การใช้เอนไซม์ในการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

USE OF ENZYMES IN THE PROCESSING OF HIGH PROTEIN RICE BRAN

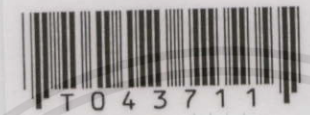
จารุดา วิเศษสรรโชค
JARUDA VISESSONCHOK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2545

ISBN 974-648-756-6

การใช้เอนไซม์ในการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

USE OF ENZYMES IN THE PROCESSING OF HIGH PROTEIN RICE BRAN



จารุดา วิเศษสรรโชค

JARUDA VISESSONCHOK

ขหมู่.....
ขทะเบียน 43711
ัน, เดือน, ป 30 ก.ย. 2545

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

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2545

ISBN 974-648-756-6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

USE OF ENZYMES IN THE PROCESSING OF HIGH PROTEIN RICE BRAN

JARUDA VISESSONCHOK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2002

ISBN 974-648-756-6

COPYRIGHT 2002

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้เอนไซม์ในการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

USE OF ENZYMES IN THE PROCESSING OF HIGH PROTEIN RICE BRAN

ชื่อนักศึกษา นางสาวจารุดา วิเศษสรรโชค

รหัสประจำตัว 42066010

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การอาหาร

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.วุฒิชัย นาครักษา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.วุฒิชัย	นาครักษา	
ผศ.ดร.ระติพร	หาเรือนกิจ	
ดร.พอใจ	ถามากร	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 18 เมษายน 2545 เวลา 1300-15.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง D213 อาคารเจ้าคุณทหาร

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.บุญวัฒน์ อัตชู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 22 **เดือน** ..... **พ.ศ.** 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้เอนไซม์ในการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง
นักศึกษา	นางสาวจารุดา วิเศษสรรโชค
รหัสประจำตัว	42066010
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2545
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.วุฒิชัย นาครักษา

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาถึงกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300) และแอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120 L type LS) ในขั้นแรกทำการศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิต โดย pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส คือ pH 6.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ pH 6.0 อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาถึงอิทธิพลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ทั้งสองชนิดที่มีต่อกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของเอนไซม์มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนโดยมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ในขณะที่เวลาในการย่อยของเอนไซม์ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงด้วยเอนไซม์ไซลาเนส คือ ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) เวลาในการย่อย 60 นาที ได้ผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงที่ประกอบด้วยปริมาณโปรตีน 21.41 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) เยื่อใย 14.47 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และได้สารละลายที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสในปริมาณ 2.38 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส คือ ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) เวลาในการย่อย 90 นาที ได้ผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงที่ประกอบด้วยปริมาณโปรตีน 23.80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และได้สารละลายที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสในปริมาณ 11.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Ttitle	Use of Enzymes in the Processing of High Protein Rice Bran
Student	Miss Jaruda Visessonchok
Student ID	42066010
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	2002
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Woatthichai Narkrugsa

ABSTRACT

The purpose of this research is to investigate in the production of high protein rice bran by using xylanase (Porzyme 9300) and alpha-amylase (Termamyl 120 L type LS). The preliminary step, is to study the effect of pH and temperature on xylanase and alpha-amylase enzyme activity. It shows that the optimum pH and temperature are pH 6.0 50^0 C and pH 6.0 75^0 C, respectively. Secondly, is to study the effect of enzyme concentration and hydrolysis time on protein content of high protein rice bran. The result shows that concentration of xylanase and alpha-amylase affect on protein content of high protein rice bran. Enzyme concentration has correlation on protein content with highly significant difference ($P \leq 0.01$). Whereas, hydrolysis time has not correlation on protein content with significant difference. For the high protein rice bran by using xylanase, the optimum condition is 0.5 % (w/w of defatted rice bran) enzyme concentration at 60 minutes of hydrolysis time. The product with the optimum condition consists of 21.41 % (dry basis) 14.47 % crude fiber (dry basis) and obtain xylose at 2.38 mg/ml in sugar solution. In the alpha-amylase treatment, the optimum condition is 1.0 % (w/w of defatted rice bran) enzyme concentration at 90 minutes of hydrolysis time. The product with the optimum condition consists of 23.80 % (dry basis) and obtain glucose at 11.45 mg/ml in sugar solution.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก รศ. ดร. วุฒิชัย นาครักษา ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ตลอดจนให้คำแนะนำแนวทาง และข้อคิดเห็นต่าง ๆ แก่ข้าพเจ้าตลอดมา ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. ระติพร หาเรือนกิจ และ ดร. พอใจ ถามากร ที่ช่วยเหลือแก้ไข และกรุณาให้คำแนะนำตลอดงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสาทความรู้ให้แก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาของการศึกษาจนกระทั่งข้าพเจ้ามีโอกาสประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณ คุณวันทนีย์ ช้างน้อย นักวิทยาศาสตร์ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณไพลิน ตั้งไพโรจน์ ผู้ที่ให้ความช่วยเหลือ และร่วมแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ตลอดงานวิจัยนี้ คุณบุณยกฤต รัตนพันธุ์ ผู้ช่วยเหลือด้านการวิเคราะห์ทางสถิติ และคำแนะนำที่ดี คุณอรวรรณ ปานศิริ คุณวรลักษณ์ ปัญญาธิติพงศ์ คุณสุภาภรณ์ ธัญญาวนิช และคุณมนัสพร สวัสดิพฤกษา ผู้ที่ช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ และ เป็นกำลังใจเสมอมา ตลอดจนพี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่าน และบุคคลที่ผู้วิจัยไม่ได้กล่าวไว้ในที่นี้ ที่ให้การสนับสนุน ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ แก่ผู้วิจัยเสมอมา

ขอขอบคุณ คุณประเทือง วุฒิจำนงค์ และ บริษัท Designer Bathware (Asia) Co., Ltd. ผู้ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์คอมพิวเตอร์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัววิเศษสรรโชคที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจมาตลอดจนสำเร็จการศึกษา ขอขอบพระคุณบริษัท นิวตริแคล จำกัด ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

คุณค่า และประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

จารุดา วิเศษสรรโชค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VI

สารบัญภาพ.....IX

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....2

1.3 ขอบเขตการวิจัย.....2

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 รำข้าว.....3

2.2 องค์ประกอบของรำข้าว.....4

2.3 การใช้ประโยชน์จากรำข้าว.....17

2.4 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรต.....18

2.4.1 เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสตาร์ช.....18

2.4.2 เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยเซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส.....22

2.5 การสกัดโปรตีนจากรำข้าว.....26

2.5.1 การสกัดโปรตีนโดยการใช้สารเคมี.....26

2.5.2 การสกัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์.....29

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....35

3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์.....35

3.2 สถานที่ดำเนินงาน.....36

3.3 ระยะเวลาดำเนินงาน.....36

3.4 วิธีการดำเนินงาน.....37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....43

4.1 การศึกษาสมบัติของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน.....44

4.1.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี.....40

4.1.2 การศึกษาปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการสกัดสกัดไขมันที่มีขนาอนุภาคต่างๆ.....44

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....46

4.2.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300) ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....46

4.2.1.1 การศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....46

4.2.1.2 การศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีนในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....49

4.2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS) ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....56

4.2.2.1 การศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....56

4.2.2.2 การศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณโปรตีนในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....59

4.3 การศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนในรำข้าวโปรตีนสูงจากกระบวนการผลิต....66

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....69

ข้อเสนอแนะ.....71

บรรณานุกรม.....72

ภาคผนวก.....77

ประวัติผู้เขียน.....110

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 องค์ประกอบของอินทรีย์สาร (เปอร์เซ็นต์) ที่มีอยู่ในข้าวเปลือก และส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการขัดสีข้าวซึ่งมีความชื้นเท่ากับ 14 เปอร์เซ็นต์.....4

2.2 ปริมาณกรดไขมันที่พบในรำข้าวเปรียบเทียบกับข้าวกล้องและข้าวสาร.....9

2.3 ปริมาณกรดอะมิโนในรำข้าว และส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดข้าว (กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน).....11

2.4 ปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนสกัดจากรำข้าวเปรียบเทียบกับเคซีน โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสำหรับทารก และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของเด็กในวัย 2-5 ปี (มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน).....13

2.5 สัดส่วนของข้าวสาร รำหยาบ และรำละเอียดที่ได้จากกระบวนการขัดสีข้าวของตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และสูง (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง).....14

2.6 ปริมาณโปรตีนของข้าวกล้อง ข้าวสาร รำหยาบ และรำละเอียดของตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และสูง (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง).....14

2.7 ชนิดของโปรตีนของข้าวสาร รำหยาบ และรำละเอียดในตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีโปรตีนสูง และต่ำ (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง).....15

2.8 องค์ประกอบของวิตามิน และเกลือแร่ที่มีอยู่ในรำข้าว และส่วนต่าง ๆ ของข้าว (ไมโครกรัมต่อกรัมโดยน้ำหนักแห้ง).....16

2.9 ปริมาณโปรตีนในโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าว.....29

2.10 ผลของเอนไซม์ไฟเตส และไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีน และผลผลิตของโปรตีนข้าวเข้มสกัดจากรำข้าว.....32

2.11 ปริมาณโปรตีนและผลผลิตของรำข้าวโปรตีนสูงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ33

2.12 ปริมาณโปรตีน และผลผลิตของแป้งข้าวเจ้าโปรตีนสูงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ.....33

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน.....44

4.2 การกระจายตัวของอนุภาค และปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคต่างๆ.....45

4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลไซโลสจากการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ...48

4.4 ผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูง.....52

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลงเนื้อหา และจำหน่ายในเชิงการค้า

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.5 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์และองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ ไซลาเนส.....53

4.6 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ pH และอุณหภูมิ ต่าง ๆ 58

4.7 ผลของความเข้มข้น ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณ องค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูง.....62

4.8 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ต่อองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส.....63

4.9 ชนิด และปริมาณของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส เปรียบเทียบกับเคซีน โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และ รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน 67

4.10 ชนิด และปริมาณของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส เปรียบเทียบกับเคซีน โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน (กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน).....67

4.11 ชนิด และปริมาณของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส เปรียบเทียบกับรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน กรดอะมิโน ที่จำเป็นสำหรับทารก และกรดอะมิโนที่จำเป็น สำหรับเด็กในวัย 2-5 ปี เคซีน โปรตีนสกัด จากถั่วเหลือง (กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน).....68

ข 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณกิจกรรมของ เอนไซม์ไซลาเนส.....86

ข 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแป้งในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส.....89

ข 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแป้งที่เหลือ ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตรในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส.....91

ค 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์....93

ค 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์....94

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ง 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry.....96

จ 1 ค่า retention time และพื้นที่ใต้กราฟของกรดอะมิโนมาตรฐาน 17 ชนิด.....98

ฉ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลไซโลส เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง pH และอุณหภูมิในการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส.....103

ฉ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลกลูโคส เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง pH และอุณหภูมิในการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....103

ฉ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส.....104

ฉ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเยื่อใยในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส.....104

ฉ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลวในรำข้าวโปรตีนสูงเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส..105

ฉ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....105

ฉ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสตาร์ชเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....106

ฉ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....106

ฉ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลวเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....107

ฉ 10 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงที่ได้จากกระบวนการผลิตโดยเอนไซม์ไซลาเนส โดยวิธี Multiple regression analysis.....107

ฉ 11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงที่ได้จากกระบวนการผลิตโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยวิธี Multiple regression analysis.....108

ช1 ปริมาณโปรตีนของรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ไซลาเนสและแอลฟา-อะไมเลสที่ผลิตจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันชนิดต่าง ๆ.....109

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 โครงสร้างของรำข้าว.....3

2.2 โครงสร้างของอะไมโลส.....5

2.3 โครงสร้างของอะไมโลเพคติน.....5

2.4 โครงสร้างของเซลลูโลส.....6

2.5 โครงสร้างของไซแลน.....7

2.6 โครงสร้างของเพคติน.....8

2.7 การทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส.....19

2.8 การทำงานของเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส.....19

2.9 การทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....20

2.10 การทำงานของเอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง.....21

2.11 แผนภูมิการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์กลุ่มเซลลูเลสทั้ง 4 กลุ่ม.....23

2.12 การย่อยสลายของไซแลนด้วยเอนไซม์ในกลุ่มย่อยสลายไซแลน.....25

3.1 ขั้นตอนในการศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....38

3.2 ขั้นตอนในการศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง.....40

4.1 แสดงปริมาณน้ำตาลไซโลสจากการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ...47

4.2 โครงสร้างของรำข้าว (ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสแกน Scanning Electron Microscope ; SEM)

4.2.1 โครงสร้างของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน (X 1000 เท่า) 50

4.2.2 โครงสร้างของรำข้าวภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนส (X1000 เท่า).....50

4.3 แสดงความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง 55

4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ.....57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.5 โครงสร้างของรำข้าว (ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสแกน Scanning Electron Microscope ; SEM)

4.5.1 โครงสร้างของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน (X 1000 เท่า) 60

4.5.2 โครงสร้างของรำข้าวภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส(X700เท่า)....60

4.6 แสดงความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง.....65

ข 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส.....86

ข 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานแป้งในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....90

ค 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกลูโคสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....93

ค 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....94

ง 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry.....98

จ 1 โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนมาตรฐาน.....99

จ 2 โครมาโตแกรมของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน.....100

จ 3 โครมาโตแกรมของรำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตจากเอนไซม์ไซลาเนสความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) ที่เวลา 60 นาที.....101

จ 4 โครมาโตแกรมของรำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) ที่เวลา 90 นาที.....102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* L. เป็นอาหารหลักและเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ ในปี พ.ศ. 2540 ประเทศไทยผลิตข้าวได้ประมาณ 23,580,000 ตัน (ศูนย์สารสนเทศการเกษตร. 2541) ในกระบวนการขัดสีเพื่อให้ได้ข้าวสารในการบริโภค ทำให้ได้รำข้าวปริมาณ 5-9 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักข้าวเปลือก (Prakash. 1996) โดยทั่วไปรำข้าวมักถูกนำไปใช้ประโยชน์เป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ซึ่งมีมูลค่าน้อย และเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมันรำข้าว (rice bran oil)

รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว (defatted rice bran) จะยังคงอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ โดยจะประกอบไปด้วย คาร์โบไฮเดรต 54.3 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 10.5 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณโปรตีนสูงถึง 18.2 เปอร์เซ็นต์ (Prakash. 1996) โดยเฉพาะโปรตีนในรำข้าวนั้นเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพเหมาะแก่การนำไปใช้ประโยชน์ เนื่องจากเป็นโปรตีนที่ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ (hypoallergenic) (Helm and Burks. 1996 ; Shih *et al.* 1999) ไม่มีสารยับยั้งการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ (protease inhibitor) ในมนุษย์และสัตว์ (Hammer. 1994) ร่างกายสามารถย่อยได้ในปริมาณสูง (digestibility) อีกทั้งยังประกอบไปด้วยไลซีน (lysine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายเป็นอันดับแรก (first limiting amino acid) อยู่ในปริมาณสูงเมื่อเทียบกับแหล่งธัญพืชอื่น ๆ (Lasztity. 1995 ; Helm and Burks. 1996 ; Shih and Daigle. 1997) และมีคุณสมบัติทางหน้าที่ (functional properties) หลายประการ จึงมีการนำเอารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันเป็นวัตถุดิบในการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง (high protein rice bran) โดยการใช้เอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส ในการย่อยสลายเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสตาร์ชที่อยู่ร่วมกับโปรตีน ให้เป็นน้ำตาล และได้รำข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น

ดังนั้นการศึกษาการใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงด้วยเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการพัฒนาการใช้ประโยชน์จากรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการ และมีมูลค่าสูงขึ้น และได้สารละลายน้ำตาลซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการ ที่สามารถใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

1.2.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ต่อปริมาณโปรตีนในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

1.2.3 เพื่อศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนของรำข้าวโปรตีนสูงที่ได้จากกระบวนการผลิต

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงต้นแบบ โดยการใช้เอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา–อะไมเลส โดยมีรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันเป็นวัตถุดิบ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ที่มีต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง และวิเคราะห์หากรดอะมิโนที่มีอยู่ในรำข้าวโปรตีนสูงที่ได้จากกระบวนการผลิต

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 การใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงต้นแบบ

1.4.2 องค์ประกอบของรำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตได้จากกระบวนการ

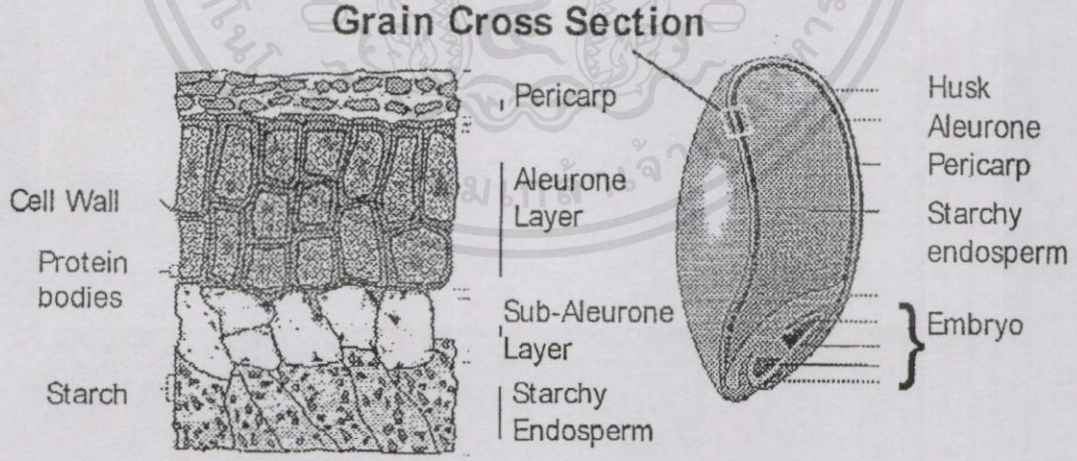
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 รำข้าว (Rice Bran)

