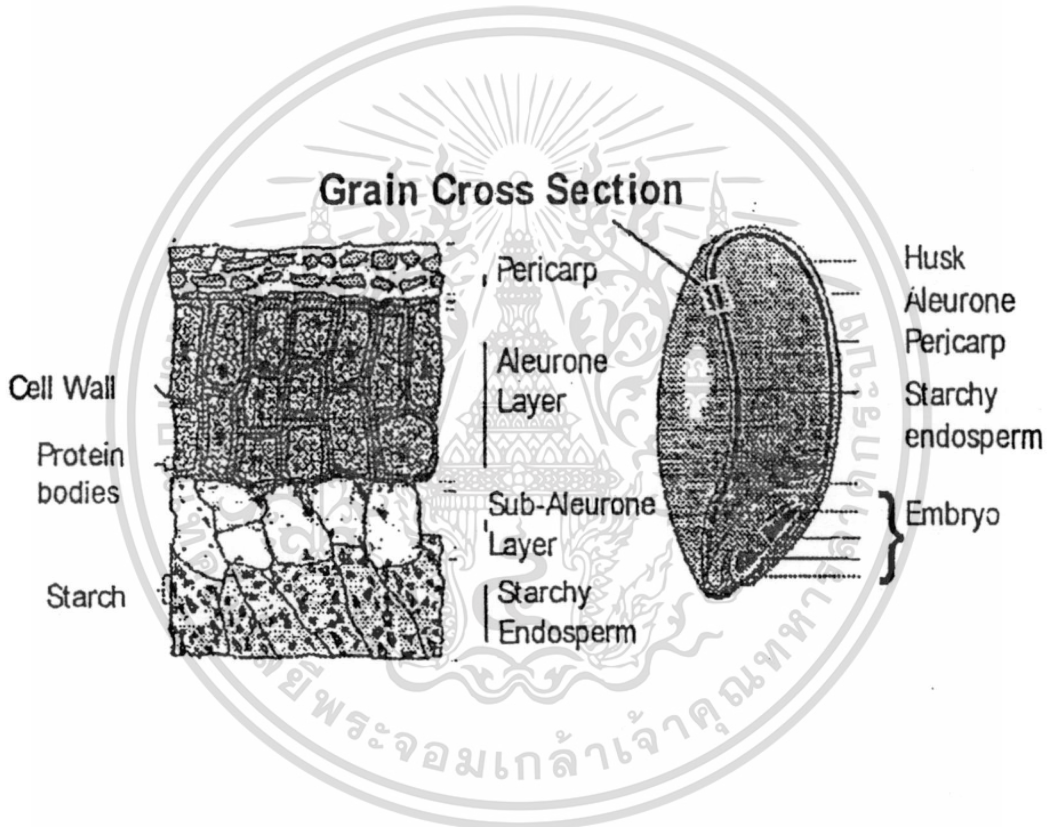
2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของขนาดรำข้าว ที่มีต่อปริมาณผลผลิต โปรตีนที่สกัดออกมาได้
2. เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างรำข้าวกับสารละลายต่างที่ใช้ในการสกัดที่มีต่อปริมาณผลผลิต โปรตีนที่สกัดได้
3. เพื่อศึกษาผลของ พีเอช และ เวลาที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณผลผลิตที่สกัดได้

3 ทฤษฎี

3.1 รำข้าว

รำข้าว หมายถึง ผลพลอยได้หรือส่วนที่ได้หลังจากนำข้าวกล้องมาผ่านการขัดสีชั้นด้านนอกในขั้นตอนของการผลิตข้าวขาว (Houston,1972) ซึ่งรำข้าวประกอบด้วยชั้นต่างๆ ได้แก่ เยื่อหุ้มผล เยื่อหุ้มเมล็ด ชั้นแอลิวโรน รวมทั้งบางส่วนของเอนโดสเปิร์มและคัพกะ (Juliano,1985) ภาพโครงสร้างของเมล็ดข้าว และ ชั้นต่างๆดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างของเมล็ดข้าวและชั้นต่างๆ

ที่มา : Finfeeds International Ltd.

3.1.1 เยื่อหุ้มผล

แบ่งเป็นชั้นต่างๆ คือ epicarp, mesocarp และ endocarp ซึ่งแต่ละชั้นมีขนาดของเซลล์แตกต่างกัน โดยมีความหนาของเซลล์ประมาณ 6-8 ไมโครเมตร ชั้นเยื่อหุ้มผลมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน (United Nations Industrial Development Organization, 1985)

3.1.2 เยื่อหุ้มเมล็ด

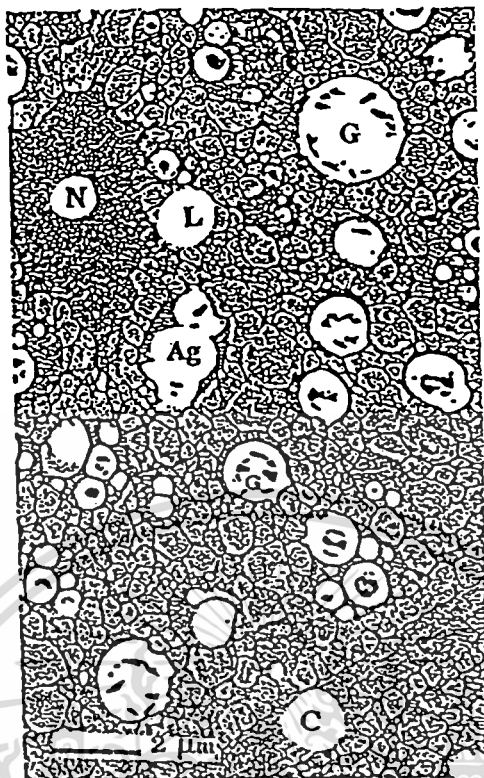
เยื่อหุ้มเมล็ดอยู่ถัดจากเยื่อหุ้มผล ประกอบด้วยเนื้อเยื่อสองชั้นเรียงกันเป็นแถว (เกรือวัลย์, 2536) เป็นชั้นที่มีความหนาประมาณ 0.8-1.5 ไมโครเมตร (United Nations Industrial Development Organization, 1985)

3.1.3 ชั้นแอลิวโรน

ชั้นแอลิวโรนประกอบด้วยเซลล์พาราไคมาที่เป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสหรือสี่เหลี่ยมผืนผ้าซึ่งมีขนาดประมาณ 15-30 ไมโครเมตร ภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์แอลิวโรนมีการสะสมของโปรตีนและเม็ดไขมัน (Juliano, 1985) และเป็นชั้นที่มีการสะสมของโปรตีนแอลบูมินและโกลบูลินอยู่สูง (Lasztity, 1996) โดยเซลล์ของชั้นแอลิวโรน ดังแสดงในภาพที่ 2

3.1.4 คัพภะ หรือ จมูกข้าว

คัพภะประกอบด้วยส่วนยอด รากอ่อน ซึ่งต่อกับส่วนลำต้น ส่วนที่เป็นยอดจะถูกปกคลุมด้วย Coleoptile มีลักษณะเป็นทรงกระบอก และส่วนที่เรียกว่า scutellum จะเป็น ส่วนที่เชื่อมต่อระหว่างคัพภะกับเนื้อเมล็ด ซึ่งมีความสำคัญต่อการเข้าออกของสารอาหารสู่คัพภะ (Houston, 1972)



ภาพที่ 2 ภาพตัดขวางของเซลล์แอลวีโรน ; Ag = โปรตีนรูปร่าง , N = นิวเคลียส , C = ผนังเซลล์ , L = เม็ดไขมัน

ที่มา : Juliano (1985)

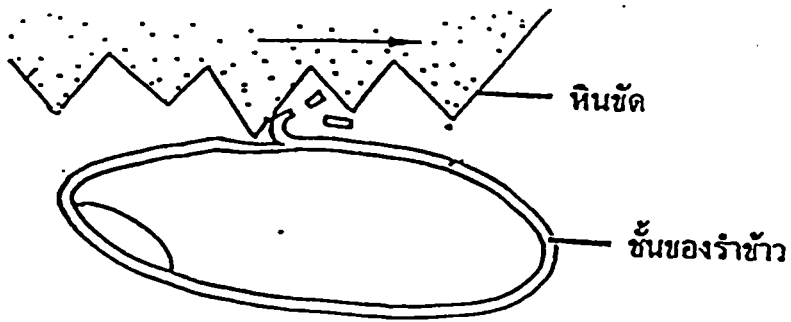
3.2 กระบวนการจัดสีรำข้าว

3.2.1 การจัดสีกับวัตถุ

กระบวนการจัดสีข้าวกล้องให้เป็นข้าวสารจะได้รำหยาบในการขัดผิวเมล็ดข้าวกล้องและรำละเอียดได้จากการขัดขาวและขัดมันจึงทำให้มีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันบ้าง (อรอนงค์ , 2547)

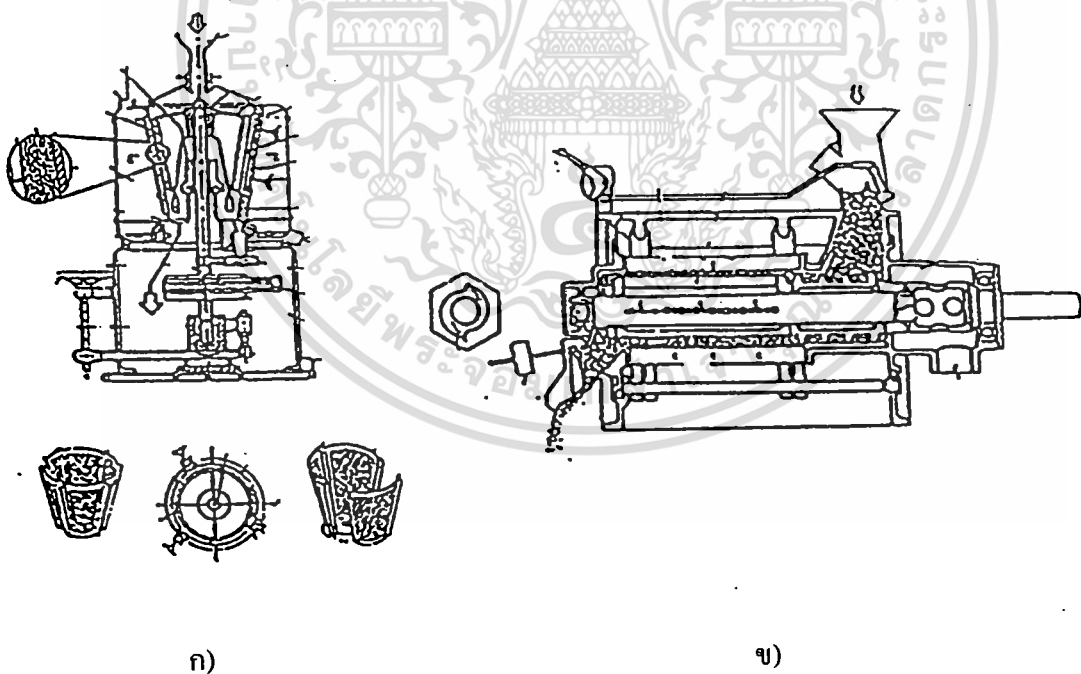
ในการจัดรำแบบจัดสีกับวัตถุ (ภาพที่ 3) เครื่องจักรมีทั้งแบบแนวตั้งและแนวนอน (ภาพที่ 4) โดยมีส่วนประกอบที่สำคัญอยู่ 2 ชั้นคือ ชั้นแรกเป็นลูกโรเหล็กรูปกรวยตัดเคลือบด้วยหินขัด ลูกโรนี้รวมอยู่ในลวดตาข่ายที่ทำเป็นรูปกรวยตัดเช่นเดียวกัน โดยให้มีช่องว่างระหว่างลูกโรกับลวดตาข่ายเล็กน้อย ซึ่งมีการปรับระยะห่างได้ โดยการยกลูกโรให้สูงขึ้นหรือต่ำลง ข้าวกล้องที่ใส่ลงไประหว่างลูกโร และลวดตาข่ายจะถูกขัดด้วยหินขัดที่อยู่บนผิวลูกโรนั้น ในขณะที่ตาข่ายทำหน้าที่ปล่อยให้รำละเอียดหลุดออกไปจากข้าวขาว ตามแนวยาวของลวดตาข่ายมีแผ่นยาง 3 อันจัดเรียงไว้ระยะห่างเท่าๆกัน โดยให้ยางยื่นเข้าไปเกือบชิดกับผิวของหินขัด และสามารถปรับระยะชิดกับลูกโรได้ ทำหน้าที่ควบคุมระดับการขัดสี (ฉรงค์ , 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ลักษณะการขักร้าแบบขัดสีกับวัตถุ

ที่มา : ดัดแปลงจาก United Nations Industrial Development Organization (1985)



ภาพที่ 4 เครื่องขักร้าแบบขัดสีกับวัตถุ

ก) แบบแนวตั้ง ข) แบบแนวนอน

ที่มา : ดัดแปลงจาก United Nations Industrial Development Organization (1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

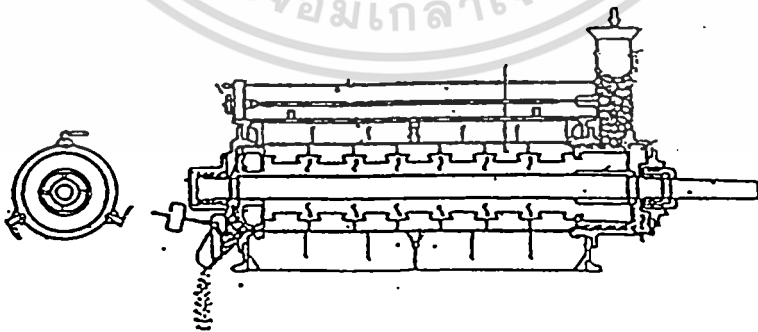
3.2.2 ระบบการขัดสีระหว่างเมล็ดข้าวด้วยกันเอง

การขัดสีแบบให้เมล็ดข้าวขัดกันเอง (ภาพที่ 5) ใช้เครื่องจักรที่มีส่วนประกอบที่สำคัญอยู่ 2 ชั้น (ภาพที่ 6) คือชั้นแรกเป็นตะแกรงหกเหลี่ยมยาว และชั้นที่สองเป็นลูกโรกลวงสอดอยู่ในตะแกรง ลูกโรมีลักษณะเป็นปีกยื่นออกไป 2 ข้างและอยู่ตรงกันข้าม ถ้าตัดตามขวางจะเห็นว่ามีลักษณะเหมือนวงกลมผ่าครึ่งประกบกันอยู่โดยให้เหลือมกันเล็กน้อย ที่ผิวของลูกโรมีรูเป็นแนวยาวเจาะทะลุลงไปถึงรูกลวงตรงกลาง ทำหน้าที่เป็นทางผ่านของลม เมื่อใส่ข้าวกลิ้งลงในกระบะรับข้าว เครื่องเคลื่อนย้ายแบบเกลียว (screw conveyor) จะพาข้าวกลิ้งเข้าไปยังช่องว่างระหว่างลูกโรกับตะแกรง ลูกโรจะพาข้าวกลิ้งให้หมุนไปและเกิดการขัดสีกันเอง (ณรงค์ ,2538)



ภาพที่ 5 ลักษณะการขัดสีระหว่างเมล็ดข้าวด้วยกัน

ที่มา : คัดแปลงมาจาก United Nations Industrial Development Organization (1985)



ภาพที่ 6 เครื่องขัดสีระหว่างเมล็ดข้าวด้วยกันเอง

ที่มา : คัดแปลงจาก United Nations Industrial Development Organization (1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว

ปัจจัยที่มีผลต่อชนิดและปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว ได้แก่ พันธุ์ข้าว ความหนาของชั้นต่างๆ รูปร่าง ขนาดและความทนทานต่อการแตกหักของเมล็ดข้าว รวมทั้ง วิธีการ เครื่องมือ และสถานะในการขัดสี (Barber และ Banedito de Barber,1980) องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวเปลือกและส่วนที่ได้จากการขัดสีที่ 14% ความชื้น

ส่วนของข้าว	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน(กรัม)	เส้นใย (กรัม)	เถ้า(กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	เส้นใยอาหาร (กรัม)
ข้าวเปลือก	5.8-7.7	1.5-2.3	7.2-10.4	2.9-5.2	64-73	16.4-19.2
ข้าวกล้อง	7.1-8.3	1.6-2.8	0.6-1.0	1.0-1.5	73-87	2.9-3.9
ข้าวสาร	6.3-7.1	0.3-0.5	0.2-0.5	0.3-0.8	77-89	0.7-2.3
รำข้าว	11.3-14.9	15.0-19.7	7.0-11.4	6.6-9.9	34-62	24-29
แกลบ	2.0-2.8	0.3-0.8	34.5-45.9	13.2-21.1	22-34	66-74

ที่มา : คัดแปลงจาก Juliano(1993)