รำข้าว คือ ส่วนประกอบของเนื้อเยื่อสีน้ำตาลที่อยู่ถัดจากเปลือกหุ้มเมล็ด (hull) หรือแกลบ (husk) ประกอบด้วย เยื่อหุ้มผล (pericarp) เยื่อหุ้มเมล็ด (tegmen) และเยื่ออัลลูโรน (aleurone layer) ที่ถูกขัดออกในระหว่างกระบวนการขัดสีข้าว (milling) (ภาพที่ 2.1) ในกระบวนการขัดสีที่รุนแรง อาจมีบางส่วนของเอมบริโอ (embryo) เกิดการแตกหัก และสตาร์ชส่วนนอกของเอนโดสเปิร์ม (endosperm) หลุดปะปนออกมารวมกับรำข้าว (Wayne and James. 1994)

ในการขัดสีข้าวเพื่อการค้าจะได้รำข้าว 2 ชนิด คือ รำหยาบ (coarse bran) หรือรำข้าวกล้อง และรำละเอียด (fine bran) หรือรำข้าวขาว ส่วนของรำหยาบเป็นรำข้าวที่ได้จากการขัดสีข้าวเปลือกให้เป็นข้าวกล้อง มีส่วนผสมของแกลบละเอียดกับเนื้อเยื่อชั้นนอกของข้าวกล้อง ทำให้ในรำข้าวมีเยื่อใย (crude fiber) สูง แต่มีปริมาณน้ำมันต่ำ และส่วนรำละเอียดเป็นรำข้าวที่ได้จากการขัดสีข้าวกล้องเป็นข้าวสาร ส่วนใหญ่มีสีฟางหรือสีน้ำตาลอ่อน เป็นผลพลอยได้จากข้าวที่มีคุณค่าทางโภชนาการ และมีปริมาณน้ำมันสูง จึงถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันรำข้าว (ปราณี วราสวัสดิ์. 2534)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของรำข้าว

ที่มา : Finfeeds International Ltd. (n.d.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 องค์ประกอบของรำข้าว

องค์ประกอบหลักที่สำคัญที่พบในรำข้าว ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน อีกทั้งยังอุดมไปด้วยวิตามิน และเกลือแร่ชนิดต่าง ๆ ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวเปรียบเทียบกับส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการขัดสีข้าว แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของอินทรีย์สาร (เปอร์เซ็นต์) ที่มีอยู่ในข้าวเปลือก และส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการขัดสีข้าวซึ่งมีความชื้นเท่ากับ 14 เปอร์เซ็นต์

Nutrient	Rough	Brown	Milled	Hull	Bran	Embryo	Polish
Protein (N X 5.95)	5.8 - 7.7	7.1 - 8.3	6.3 - 7.1	2.0 - 2.8	11.3 - 14.9	14.1 - 20.0	11.2 - 12.4
Crude fat	1.5 - 2.3	1.6 - 2.8	0.3 - 0.5	0.3 - 0.8	15.0 - 19.7	16.6 - 20.5	10.1 - 12.4
Crude fiber	7.2 - 10.4	0.6 - 1.0	0.2 - 0.5	34.5 - 45.9	7.0 - 11.4	2.4 - 3.5	2.3 - 3.2
Crude ash	2.9 - 5.2	1.0 - 1.5	0.3 - 0.8	13.2 - 21.0	6.6 - 9.9	4.8 - 8.7	5.2 - 7.3
Available carbohydrate	63.6 - 73.2	72.9 - 75.9	76.7 - 78.4	22.4 - 35.5	34.1 - 52.3	34.2 - 41.4	51.1 - 55.0
Starch	53.4	66.4	77.6	1.5	13.8	2.1	41.5 - 47.6
Neutral detergent fiber	16.4	3.9	0.7 - 2.3	65.5 - 74.0	23.7 - 28.6	13.1	-
Pentosan	3.7 - 5.3	1.2 - 2.1	0.5 - 1.4	17.7 - 18.4	7.0 - 8.3	4.9 - 6.4	3.6 - 4.7
Hemi-cellulose	-	-	0.1	2.9 - 11.8	9.5 - 16.9	9.7	-
Cellulose	-	-	-	31.4 - 36.3	5.9 - 9.0	2.7	-
1,3 : 1,4 β-glucans	-	0.11	0.11	-	-	-	-
Polyuronic acid	0.6	-	-	-	1.2	0.4	-
Free sugar	0.5 - 1.2	0.7 - 1.3	0.22 - 0.45	0.6	5.5 - 6.9	8.0 - 12	-
Lignin	3.4	-	0.1	9.5 - 18.4	2.8 - 3.9	0.7 - 4.1	2.8
Energy (KJ / g)	15.8	15.2 - 16.1	14.6 - 15.6	11.1 - 13.9	16.7 - 19.9	-	17.9

ที่มา : Juliano (1972).

2.2.1 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักในรำข้าว ซึ่งมีปริมาณสูงถึง 34.1-52.3 เปอร์เซ็นต์ (Juliano. 1972) โดยสะสมอยู่ในรูปของเม็ดสตาร์ช น้ำตาล เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส

2.2.1.1 สตาร์ช (Starch)

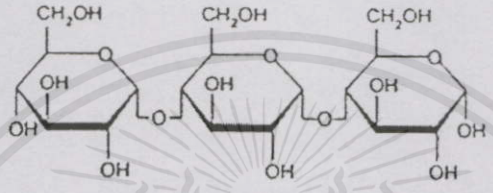
รำข้าวประกอบด้วยสตาร์ชปริมาณ 13.8 เปอร์เซ็นต์ (Juliano. 1972) ซึ่งปกติในรำข้าวจะไม่มีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบ แต่จากการขัดสีที่รุนแรงทำให้สตาร์ชส่วนนอกของเอนโดสเปิร์มหลุดปะปนออกมา

สตาร์ชเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส ซึ่งประกอบด้วยแอนไฮโดรกลูโคส (anhydroglucose unit) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทางด้านตอนปลายสายของสายพอลิเมอร์ที่มีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่อัลดีไฮด์ (aldehyde group) เรียกว่า หมู่รีดิวซ์ซึ่ง

(reducing end group) สตาร์ชประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (อะไมโลส) และ พอลิเมอร์เชิงกิ่ง (อะไมโลเพคติน)

1) อะไมโลส (Amylose)

อะไมโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้น (linear polymer) ที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4-กลูโคซิดิก (α-1,4-glucosidic linkage) เป็นสายโซ่ยาว (linear) แสดงดังภาพที่ 2.2 อะไมโลสไม่สามารถละลายได้ในน้ำเย็น แต่จะละลายได้ดีขึ้นในสารละลายด่าง และที่อุณหภูมิสูงขึ้น

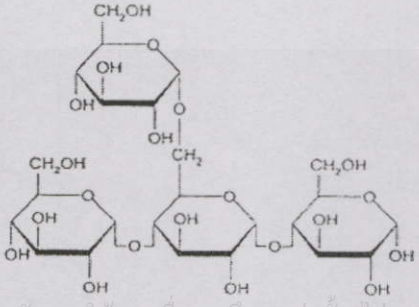


ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของอะไมโลส

ที่มา : Oates (1997).

2) อะไมโลเพคติน (Amylopectin)

อะไมโลเพคตินเป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (branched chain polymer) ของกลูโคส ประกอบด้วยส่วนที่เป็นสายตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4-กลูโคซิดิก และส่วนที่เป็นกิ่งก้านสาขา (branched chain) ซึ่งแยกออกจากโครงสร้างหลักเป็นสายตรง เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,6-กลูโคซิดิก (α-1,6-glucosidic linkage) แสดงดังภาพที่ 2.3 มีระดับพอลิเมอร์ไรเซชั่น (degree of polymerization) อยู่ในช่วง 10-60 หน่วย และมีหน่วยกลูโคสอยู่ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณกลูโคสในอะไมโลเพคตินทั้งหมด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของอะไมเพคติน

ที่มา : Oates (1997).

2.2.1.2 น้ำตาล (Sugar)

น้ำตาลที่พบในรำข้าว ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส และราฟฟิโนส มีปริมาณ 5.5-6.9 เปอร์เซ็นต์ (Juliano. 1972)

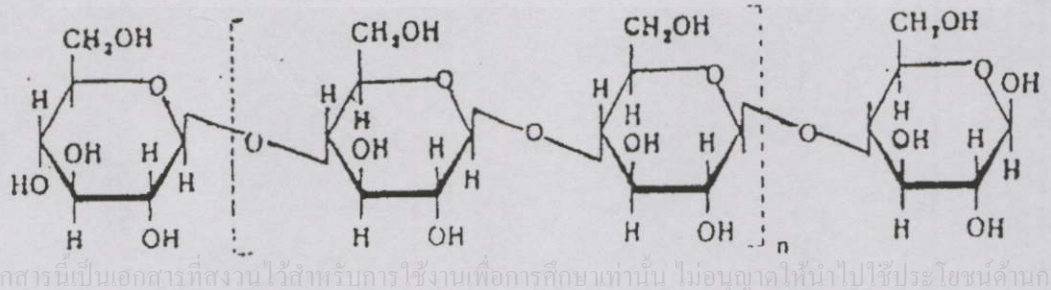
2.2.1.3 พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (Non-starch polysaccharide)

พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ชเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่วิเคราะห์ได้ในรูปของเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ประกอบด้วยเซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemi–cellulose) เพคติน (pectin) และลิกนิน (lignin)

1) เซลลูโลส (Cellulose)

รำข้าวประกอบด้วยเซลลูโลสปริมาณ 5.9-9.0 เปอร์เซ็นต์ (Juliano. 1972) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในผนังเซลของพืช โดยรวมตัวอยู่กับเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบไม่มีกิ่งก้านสาขา ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคส (D-glucose) ประมาณ 3,000–10,000 โมเลกุล เชื่อมต่อกันเป็นสายตรงด้วยพันธะเบต้า-1,4-กลูโคซิดิค (β-1,4-glucosidic linkage) แสดงดังภาพที่ 2.4 มีสูตรทั่วไป คือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ โมเลกุลของเซลลูโลสจะเรียงกันอยู่เป็นมัด ๆ (fibril) และเมื่อนำแต่ละมัดมาขยาย พบว่าประกอบด้วยส่วนที่อยู่รวมกันเป็นกระจุก เรียกว่า "crystalloid" และส่วนที่อยู่รวมกันแบบหลวม ๆ เรียกว่า "amorphous region" (Goksory and Eriksen. 1980)

เซลลูโลสไม่สามารถละลายได้ในน้ำ ในตัวทำละลายอินทรีย์ ในสารละลายด่าง และกรดที่อุณหภูมิห้อง แต่จะละลายในสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นสูง (8 เปอร์เซ็นต์) และที่อุณหภูมิสูง (120-130 องศาเซลเซียส) (Tsao and Chiang. 1983) และสามารถย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) เมื่อสลายตัวโดยสมบูรณ์ด้วยกรด หรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียว แต่ถ้าการสลายตัวไม่สมบูรณ์จะได้เซลโลไบโอส (cellobiose) ซึ่งเป็นไดแซคคาไรด์ (di–saccharide) และโอลิโกแซคคาไรด์อื่น ๆ (oligo-saccharide)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

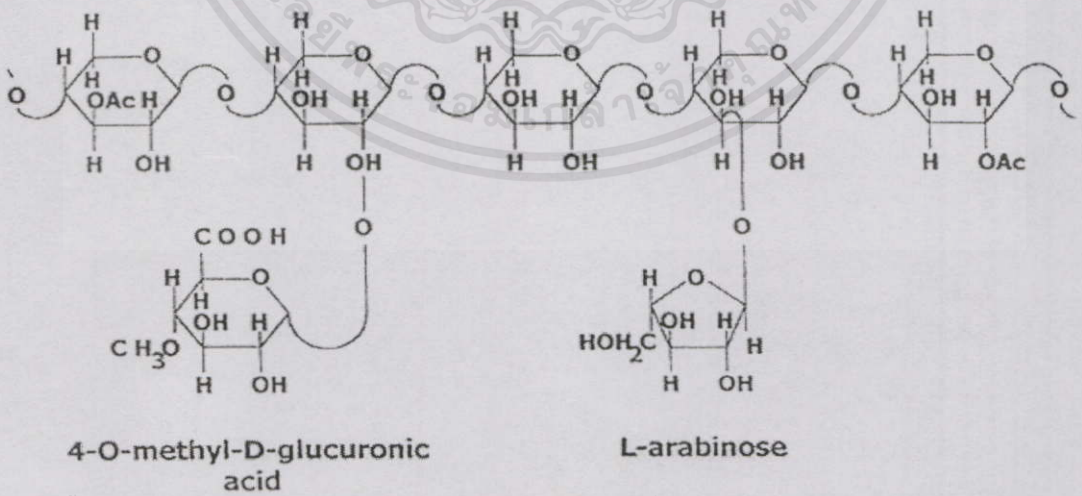
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา : Scott and Eagleson (1988).

2) เฮมิเซลลูโลส (Hemi–Cellulose)

รำข้าวประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสปริมาณ 9.5-16.9 เปอร์เซ็นต์ (Juliano. 1972) เป็นพอลิแซคคาไรด์อีกชนิดที่พบในผนังเซลของพืช โดยพบรวมอยู่กับลิกนิน และเซลลูโลส โครงสร้างประกอบด้วยกลุ่มของน้ำตาลหลัก ได้แก่ ไซโลส (D-xylose) แมนโนส (D-mannose) กลูโคส (D-glucose) กาแลคโตส (D–galactose) และมีสายโซ่ (side chain) เช่น อะราบิโนส (L–arabinose) กรดกลูโคโรนิค (glucoronic acid) เฮมิเซลลูโลสไม่สามารถละลายได้ในน้ำ แต่ละลายในสารละลายด่าง

องค์ประกอบที่พบมากในเฮมิเซลลูโลส คือ ไซแลน (xylan) มีสูตรทางเคมี คือ $(C_5H_8N_5)_n$ เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแบบเบต้า-1,4-กลูโคซิดิก (β-1,4-xylosidic) อาจเป็นสายโซ่ตรงที่มีเฉพาะน้ำตาลไซโลสหลาย ๆ โมเลกุล หรือสาขาที่เป็นสารประกอบอื่น ๆ มาเกาะเป็นหมู่ข้างเคียง เช่น แอล-อะราบิโนฟูราโนส (L-arabino furanose) เชื่อมต่อกับดี-ไซโลส (D-xylose) ที่ตำแหน่ง O-3 และ ดี-กลูโคโรนิค (D-glucoronic acid) หรือ 4-O-เมทิล-กลูโคโรนิค แอซิค (4-O-methyl-D-glucoronic acid) ซึ่งเชื่อมกับน้ำตาลไซโลสที่ตำแหน่ง O-2 แสดงดังภาพที่ 2.5 ไซแลนสามารถละลายได้ดีในสารละลายด่างโดยเฉพาะในระดับความเข้มข้นสูง 4.9–9.8 เปอร์เซ็นต์ และที่อุณหภูมิสูง 70–100 องศาเซลเซียส (Tsao and Chiang. 1983) แต่ไม่ละลายน้ำ โดยไซแลนที่ละลายอยู่ในสารละลายด่าง สามารถแยกออกโดยทำสารละลายให้เป็นกลาง หรือตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ นอกจากนี้ไซแลนยังสามารถละลายได้ในสารละลายกรด และไม่เกิดปฏิกิริยารีดักชั่นกับสารละลายเฟห์ลิง (Fehling solution) (Whistler and Smart. 1953)



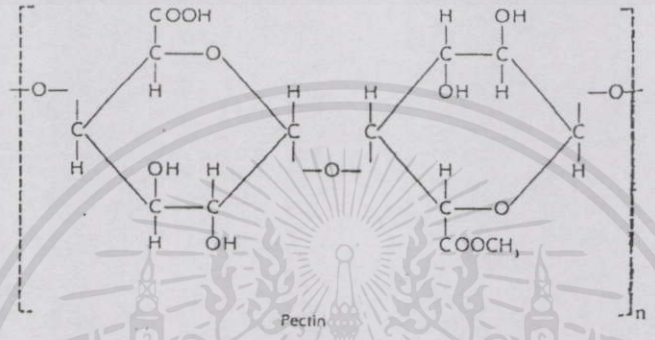
ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของไซแลน

ที่มา : Biely (1985).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) เพคติน (Pectin)

เพคตินเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกรดกาแลคทูโรนิค (galactoronic acid) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแบบเบต้า-1,4-กลูโคซิดิค โดยมีหมู่คาร์บอซิล (-COOH) บางหมู่เกิดพันธะเอสเตอร์กับเมทธิลอยู่ในรูปของเมทธิลเอสเตอร์ (methyl ester) แสดงดังภาพที่ 2.6 เพคตินพบมากในพืช และมักอยู่รวมกับเซลลูโลส โดยทำหน้าที่คล้ายตัวเชื่อม (cement) ระหว่างเซลลูโลสกับเซลลูโลสในโครงสร้างของพืช



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของเพคติน
ที่มา : Scott and Eagleson (1988).

4) ลิกนิน (Lignin)

ลิกนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่มีรูปร่างเป็นวงแหวน เช่น cinamyl , syringyl , guaicyl พบมากในข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต รำ และพวกไม้เนื้อแข็ง โดยพบลิกนินในส่วนของไมเซล (micelle) และชั้น middle lamella โดยห่อหุ้มเซลลูโลส และเฮมิ-เซลลูโลสไว้ ทำให้การย่อยสลายของสารประกอบทั้งสองชนิดนี้เกิดได้ช้า และมีปริมาณต่ำ

ลิกนินสามารถละลายได้ดีในสารละลายด่างที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิสูง 130-280 องศาเซลเซียส และสามารถละลายได้ในสารละลายบางชนิด เช่น เอธิลลีนไกลคอล (ethylene glycol) เบนซิล (benzene) และ เอทานอล (ethanol) เป็นต้น (Taso and Chiang. 1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 ไขมัน (Fat)

รำข้าวมีปริมาณไขมันเป็นองค์ประกอบสูง ประมาณ 15.0-19.7 เปอร์เซ็นต์ (Juliano. 1972) สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการสกัดน้ำมันรำข้าว (Saunders. 1990) ประกอบด้วยกรดไขมันที่สำคัญ 3 ชนิด คือ กรดพลามิติก (plamitic acid) กรดโอลิอิก (oleic acid) และกรดลิโนลิอิก (linoleic acid) อยู่ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณของกรดไขมันที่พบในรำข้าวเปรียบเทียบกับข้าวกล้อง และข้าวสาร

กรดไขมัน	เปอร์เซ็นต์		
	รำข้าว	ข้าวกล้อง	ข้าวสาร
Lauric	Trace	0	0.1
Myristic	0.2 – 0.5	1.0	0.9
Palmetic	16.9 – 20.5	27.5	24.0
Palmetoleic	0.1 – 0.4	trace	0.1
Stearic	1.1 – 1.8	2.0	2.5
Oleic	37.1 – 45.0	43.0	29.6
Linoleic	33.5 – 40.7	25.1	41.2
Linolenic	0.5 – 1.4	1.0	1.1
Arachidic	0.1 – 0.7	0.2	0.4

ที่มา : Lugay and Juliano (1964).