3.3.1 คาร์โบไฮเดรต

สตาร์ชเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุด รองลงมาคือ เส้นใย ซึ่งได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน และลิกนิน ที่เหลือเป็นน้ำตาลอิสระ ได้แก่ ซูโครส ราฟฟิโนส กลูโคส ฟรุคโทส (อรอนงค์,2532) ในส่วนชั้นที่เป็นรำข้าวไม่พบสตาร์ช แต่หลังจากผ่านกระบวนการขัดสี จะมีการขัดสีส่วนที่เป็นสตาร์ชของเอนโดสเปิร์มออกมาด้วย (Houston,1972)

3.3.2 ไขมันและกรดไขมัน

รำข้าวประกอบด้วยไขมันประมาณร้อยละ 16-32 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ข้าว

(Juliano,1985) Taira(1989) ได้รายงานชนิดและปริมาณของกรดไขมันในรำข้าว 2 สายพันธุ์คือ Indica เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ Japonica พบว่า รำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์มีไขมันร้อยละ 20-27 กรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดใรรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ Oleic acid รองลงมาคือ Linoleic และ Palmitic acid ตามลำดับ นอกจากนี้ Orthofer (1996) รายงานว่ารำข้าวมีฟอสโฟลิปิดประมาณร้อยละ 4-5

3.3.3 โปรตีนและสารประกอบไนโตรเจน

รำข้าวมีโปรตีนประมาณร้อยละ 12.0-15.6 และโปรตีนหลักในรำข้าว คือ แอลบูมิน และไกลบูลิน ปริมาณไนโตรเจนในรำข้าวจะมีความแตกต่างกันประมาณร้อยละ 1-3 และเมื่อนำปริมาณไนโตรเจนคูณกับ 5.95 จะเป็นปริมาณโปรตีนของรำข้าว สารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ ได้แก่ กวานีน แซนทีน อะดีนีน กรดนิโคตินิก เป็นต้น (Barber และ Benedito de Barber, 1980)

3.3.4 วิตามิน

รำข้าวเป็นแหล่งที่สำคัญของวิตามินบี และ วิตามินอี รวมทั้ง Oryzanol แต่มีปริมาณของวิตามินเอและวิตามินซีต่ำ ปริมาณของวิตามินในรำข้าว้นั้นค่อนข้างแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ข้าว และการขัดสี (Barber และ Benedito de Barber, 1980)

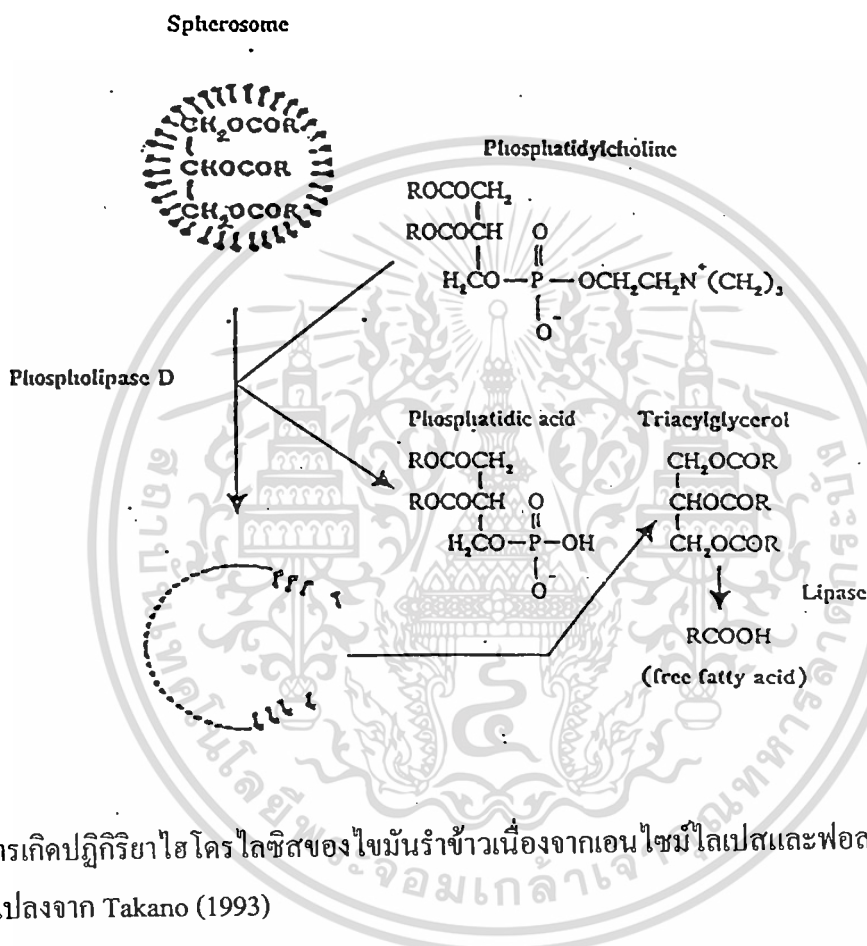
3.3.5 แร่ธาตุ

แร่ธาตุที่พบมากในรำข้าวคือ ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม และแมกนีเซียม แต่รำข้าวมีแคลเซียม คลอไรด์ เหล็ก และโซเดียมต่ำ โดยฟอสฟอรัสในรำข้าวจะพบมากในรูปของกรดไฟติก กรดนิวคลีอิก ฟอสเฟตและฟอสฟาไทด์ (Barber และ Benedito de Barber, 1980)

3.4 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของรำข้าวเนื่องจากเอนไซม์

รำข้าวเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งสาเหตุหลักเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและฟอสโฟไลเปส โดย Takano (1993) ได้สรุปขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงไขมันจากรำข้าวเนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไว้ดังแสดงในภาพที่ 7 เอนไซม์ไลเปสจะพบอยู่ในส่วนของ testa ส่วนไขมันจะพบมากในส่วนของแอดิวโรนและคัพพะ ซึ่งในคัพพะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสถึงร้อยละ 60 ของกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสทั้งหมด เมื่อเมล็ดข้าวผ่านกระบวนการขัดสีได้ส่วนที่เป็นรำข้าว เอนไซม์ไลเปสและไขมันจะมาอยู่ร่วมกัน และเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยเริ่มจากฟอสฟาติลเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคลีนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของ spherosome membrane ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ ฟอสโฟไลเปสดี ได้กรดฟอสฟาติกจึงทำให้ spherosome membrane ถูกทำลาย ดังนั้น ไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งอยู่ใน spherosome จึงออกมาและทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน ไขมันที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เกิดกลิ่นหืนซึ่งทำให้คุณภาพของรำข้าวลดลง (Takano,1993)



3.5 การรักษาความคงตัวให้กับรำข้าว

ในการรักษาความคงตัวให้กับรำข้าวมีจุดประสงค์เพื่อทำลายเอนไซม์ จุลินทรีย์ หรือ แมลง ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียคุณภาพของรำข้าว และเพื่อรักษาองค์ประกอบที่สำคัญในรำข้าวได้แก่ ไขมัน โปรตีน วิตามิน (United Nations Industrial Development Organization,1985) การรักษาความคงตัวให้กับรำข้าวแบ่งได้เป็น 2 วิธีคือ

3.5.1 การใช้สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรักษาความคงตัวให้กับรำข้าวด้วยการใช้สารเคมี เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพไม่ต่ำเท่าที่ควร และยังคงคำนึงถึงความเป็นพิษเนื่องจากสารเคมี การเปลี่ยนแปลงของสารอาหาร และต้นทุนการผลิต ซึ่งสารเคมีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นคือ จะเกิดสาร ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อสุขภาพและมีผลต่อสภาพบรรยากาศ (United Nations Industrial Development Organization,1985) นอกจากนี้ ได้มีการรายงานถึงการใช้กรดไฮโดรคลอริก เพื่อลดพีเอชของรำข้าว ซึ่งจะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง (Prahakar และ Venkatesh,1986)

3.5.2 การใช้วิธีทางกายภาพ

3.5.2.1 การเก็บที่อุณหภูมิต่ำ การเก็บรำข้าวที่อุณหภูมิต่ำใช้อุณหภูมิอยู่ในช่วง 0-5 องศาเซลเซียส เพื่อลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส แต่ไม่ได้หยุดปฏิกิริยาหรือหยุดการทำงานของเอนไซม์ เมื่อนำรำข้าวมาไว้ที่อุณหภูมิห้องก็ทำให้เอนไซม์มีกิจกรรมขึ้นมาอีกครั้ง โดยทั่วไป การทดลองในห้องปฏิบัติการนั้นจะได้ผลดี แต่เป็นการยากที่จะนำไปปฏิบัติในระดับอุตสาหกรรมที่มีรำข้าวเป็นจำนวนมาก เนื่องจากรำข้าวมีระบบของการถ่ายเทความร้อนต่ำ และถ้าต้องการเก็บรำข้าวระดับอุตสาหกรรม จะต้องเป็นระบบแช่เย็น ซึ่งจะเพิ่มต้นทุนในการเก็บรักษา