2.2.3 โปรตีน (Protein)

โปรตีนเป็นสารอาหารที่มีในรำข้าว รองลงมาจากคาร์โบไฮเดรต และไขมัน มีปริมาณ 11.3-14.9 เปอร์เซ็นต์ (Juliano. 1972) โปรตีนจากรำข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเมื่อเทียบกับเคซีน (casein) พบว่ารำข้าวมีค่า PER (protein efficiency ratio) เท่ากับ 1.6-1.9 และหากเป็นโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวจะมีค่าเท่ากับ 2.0-2.5 ซึ่งใกล้เคียงกับเคซีนที่มีค่าเท่ากับ 2.5 นอกจากนี้การย่อย (digestibility) ของโปรตีนในรำข้าวมีปริมาณสูงถึง 73 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวสามารถถูกย่อยสลายได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (Saunders. 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนมีประโยชน์ในด้านการเจริญเติบโตของร่างกาย ประกอบด้วยหน่วยที่เรียกว่า กรดอะมิโน (amino acid) สำหรับกรดอะมิโนที่พบในร่างกาย แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.2.3.1. กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (Essential Amino Acid)

กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายสังเคราะห์ไม่ได้ หรือสังเคราะห์ได้ แต่ไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับผู้ใหญ่มีทั้งหมด 8 ชนิด ประกอบด้วย ทรีโอนีน (threonine) วาลีน (valine) ทริปโทแฟน (tryptophan) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ลิวซีน (leucine) ไลซีน (lysine) เฟนีลอะลานีน (phenylalanine) และเมธทิโอนีน (methionine) ส่วนกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กที่จำเป็นต้องได้รับเพิ่มนอกเหนือจากกรดอะมิโนทั้ง 8 ชนิด คือ ฮีสทิดีน (histidine) ส่วนอาร์จินีน (arginine) และซีสทีน (cystine) เป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับทารกที่มีน้ำหนักต่ำกว่าเกณฑ์ (low birth weight infant) (Wang *et al.* 1999)

2.2.3.2. กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกาย (Non-Essential Amino Acid)

กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกายเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายสังเคราะห์ได้เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย ไม่จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร คือ อาจสังเคราะห์ขึ้นจากสารประกอบพวกไนโตรเจน จากกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย จากไขมัน จากคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ได้แก่ อะลานีน (alanine) กรดแอสพาร์ทิก (aspartic acid) ซีสเตอีน (cysteine) กรดกลูทามิก (glutamic acid) กลูตามีน (glutamine) ไกลซีน (glycine) โพรลีน (proline) เซรีน (serine) และไทโรซีน (tyrosine)

โปรตีนในรำข้าวจะประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งที่จำเป็น และไม่จำเป็นต่อร่างกายชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.3 โดยพบว่าในรำข้าวมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายทั้งสำหรับเด็ก และผู้ใหญ่ครบทุกชนิด โดยเฉพาะไลซีน (lysine) ที่จัดได้ว่าเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายที่ไม่เพียงพอเป็นอันดับแรก (first limiting amino acid) ของโปรตีนข้าวและธัญพืชอื่น ๆ ในปริมาณสูง (5.0-5.7 กรัม ต่อ 16 กรัมไนโตรเจน) โดยมีค่าสูงกว่าในข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าวฟ่าง แต่มีน้อยกว่าข้าวโอ๊ต (Lasztity. 1995) ทั้งนี้ไลซีนมีอยู่ในส่วนของรำ และเอมบริโอมากกว่าในส่วนของเอนโดสเปิร์ม แต่ถ้าคิดปริมาณรวมของโปรตีนทั้งหมด ได้รับจากเนื้อเมล็ดมากกว่า เนื่องจากสัดส่วนของเอนโดสเปิร์มมีมากกว่าส่วนอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ปริมาณกรดอะมิโนในรำข้าว และส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดข้าว (กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน)

กรดอะมิโน	ข้าวเปลือก	ส่วนที่แยกได้					
		ข้าวกล้อง	ข้าวสาร	เปลือก	รำ	คัพภะ	รำละเอียด
อะลานีน	4.6 – 5.7	5.8	5.6 – 5.8	6.4 – 7.4	6.2 – 6.7	6.6 – 7.2	6.2
อาร์จีนีน	7.2 – 10.0	8.5 – 10.5	8.6 – 8.7	4.2 – 4.9	8.2 – 8.7	9.7 – 10.1	8.5
กรดแอสพาร์ทิก	7.2 – 11.0	9.0	9.1 – 9.6	9.0 – 10.9	9.5 – 10.5	9.1 – 10.6	9.2
ซีสทีน	1.2 – 3.0	2.2 – 2.4	1.8 – 2.6	1.9 – 2.1	2.4 – 2.7	2.6 – 2.8	2.6
กรดกลูทามิก	15.4 –20.5	16.9	18.3 – 18.5	10.9 – 13.8	13.9 –14.3	15.1 – 17.3	15.3
ไกลซีน	4.1 – 5.7	4.7	4.5 – 4.8	5.7 – 6.3	5.5 – 5.9	6.0 – 6.6	5.3
ฮีสทิดีน	1.6 – 2.9	2.4	2.3 – 2.7	1.7	2.8 – 3.5	3.4 – 3.8	2.7
ไอโซลิวซีน	3.2 – 5.0	3.6	3.7 – 4.8	3.4 – 4.2	2.8 –4.3	3.2 – 3.8	2.8
ลิวซีน	7.2 – 9.2	8.3	8.4 – 8.6	8.4	7.2 – 8.0	6.9 – 7.0	6.9
ไลซีน	3.4 – 4.9	3.9	3.4 – 4.2	4.0 – 5.7	5.0 – 5.7	6.2 – 7.4	4.4
เมธทิโอนีน	1.6 – 3.6	2.3	2.3 – 3.0	1.6	1.8 – 2.4	1.4 – 1.9	2.3
เฟนีลอะลานีน	3.3 – 6.1	5.0	5.3 – 5.5	4.6 – 5.4	4.7 – 5.0	4.0 – 4.5	4.4
โพรลีน	3.9 – 6.3	4.8	4.6 – 5.1	6.8 –10.8	4.4 – 5.8	4.3 – 5.0	4.0
เซอรีน	4.2 – 6.0	4.8 – 5.8	5.3 – 5.9	4.8 – 5.7	4.9 – 5.7	4.8 – 5.4	4.7
ทรีโอนีน	3.2 – 4.7	3.9 – 4.0	3.7 – 3.9	4.4 – 5.3	4.0 – 4.4	4.2 – 4.5	3.7
ทริปโทแฟน	1.3 – 2.1	1.3 – 1.5	1.3	0.6	0.6	1.0 – 1.4	1.3
ไทโรซีน	4.0 – 5.7	3.8 – 4.6	4.4 – 5.5	2.3	3.3 – 3.6	3.3 – 3.7	3.6
วาลีน	4.8 – 7.4	5.0 – 6.6	4.9 – 6.8	5.8- 7.9	5.1 – 6.3	5.1 – 6.3	4.6
แอมโมเนีย	1.4 – 6.8	2.8	3.0 – 7.0	2.6 – 8.5	1.8 – 7.2	1.8 – 9.7	2.1
สัดส่วน							
Alb:Glo:Pro:Glu		6:10:3:81	5:9:3:83	5:1:1:93	37:36:5:22	24:14:8:54	30:14:5:51

ที่มา : อรอนงค์ นัยวิกุล (2538).

จากรายงานการวิจัยที่ทำการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนที่มีอยู่ในข้าวพบว่ากรดอะมิโนที่ในส่วนต่าง ๆ ของข้าวจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน ดังนี้

Kohler and Palter (1967) ได้รายงานถึงการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่มีอยู่ในข้าวสาลี และ รำข้าวสาลี การวิเคราะห์ปริมาณของกรดอะมิโนทำได้โดยการเตรียมตัวอย่างข้าวจำนวน 40 มิลลิกรัม แช่ลงในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 110 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำให้เย็น และตั้งทิ้งไว้ แล้วจึงทำการกรองส่วนที่ไม่ละลายออกมาทำการล้างเพื่อกำจัดกรดไฮโดรคลอริกออกไป และทำการอบแห้ง ส่วนที่ได้จากการอบแห้งนำมาละลายโดยใช้บัฟเฟอร์ที่มีค่า pH เท่ากับ 2.2 โดยใช้บัฟเฟอร์ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อการละลายไนโตรเจนจำนวน 5 มิลลิกรัม นำตัวอย่างที่เตรียมได้มาทำการวิเคราะห์กรดอะมิโนด้วยการใช้

เครื่อง Phoenix automatic amino acid analyzer จากผลของการวิเคราะห์พบว่าไลซีนเป็นองค์ประกอบอยู่ในรำข้าวสาลีสูงกว่าข้าวสาลี โดยในรำข้าวสาลีมีปริมาณไลซีนเท่ากับ 3.70 กรัม ต่อ 16 กรัมไนโตรเจน ส่วนกรดอะมิโนอื่น ๆ ที่พบเป็นองค์ประกอบของข้าวสาลี และรำข้าวสาลีจะพบในปริมาณที่ต่างกัน

Bradbury *et al.* (1980) รายงานถึงการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่มีอยู่ในข้าวพันธุ์ IR-32 การวิเคราะห์ปริมาณของกรดอะมิโนทำได้โดยการเตรียมตัวอย่างจำนวน 5 มิลลิกรัม แช่ลงในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 22 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำให้เย็น และตั้งทิ้งไว้ แล้วจึงทำการระเหยกรดไฮโดรคลอริกที่มีอยู่ในตัวอย่างออกไป ส่วนตัวอย่างที่ได้นำมาละลายในบัฟเฟอร์ที่ใช้สำหรับเครื่องมือที่วิเคราะห์กรดอะมิโน (amino acid analyzer) แล้วจึงทำการกรองส่วนที่ไม่ละลายออกไป และปรับปริมาตรให้ได้เท่ากับ 5 มิลลิลิตร ส่วนของเหลวที่ได้นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Technicon amino acid analyzer ซึ่งมีคอลัมน์มาตรฐานที่ใช้ในการแลกเปลี่ยนไอออน พบว่าปริมาณของกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ที่มีอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของข้าวนั้นมีอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยพบว่ากรดอะมิโนไลซีน และทรีโอนีนจะมากในส่วนของเอมบริโอ รองลงมา คือ ส่วนของเยื่ออัลลูโรนที่อยู่รวมกับส่วนที่หุ้มเมล็ด โดยพบกรดอะมิโน 2 ชนิดนี้น้อยที่สุดในส่วนของเอนโดสเปิร์มที่มีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบอยู่

Wang *et al.* (1999) รายงานผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนของโปรตีนสกัดจากรำข้าว (rice bran protein isolate) พบว่าโปรตีนสกัดจากรำข้าวประกอบด้วยกรดอะมิโนวาลีน ซีสทีน เฟนีลอะลานีน ทรีโอนีน ฮีสทิดีน อาร์จินีน อะลานีน กรดแอสพาร์ติก และไกลซีน ในปริมาณที่ใกล้เคียง หรือสูงกว่าเคซีน (casein) และประกอบด้วยปริมาณลิวซีน วาลีน เมธทิโอนีน ซีสทีน เฟนีลอะลานีน ไทโรซีน ทรีโอนีน ฮีสทิดีน อาร์จินีน ไกลซีน และทริปโตแฟน ในปริมาณที่ใกล้เคียงหรือสูงกว่าโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (soy protein isolate) และเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณความต้องการของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสำหรับทารก (essential amino acid requirement for infant) ดังตารางที่ 2.4 พบว่าโปรตีนสกัดจากรำข้าวประกอบด้วยปริมาณกรดอะมิโนวาลีน ฮีสทิดีน และไทโรซีนในปริมาณสูง (63 29 และ 33 มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน ตามลำดับ) แต่มีปริมาณลิวซีน ไอโซลิวซีน ไลซีน ทรีโอนีน และทริปโตแฟนในปริมาณต่ำ (74 39 47 37 และ 12 มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน ตามลำดับ) โดยมีปริมาณที่ใกล้เคียงกับกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของเด็กในวัย 2-5 ปี เกือบทุกชนิด ยกเว้น กรดอะมิโนไลซีน และทรีโอนีน ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่า (47 และ 37 มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 ปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนสกัดจากรำข้าวเปรียบเทียบกับเคซีน โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสำหรับทารก และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของเด็กในวัย 2-5 ปี (มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน)

Amino acids	RBPI	Casein	Soy protein isolate	infant	2-5 years
Histidine	29	32	25	26	19
Isoleucine	39	54	47	46	28
Leucine	74	95	79	93	66
Lysine	47	85	61	66	58
Methionine & Cystine	38	35	25	42	25
Phenylalanine & Tyrosine	79	114	87	72	63
Threonine	37	42	37	43	43
Tryptophan	12	14	12	17	11
Valine	63	63	48	55	35

ที่มา : Wang *et al.* (1999)

การจำแนกชนิดของโปรตีนข้าวโดยทั่วไปสามารถจำแนกได้ตามหลักของ Osborne ซึ่งใช้พื้นฐานในการละลายในตัวทำละลายเฉพาะของโปรตีนแต่ละชนิดได้ดังนี้

1. อัลบูมิน (albumin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำ หรือละลายน้ำที่มีกรดอยู่เพียงเล็กน้อย และตกตะกอนทันทีเมื่อได้รับความร้อน

2. โกลบูลิน (globulin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือที่เจือจาง (สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์) และเป็นกลาง ไม่ค่อยละลายในน้ำ และไม่ละลายในสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นสูง

3. โพรลามิน (prolamin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ในแอลกอฮอล์ (ความเข้มข้น 60-80 เปอร์เซ็นต์) ละลายได้ดีในสารละลายเอทานอล แต่ไม่ละลายในน้ำและสารละลายเกลือเจือจาง

4. กลูติลิน (glutelin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ดีในสารละลายด่าง หรือสารละลายกรดเจือจาง (โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ กรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 0.1 โมลาร์) โดยไม่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นกลาง แอลกอฮอล์ น้ำ และสารละลายเกลือเจือจาง

ทั้งนี้ชนิดของโปรตีนที่พบในรำข้าวมีสัดส่วนที่แตกต่างกัน ดังเช่น Cagampang *et al.* (1966) ได้รายงานถึงสัดส่วนที่ได้จากกระบวนการขัดสีข้าว ปริมาณโปรตีน และชนิดของโปรตีนของข้าวสาร (milled rice) รำละเอียด (rice polish) และรำหยาบ (rice bran) จากพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และสูงทั้งหมด 3 สายพันธุ์ คือ Chia-nan 8 Taichung (Native) 1 และBPI –76 โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เพื่อละลายโปรตีนออกมา เช่น ใช้น้ำในการละลายโปรตีนชนิดอัลบูมิน

ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride ; NaCl) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ในการละลายโปรตีนชนิดโกลบูลิน ใช้สารละลายเอทานอล (ethanol) ความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในการละลายโปรตีนชนิดโพรลามิน และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide ; NaOH) ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในการละลายโปรตีนชนิดกลูติลิน โดยพบว่าตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณปริมาณโปรตีนต่ำทั้งสามสายพันธุ์มีสัดส่วนที่ได้จากการขัดสี และปริมาณโปรตีนในส่วนของรำละเอียด และรำหยาบในปริมาณที่สูงกว่าในข้าวสาร ส่วนตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูงทั้งสามสายพันธุ์ และตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ (BPI- 76) มีปริมาณโปรตีนในส่วนของรำหยาบน้อยกว่าในส่วนของรำละเอียด (ตารางที่ 2.5 และ2.6)

ตารางที่ 2.5 สัดส่วนของข้าวสาร รำหยาบ และรำละเอียดที่ได้จากกระบวนการขัดสีข้าวของตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และสูง (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง)

สัดส่วน	ตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ			ตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูง		
	Chia-nan 8	Taichung Native 1	BPI - 76	Chia-nan 8	Taichung Native 1	BPI - 76
ข้าวสาร	86.7	88.1	86.0	89.7	88.9	90.0
รำละเอียด	1.8	2.2	2.0	1.5	1.8	1.2
รำหยาบ	11.5	9.7	12.0	8.8	9.3	8.8

ที่มา : ดัดแปลงจาก Cagampang *et al.* (1966).