3.5.2.2 การเก็บในสภาพปรับบรรยากาศ เช่น การลดปริมาณออกซิเจน เพื่อลดการเจริญของจุลินทรีย์ การเจริญเติบโตของแมลง และลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่ไม่สามารถทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ได้เปสได้

3.5.2.3 การใช้ความร้อนเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการรักษาความคงตัวให้กับรำข้าว ซึ่งมีประสิทธิภาพสูง และมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่แบ่งได้เป็น 2 วิธีคือ การให้ความร้อนแบบชื้นเช่น การใช้ไอน้ำและการให้ความร้อนแบบแห้ง เช่น การอบด้วยลมร้อน เป็นต้น (United Nations Industrial Development Organization,1985)

3.6 โปรตีนรำข้าว

3.6.1 การจำแนกชนิดโปรตีนในรำข้าว

การจำแนกชนิดโปรตีนในธัญชาติ สามารถแบ่งได้ตามตำแหน่ง หน้าที่ทางชีววิทยา สมบัติการละลาย และองค์ประกอบทางเคมี ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การจำแนกชนิดของโปรตีนในธัญชาติ

การจำแนกชนิดของโปรตีนในธัญชาติ

ตำแหน่ง	หน้าที่ทางชีววิทยา	สมบัติการละลาย	องค์ประกอบทางเคมี
1. โปรตีนในเอนโดสเปิร์ม	โปรตีนที่มีหน้าที่เกี่ยวกับเมตาบอลิซึม	1. แอลบูมิน	1. โปรตีนธรรมดา
2. โปรตีนในชั้นแอลลิวโรน	2. เอมไซม์	2. โกลบูลิน	2. โปรตีนเชิงประกอบ
3. โปรตีนในคัพกะ	3. โปรตีนสะสม	3. โปรลามิน	ไลโปโปรตีน
	ชนิดมวลโมเลกุลต่ำ	4. กลูเตลิน	ไกลโคโปรตีน
	ชนิดมวลโมเลกุลสูง	5. โปรตีนส่วนที่เหลือ	นิวคลีโอโปรตีน เมทัลโลโปรตีน โครโมโปรตีน ฟอสโฟโปรตีน

ที่มา : คัดแปลงจาก Lasztity (1996)

Hamada (1997) ได้ทำการสกัดแยกโปรตีนชนิดต่างๆ จากรำข้าวสายพันธุ์ Bengall Cy ress Della Mars Maybelle และ Toro-2 ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า รำข้าวจากข้าวต่างสายพันธุ์จะมีปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดแตกต่างกัน และพบว่า สามารถสกัดโปรตีนจากรำข้าวพันธุ์ Mars ได้มากที่สุด (ร้อยละ 73.7) และสกัดโปรตีนจากรำข้าวพันธุ์ Toro-2 ได้น้อยที่สุด (ร้อยละ 56.1) โดยแอลบูมินและโกลบูลินเป็นโปรตีนที่มีมากในรำข้าว และมีโปรตีนส่วนที่เหลือ (residue protein) ที่ไม่สามารถสกัดออกมาได้โดย

Hamada (1997) ได้อธิบายว่า เป็นโปรตีนกลูเตลินที่ไม่ละลายซึ่งมีการเกิดพันธะข้ามและพันธะไคซัลไฟด์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารโพลิเปปไทด์มากและแข็งแรง จำเป็นต้องมีการเติมสารประเภท disulfide breaking reagent และจะต้องใช้สภาวะที่มีความเป็นด่างสูง จึงจะสามารถสกัดโปรตีนส่วนที่เหลือออกมาได้

ตารางที่ 3 ชนิดและปริมาณของโปรตีนในรำข้าวจากข้าวสายพันธุ์ต่างๆ(ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง)

พันธุ์ข้าว	แอลบูมิน	โกลบูลิน	โพรลามิน	กลูเตนิน	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด	โปรตีนส่วนที่เหลือ	
						ละลายในด่าง	ไม่ละลายในด่าง
Bengal	34.7b	17.4a	6.7ab	11.9bc	69.9cd	29.4a	0.1a
Cypress	33.0b	13.7a	7.8b	9.7ab	64.9b	30.4a	5.5c
Della	32.2b	13.5a	5.7a	10.4b	61.2ab	35.7b	2.6b
Mars	39.5c	17.0a	5.3a	12.1bc	73.7d	24.2a	2.6b
Maybelle	33.4b	12.8a	5.9a	14.7c	66.2bc	28.9a	4.5c
Toro-2	30.2a	14.3a	5.3a	6.6a	56.1a	42.2c	1.7b

ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ที่มา : คัดแปลงจาก Hamada (1997)

3.6.2 การสกัดโปรตีนจากรำข้าวและองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนรำข้าวเข้มข้น

3.6.2.1 การสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยสารละลายด่าง เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดโปรตีนในเชิงพาณิชย์ โดยอาศัยสมบัติการละลายของโปรตีนซึ่งโปรตีนสามารถละลายได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง Chen และ Houston (1970) ศึกษาการสกัดโปรตีนจากรำข้าวสายพันธุ์ California Pearl ที่ผ่านการสกัดไขมันในระดับห้องปฏิบัติการ โดยศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ระยะเวลาในการสกัด (0.25-4.0 ชั่วโมง) อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นต่อรำสกัด (5:1 – 15:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก) ค่าพีเอชที่ใช้ในการสกัด (7.0 – 12.0) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ระยะเวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่นต่อรำสกัดเป็น 7.5:1 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) สกัดที่พีเอช 11.0 โดยสามารถสกัดโปรตีนได้ประมาณร้อยละ 50

Connor และคณะ (1976) ได้เปรียบเทียบ %protein recovery และองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่ผลิตจากรำข้าว 2 ชนิดคือ รำข้าวสด และรำสกัดไขมันด้วยวิธี X-M process โดยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้สถานะในการสกัดครั้งนี้ อัตราส่วนระหว่างรำสาค และรำสาคัดไขมันต่อน้ำกลั่นเป็น 1:5 และ 1:4 ตามลำดับ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่พีเอช 9.0 ใช้เวลาในการสกัด 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากสกัด นำมาแยกกากรำด้วยเครื่องบีบอัดแบบไฮดรอลิก นำสารละลายโปรตีนรำข้าวมาตกตะกอน โดยแบ่งเป็น 2 วิธีคือ ตกตะกอนด้วยการให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 และอีกวิธีคือการตกตะกอนด้วยสถานะที่เป็นกรด โดยทำการปรับพีเอชเป็น 4.0 เหยียงแยกและนำตะกอนโปรตีนรำข้าวมาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่า โปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่ผลิตจากรำข้าวสดมีความเข้มข้นโปรตีนน้อยกว่าโปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่ผลิตจากรำสาคัดไขมัน แต่มีความเข้มข้นของไขมันสูงกว่า และการตกตะกอนโปรตีนรำข้าวด้วยการใช้ความร้อนทำให้ได้ %protein recovery สูงกว่าการตกตะกอนด้วยสถานะกรดเล็กน้อย Betschart และคณะ(1977) รายงานว่า สามารถสกัดโปรตีนจากรำข้าว U.S. และ Protex และ Spanish ได้เพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชในการสกัดมากกว่า 7 และสูงสุดที่พีเอช 8-10 ซึ่งสามารถสกัดโปรตีนได้ร้อยละ 63-66 และพบว่าสามารถสกัดโปรตีนจากรำข้าว Spanish ที่ผ่านการรักษาความคงตัวด้วยความร้อนที่ 95-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ตั้งแต่พีเอช 2-9 ได้เพียงร้อยละ 20-22

ตารางที่ 4 ร้อยละของผลผลิตโปรตีนและองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่ผลิตจากรำข้าวสด และ รำสาคัดไขมัน

โปรตีนรำข้าวเข้มข้น (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	%protein recovery	องค์ประกอบทางเคมี				
		โปรตีน	ไขมัน	เส้นใย	เถ้า	สตาร์ช
รำข้าวสด						
ตกตะกอนด้วยความร้อน		17.5	24.7	36.4	1.1	13.5 17.0
ตกตะกอนด้วยกรด		16.8	28.2	41.7	1.0	5.2 20.4
รำสาคัดไขมัน						
ตกตะกอนด้วยความร้อน		20.5	33.7	8.2	1.6	17.0 25.5
ตกตะกอนด้วยกรด		16.8	43.0	12.2	1.6	5.7 29.7

ที่มา : ดัดแปลงจาก Connor และคณะ(1976)

3.6.2.2 การสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยเอนไซม์ เป็นวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวโดยใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆ โดย Ansharullah และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาการสกัดโปรตีนจากรำข้าวสดโดยใช้เอนไซม์ทางการค้ากลุ่ม Carbohydrase 2 ชนิดคือ Viscozyme L (activity 120 FBG unit/ml สกัดจากเชื้อรา *Aspergillus sp.*) และ Celluclast 1.5 L (activity 1800 Novo cellulase unit/ml สกัดจากเชื้อ *Trichoderms reesei*) ที่พีเอช 3.8 ระยะเวลาในการสกัด 5 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์เซียส การใช้เอนไซม์ Celluclast สามารถสกัดโปรตีนจากรำข้าวได้ร้อยละ 28.6 และ 25.9 ตามลำดับ แต่การสกัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ Viscozyme สามารถสกัดโปรตีนสูงกว่า ซึ่งสามารถสกัดโปรตีนได้ร้อยละ 51.0 และ 57.9 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก Celluclast เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์ β -glucan ซึ่งรำข้าวมี β -glucan อยู่บ่อย ในทางกลับกันเอนไซม์ Viscozyme เป็นเอนไซม์ผสมของ arabanase, cellulase, hemicellulase และ xylanase ซึ่งจะมีผลในการตัดพันธะของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ได้หลายชนิด ดังนั้น จึงทำให้สกัดโปรตีนจากรำข้าวได้มากกว่า

Wang และคณะ (1999) ได้ทำการสกัดโปรตีนจากรำสกัดไขมันในระดับห้องปฏิบัติการด้วยเอนไซม์ 2 ชนิดคือ Phytase (Finase S 40 สกัดจาก *Aspergillus niger* มี activity 40,000 phytase units/ml) และ xylanase (สกัดจาก *Trichoderms longibrachiatum* มี activity 4,000 Genencor xylanase units/ml) โดยมีขั้นตอนการสกัดดังนี้ ใช้รำสกัด 10 กรัม ผสมกับน้ำปราศจาก อีออน 75 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 5.0 จากนั้นเติมเอนไซม์ phytase และหรือ xylanase บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยปรับพีเอชเป็น 10.0 เหยี่ยงแยกกากรำนำสารสกัดมาปรับพีเอชเป็น 4.0 เพื่อตกตะกอนโปรตีน เหยี่ยงแยกนำตะกอนโปรตีนมาปรับสภาวะของโปรตีนรำข้าวให้เป็นกลาง และนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่า การสกัดโปรตีนจากรำสกัดไขมันในระดับห้องปฏิบัติการด้วยเอนไซม์ phytase ร่วมกับ xylanase มี %protein recovery รำข้าวเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 34.2 (ไม่มีการเติมเอนไซม์) เป็นร้อยละ 74.6 และโปรตีนรำข้าวเข้มข้นมีความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 72.5 (ไม่มีการเติมเอนไซม์) เป็นร้อยละ 92.0

4. อุปกรณ์และวิธีการ

4.1. วัสดุคืบ

รำข้าว

- รำละเอียด

- รำหยาบ

รำข้าวพันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 ได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

4.2. สารเคมี

- Potassium dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4) Carloerba Reagenti
- Disodium hydrogen Phosphate anhydrous (NaHPO_4) Carloerba Reagenti
- Sodiumbicarbonate (NaHCO_3) Merck
- Sodiumcarbonate (Na_2CO_3) Carloerba Reagenti
- Disodiumtetraborate($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) Merck

4.3. อุปกรณ์

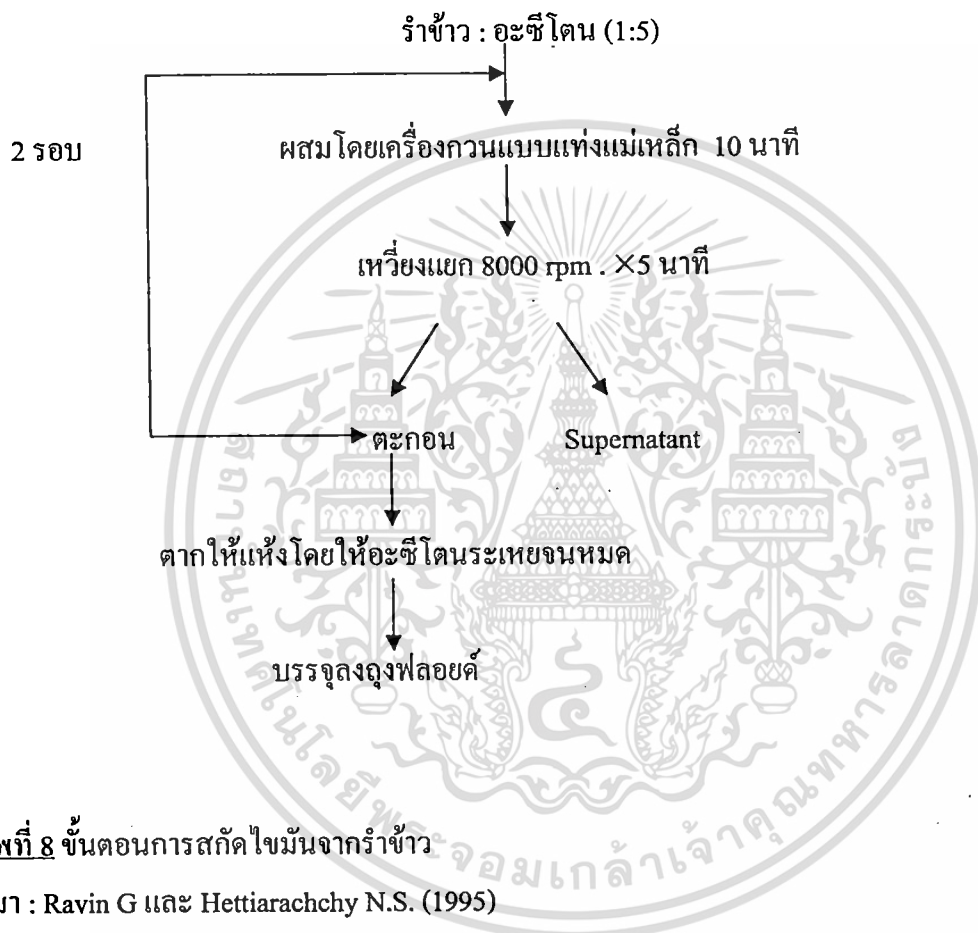
- เครื่องกวนแบบแท่งแม่เหล็ก (variomag electronicruhrer mono)
- Bar
- เครื่องเหวี่ยงแยกแบบควบคุมอุณหภูมิ (Centrikon F-42k)
- หลอดสำหรับใช้ในการเหวี่ยงแยกพร้อมฝา
- เทอร์โมมิเตอร์ -40 องศาเซลเซียส
- เครื่องวัดพีเอช (schott cg 842)
- เครื่องชั่ง (sartorius bp 3100s และ hr-200)
- Aluminum can
- Hot air oven (WTB binbor E 53)
- ชุดวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน ประกอบด้วยเครื่องย่อยตัวอย่างและเครื่องกลั่นไนโตรเจน
- ชุดวิเคราะห์ไขมัน