ตารางที่ 2.6 ปริมาณโปรตีนของข้าวกล้อง ข้าวสาร รำหยาบ และรำละเอียดของตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และสูง (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง)

สัดส่วน	ตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ			ตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูง		
	Chia-nan 8	Taichung Native 1	BPI - 76	Chia-nan 8	Taichung Native 1	BPI - 76
ข้าวกล้อง	7.75	7.81	9.08	13.6	15.8	16.3
ข้าวสาร	6.78	7.20	8.53	13.1	15.2	16.1
รำละเอียด	13.8	12.2	14.1	19.0	17.9	18.4
รำหยาบ	15.5	13.6	13.3	17.4	16.6	16.0

ที่มา : ดัดแปลงจาก Cagampang *et al.* (1966).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และพบว่าอัตราส่วนเฉลี่ยของโปรตีนชนิดต่าง ๆ ที่แบ่งตามคุณสมบัติการละลายมีสัดส่วนที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2.7) โดยอัตราส่วนเฉลี่ยของอัลบูมิน : โกลบูลิน : โพรลามิน : กลูเตลินของข้าวสาร คือ 5 : 9 : 3 : 83 ส่วนของรำละเอียด คือ 30 : 14 : 5 : 51 และรำหยาบ คือ 37 : 36 : 5 : 22 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กลูเตลินมีความเข้มข้นมากในส่วนของเมล็ดข้าว (whole grain) ข้าวสาร และรำละเอียด ส่วนโปรตีนอัลบูมิน และโกลบูลินมีความเข้มข้นมากในรำหยาบ และรำละเอียด ส่วนโพรลามินกระจายตัวแบบสม่ำเสมอในเมล็ดข้าว ดังนั้นอัตราส่วนของโปรตีนดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าโปรตีนในส่วนของอัลบูมิน และโกลบูลินจะสูญเสียไปในระหว่างการขัดสี (Cagampang *et al.* 1966 ; Prakash. 1996)

ตารางที่ 2.7 ชนิดของโปรตีนของข้าวสาร รำหยาบ และรำละเอียดในตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และสูง (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง)

สัดส่วน	ตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ			ตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูง		
	Chia-nan 8	Taichung Native 1	BPI - 76	Chia-nan 8	Taichung Native 1	BPI - 76
อัลบูมิน						
ข้าวสาร	0.43	0.63	0.32	0.63	0.49	0.39
รำละเอียด	3.60	3.16	2.81	4.52	4.33	3.61
รำข้าว	4.31	3.93	3.36	4.21	5.61	3.87
โกลบูลิน						
ข้าวสาร	0.73	0.69	0.92	0.78	0.97	1.11
รำละเอียด	1.26	0.96	1.02	3.53	1.77	2.10
รำข้าว	4.17	3.86	3.19	4.65	4.03	4.70
โพรลามิน						
ข้าวสาร	0.18	0.19	0.28	0.39	0.24	0.56
รำละเอียด	0.36	0.49	0.54	0.63	0.73	0.99
รำข้าว	0.54	0.68	0.52	0.47	0.45	0.53
กลูเตลิน						
ข้าวสาร	5.29	4.89	5.64	10.2	11.4	11.5
รำละเอียด	5.92	5.10	5.51	6.86	7.41	7.76
รำข้าว	2.32	1.80	3.06	2.84	2.81	2.51

ที่มา : ดัดแปลงจาก Cagampang *et al.* (1966).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Betschart *et al.* (1977) รายงานว่าโปรตีนจากรำข้าวที่ผ่านกระบวนการทำให้เสถียร (stabilized rice bran) ด้วยไอน้ำ ประกอบด้วยปริมาณอัลบูมิน โกลบูลิน โพรลามิน และกลูติลิน ดังนี้คือ 40 21 3 และ 36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสำหรับรำข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการทำให้เสถียร (unstabilized rice bran) คือ 26 14 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Padhye and Salunke (1979) รายงานว่าในข้าวสารมีปริมาณอัลบูมิน โกลบูลิน โพรลามิน และกลูติลิน ดังนี้ คือ 8 9.5 12.5 และ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยอัลบูมินมีจุดไอโซอิเลคตริกที่ pH 6.42 โกลบูลินในช่วง 5.58-7.27 โพรลามินในช่วง 6-6.5 และกลูเตลินในช่วง 5.70-6.86

2.2.4 วิตามิน และเกลือแร่ (Vitamin and Mineral)

รำข้าวเป็นแหล่งของวิตามิน และเกลือแร่ ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อร่างกายในการควบคุมเมตะ-โบลิซึม (metabolism) ช่วยเสริมสร้าง และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย วิตามินและเกลือแร่ที่พบมากในรำข้าว ได้แก่ วิตามินบี 1 (thiamine) วิตามินบี 2 (riboflavin) วิตามินบี 3 (niacin) วิตามินอี (tocophenol) ฟอสฟอรัส (phosphorus) โพแทสเซียม (potassium) เป็นต้น ดังตารางที่ 2.8 ทั้งนี้ชนิดและปริมาณจะแตกต่างกันตามพันธุ์ข้าว สภาพในการเพาะปลูก และการขัดสีข้าว

ตารางที่ 2.8 องค์ประกอบของวิตามิน และเกลือแร่ที่มีอยู่ในรำข้าว และส่วนต่าง ๆ ของข้าว (ไมโครกรัมต่อกรัมโดยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบ	รำหยาบ	รำละเอียด	ข้าวกล้อง	ข้าวสาร	คัพภะ
Vitamin					
Thiamine	10.1 – 27.9	3.6 – 30	2.1 – 4.5	0.22 – 1.26	45.3 – 76
Riboflavin	1.17 – 3.4	1.4 – 3.4	0.33 – 0.86	0.11 – 0.37	2.7 – 3.7
Niacin	241 – 590	228 – 385	44 – 62	3.6 – 22	15.2 – 99
Pyridoxin	10.3 – 32.1	9.6 – 30.8	1.6 – 11.2	0.37 – 6.2	15.2 – 16
Biotin	0.16 – 0.47	0.14 – 0.57	0.065 – 0.13	0.005 – 0.07	0.28 – 0.58
Carotene	4.2	0.95	0.13	trace	1.3
Tocophenol	149.2	62.9	13.1	trace	87.3
Mineral					
Calcium	140 – 1310	90 – 910	65 – 400	46 – 270	480 – 750
Phosphorus	14,800 – 28,680	17,700 – 24,400	2,480 – 2,920	885 – 1,920	17,100 – 21,000
Iron	130 – 530	102 – 280	6.8 – 46	1.8 – 26.8	110 – 489
Magnesium	8,650 – 12,300	5,680 – 7,590	379 – 1,400	229 – 372	6,020 – 15,270
Potassium	13,650 – 22,700	9,500 – 11,100	1,240 – 3,280	577 – 1,170	6,610 – 17,700
Silicon	1,700 – 16,300	560 – 1,200	280 – 1,900	107 - 370	560 – 1,900

ที่มา : Lugay and Juliano (1964).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.3 การใช้ประโยชน์จากรำข้าว

1. ใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อใช้ในการบริโภค เนื่องจากประกอบด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) (Lugay and Juliano. 1964)

2. ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น เนยเทียม สบู่ และกลีเซอรีน หรือใช้แยกเอาขี้ผึ้ง เป็นต้น (Slavin. 1992)

3. ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่าข้าวสาร คือ อุดมไปด้วยโปรตีน ไขอาหาร วิตามิน และเกลือแร่ (Saunders. 1990)

4. ใช้ในการผลิตวิตามิน และเกลือแร่รวม (vitamin and mineral mixture) (Hammond. 1994) ใช้ในการผลิตวิตามินบีโดยสามารถผลิตได้จากรำสด และกากรำที่เหลือจากการสกัดน้ำมันรำข้าว ซึ่งกากที่เหลือจากการสกัดวิตามินสามารถนำไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ได้อีกครั้ง เนื่องจากยังคงมีปริมาณวิตามินเหลืออยู่อีกประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ของวิตามินทั้งหมด อีกทั้งยังมีปริมาณแร่ธาตุ และสารอาหารต่าง ๆ เหลืออยู่ในปริมาณใกล้เคียงกับเดิมก่อนการสกัดวิตามิน

5. ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ดังเช่น ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่จำพวกโดนัท แพนเค้ก ขนมปัง มัฟฟิน วอฟเฟิ้ล และ คุกกี้ เพื่อช่วยเพิ่มลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เพิ่มปริมาณ และปรับปรุงคุณภาพอีกทั้งยังเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในส่วนของกรดอะมิโน วิตามิน เกลือแร่ และไขอาหาร (Bera and Mukherjee. 1989 ; Carroll. 1990) โดยสามารถใช้เป็นแหล่งไขอาหารเสริมในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น อาหารเช้าจากธัญพืช และใช้เป็นสารอิมัลชั่น (emulsifier) ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก

6. ใช้ในการผลิตโปรตีนรำข้าวเข้มข้น โดยสามารถนำเอาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ขนมอบ เครื่องดื่ม (Hammond. 1994) ฟิล์มที่รับประทานได้ (edible film) อาหารเสริมทั้งสำหรับสัตว์ และทารก (weaning food) ได้ (Gnanasambandam *et al.* 1997) เป็นต้น เนื่องจากเป็นโปรตีนที่ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ (Prakash and Ramanatham. 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

43711

2.4 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrase)

2.4.1 เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสตาร์ช (Amylolytic Enzyme ; Amylase)

เอนไซม์ชนิดนี้เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสับสเตรทจำพวกสตาร์ช และไกลโคเจน (glycogen) ให้เป็นน้ำตาล ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทางอุตสาหกรรมอาหารและยา ได้แก่ กลูโคสซีรัป มอลโตเดกซ์ทริน ซอร์บิทอล เป็นต้น สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่มตามลักษณะการทำงาน ดังนี้ คือ

2.4.1.1 เอนไซม์ย่อยภายนอก (Exo-Enzyme)

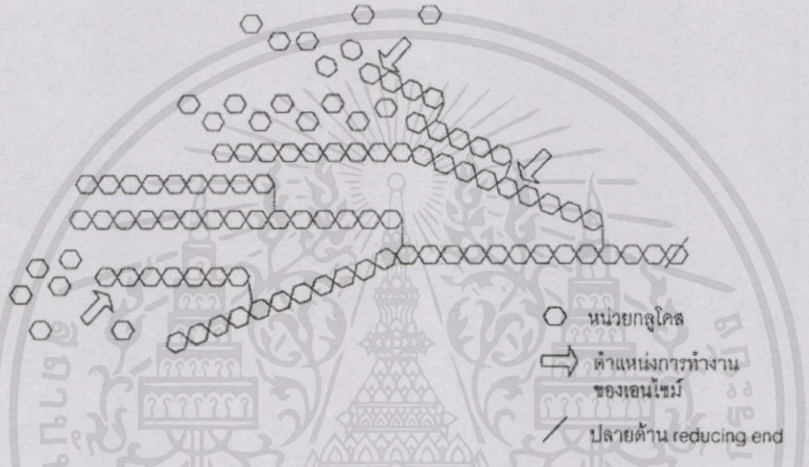
1. กลูโคอะไมเลส (glucoamylase ; EC. 3.2.1.3 ; α-(1,4)-glucan gluco hydrolase) หรือเรียกว่าอะไมโลกลูโคสิเดส (amyloglucosidase) พบได้ทั่วไปทั้งในแบคทีเรีย และรา เช่น *Aspergillus niger, Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus* spp. เอนไซม์มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50-110 กิโลดาลตัน มีความเสถียรที่ pH 3.5-5.0 และที่อุณหภูมิ $\pm$ 55 องศาเซลเซียส และไม่ต้องการโคแฟคเตอร์ (cofactor) ในการทำกิจกรรม

ลักษณะการทำงานของเอนไซม์ คือ เอนไซม์สามารถย่อยสลายได้หลายพันธะ ทั้งพันธะ α-1,4 และพันธะกิ่ง α-1,6 โดยที่การตัดพันธะกิ่งเกิดขึ้นช้ากว่าการตัดพันธะ α-1,4 การตัดสายพอลิเมอร์เหมือนกับเบต้า-อะไมเลส แต่ตัดปลายสายเข้าไปทีละ 1 หน่วยกลูโคส ดังแสดงการทำงานในภาพที่ 2.7 ผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่เป็นกลูโคสที่มีโครงรูปต่างไปจากเดิม คือ β-configuration หรือ เบต้า-ดี-กลูโคส (β-D-glucose) กลูแคน (glucan) และลิมิตเดกซ์ทริน (limit dextrin) ในการย่อยสตาร์ชให้ได้โมเลกุลของกลูโคสนั้นต้องใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสร่วมกับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

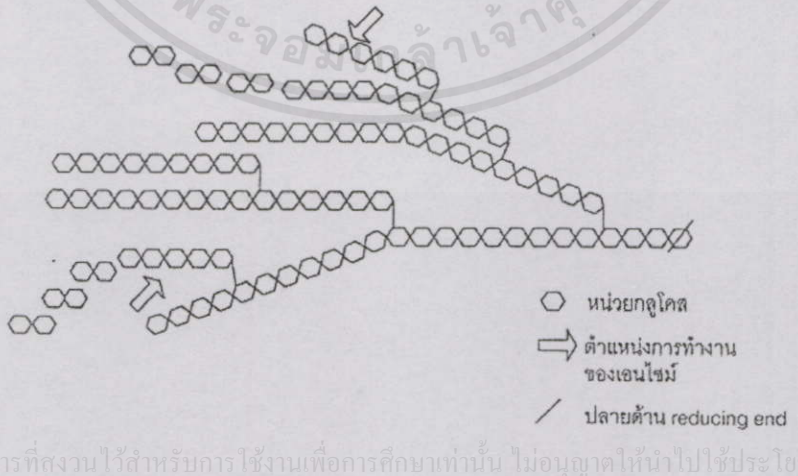
2. เบต้า-อะไมเลส (beta-amylase ; EC. 3.2.1.2 : α-(1,4)-glucan malto hydrolase) พบได้ในพืชชั้นสูง เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี และพบได้ในถั่ว หรือ มั่นฝรั่งหวาน มักพบร่วมกับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส นอกจากนี้ยังสามารถสกัดเอนไซม์เบต้า-อะไมเลสได้จากจุลินทรีย์ เช่น *Bacillus , Pseudomonas* โดยเอนไซม์จากพืชมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 125-150 กิโลดาลตัน ส่วนเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน มีความเสถียรที่ pH 4-9 และที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เบต้า-อะไมเลสต้องการแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) ในการทำกิจกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการทำงานของเอนไซม์ คือ เอนไซม์ทำงานภายนอกโมเลกุลของสตาร์ชในลักษณะการตัดสายพอลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสายเข้าสู่ภายในสาย โดยเริ่มจากปลายของอะไมโลส หรืออะไมโลเพคติน (ปลายด้านนอนรีดิวซ์ซิ่ง) เอนไซม์ทำการตัดพันธะกลูโคซิดิคที่ α-1,4 ของโมเลกุลกลูโคสเป็นคู่ ๆ ไป ดังแสดงในภาพที่ 2.8 ได้ผลผลิต คือ กลูแคน (glucan) ลิมิตเดกซ์ทริน (limit dextrin) และส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลมอลโตสที่มีโครงรูปต่างไปจากเดิม คือ β-configuration หรือ เบต้า-มอลโตส (β-maltose) แต่เมื่อปฏิกิริยาเข้าใกล้จุดที่เป็นกิ่งก้านหรือพันธะกลูโคซิดิคที่ α-1,6 ของอะไมโลเพคติน เอนไซม์จะหยุดกิจกรรม ทำให้เหลือโมเลกุลใหญ่ ๆ ไว้มาก



ภาพที่ 2.7 การทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส
ที่มา : กล้าณรงค์ ศรีรอต (2542).



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

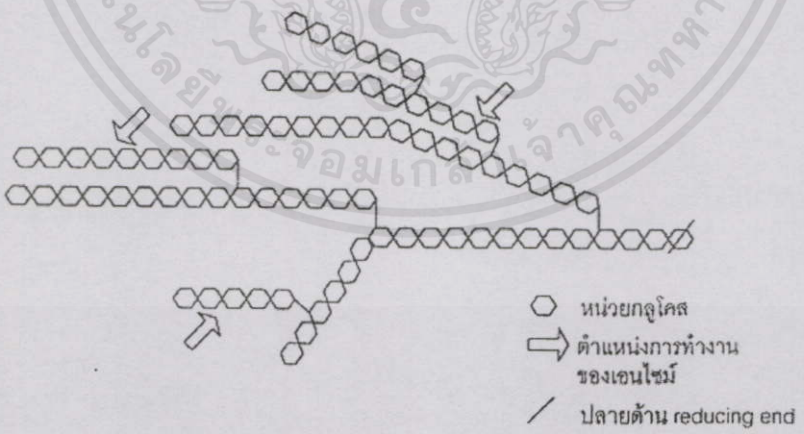
ภาพที่ 2.8 การทำงานของเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส
ที่มา : กล้าณรงค์ ศรีรอต (2542).

3. ฟอสโฟรีเลส (phosphorylase ; EC. 2.4.1.1 : ∝-(1,4)-glucan ortho phophate glucosyltransferase) เป็นทั้งเอนไซม์สังเคราะห์ และย่อยสลาย พบในพืชและสัตว์ เอนไซม์ชนิดนี้จะตัดหน่วยกลูโคสออกจากสาย โดยเริ่มตัดจากด้านนอนรีดิวซ์ซิ่ง และไม่สามารถย่อยพันธะกิ่งได้

2.4.1.2. เอนไซม์ย่อยภายใน (Endo-Enzyme)

1. แอลฟา-อะไมเลส (alpha-amylase ; EC 3.2.1.1 ; ∝-(1,4)-glucan glucanohydrolase) มีชื่อสามัญว่า "ไดแอสเทส" (diastase) สามารถผลิตได้จากพืช สัตว์ เชื้อรา และแบคทีเรีย ในทางอุตสาหกรรมใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ เช่น รา และแบคทีเรีย โดยเฉพาะเอนไซม์จากแบคทีเรียซึ่งสามารถต่ออุณหภูมิสูง เช่น *Bacillus licheniformis* เอนไซม์มีมวลโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน มีความเสถียรที่ pH 5.5-9 และเสถียรที่อุณหภูมิห้องถึง 115 องศาเซลเซียส การทำงานของเอนไซม์ต้องการแคลเซียมอิออนร่วมทำกิจกรรมเพื่อความคงตัว และกระตุ้นการทำงาน

ลักษณะการทำงานของเอนไซม์ คือ เอนไซม์ทำงานภายในโมเลกุลของสตาร์ช โดยตัดพันธะกลูโคซิดิคแบบแอลฟา-1,4 ระหว่างโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสที่จับอยู่เท่านั้น ในลักษณะตัดสายภายในพอลิเมอร์แบบสุ่ม (endo-splitting) ดังแสดงในภาพ 2.9 ได้ผลผลิต คือ กลูแคน (glucan) และลิมิตเด็กซ์ทริน (limit dextrin) ที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย และคงรูปร่างเดิม (∝-configuration) ไม่สามารถตัดพันธะกลูโคซิดิคแบบ ∝-1,6 ได้

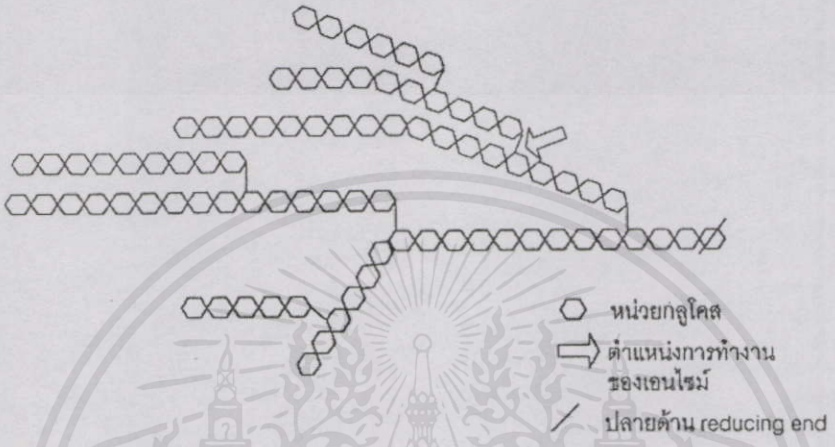


ภาพที่ 2.9 การทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส
ที่มา : กล้าณรงค์ ศรีรอต (2542).