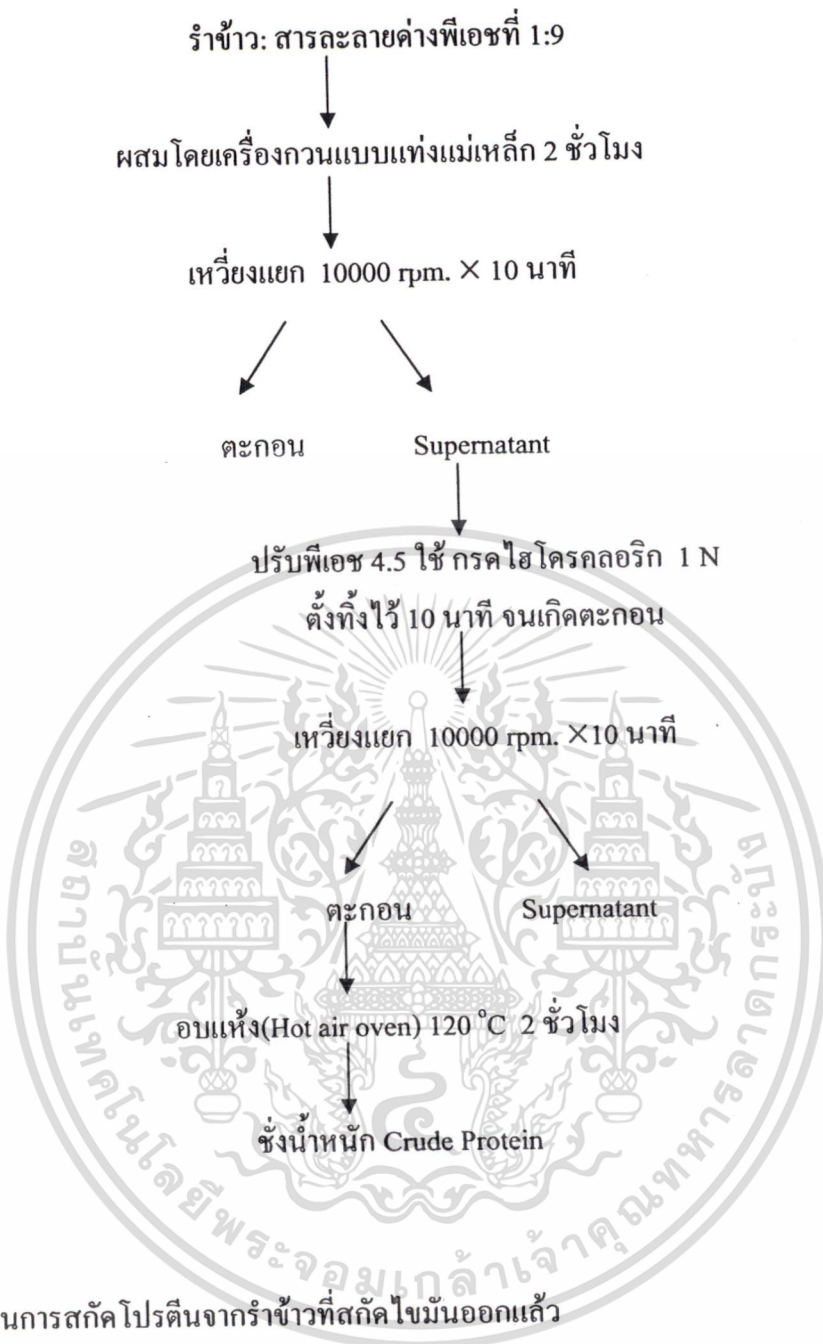
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4. ขั้นตอนและวิธีการ

4.4.1 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากรำข้าว

ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากรำข้าวประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกคือ ขั้นตอนการสกัดไขมัน ดังภาพที่ 8 ขั้นตอนที่สอง คือ การสกัดโปรตีน ด้วย สารละลายต่าง ดังภาพที่ 9 โดยดัดแปลงมาจากวิธีการของ Ravin G และ Hettiarachchy N.S. (1995) และ Prakash J. (1996)





ภาพที่ 9 ขั้นตอนการสกัด โปรตีนจากรำข้าวที่สกัดไขมันออกแล้ว

ที่มา : Prakash Jamuna (1996)

4.4.2. การศึกษาผลของขนาดรำข้าวที่มีต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้

ทำการศึกษาผลของขนาดของรำข้าวโดยใช้รำข้าว 2 ขนาด คือ รำหยาบ และ รำละเอียด มาสกัดโปรตีนตามวิธีการในข้อที่ 4.1 แล้วนำไปเปรียบเทียบกับน้ำหนักของผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้ วิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Multiple Duncan Ranking โปรแกรม SPSS V.11

4.4.3. การศึกษาผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อสารละลายต่างที่มีต่อปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้

นำรำข้าวชนิดที่ให้ปริมาณโปรตีนมากที่สุดจากการทดลองในข้อ 4.2 มาทำการสกัดโปรตีน โดยศึกษาอัตราส่วนของรำข้าวต่อสารละลายต่าง 3 ระดับ คือที่ 1:5, 1:7 และ 1:9 นำมาเปรียบเทียบกับน้ำหนักของผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Multiple Duncan Ranking โปรแกรม SPSS V.11 เพื่อเลือกใช้เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาต่อไป

4.4.4. การศึกษาผลของ พีเอช และ เวลา ในการสกัดต่อปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้

ทำการศึกษาผลของ พีเอช และเวลาในการสกัด โดยการวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 3×3 โดยปัจจัยแรกคือ พีเอชที่ 7, 9 และ 12 และ ปัจจัยที่สอง คือ เวลาในการสกัดที่ 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ทำการสกัดโปรตีนตามวิธีการดังข้อที่ 4.1 โดยใช้สภาวะที่เลือกมาจากข้อที่ 4.2 และ 4.3 วิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Multiple Duncan Ranking โปรแกรม SPSS V.11

4.4.5. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผลผลิต โปรตีนที่สกัดได้

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว และโปรตีนที่สกัดได้ ได้แก่ โปรตีน (%N × 5.95) ไขมัน และปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (1999)

5. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว

ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของรำละเอียดและรำหยาบ พบว่าปริมาณโปรตีนในรำละเอียดสูงกว่าปริมาณโปรตีนในรำหยาบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ถ้าพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีสามารถคาดการณ์ได้ว่ารำหยาบน่าจะมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมาจากส่วนของเปลือกอยู่สูง

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของรำละเอียดและรำหยาบ (กรัม / 100 กรัม)

ชนิดของรำข้าว	ความชื้น	ไขมัน	โปรตีน
รำหยาบ	8.114 ^a	1.816 ^a	3.532 ^a
รำละเอียด	8.435 ^b	23.301 ^b	10.948 ^b

a,b ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

5.2 ผลของการศึกษาปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้จากรำข้าว 2 ชนิด

รำข้าว 2 ชนิดคือ รำหยาบ มีขนาด 42 mesh ซึ่งได้จากการขัดผิวเมล็ดข้าวกล้องและ รำละเอียด มีขนาด 42 mesh ได้จากขั้นตอนการขัดขาว และขัดมัน โดยจากข้อมูลของโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดาพบว่าปริมาณของรำหยาบร้อยละ 3.4 (กรัมต่อ 100 กรัมของข้าวกล้อง) และปริมาณของรำละเอียดร้อยละ 6 (กรัมต่อ 100 กรัมของข้าวกล้อง) รำทั้งสองชนิดถูกนำมาสกัดโปรตีนอาศัยหลักการความสามารถในการละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ของโปรตีน โดยในการทดลองขั้นแรกเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์ ของ บอแรกซ์ บัฟเฟอร์ ที่พีเอช 9 เวลาในการสกัด 2 ชั่วโมง ผลของปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้เมื่อใช้รำข้าวทั้งสองแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณของผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้จากรำละเอียดและรำหยาบ (กรัม / 100กรัม)

ชนิด	ปริมาณผลผลิต โปรตีน (กรัม/100กรัม)
รำหยาบ	0.29255 ^a
รำละเอียด	3.5632 ^b

a,b ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 6 แสดงให้เห็นว่าปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้จากการใช้รำละเอียดมีค่าสูงกว่าปริมาณผลผลิตโปรตีนที่ได้จากรำหยาบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองสอดคล้องกับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดังแสดงในตารางที่ 5 ปริมาณผลผลิตโปรตีนในรำละเอียดมีค่ามากกว่า ทำให้การสกัดสามารถสกัดปริมาณผลผลิตโปรตีนได้มากกว่า นอกจากนี้ในระหว่างการสกัดโปรตีนโดยใช้สารละลายต่างจากรำหยาบ ค่าความหนืดของสารละลายสูงมากทำให้การกวนผสมทำได้ยาก ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้รำละเอียดเพราะนอกจากให้ปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สูงแล้วขั้นตอนในการสกัดก็ทำได้ง่ายกว่า

5.3 ผลการศึกษาของอัตราส่วนรำข้าวต่อสารละลายต่างที่มีต่อปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้ ผลของอัตราส่วนของรำข้าวต่อสารละลายต่างที่ พีเอช 9 ต่อปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้ แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้เมื่อใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อสารละลายต่างที่ระดับต่างๆ

อัตราส่วนของรำข้าวต่อสารละลายต่าง	ปริมาณผลผลิตโปรตีน (กรัม/100กรัม)
1:5	2.4526 ^a
1:7	3.2524 ^b
1:9	3.5304 ^c

a,b,c ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

พบว่าเมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อสารละลายต่าง เพิ่มขึ้นจาก 1:5 ไปเป็น 1:9 ทำให้ปริมาณผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อสารละลายต่างสูงขึ้น ทำให้การกวนผสมในระหว่างการสกัดด้วยเครื่องกวนผสมแบบแท่งแม่เหล็ก ทำได้ง่ายขึ้น เนื่องจากความหนืดของสารละลายลดลงเป็นเหตุให้ปริมาณผลผลิตโปรตีนสามารถละลายออกมาในสารละลายมากขึ้น

5.4 ผลของการศึกษาผลของ พีเอช และ เวลา ในการสกัดต่อปริมาณผลผลิต โปรตีนที่สกัดได้
ผลของ พีเอชและเวลาในการสกัดต่อปริมาณผลผลิต โปรตีนที่สกัดได้แสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณของผลผลิต โปรตีนที่สกัดได้เมื่อใช้พีเอชและเวลาที่ระดับต่างๆ

pH	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณผลผลิต โปรตีน(กรัม/100 กรัม)
7	1	1.608a
	2	1.503a
	4	1.592a
9	1	3.235b
	2	3.530b
	4	4.177b
12	1	6.181c
	2	5.705c
	4	6.040c

a,b,c ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ในการทดลองเมื่อพีเอชเปลี่ยนจาก 7 ไปเป็น 9 และ 12 เวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 1 ชั่วโมง ไปเป็น 4 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์สถิติ เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลร่วมของพีเอชและเวลาในการสกัดต่อ ปริมาณ โปรตีนผลผลิตที่สกัดได้พบว่า ทั้งสองปัจจัยไม่มีอิทธิพลร่วมกัน กับ ปริมาณผลผลิต โปรตีนที่ สกัดได้ อย่างไรก็ตามเมื่อพีเอชของสารละลายค่าที่สกัดเพิ่มขึ้นจาก 7 ไปเป็น 12 ทำให้ปริมาณผลผลิต โปรตีนที่สกัดได้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลอง ของ Chen และ Houston (1970) การที่พีเอชของสารละลายค่าสูงขึ้นไปอาจทำให้โปรตีนกลูเคลินละลาย ออกมาได้มากขึ้น นอกจากนี้สภาวะที่เป็นด่างสูงๆอาจไปทำลายพันธะไดซัลไฟด์ที่อยู่ใน โครงสร้าง ของโมเลกุลโปรตีนทำให้โมเลกุลคลายตัวสามารถละลายออกมาได้มากขึ้น(Hamada,1997) โดยที่pH 12 ปริมาณผลผลิต โปรตีนที่สกัดได้คิดคำนวณเป็น 60%ของปริมาณ โปรตีนที่มีอยู่ในรำละเอียด

5.5 องค์ประกอบทางเคมีของผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลผลิตโปรตีนที่สกัดได้ด้วยวิธี AOAC (1999) พบว่าค่าความชื้น ไขมัน โปรตีน มีค่าเท่ากับ 0.061 16.587 และ 53.26 ตามลำดับ

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลผลิตโปรตีนแสดงว่ายังมีคาร์โบไฮเดรตหลงเหลืออยู่มาก โดยคาร์โบไฮเดรตที่หลงเหลืออยู่อาจเชื่อมต่อกับโปรตีนในรำข้าวทำให้การสกัดโดยใช้หลักการละลายของโปรตีนในสารละลายค่างไม่สามารถเอาคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้ออกมาได้ Ansharultah และคณะ (1997) ได้ทดลองสกัดโปรตีนรำข้าวโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าในกลุ่ม Carbohydrase พบว่าสามารถช่วยสกัดโปรตีนออกจากรำข้าวได้

นอกจากนี้ปริมาณไขมันที่หลงเหลืออยู่ในผลผลิตโปรตีนสูงถึง 16.6 % ในขั้นตอนการสกัดไขมันออกอาจต้องเพิ่มระยะเวลาหรือเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัด



6. สรุปผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาของขนาดรำข้าวที่มีต่อปริมาณผลผลิต โปรตีนที่สกัด ได้พบว่ารำละเอียดจะให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่ารำหยาบ
2. ผลการศึกษาของอัตราส่วนระหว่างรำข้าวกับสารละลายต่างที่ใช้ในการสกัดที่มีต่อปริมาณผลผลิต โปรตีนที่สกัด ได้พบว่าอัตราส่วนที่ 1:9 จะให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด
3. ผลการศึกษาของพีเอชและเวลาในการสกัดที่มีต่อปริมาณผลผลิตของ โปรตีนที่สกัดได้ พบว่า ถ้าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 7 ไปเป็น 12 ทำให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการเพิ่มเวลาในการสกัดจาก 1 ชั่วโมง ไปเป็น 4 ชั่วโมงไม่ทำให้ปริมาณผลผลิตมีความแตกต่างกัน



7. เอกสารอ้างอิง

ณรงค์ นิชมวิทย์. 2538. องค์ประกอบ และการเปลี่ยนแปลงเคมีกายภาพของอาหาร. ฟอรัมแพทรีนดิง
จำกัด, กรุงเทพฯ. 237น.

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2532. เคมีทางสัตววิทยา. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะ
อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 148 น.

_____. 2534. ผลิตภัณฑ์จากข้าวและคุณค่าทางโภชนาการ. วารสารอุตสาหกรรมเกษตร 2
(2), 109.

Ansharullah, J.A. Hourigan and C.F. Chesterman. 1997. Application of carbohydrases in extracting
protein from rice bran. *J.Sci. Food Agric.* 74:141-146.

Barber, S. and C. Benedito de Barber. 1980. Rice bran : Chemistry and technology, pp 791-862. *In*
B, S, Luh(ed.). *Rice : Production and Utilization*. AVI Publ.Co., Inc, Westport.

Betschart, A.A., R.Y. Fong and R.M. Saunders. 1977. Rice by-products : Comparative extraction and
precipitation of nitrogen from U.S. and Spanish bran and germ. *J. Food Sci.* 42 : 1088-1094.

Beuchart, L.R., J.P. Cherry and M.R. Quinn. 1975. Physicochemical properties of peanut flour as
affected by proteolysis. *J. Agric. Food Chem.* 23 : 616-618.

Chen, L. and D.F. Houston. 1970. Solubilization and recovery of protein from defatted rice bran.
Cereal Chem. 47 : 72-79

Connor, M.A., R.M. Saunders and G.O. Kohler. 1976. Rice bran protein concentrates obtained by wet
alkaline extraction. *Cereal Chem.* 53 : 488-496.

Finfeeds International Ltd. "Prozyme: Application in Corn-Based Diets for Young and Grower/Fisher
Pigs and for Lactation Sows." [COMPACT DISC]. (N.C.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Giese, J. 1994. Protein as ingredients : Types, functions, application. *Food Technol.*68(10) : 50-60.
- Hamada, J.S. 1997. Characterization of protein fraction of rice bran to devise effective methods of protein solubilization. *Cereal Chem.* 74(5) : 662-668.
- _____. 1999. Use of protease to enhance solubilization of rice bran protein. *J, Food Biochem.* 23 : 307-321.
- _____. 2000a. Ultrafiltration of partially hydrolyzed rice bran protein to recovery value-added products. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 77 : 779-784.
- _____. 2000b. Characterization and functional properties of rice bran protein modified by commercial exoproteases and endoproteases. *J. Food Sci.* 65 :305-310.
- Houston, D.F. 1972. *Rice : Chemistry and Technology.* American Association of Cereal Chemists, St. Pual, Minnesota. 517 p.
- Juliano, B.O. 1985. *Rice : Chemistry and Techology.* 2nd(ed.) American Association of Cereal Chemists, St. Pual, Minesota. 774 p.
- Kohler, G.O. and C.K. Lyon. 1977. Plant Protein Sources,pp. 516-541. *In* J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.). *Food Protein.* AVI Publ. Co.Inc., Westport, Connecticut.
- Laszity,R. 1996. *The Chemistry of Cereal Proteins.* 2nd(ed.). CRC Press, Inc, Boca Raton, Floride. 328 p.
- Lawhon, J.T., L.J. Manak, K.C. Rhec, K.S, Rhec and E.W. Lusas. 1981. Combining aqueous extraction and membrane isolation techniques to recovery protein and oil from soybeans, *J, Food Sci.* 46 : 912-919.
- Orthoefer, F.T. 1996, Rice bran oil : Healthy lipid source. *Food Technol.* 50(12) : 62-64.

Paredes-Lopez, O. and C. Ordorica-Falomir. 1986. Production of safflower protein isolates :
Composition, yield and protein quality. *J.Sci. Food Agric.* 37 : 1097-1103.