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.3. เอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง (Debranching Enzyme)

1. ไอโซอะไมเลส (isoamylase ; EC. 3.2.1.68 ; glucogen-6-glucano hydrolase) เอนไซม์ชนิดนี้สามารถแยกได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น *Pseudomonas amylo deramosa* สามารถดำเนินกิจกรรมได้ดีในช่วง pH 3-4 และมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส ไม่ต้องการโคแฟคเตอร์ในการทำกิจกรรม



ลักษณะการทำงานของเอนไซม์ คือ เอนไซม์สามารถย่อยจุดที่เป็นกิ่งก้านของไกลโคเจน และอะไมโลเพคตินได้ดี แสดงการทำงานดังภาพที่ 2.10

ภาพที่ 2.10 การทำงานของเอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง
ที่มา : กล้าณรงค์ ศรีรอต (2542).

2. พูลูลาเนส (pullulanase ; EC. 3.2.1.41 ; pullulan 6-glucanohydrolase) เอนไซม์ชนิดนี้พบได้ในพืช สัตว์ และแบคทีเรีย เอนไซม์มีความเสถียรที่ pH 4.5-5.5 และที่อุณหภูมิ $\pm$50 องศาเซลเซียส

ลักษณะการทำงานของเอนไซม์ คือ เป็นเอนไซม์ที่ใช้ตัดพันธะแบบ α-1,6 ของพูลูแลน (pullulan) อะไมโลเพคติน แต่การทำกิจกรรมไม่สมบูรณ์เท่ากับการย่อยโดยไอโซอะไมเลส และทำกิจกรรมกับไกลโคเจนได้ยาก สามารถย่อยได้สายกลูโคสที่มีความยาว 2-3 หน่วย แต่ไม่สามารถย่อยจนได้กลูโคส 1 หน่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2. เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส

2.4.2.1. เซลลูเลส (cellulase)

สับสเตรทของเซลลูเลส คือ เซลลูโลส ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุดในธรรมชาติชนิดหนึ่ง สังเคราะห์ได้จาก UDT- หรือ GDP- glucose (= donor) และ (O-β-D-glucopyranosy-$(1\rightarrow4))_n$ (=accepter) ได้พอลิเมอร์ของกลูโคสในลักษณะ β-configuration คือ β-1,4 เป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้น้อยมาก ดังนั้นปฏิกิริยาจึงช้าต่อพวกไฮโดรเลส หรือ hydrolytic enzyme เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส และอนุพันธ์ของเซลลูโลส คือ เซลลูเลส

สมบัติทั่วไปของเซลลูเลส คือ มีมวลโมเลกุลโดยเฉลี่ย 63,000 (homogeneous *Myrothecium verrucaria* cellulases) pH ที่เหมาะสมต่อกิจกรรม คือ 5.5-6.0 มีความเสถียรที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 5 นาที ที่ pH 7.0 สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยอิออนของโลหะหนัก สารพวกซัลไฟดริล และสารทำปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชัน และถูกยับยั้งด้วยผลผลิต คือ น้ำตาลกลูโคส สามารถวัดแอคติวีตีของเอนไซม์ได้จากการวัดหมู่รีดิวซ์ที่เกิดขึ้นกับสับสเตรทที่ละลายน้ำได้ดี สับสเตรทที่นิยมใช้ คือ สับสเตรทสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส (Whitaker. 1994) โดยทั่วไปเป็นเอนไซม์ผสมประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดที่ทำงานร่วมกัน ดังนี้คือ

1. เอนไซม์ C_1 หรือเรียกว่า hydrogen bondase ทำหน้าที่กระตุ้น หรือ แตกสายเซลลูโลสให้มีสภาพที่เหมาะสม คือ ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง (weakening) สำหรับเป็นสับสเตรทของเซลลูเลสลำดับต่อไป คือ เอนไซม์ C_x หรือ กลูคาเนส (glucanase) ทั้งนี้พบว่าไม่มีหลักฐานการย่อยสลายพันธะกลูโคซิดิก

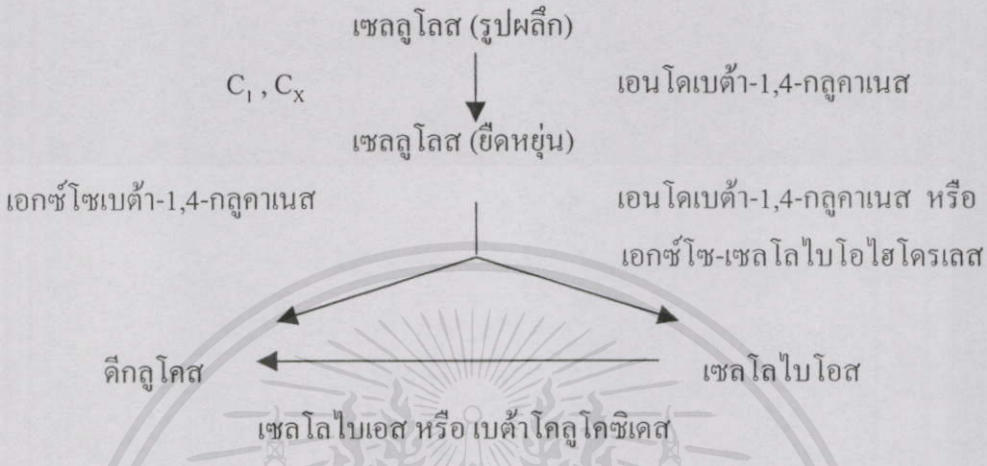
2. เอนไซม์ C_x หรือ β-1,4 glucanases เป็นเซลลูเลสที่ย่อยสลายพันธะในเซลลูโลสหรืออนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายสับสเตรทที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ กล่าวคือ สามารถย่อยสลายพันธะ β-1,4 ของสับสเตรทสังเคราะห์ เช่น คาร์บอก-ซีเมธิลเซลลูโลส (CMC) หรือ ไฮดรอกซีเอธิลเซลลูโลส แบ่งเอนไซม์ในกลุ่มนี้เป็น 2 ชนิด คือ

2.1 เอนโด-เบต้า-1,4-กลูคาเนส (endo-β-1,4 glucanase) ย่อยสลายสายพอลิเมอร์ภายในสายอย่างอิสระ ได้ผลผลิตเป็นโอลิโกเมอร์ และกลูโคส

2.2 เอกซ์โซ-เบต้า-1,4กลูคาเนส (exo-β-1,4 gludanases) ย่อยสลายสายพอลิเมอร์จากปลายสายด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์ไปอย่างมีระเบียบ และมีการเปลี่ยนโครงรูปของผลผลิต คือ เปลี่ยน β- เป็น ∝-configuration ได้ผลผลิตเป็นเซลโลไบโอส และกลูโคส

3. เบต้า-กลูโคซิเดส (β-glucosidase) คล้าย exo-β-1,4 glucanses คือมี common substrate เป็นเซลโลไบโอสถึงเซลโลเฮกซ์โซส (กลูโคส จาก 2-6 หน่วย) แต่อัตราการย่อยสลายแตกต่างกัน คือ อัตราเร็วลดลงเมื่อความยาวสายพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น และผลผลิตที่ได้ คือ กลูโคส ซึ่งมีโครงรูปเปลี่ยนจากเดิม

การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์เซลลูเลส สามารถใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตกลูโคสจากเซลลูโลส แต่พบว่าศักยภาพการใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งของการผลิตกลูโคสนั้นยังไม่เท่าเทียมแป้ง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเรื่องของปัญหาทางเทคนิค และต้องใช้เอนไซม์หลายชนิดร่วมกัน ดังแสดงในภาพที่ 2.11 เพื่อให้เกิดเป็นกลูโคสบริสุทธิ์



ภาพที่ 2.11 แผนภูมิการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์กลุ่มเซลลูเลสทั้ง 4 กลุ่ม
ที่มา : ปราณี อ่านเปรื่อง (2543).

2.4.2.2. เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส (hemi-cellulase)

เอนไซม์เฮมิเซลลูเลสทำหน้าที่ในการย่อยสลายส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลสในผนังเซลของพืช ซึ่งภายในโครงสร้างที่เป็นแบบกิ่งก้านนั้นพบไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก การย่อยสลายไซแลนให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สามารถย่อยสลายโดยการใช้สารเคมี (chemical hydrolysis) และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (enzyme hydrolysis) หรือใช้ทั้งสองอย่างร่วมกัน (Tsao and Chiang. 1983)

1. การย่อยสลายไซแลนด้วยด่าง

การย่อยสลายไซแลนด้วยด่าง มักนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการทำกระดาษ ซึ่งจะนำชิ้นเปลือกไม้มาต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น เพื่อให้เปลือกไม้ยุ่ย และเป็นการกำจัดลิกนินที่อยู่ในชั้นลิกโนเซลลูโลสออกบางส่วน หลังจากนั้นนำไปผ่านกระบวนการฟอกสีเยื่อกระดาษ โดยใช้สารเคมีที่มีคลอไรด์เป็นองค์ประกอบ เช่น คลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide) ก๊าซคลอรีน เป็นต้น แต่ก็ทำให้เกิดสารประกอบไดออกซิน (dioxin) และสารประกอบคลอไรด์ที่เป็นพิษชนิดอื่น ๆ ด้วย (Visser *et al.* 1992)

เอกสารนี้มีไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์

เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยไซแลน คือ เอนไซม์ไซลาเนส มีความคงตัวที่อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 3 ชั่วโมง และสูญเสียกิจกรรมที่อุณหภูมิสูงกว่า 65 องศาเซลเซียส (Chen *et al.* 1997) ทั้งนี้ความคงทนต่อความร้อน และ pH ในการทำงานแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ด้วย โดยเอนไซม์จากเชื้อรามี pH ที่เหมาะสมในสภาวะที่ค่อนข้างเป็นกรด คือ pH ประมาณ 5.0 และเสถียรที่ pH 2.0-9.0 (Buchert *et al.* 1994) แต่เอนไซม์จากแบคทีเรียมี pH ที่เหมาะสมค่อนข้างเป็นกลาง (Breccia *et. al.* 1998) ทั้งนี้เอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อรา และแบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำกว่า 40-50 องศาเซลเซียส ในการย่อยสลายจำเป็นต้องมีเอนไซม์หลายชนิดเข้ามาทำงานร่วมกันดังต่อไปนี้ คือ (แสดงดังภาพที่ 2.12)

2.1. เอนโด-ไซลาเนส (endo-xylanase) (1,4-β-D-xylan xylohydrolase ; EC 3.2.1.8) มีความจำเพาะเจาะจงต่อสับสเตรท โดยย่อยสลายพันธะไซโลซิดิก (glycosidic) ในสายโซ่หลักของเฮทเทอโรไซแลน ผลผลิตจากการย่อยสลายอยู่ในรูปไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharide) และถูกย่อยสลายต่อไปเป็นไซโลไตรโอส (xylotriose) ไซโลไบโอส (xylobiose) และไซโลส (xylose) (Dekker and Richard. 1976 ; Wong *et al.* 1986) ทั้งนี้คุณสมบัติทางเคมี และกายภาพของเอนไซม์เอนโดไซลาเนสจากแบคทีเรีย และเชื้อรา ขึ้นอยู่กับมวลโมเลกุล และจุดไอโซอิเลคทริก (isoelectric point)

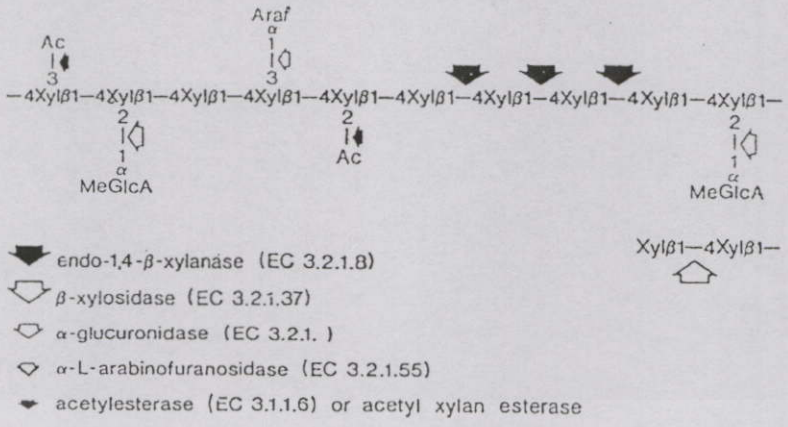
2.2. เบต้า-ไซโลซิเดส (β-xylosidase) (β-D-xyloside xylohydrolase ; EC 3.2.1.37) ทำหน้าที่ย่อยสลายไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ และไซโลไบโอสจากปลายที่ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ (non reducing end) พบได้ทั้งในแบคทีเรีย และเชื้อรา ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นไซโลส

3. แอลฟา-แอล-อะราบิโนฟิวราโดซิเดส (∝-L-arabinofuranosidase ; EC. 3.2.1.55) ทำหน้าที่ย่อยสลายทั้งพันธะ 1,3 และ 1,5 แอลฟา-แอล- อะราบิโนซิลฟิวราโนซิลในอะราบิโนไซแลน (arabinoxylan) โดยย่อยพันธะ 1,3 ที่เชื่อมกับอะราบิโนฟิวราโนซิลก่อน จากนั้นจึงย่อยแอลฟา-แอล-1,5-อะราบิแนน (∝-L-1,5-arabinan) ได้ผลิตภัณฑ์ คือ อะราบิโนส (arabinose)

4. แอลฟา-กลูคูโรนิเดส (∝-glucuronidase ; EC. 3.2.1) ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะแอลฟา-1,2 ที่เชื่อมระหว่างกรดกลูคูโรนิก และไซโลสในกลูคูโรโนไซแลน มีความจำเพาะต่อสับสเตรท โดยขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ที่ได้จาก *Agaricus bisdporus* ต้องการสับสเตรท คือ กลูคูโรโนไซแลนที่มีมวลต่ำ

5. อะซิติลไซแลน เอสเทอเรส (acetylxylan esterase ; EC 3.2.1.6) เอนไซม์นี้จะเคลื่อนย้ายหมู่โอ-อะซิติล (O-acetyl) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และที่ 3 ของไซแลน อะซิติล-ไซแลนเอสเทอเรส จาก *Trichoserma reesei* โดยทำการย่อยกรดอะซิติกจากหมู่แทนที่อะซิติลของไซโลโอลิโกเมอร์ (xylo-oligomer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Ac	แทน	หมู่อะซิทิล
Araf	แทน	แอล-อะราบิโนฟิวราโนส
MeGlcA	แทน	4-โอ-เมทธิล-กลูคูโรนิกแอซิด
Xyl	แทน	ดี-ไซโลส

ภาพที่ 2.12 การย่อยสลายของไซแลนด้วยเอนไซม์ในกลุ่มย่อยสลายไซแลน
ที่มา : Biely (1985).

การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ไซลาเนส เช่น อุตสาหกรรมการผลิตเยื่อกระดาษ การผลิตเส้นใยทางการเกษตร (agro-fiber) อุตสาหกรรมน้ำผลไม้เพื่อให้น้ำผลไม้ใส อุตสาหกรรมอาหารสัตว์เพื่อช่วยระบบย่อยอาหารของสัตว์ (Wong and Saddler. 1992 ; Gilbert and Hazlewood. 1993) นอกจากนี้ยังมีการใช้เอนไซม์ไซลาเนสในการเตรียมวัตถุดิบในการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ เช่น ใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของพอลิแซคคาไรด์ และผนังเซลล์ของพืช (Wong *et al.* 1988) และมีการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันปาล์ม เพื่อแปรสภาพเนื้อเยื่อพืชก่อนนำไปสกัด นอกจากนี้ยังใช้ช่วยปรับปรุงคุณภาพของน้ำมัน และน้ำทิ้งโดยลดปริมาณเนื้อเยื่อของพืชที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงทำให้เกิดความหนืด และข้นขึ้น เช่น กลูแคน เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และเพคติน ซึ่งช่วยในการทำให้ใส (clarification) ในกระบวนการแยกน้ำมัน (Godfrey. 1983) ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซโลสเพื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์ และสารเคมีต่าง ๆ และใช้ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าว (Wang *et al.* 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การสกัดโปรตีนจากรำข้าว

โปรตีนจากรำข้าวจัดเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ และมีคุณค่าทางโภชนาการในด้านต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น ดังนั้นเพื่อเพิ่มประโยชน์ของโปรตีนของรำข้าว จึงได้มีการพัฒนาวิธีการสกัด หรือแยกโปรตีนจากรำข้าว เพื่อให้ได้โปรตีนในปริมาณเพียงพอที่นำมาใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมอาหารต่อไปได้ แต่ในปัจจุบันยังไม่มีการผลิตโปรตีนรำข้าวเข้มข้น (rice bran protein concentrate) และโปรตีนสกัดจากรำข้าว (rice bran protein isolate) ในเชิงการค้า เนื่องจากโปรตีนในรำข้าวมีความซับซ้อน มีความสามารถในการละลายต่ำ เนื่องจากโปรตีนมีการรวมตัวกันอย่างแน่นหนาด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) อีกทั้งยังประกอบด้วยไฟเตส (phytate) ในปริมาณสูง (1.7 เปอร์เซ็นต์) และปริมาณเยื่อใย (fiber) ประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรตีนในรำข้าวเรียงตัวอยู่รอบ ๆ ไพเตต (phytate ion) ทำให้เกิด insoluble protein-phytate complex ซึ่งองค์ประกอบทั้งไฟเตต และเยื่อใยนั้นสามารถรวมตัวกับโปรตีนได้ดี ทำให้การแยกโปรตีนในรำข้าวออกจากองค์ประกอบอื่น ๆ เป็นไปได้ยาก (Wang *et al.* 1999)

อย่างไรก็ตาม การสกัดโปรตีนจากรำข้าวจำเป็นต้องศึกษาถึงโครงสร้าง และองค์ประกอบของรำข้าวก่อน อีกทั้งทำการศึกษาถึงคุณสมบัติการละลายเพื่อทำการสกัดโปรตีนออกมาเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการเลือกใช้วิธีในการสกัด โดยโปรตีนละลายออกมาเมื่อมีการใช้ตัวทำละลาย (solvent) ในการสกัด ซึ่งประสิทธิภาพในการสกัดขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ตัวทำละลายในสภาวะที่เหมาะสม โดยสามารถวัดได้จากปริมาณ และส่วนของโปรตีนที่สกัดได้ ทั้งนี้ในการสกัดมีความยุ่งยากหลายประการด้วยกัน (Laszity. 1995) คือ

1. ความแตกต่างกันในทางเคมี เช่น องค์ประกอบของไขมัน คาร์โบไฮเดรต เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก และสาร โพลีฟีนอล เป็นต้น
2. ความแตกต่างทางชีววิทยาของเนื้อเยื่อ
3. ขนาดของเมล็ดธัญพืชที่ค่อนข้างเล็ก
4. องค์ประกอบที่มีความซับซ้อนของโปรตีนแต่ละชนิด จึงต้องมีวิธีการเฉพาะ หรือการใช้ตัวทำละลายผสมในการละลาย และสกัดโปรตีนแต่ละชนิด

วิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ

2.5.1 การสกัดโปรตีนโดยใช้สารเคมี (Chemical Method)

การสกัดโปรตีนโดยการใช้สารเคมี เป็นวิธีการที่มีหลักการในการใช้ตัวทำละลายเพื่อละลายโปรตีนออกจากองค์ประกอบอื่น ๆ ที่มีอยู่ และทำให้อนุภาคของโปรตีนส่วนต่าง ๆ แตกออกหรือละลายออกมา ตัวอย่างสารเคมีที่นิยม ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid ; HCl) กรดซัลฟูริค (sulfuric acid ; H_2SO_4) หรือ การใช้ตัว

ทำละลายร่วมกัน เช่น แอลกอฮอล์ (alcohol) กับสารดีเทอร์เจนท์ (detergent) เช่น โซเดียมโดดิซิล ซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate ; SDS) ยูเรีย (urea) อะซิติลไตรเมทธิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (acetyl trimethyl ammonium bromide) เป็นต้น

การสกัดโดยวิธีนี้นิยมใช้สารละลายด่างมากกว่าการใช้สารละลายกรด เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการสกัดปริมาณโปรตีน และปริมาณผลผลิตที่สูงกว่า อีกทั้งมีวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยสารละลายกรด (Cagampang *et al.* 1966) ซึ่งต้องทำการย่อยที่อุณหภูมิสูง ทำการปรับสภาพให้เป็นกลาง และทำให้เข้มข้นอีกครั้งภายหลังการย่อย ทั้งนี้การสกัดโปรตีนโดยทั่วไปมีหลักการ คือ ทำให้โปรตีนละลายออกมาโดยใช้สารละลายด่าง และทำการตกตะกอนโปรตีนที่จุดไอโซอิเลคตริก (isolectric point) ด้วยสารละลายกรด ซึ่งจากรายงานการวิจัยที่ทำการศึกษาพบว่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากวิธีการต่าง ๆ มีความแตกต่างกัน ดังนี้

Chen and Houston (1970) ได้ศึกษาถึงการสกัดโปรตีนรำข้าวเข้มข้นจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ pH 7-12 ในอัตราส่วน 1 : 7.5 ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้โปรตีนละลายออกมา จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงแล้วนำสารละลายที่ได้ไปตกตะกอนที่จุดไอโซอิเลคตริกที่ pH 5.5 เพื่อแยกโปรตีนออกมา โดยได้ปริมาณโปรตีนสูงถึง 33.3–85 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด และพบว่าการบดรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร ให้มีขนาดเล็กลงนั้นมีผลในการสกัดโปรตีนให้สูงขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อ pH สูงกว่า 11 โดย pH ที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด คือ pH 11 โดยโปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่สกัดได้มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 85 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 57 เปอร์เซ็นต์

Lew *et al.* (1975) ศึกษาถึงการสกัดโปรตีนรำข้าวเข้มข้นจากรำข้าวไขมันเต็ม (full-fatted rice bran) โดยการสกัดโปรตีนที่สภาวะที่เป็นด่างโดยโปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่สกัดได้จากพีเอชต่าง ๆ (8 10 11 และ 12) มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 43 57 67 และ 70 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมดในรำข้าว โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด คือ pH 11 และทำการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 4.5 ได้โปรตีนรำข้าวเข้มข้นจากรำข้าวไขมันเต็มที่มีลักษณะสีน้ำตาลเทา ซึ่งประกอบด้วยปริมาณโปรตีน 62 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 14 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าที่ pH สูงกว่า 11 ความสามารถในการสกัดโปรตีนลดลง ทั้งนี้เนื่องจากส่วนอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โปรตีนละลายปะปนออกมา ทำให้โปรตีนที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ลดต่ำลง

Conor *et al* . (1976) ทำการศึกษาถึงการสกัดโปรตีนรำข้าวเข้มข้นจากรำข้าวไขมันเต็มโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ pH 9.0 อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส โดยทำการกวนผสมเป็นเวลา 15 นาที เพื่อละลายโปรตีน และเปรียบเทียบวิธีการต่าง ๆ ในการตะกอนเพื่อแยกโปรตีนออกมา เช่น การใช้ความร้อนในการตกตะกอน (heat precipitate) และการใช้กรดในการตกตะกอน (acid precipitate) เป็นต้น ซึ่งโปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่ได้มีปริมาณโปรตีน 23–31

เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 33–48 เปอร์เซ็นต์ สตาร์ช 15–23 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณผลผลิต 14–20 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังพบว่าการใช้กรดในการตกตะกอนโปรตีนเข้มข้นมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และสตาร์ชที่สูงขึ้น แต่มีปริมาณเยื่อใย และเถ้าที่ลดลงเมื่อเทียบกับการตกตะกอนด้วยความร้อน และเมื่อทำการแยกเอาส่วนที่เป็นสตาร์ชออกจากรำข้าวก่อนการสกัด แล้วจึงทำการตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดได้โปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่มีปริมาณโปรตีน และไขมันสูงขึ้นเป็น 33–38 เปอร์เซ็นต์ และ 49–55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยโปรตีนรำข้าวเข้มข้นที่สกัดจากการใช้ความร้อน และการใช้กรดในการตกตะกอนโปรตีน มีค่า PER เท่ากับ 1.99 และ 2.19 ตามลำดับ และสามารถย่อยได้ในปริมาณ 83.4 และ 89.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Champagne *et al.* (1985) ศึกษาผลของเวลา อุณหภูมิ และ pH ต่อการละลายของโปรตีน พบว่าความสามารถในการละลายของโปรตีนในรำข้าวมีค่าที่สุดในช่วงเวลา 40 นาที ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และเมื่อระดับ pH เพิ่มขึ้น จาก pH 4 เป็น pH 11 การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้น และเมื่อ pH ลดลงต่ำกว่า pH 4.0 การละลายของโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน

Gnanasambandam and Hettiarachchy (1995) ได้ศึกษาถึงวิธีการผลิตโปรตีนรำข้าวเข้มข้นจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันทั้งที่ผ่านกระบวนการทำให้เสถียร (stabilized rice bran) ด้วยไอน้ำ และไม่ผ่านกระบวนการทำให้เสถียร (unstabilized rice bran) ที่มีขนาดอนุภาคต่าง ๆ กัน ด้วยสารละลายด่างที่ pH 9.5 โดยการกวนผสมเป็นเวลา 30 นาที ณ อุณหภูมิห้อง เพื่อละลายโปรตีนที่มีอยู่ในรำข้าวออกจากองค์ประกอบอื่น ๆ จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยง แล้วนำสารละลายโปรตีนที่ได้มาตกตะกอนโปรตีนที่จุดไอโซอิเลคตริกที่ pH 4.5 และหมุนเหวี่ยงอีกครั้งเพื่อแยกตะกอนโปรตีน นำตะกอนโปรตีนที่ได้ไปล้างน้ำเพื่อปรับสภาพให้เป็นกลาง และทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) จากการศึกษาพบความแตกต่างระหว่างโปรตีนรำข้าเข้มข้นจากรำข้าวที่ผ่านกระบวนการทำให้เสถียร (stabilized rice bran protein concentrate ; SRBPC) และไม่ผ่านกระบวนการทำให้เสถียร (unstabilized rice bran protein concentrate ; URBPC) เช่น ปริมาณโปรตีน ปริมาณกรดอะมิโน เป็นต้น โดย URBPC และ SRBPC มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 71.5 และ 50.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ความแตกต่างของปริมาณโปรตีนที่เกิดขึ้น เนื่องจากผลของการใช้ความร้อนในกระบวนการทำให้เสถียรด้วยไอน้ำกับรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน อาจทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน (protein denature) รวมทั้งทำให้ประสิทธิภาพ และคุณภาพในการสกัดนั้นลงน้อยลง อีกทั้งขนาดของอนุภาคของรำข้าวมีผลในการสกัดเช่นเดียวกัน ซึ่งการลดขนาดดังกล่าวจะช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ และพบว่าโปรตีนรำข้าวเข้มข้นจากรำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการบดทั้ง URBPC และ SRBPC นั้น ให้ปริมาณโปรตีนที่ไม่แตกต่างกับปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ผลิตได้จากรำข้าวที่มีขนาดอนุภาคอื่น ๆ และได้ปริมาณผลผลิตที่สูงกว่ารำข้าวที่มีขนาดอนุภาคอื่นเช่นกัน แสดงดังตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 ปริมาณโปรตีนในโปรตีนข้าวเข้มข้นจากรำข้าว

Mesh size	URBPC		SRBPC	
	Recovery (%)	Protein content (%)	Recovery (%)	Protein content (%)
Unsieved	72.4	71.5	72.2	50.9
200	40.1	63.3	40.2	50.7
170	3.7	68.0	4.9	47.3
140	3.7	70.7	4.9	43.7
120	4.9	70.9	7.7	43.1
100	7.9	67.7	4.7	38.9
< 100	11.6	58.4	10.5	33.5

ที่มา : Gnanasambandam and Hettiarachchy (1995).

ถึงแม้ว่าการใช้สารละลายด่างทำให้ปริมาณโปรตีนในการสกัดในปริมาณสูง แต่การสกัดโดยวิธีนี้มีข้อเสียบางประการ เช่น ทำให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่เป็นที่ต้องการ และเกิดสารพิษขึ้น (toxic) เช่น เกิดสารไลซิโนอะลานีน (lysinoalanine) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนซีสเตอีน (cysteine) และเซรีน (serine) เป็นสารดีไฮโดรอะลานีน (dehydroalanine) และฟอร์มตัวในรูปของไลซิโนอะลานีน และ ε-อะมิโนของไลซีน ซึ่งเป็นสารประกอบที่เป็นสารพิษ และทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ รวมทั้งการทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ (protein denature) เกิดปฏิกิริยามิลลาร์ดเพิ่มขึ้น (millard reaction) ทำให้ได้โปรตีนที่มีสีเข้มขึ้น มีคุณภาพ และความบริสุทธิ์ลดลง เนื่องจากส่วนอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โปรตีนละลายปะปนออกมา (Gnanasambandam and Hettiarachchy. 1995 ; Ansharullah. 1997 ; Wang *et. al.* 1999) อีกทั้งการสกัดโปรตีนที่ pH สูง ๆ พร้อมกับการใช้อุณหภูมิสูง ทำให้โปรตีนเกิดการเสื่อมสภาพ และเกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ (Lynn.1969)

2.5.2 การสกัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์ (Enzymatic Method)

การสกัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์ มีหลักการ คือ การย่อยสลายองค์ประกอบอื่นที่ไม่ใช่โปรตีน เพื่อให้ปริมาณโปรตีนในรำข้าวสูงขึ้น ดังเช่น การใช้เอนไซม์คาร์โบไฮเดรสชนิดต่าง ๆ เช่น แอลฟา-อะไมเลส กลูโคอะไมเลส เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส เป็นต้น ในการย่อยสลายองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในรำข้าวเพื่อให้โปรตีนที่แทรกอยู่ระหว่างกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตนั้นสามารถแยกออกมาได้ง่ายขึ้น

ซึ่งจากรายงานการวิจัยในการสกัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์ พบว่าการทำงานของเอนไซม์มีผลต่อการสกัดโปรตีนซึ่งขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง โดยเอนไซม์แต่ละชนิดมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานที่แตกต่างกันไป เช่น ความเข้มข้นของเอนไซม์ สับสเตรท อุณหภูมิ pH สารกระตุ้น สารยับยั้งการทำงาน (inhibitor) และระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เป็นต้น

Morita and Kiriyama (1993) ได้ศึกษากระบวนการผลิตโปรตีนข้าวในรูปไอโซเลท (rice protein isolate ; RPI) โดยนำแป้งข้าวเจ้ามาผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นเติมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ทนความร้อนทางการค้า คือ Termamyl 120 L (Novo Nordisk, Inc.) ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการกวนผสม และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อทำการเจลาติไนเซชั่น และทำให้เอนไซม์ย่อยสลาย (enzyme digestion) แป้งข้าวเจ้า เมื่อครบเวลานำมากรองผ่านระบบสูญญากาศ (vacuum filter) และล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำต้มเดือดเพื่อล้างไซรัป (sugar syrup) และล้างเอนไซม์ที่ตกค้างอยู่ หลังจากนั้นล้างตะกอนอีกครั้งด้วยเอทานอลเพื่อกำจัดไขมัน จากนั้นทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง พบว่าโปรตีนข้าวที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์โดยเฉลี่ยประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งสูงกว่าปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในแป้งข้าวเจ้าถึง 10 เท่า และประกอบด้วยปริมาณไขอาหาร เถ้า และคาร์โบไฮเดรตเท่ากับ 6.4 1.3 และ 1.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และเมื่อนำมาโปรตีนที่สกัดได้มาศึกษาด้วย SDS-PAGE พบว่าโปรตีนข้าวที่สกัดได้นั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยยังคงประกอบด้วยกลูติลิน และโพรลามินเช่นเดียวกับแป้งข้าวเจ้า โดยมีปริมาณกรดอะมิโนเมธทิโอนีน (metionine) และซีสเตอีน (cysteine) สูงกว่าเคซีน (casein) และโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (soybean protein isolate) ในขณะที่มีปริมาณไลซีนต่ำกว่า และจากผลการทดลองเมื่อนำโปรตีนข้าวที่สกัดได้ไปผสมกับอาหารที่ใช้เลี้ยงหนูในอัตราส่วน 40-50 เปอร์เซ็นต์ เพื่อประเมินคุณค่าทางโภชนาการ พบว่าหนูมีการเจริญเติบโตเท่ากับหนูที่ใช้สูตรอาหารเป็นเคซีน 25 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้โปรตีนที่สกัดได้สามารถย่อยได้ปริมาณ 87 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าทางด้านชีววิทยา (BV) ประมาณ 51 เปอร์เซ็นต์

Shih and Daigle (1997) ทำการศึกษาถึงเอนไซม์ที่ทำการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตชนิดต่าง ๆ ในการสกัดโปรตีนข้าวจากแป้งข้าวเจ้าที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 50 เมซ จากการศึกษาพบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสทางการค้าต่างชนิดกัน คือ Termamyl 120 L ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (เอนไซม์ต่อสับสเตรท) และ Taka-Therm L-340 ของบริษัท Solvay Enzymes. ที่ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ (เอนไซม์ต่อสับสเตรท) ณ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 45 นาที มีประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนในการสกัดโปรตีนที่แตกต่างกัน โดยโปรตีนข้าวจากการย่อยของ Termamyl 120 L มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 65.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Taka-Therm L-340 มีปริมาณโปรตีนเพียง 46.9 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าการทำเจลาติไนเซชั่น (gelatinization) ก่อนการ

เติมเอนไซม์ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่ทำให้เกิดอุปสรรคในการกวนผสมระหว่างกระบวนการ นอกจากนี้พบว่าการใช้เอนไซม์คาร์โบไฮเดรสชนิดอื่นนอกเหนือจากการใช้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสตาร์ชเพียงอย่างเดียว เช่น เอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า คือ Cellulase AC และ Cellulase TR และเฮมิเซลลูเลสทางการค้า คือ Hemicellulase C ของบริษัท Solvay Enzyme จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดให้สูงขึ้น ซึ่งให้ปริมาณสูงขึ้นเป็น 71.6-76.4 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าการใช้ Termamyl 120 L เพียงชนิดเดียวในการย่อย (65.5 เปอร์เซ็นต์) โดยเอนไซม์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนข้าว คือ การใช้ Cellulase AC ที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (เอนไซม์ต่อสับสเตรท) ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และการใช้ Cellulase AC ร่วมกับ Hemicellulase C ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (เอนไซม์ต่อสับสเตรท) ณ สภาวะเดียวกัน ภายหลังการย่อยด้วย Termamyl 120 L โดยได้โปรตีนข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุดประมาณ 75.6-76.4 เปอร์เซ็นต์