Prakash Jamuna. 1996. Rice Bran Proteins : Properties and Food Uses. Department of Studies in Food
Science and Nutrition, University of Mysore, India . pp. 537-552.

Ravin G. and N.S. Hettiarachchy . 1995. Protein Concentrates from Unstabilized and Stabilised Rice
Bran : Preparation and Properties. *Journal of Food Science.* Volumn 60, No. 5. p.1066.

Summer, A.K., M.A. Nielsen and C.G. Youngs. 1981. Production and evaluation of pea protein
isolate. *J. Food Sci.* 46 : 364-367.

Taira, H. 1989. Fatty acid composition of Indica and Japonica-types of rice bran and milled rice. *J.*
Amer. Oil Chem Sci. 66(9) : 1326-1329.

Takano, K. 1993. Mechanism of lipid hydrolysis in rice bran. *Cereal Foods World.* 38(9) :695-698.

United Nations Industrial Development Organization. 1985. Rice Bran an Under-Utilized Raw
Material. United Nations, New York. 251 p.

Vose, J.R. 1980. Production and functionality of starches and protein isolates from legume seeds
(field pea and horse bean). *Cereal Chem.* 57(6) : 406-410.

Wang, M., N.S. Hettiarachchy, M. Qi, W. Burks and T. Siebenmorgen. 1999. Preparation and
functional properties of rice bran protein isolate. *J. Agric. Food Chem.* 47(2) :411-416.

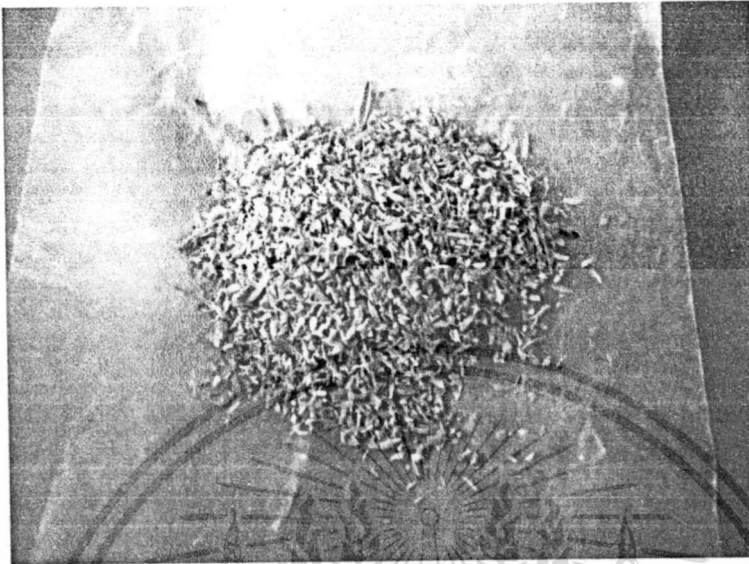
Wang, J.C. and J.E. Kinsella. 1976. Functional properties of novel proteins : Alfalfa leaf protein. *J.*
Food Sci. 41 : 236 – 292.

Wolf, W.J. 1977. Legumes : Seed composition and structure, processing into protein products and
protein properties, pp. 291-314. *In* J.R. Whitaker and S.R. Tannenbaum (eds.). *Food Protein.*
AVI Publ. Co. Inc, Westport, Connecticut.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาพอุปกรณ์และวิธีการในการศึกษาการสกัดโปรตีนจากรำข้าว

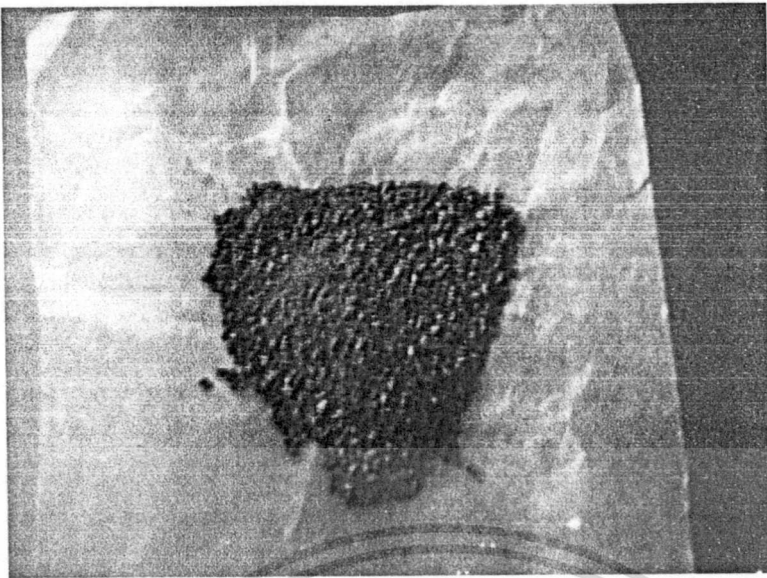


ภาพที่ 1 รำหยาบ

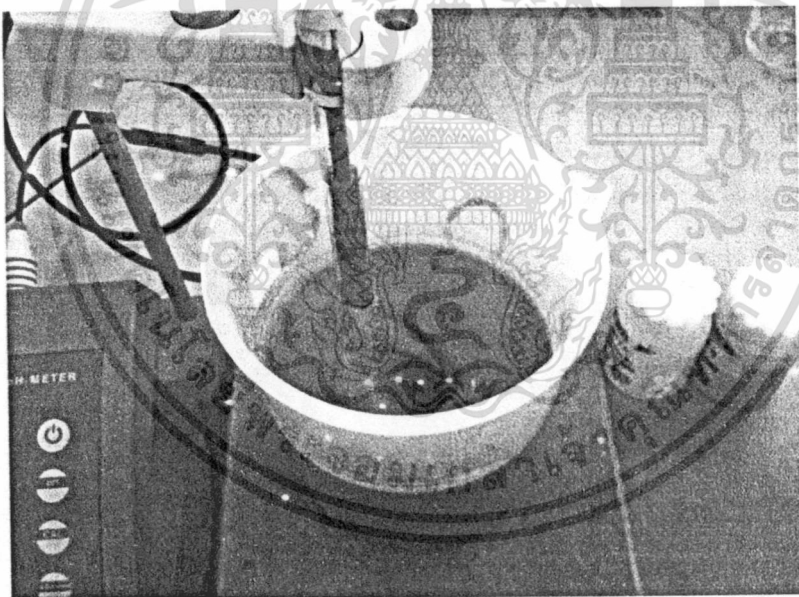


ภาพที่ 2 รำละเอียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ลักษณะของ โพรตีนที่สกัดได้

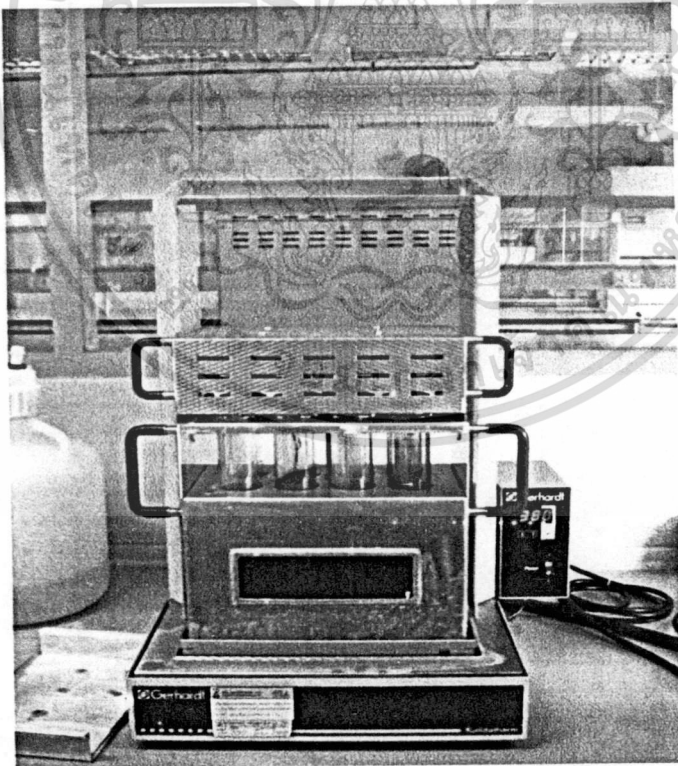


ภาพที่ 4 ขั้นตอนการกวนผสมด้วยเครื่องกวนแบบแท่งแม่เหล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการอบไล่ความชื้น



ภาพที่ 6 เครื่องย่อยโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้