Ansharullah *et al.* (1997) ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์คาร์โบไฮเดรส (carbohydrase) ทางการค้าของบริษัท Novo-Nordisk คือ Viscozyme L ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ *Aspergillus sp.* ซึ่งเป็นเอนไซม์ผสมระหว่างอะราบาเนส (arabanase) เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และไซลาเนส และ Cellulast 1.5 L จาก *Trichoderma reesei* ในขั้นตอนการเตรียมรำข้าว (pretreatment) ก่อนทำการสกัดโปรตีนจากรำข้าว พบว่า การใช้ Viscozyme L เพียงชนิดเดียวที่ pH 3.8 ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง แล้วปรับสภาวะในการสกัดให้เป็นกลาง สามารถสกัดปริมาณไนโตรเจนได้สูงถึง 57.89 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าการสกัดโดยการใช้ด่างที่ pH 8.5 9.0 และ 9.5 ซึ่งสกัดได้ปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 11.43 32.28 และ 46.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นการใช้เอนไซม์คาร์โบไฮเดรตในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวที่ pH เป็นกลางนั้นสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนที่สกัดได้สูงกว่าการใช้สารละลายที่มี pH ต่าง ๆ และช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการ

Wang *et al.* (1999) ได้ศึกษากระบวนการผลิตโปรตีนสกัดจากรำข้าวด้วยเอนไซม์ไฟเตส (phytase) ทางการค้า คือ Finase S 40 จากบริษัท Genencor International, Inc. และไซลาเนส (xylanase) ทางการค้า คือ GC 140 ของบริษัท Enzyme Development Corp. โดยใช้รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันเป็นวัตถุดิบ พบว่าการใช้เอนไซม์ไฟเตสร่วมกับการใช้เอนไซม์ไซลาเนสจะช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีน และปริมาณในการสกัดในโปรตีนจากรำข้าวให้สูงขึ้นมากกว่าการใช้เอนไซม์เพียงชนิดเดียว โดยสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตโปรตีนสกัดจากรำข้าว คือ การใช้เอนไซม์ไฟเตสและไซลาเนสร่วมกันที่ pH 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณโปรตีนสูงถึง 92 เปอร์เซ็นต์ และให้ปริมาณผลผลิตเท่ากับ 74.6 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังตารางที่ 2.10 อีกทั้งยังมีคุณสมบัติทางหน้าที่หลายประการ เช่น ความสามารถในการเกิดฟอง (foaming property) ใกล้เคียงกับไข่ขาว แต่จะมีความสามารถในการเกิดอิมัลชั่น (emulsifying property) ที่ต่ำกว่า BSA

(Bovine serum albumin) และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายเด็กวัย 2–5 ปี ใกล้เคียงหรือสูงกว่าเคซีน และโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (soy protein isolate ; SPI)

ตารางที่ 2.10 ผลของเอนไซม์ไฟเตส และไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีน และผลผลิตของโปรตีนสกัดจากรำข้าว

Treatments	Protein content (%)	Protein yield (%)
Phytase (400 PU/g of bran, 2hrs)	80.2 ± 4.5 [a]	57.3 ± 2.1 [a]
Xylanase (240 GXU/g of bran, 2hrs)	81.7 ± 2.3 [a]	54.5 ± 2.6 [a]
Phytase (400 PU/g of bran,2hrs) followed Xylanase (240 GXU/g of bran, 2hrs)	88.6 ± 2.5 [b]	73.4 ± 2.1 [b]
Xylanase (240 GXU/g of bran, 2hrs) followed Phytase (400 PU/g of bran,2hrs)	89.8 ± 1.9 [b]	70.5 ± 2.8 [b]
Phytase (400 PU/g of bran) and Xylanase (240 GXU/g of bran) simultaneously 2 hrs.	92.0 ± 1.6 [b]	74.6 ± 4.1 [b]
Phytase (400 PU/g of bran) and Xylanase (240 GXU/g of bran) simultaneously 4 hrs	90.7 ± 2.4 [b]	72.3 ± 0.6 [b]
Phytase (inactivated) and xylanase (inactivated) simultaneously 2 hrs	76.4 ± 2.5 [c]	36.1 ± 2.4 [c]
Control (no enzyme, 2 hrs.)	74.5 ± 3.6 [c]	34.2 ± 1.1 [c]

หมายเหตุ : Yield (%) = $\frac{\text{weight (g) of RBPI} \times \text{protein content (\%) of RBPI}}{\text{10 g (weight of DRB)} \times \text{protein content (\%) of DRB}} \times 100$

ที่มา : Wong *et al.* (1999)

Shih *et al.* (1999) ศึกษาถึงกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง และแป้งข้าวเจ้าโปรตีนสูงโดยการใช้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น Termamyl 120 L Taka-Therm L-340 Cellulase AC Hemicellulase C โดยนำรำข้าว หรือแป้งข้าวมาผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติมเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ที่ทำการศึกษา พบว่าการใช้เอนไซม์ Termamyl 120 L ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ (เอนไซม์ต่อสับสเตรท) ณ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส pH 6.5 เป็นเวลา 45 นาที เพื่อทำการย่อยสลายแป้งในรำข้าว และสิ่งปลอมปน (impurity) อื่น ๆ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงที่อุดมไปด้วยโปรตีนและใยอาหาร มีลักษณะสีอ่อน และไม่มีรสชาติที่เหมาะสมในการใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ โดยมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 24.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าปริมาณโปรตีนในรำข้าว (วัตถุดิบ) ที่มีค่าเท่ากับ 12.6 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าสูงกว่าการใช้ Cellulase AC (ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เอนไซม์ต่อสับสเตรท) และ Hemicellulase C (ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เอนไซม์ต่อสับสเตรท) ณ อุณหภูมิ

65 องศาเซลเซียส pH 4.0 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่มีปริมาณโปรตีนเพียง 18.9 และ14.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 2.11 นอกจากนี้เมื่อนำมาศึกษากับแป้งข้าวเจ้า พบว่าการใช้ Termamyl 120 L ร่วมกับ Cellulase AC และ Hemicellulase C ทำให้ได้แป้งข้าวเจ้าโปรตีนสูงที่มีปริมาณโปรตีนสูงถึง 76.4 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 2.12 เปรียบเทียบกับโปรตีนในแป้งข้าวเจ้าที่มีปริมาณโปรตีนเพียง 8 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าการใช้น้ำต้มเดือดแทนการใช้น้ำเย็นในการล้างส่วนที่เป็นตะกอนในอัตราส่วน 1 : 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ pH 4.0 จำนวน 3 ครั้ง ช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนให้สูงขึ้น ดังเช่นในรำข้าวโปรตีนสูง ปริมาณโปรตีนสูงขึ้นจาก 24.8 เป็น 27.4 เปอร์เซ็นต์ และแป้งข้าวเจ้าโปรตีนสูงปริมาณโปรตีนสูงขึ้นจาก 64.8 เป็น 79.3 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2.11 ปริมาณโปรตีน และผลผลิตของรำข้าวโปรตีนสูงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

Treatments	Yield [1)] (g / 100 g bran)	Protein content [2)] (% dry weight basis)	Protein retained [3)] (% dry weight basis)
Termamyl 120 L	48.9	24.8	86.6
Cellulase AC	48.0	18.9	64.8
Hemicellulase C	53.3	14.3	54.4

หมายเหตุ : [1)] Yield is the residue weight per 100 g bran used.

[2)] Protein content is calculated as protein in the residue divided by residue weight.

[3)] Protein retained is calculated as protein in the residue divided by total protein in the original bran.

ที่มา : Shih *et al.* (1999).

ตารางที่ 2.11 ปริมาณโปรตีน และผลผลิตของแป้งข้าวเจ้าโปรตีนสูงที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

Treatments	Yield [1)] (g/100 g flour)	Protein content [2)] (% dry weight basis)	Protein retained [3)] (% dry weight basis)
Termamyl 120L	13.6	64.8	97.9
Taka-Therm L 340	14.0	51.1	88.3
Termamyl 120L and then Hemicellulase	9.8	71.6	78.0
Termamyl 120L and then Cellulase AC	10.1	75.6	84.8
Termamyl 120L and then (Hemicellulase + Cellulase AC)	9.8	76.4	74.4

หมายเหตุ : [1)] Yield is the residue weight per 100 g flour used

[2)] Protein content is calculated as protein in the residue divided by residue weight.

[3)] Protein retained is calculated as protein in the residue divided by total protein in the original flour.

ที่มา : Shih *et al.* (1999).

เอกสารนี้ป... ไม่ว่ากรณี... ...การนำไปใช้

Hernandez *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษาถึงการใช้เอนไซม์ในการปรับปรุงกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว เริ่มต้นโดยนำรำข้าวมาผสมกับน้ำ (25 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที เพื่อเป็นการเจลาติไนเซชั่นสตาร์ชที่อยู่ในรำข้าวก่อนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ และยับยั้งเอนไซม์ไลเปส (deactivated lipase) จากนั้นเติม Termamyl 120 L ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ควบคุมอุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ที่ pH 6.0 เมื่อครบเวลานำไปทำการหมุนเหวี่ยงได้ส่วนที่เป็นของแข็ง และของเหลว นำของเหลวที่ได้ไปปรับ pH ที่ 4.2 และให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ที่มีชื่อทางการค้า ว่า "Diazyme" ของบริษัท ENMEX ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการย่อยเป็นเวลานาน 20 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (glucose) สูงถึง 90 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 28 เปอร์เซ็นต์ ของรำข้าวเริ่มต้น และได้น้ำตาลซูโครส (sucrose) เล็กน้อย โดยส่วนที่เป็นของแข็ง (66.7 เปอร์เซ็นต์ของรำข้าวทั้งหมด) สามารถนำไปสกัดโปรตีนก่อนการสกัดน้ำมัน ทั้งนี้สามารถปรับปรุงกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว โดยได้ปริมาณผลผลิตน้ำมันสูงขึ้น 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วย Termamyl 120L

สำหรับส่วนของรำข้าวที่เหลือจากกระบวนการนำไปปรับ pH ที่ 7.0 และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำให้โปรตีนเข้มข้นขึ้นโดยการเติมเอนไซม์โปรติเอส (protease) ที่มีชื่อทางการค้า คือ Neutrase ของบริษัท Enzimasy Productos Quimicos SA de CV. ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 7.0 เป็นเวลานาน 5 ชั่วโมง โดยได้ปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมาสูงเท่ากับ 12 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 35.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับขั้นตอนที่มีการใช้ Termamyl 120 L พบว่าจะมีปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมาคิดเป็น 21.5 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นการสกัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์จึงเป็นอีกวิธีที่เหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้กระบวนการผลิต ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นที่นิยมใช้กันในปัจจุบัน เนื่องจากโปรตีนที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ ไม่เกิดปฏิกิริยาข้างเคียง (side reaction) และสารที่เป็นพิษ (toxic) หรืออันตรายต่อผู้บริโภค และให้ปริมาณผลผลิตสูงเมื่อเทียบกับวิธีการใช้สารเคมี โดยสามารถนำโปรตีนที่สกัดได้ไปเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารเด็ก และอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน จากบริษัท อมรชัย จำกัด (โรงงานกมลกิจ) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

3.1.1.2 เอนไซม์ไซลาเนส (xylanase ; Porzyme 9300) จากบริษัท Finnfeed International Co., Ltd. มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (enzyme activity) 4,000 ยูนิตต่อกรัมของแข็ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

3.1.1.3 เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase ; Termamyl 120 L Type LS) จากบริษัท Novo Nordisk Co., Ltd. ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 120 KNU (Kilo Novo alpha-amylase unit) ต่อกรัมของเหลว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต

1) เครื่องชั่งชนิดหยาบ	Mettler AE 204	สวิตเซอร์แลนด์
2) เครื่องชั่งชนิดละเอียด	Mettler AE 3000	สวิตเซอร์แลนด์
3) เครื่องกวนผสม (stirrer)	Hytrel HTR 8068	เยอรมัน
4) เครื่องอ่านอุณหภูมิระบบดิจิตอล	Ellab a-s	เดนมาร์ก
5) เทอร์โมคัปเปิ้ล (thermocouple)	Ellab	เดนมาร์ก
6) หม้อต้มด้วยไอน้ำ (steam jacket kettle)		
7) เครื่องอบแห้งแบบถาด (tray dryer)		

3.1.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1) เครื่องวัดความเร็วรอบ (photo / contact Tachometer)	Digicon DT – 250 TP	ญี่ปุ่น
2) เครื่องชั่งชนิดละเอียด	Mettler AE 3000	สวิตเซอร์แลนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) เครื่องวัด pH	Mettler Toledo MP 220	สวิตเซอร์แลนด์
4) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	Memmert	เยอรมัน
5) ตู้อบลมร้อน	Memmert	เยอรมัน
6) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)	Shimadzu – UV 1601	ญี่ปุ่น
7) เครื่องโพลาริมิเตอร์ (polarimeter)	ATAGO POLAX – L	เยอรมัน
8) ชุดวิเคราะห์โปรตีน	Buchi B – 316	เยอรมัน
9) ชุดวิเคราะห์ไขมัน	Buchi 810	เยอรมัน
10) ชุดวิเคราะห์เส้นใย	Gerhardt Bonn	เยอรมัน
11) เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace)	Carbolite CWF 1100	อังกฤษ
12) เครื่องบดแห้ง (Restch miller)	F.Kurt Restch, GMbH	เยอรมัน
13) เครื่องร่อนขนาดอนุภาค	Restch, ZM 100	เยอรมัน
14) เครื่องบด (Blender)	National, Mx-T1PN(G)	ไต้หวัน

15) ไมโครปิเปต ขนาด 100-1000 ไมโครลิตร

16) โถดูดความชื้น (Desiccator)

17) อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3.2 สถานที่ดำเนินงาน

3.2.1 ห้องปฏิบัติการโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 ห้องปฏิบัติการกระบวนการแปรรูปอาหาร โรงงานแปรรูปอาหาร 1 โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 ระยะเวลาดำเนินงาน

เดือนกันยายน 2543 ถึง ตุลาคม 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีการดำเนินงาน

3.4.1 การศึกษาสมบัติทางเคมีของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน

3.4.1.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน (proximate analysis)

นำรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า คาร์โบไฮเดรต และสตาร์ช (AOAC. 1995)

3.4.1.2 การศึกษาปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคต่าง ๆ

ชั่งตัวอย่างรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันน้ำหนัก 100 กรัม นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่าง ๆ (sieving) เพื่อศึกษาการกระจายตัวของอนุภาค (ภาคผนวก ก) และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่มีขนาดต่าง ๆ (AOAC. 1995)

3.4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

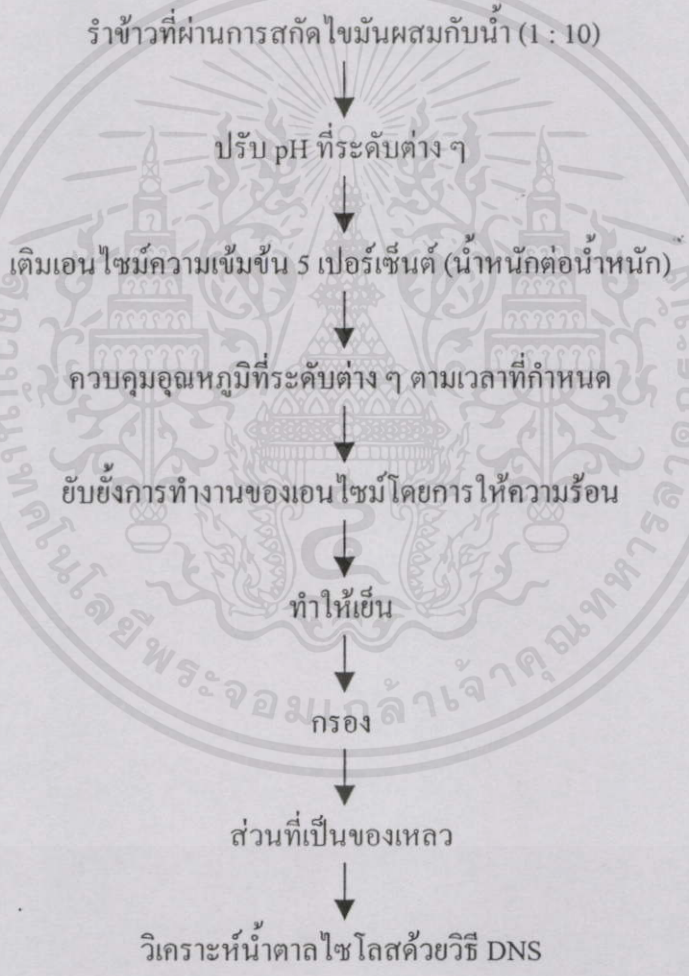
3.4.2.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง (Porzyme 9300)

1) ศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

การศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง เตรียมโดยนำเอารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนเท่ากับ 1 : 10 ทำการปรับ pH ของสารละลายที่ระดับ pH ต่างกัน 8 ระดับ คือ 3.0 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 7.0 และ 8.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริค (HCl) และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) ซึ่งมีการเตรียมสารละลายเอนไซม์โดยการกวนผสมด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาที ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นผสมให้เข้ากันและนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 5 นาที และนำไปลดอุณหภูมิให้เย็นลงในทันที จากนั้นทำการกรองนำส่วนที่เป็นของเหลวมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของน้ำตาลไซโลส (xylose) โดยวิธี DNS

(dinitrosalicylic acid method) (Chaplin and Kennedy. 1986) เป็นน้ำตาลมาตรฐาน ขั้นตอนในการศึกษาแสดงดังภาพที่ 3.1

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณน้ำตาลไซโลสจากการศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยการวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design ขนาด 8 X 3 ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) Version 7.5 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยเลือก pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่มีค่าระดับน้ำตาลไซโลสสูงสุดนำไปศึกษาในขั้นต่อไป



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนในการศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง

การศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เตรียมโดยการนำเอารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน 2 กิโลกรัมมาผสมกับน้ำ 20 ลิตร ในหม้อต้มด้วยไอน้ำที่มีการกวนผสมตลอดเวลาที่ความเร็วรอบ 20 รอบต่อนาที ทำการควบคุม pH และอุณหภูมิโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการทำงานของเอนไซม์ตามที่ศึกษาได้ จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ไซลาเนสที่มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับ คือ 0.5 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) จากนั้นทำการบ่มที่ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ต่างกัน 3 ระดับ คือ 30 60 และ 120 นาที เมื่อครบเวลาทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 5 นาที ทำการลดอุณหภูมิ จากนั้นนำไปกรองได้ส่วนที่เป็นของแข็ง และของเหลว

ส่วนที่เป็นของแข็งนำไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ดังนี้ คือ ปริมาณโปรตีน เยื่อใย ความชื้น (AOAC. 1995) และปริมาณผลผลิต และส่วนที่เป็นของเหลวทำการวิเคราะห์ดังนี้ คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของน้ำตาลไซโลส โดยวิธี DNS (Chaplin and Kennedy. 1986) และปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry (Lowry *et al.* 1951) แสดงดังภาพที่ 3.2

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design ขนาด 3 X 3 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) Version 7.5 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ แล้วทำการคำนวณหาค่าความสัมพันธ์ในรูปของค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) และวิเคราะห์การถดถอยแบบพหุคูณ (Multiple regression analysis) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนกับความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ และนำสมการที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ โดย Statgraphic Plus Version 3.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนในการศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง (Termamyl 120 L type LS)

1) ศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

วิธีการในการศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง เตรียมโดยนำเอารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนเท่ากับ 1 : 10 ทำการปรับ pH ของสารละลายที่ระดับ pH ต่างกัน 9 ระดับ คือ 4.0 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริค (HCl) และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 632 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ 75 85 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 5 นาที และนำไปลดอุณหภูมิให้เย็นลงในทันที จากนั้นทำการกรอง นำส่วนที่เป็นของเหลวมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี DNS (dinitrosalicylic acid method) (Chaplin and Kennedy. 1986) ขั้นตอนการศึกษาแสดงดังภาพที่ 3.1

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากการศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยการวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design ขนาด 9 X 3 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) Version 7.5 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยเลือก pH และอุณหภูมิที่มีค่าระดับน้ำตาลกลูโคสสูงสุดไปศึกษาในขั้นต่อไป

2) ศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณโปรตีนรำข้าวโปรตีนสูง

การศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เตรียมโดยการนำเอารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน 2 กิโลกรัมมาผสมกับน้ำ 20 ลิตรในหม้อต้มด้วยไอน้ำที่มีการกวนผสมตลอดเวลาที่ความเร็วรอบ 20 รอบต่อนาที ทำการควบคุม pH และอุณหภูมิโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการทำงานของเอนไซม์ตามที่ศึกษาได้ จากนั้นเติมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับ คือ 0.01 0.1 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) ทำการบ่มที่ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ต่างกัน 3 ระดับ คือ 30 60 และ 90 นาที เมื่อครบเวลาทำการยับยั้ง

การทำงานของเอนไซม์โดยการต้มให้เดือด เป็นเวลานาน 5 นาที ทำการลดอุณหภูมิ และนำไปกรอง ได้ส่วนที่เป็นของแข็งและของเหลว

ส่วนที่เป็นของแข็งนำไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์ ดังนี้ คือ ปริมาณโปรตีน สตาร์ช ความชื้น (AOAC. 1995) และปริมาณผลผลิต ส่วนที่เป็นของเหลวทำการวิเคราะห์ดังนี้ คือ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี DNS (Chaplin and Kennedy. 1986) และปริมาณโปรตีน โดยวิธี Lowry (Lowry *et al.* 1951) แสดงดังภาพที่ 3.2

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design ขนาด 3 X 3 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) Version 7.5 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ แล้วทำการคำนวณหาค่าความสัมพันธ์ในรูปของค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) และวิเคราะห์การถดถอยแบบพหุคูณ (Multiple regression analysis) ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนกับความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ และนำสมการที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ โดย Statgraphic Plus Version 3.0

3.4.3 การศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนในรำข้าวโปรตีนสูง

ศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนในรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลสที่คัดเลือกแล้ว จาก 3.4.2.1 และ 3.4.2.2 โดยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ยี่ห้อ Water โดยห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน เคซีน (casein) โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (soy protein isolate) และเปรียบเทียบกับปริมาณความต้องการของกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับทารก (essential amino acid requirement for infant) และกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กในวัย 2-5 ปี (essential amino acid requirement for 2-5 year old children)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาสมบัติของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน

รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันจากแหล่งต่าง ๆ อาจมีสมบัติทางเคมี และกายภาพที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ดังเช่น แหล่งเพาะปลูก พันธุ์ข้าว กระบวนการขัดสีข้าว (milling) กระบวนการทำให้เสถียร (stabilization) กระบวนการสกัดไขมัน การเก็บรักษา รวมถึงสิ่งปลอมปนต่าง ๆ เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาสมบัติของวัตถุดิบ ทำให้ทราบข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับลักษณะของวัตถุดิบเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตต่อไป ในขั้นตอนนี้ทำการศึกษาสมบัติของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันในด้านองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) การกระจายตัวของอนุภาค (particle distribution) และปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคต่าง ๆ

4.1.1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis)

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง คือ รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน จากบริษัท อมรชัย จำกัด นำมาทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่า องค์ประกอบหลักในรำข้าวสกัดไขมัน คือ คาร์โบไฮเดรต รองลงมา คือ โปรตีน ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 54.89 และ16.57 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ปริมาณที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกับ Prakash (1996) ที่รายงานว่ารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต และโปรตีนเท่ากับ 54.3 และ 18.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ โดยโปรตีนที่พบในรำข้าวเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพเหมาะแก่การนำไปใช้ประโยชน์ เนื่องจากเป็นโปรตีนที่ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ ไม่มีสารยับยั้งการนำไปใช้ประโยชน์ (protease inhibitor) ในมนุษย์และสัตว์ (Hammer. 1994) มีค่า PER ในปริมาณสูง อีกทั้งร่างกายสามารถย่อย (digestibility) ได้ในปริมาณสูง (Saunders. 1990)

นอกจากนี้รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันยังประกอบด้วยเยื่อใย 14.68 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีประโยชน์ในการช่วยระบบขับถ่าย และลดระดับโคเลสเตอรอลในร่างกาย (Slavin. 1992) และจากผลการวิเคราะห์พบสตาร์ชเป็นองค์ประกอบสูงถึง 13.46 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งโดยปกติจะไม่พบองค์ประกอบชนิดนี้ในรำข้าว ปริมาณสตาร์ชที่พบแสดงถึงกระบวนการขัดสีที่รุนแรงทำให้สตาร์ชส่วนนอกของเอนโดสเปิร์มเกิดการแตกหัก และหลุดปะปนออกมารวมอยู่กับรำข้าว (Wayne and James. 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)	
	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
ความชื้น	6.69 ± 0.10	7.17 ± 0.14
โปรตีน	15.46 ± 0.37	16.57 ± 0.40
ไขมัน	2.72 ± 0.04	2.91 ± 0.05
เยื่อใย	13.70 ± 0.19	14.68 ± 0.21
เถ้า	10.36 ± 0.23	11.07 ± 0.21
คาร์โบไฮเดรต	51.22 ± 0.24*	54.89 ± 0.25
- สตาร์ช	12.56 ± 1.63	13.46 ± 1.74

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

2) * คาร์โบไฮเดรต = 100 - (% ความชื้น + % โปรตีน + % ไขมัน + % เยื่อใย + % เถ้า)

ดังนั้นการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน ทำให้ทราบแนวทางในการศึกษาเพื่อนำรำข้าวมาใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้น โดยสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยการใช้เอนไซม์คาร์โบไฮเดรส (carbohydrase) ในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในรำข้าว (54.89 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง) ดังเช่น การย่อยองค์ประกอบของส่วนที่ไม่ใช่สตาร์ช (Non-starch polysaccharide) เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ซึ่งมีปริมาณ 41.43 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ด้วยเอนไซม์ไซลาเนส และการย่อยส่วนที่เป็นสตาร์ช ซึ่งมีปริมาณ 13.46 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยภายหลังจากการย่อยสลายองค์ประกอบเหล่านี้ จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการในด้านปริมาณโปรตีน และใยอาหาร และได้สารละลายน้ำตาล ซึ่งเป็นผลพลอยได้ที่มีมูลค่า และมีประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมต่อไปได้

4.1.2 การศึกษาปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคต่าง ๆ

การศึกษาปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคต่าง ๆ (ตารางที่ 4.2) พบว่ารำข้าวที่มีขนาดของอนุภาคที่ใหญ่กว่า 40 เมช (มีการกระจายตัวประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของรำข้าวทั้งหมด) มีปริมาณโปรตีนต่ำในช่วง 7.93-11.33 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) เนื่องจากมีการปลอมปนจากแกลบ และปลายข้าวหัก ส่วนรำข้าวที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 40 เมช (ที่มีการกระจายตัวประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของรำข้าวทั้งหมด) มีปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าอยู่ในช่วง 14.85-17.16 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) เนื่องจากในส่วนของชั้นเพอริคาร์ป และอัลลูโรน อุดมไปด้วยโปรตีน และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการร่อน (16.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง) พบว่ามีปริมาณโปรตีนที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อพิจารณาถึงผลการทดลองเบื้องต้น (ภาคผนวก ช) ซึ่งศึกษาถึงผลของขนาดอนุภาครำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบของรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส พบว่ารำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ทั้งสองชนิดที่มีวัตถุดิบเป็นรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 40 เมซ มีปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงที่สูงกว่าหรือใกล้เคียงกับรำข้าวโปรตีนสูงที่มีรำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการร่อนเป็นวัตถุดิบ

ตารางที่ 4.2 การกระจายตัวของอนุภาค และปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคต่าง ๆ

ขนาดของตะแกรง (เมซ)	ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร)	การกระจายตัว (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณโปรตีน เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง)
< 20	<0.45	8.19	7.93
20 – 30	0.45 – 0.40	6.62	8.53
30 – 40	0.40 – 0.25	12.40	11.33
40 – 100	0.25 – 0.112	46.67	14.85
100 – 200	0.112 – 0.05	22.07	16.82
> 200	> 0.05	2.31	17.16

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ดังนั้นจึงเลือกใช้รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันซึ่งไม่ได้ผ่านการร่อนเป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงนี้ เพื่อประหยัดเวลา และต้นทุน อีกทั้งยังได้ประโยชน์จากปลายข้าวหักที่ปลอมปนรวมอยู่ในรำข้าว โดยเป็นแหล่งของสับสเตรท (สตาร์ช) ให้กับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในการย่อยสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง คือ รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน มีความบริสุทธิ์ไม่เท่ากับสับสเตรทที่ใช้ตามปกติ คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสตาร์ชบริสุทธิ์ ซึ่งอาจจะทำให้สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ ดังนั้นจึงทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ดังเช่น อุณหภูมิ pH ความเข้มข้นของเอนไซม์ ความเข้มข้นของสับสเตรท สารกระตุ้น (catalyst) สารยับยั้งการทำงาน (inhibitor) และระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา (ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543) ซึ่งการศึกษาในขั้นตอนนี้จะทำการศึกษาหา pH อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงทั้ง 2 ชนิด คือ เอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส เพื่อทำการควบคุมให้เอนไซม์สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพในการผลิต

4.2.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300) ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

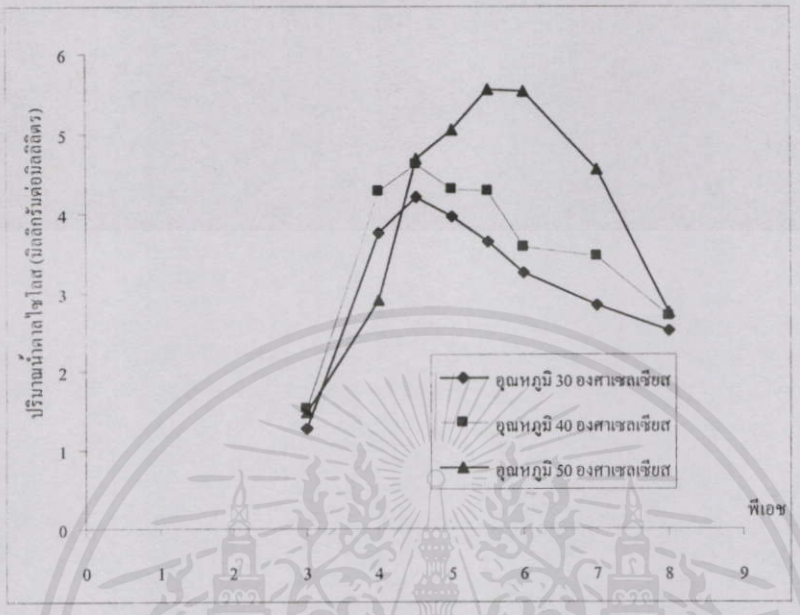
4.2.1.1 ศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

จากการศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส โดยให้เอนไซม์ทำงานที่ระดับ pH ต่าง ๆ 8 ระดับ คือ 3.0 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 7.0 และ 8.0 และบ่มที่อุณหภูมิระดับต่าง ๆ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง เมื่อกรองและนำส่วนที่เป็นของเหลวทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของน้ำตาลไซโลสได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.1

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.1 พบว่า pH และอุณหภูมิในการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสมีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลไซโลสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยสภาวะที่ pH มีความเป็นกรดสูง (3.0) และเป็นด่างสูง (8.0) เอนไซม์สามารถผลิตน้ำตาลไซโลสได้ต่ำกว่าที่ pH ในช่วง 5.0-6.0 ในทุกอุณหภูมิ ซึ่งแสดงว่าในช่วง pH ดังกล่าวเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสม ทำให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง ทั้งนี้เนื่องจาก pH มีผลต่อการแตกตัวของไอออนของกรดอะมิโนที่บริเวณเร่ง (active site) มีผลให้เกิดการเปลี่ยนโครงรูป 3 มิติ ทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) จึงจับกับสับสเตรทได้น้อยลง (ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543) และพบว่าปริมาณน้ำตาลไซโลสมีค่าเพิ่มขึ้นจากอุณหภูมิในช่วง 30-40 องศาเซลเซียส เป็น 50 องศาเซลเซียส แสดงถึงการทำงานของเอนไซม์มีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลทำให้เอนไซม์ และสับสเตรทที่เข้าทำปฏิกิริยากันมีพลังงานจลน์ที่เพิ่มขึ้น การชนกันต่อหน่วยเวลาเพิ่มขึ้น ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์สามารถทำงานได้ดีขึ้น จึงสามารถผลิตน้ำตาลไซโลสได้เพิ่มขึ้น (Segel. 1976) แต่ถ้าหากอุณหภูมิในการทำงานสูงเกินไปจะทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ และสูญเสียแอคติวิตี้ (activity) (ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543)



ภาพที่ 4.1 แสดงปริมาณน้ำตาลไซโลสจากการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ

จากกราฟ (ภาพที่ 4.1) พบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ คือ 4.5 โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสเท่ากับ 4.19 และ 4.61 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.5-6.0 โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด คือ 5.55 และ 5.52 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ อย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งจากการศึกษานั้น pH 6.0 เป็น pH เริ่มต้นของสารละลาย จึงเลือก pH 6.0 เพื่อประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายในกระบวนการ โดยสภาวะดังกล่าวที่ศึกษาได้สอดคล้องกับ Chen *et. al.* (1997) ที่รายงานว่าเอนไซม์ไซลาเนสมีความคงตัว ณ อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 3 ชั่วโมง แต่สำหรับ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิต โดยพบว่าเอนไซม์ไซลาเนสที่ผลิตจากเชื้อรามี pH ที่เหมาะสมในสภาวะที่ค่อนข้างเป็นกรด คือ ประมาณ 5.0 และเอนไซม์ที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรียมีpH ที่เหมาะสมค่อนข้างเป็นกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส คือ pH 6.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยสามารถผลิตน้ำตาลไซโลสได้เท่ากับ 5.52 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลไซโลสจากการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	pH	น้ำตาลไซโลส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
30	3.0	1.28 ± 0.08^{a}
	4.0	3.74 ± 0.14^{fg}
	4.5	4.19 ± 0.06^{hi}
	5.0	3.95 ± 0.06^{gh}
	5.5	3.62 ± 0.19^{ef}
	6.0	3.23 ± 0.22^{d}
	7.0	2.84 ± 0.04^{c}
	8.0	2.52 ± 0.01^{b}
40	3.0	1.53 ± 0.07^{a}
	4.0	4.27 ± 0.09^{i}
	4.5	4.61 ± 0.03^{k}
	5.0	4.30 ± 0.21^{ij}
	5.5	4.27 ± 0.10^{i}
	6.0	3.57 ± 0.00^{ef}
	7.0	3.45 ± 0.06^{de}
	8.0	2.70 ± 0.04^{bc}
50	3.0	1.49 ± 0.02^{a}
	4.0	2.90 ± 0.01^{c}
	4.5	4.67 ± 0.04^{k}
	5.0	5.04 ± 0.34^{l}
	5.5	5.55 ± 0.12^{m}
	6.0	5.52 ± 0.10^{m}
	7.0	4.54 ± 0.02^{jk}
	8.0	2.74 ± 0.01^{bc}

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษ supercript ที่เหมือนกันในแนวตั้งอย่างน้อยหนึ่งตัวอักษร หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.2 ศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เตรียมโดยนำเอารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน 2 กิโลกรัมมาผสมกับน้ำ 20 ลิตร ในหม้อต้มด้วยไอน้ำที่มีการกวนผสมตลอดเวลา ทำการควบคุมสภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการทำงานของเอนไซม์จากการศึกษาในข้อ 4.2.1.1 คือ ที่ pH 6.0 ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ กัน คือ 0.5 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) และบ่มที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน คือ 30 60 และ 120 นาที จากนั้นนำมากรองนำส่วนของแข็งและของเหลวที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.4

จากการศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ พบว่าปัจจัยที่มีความสำคัญในการย่อย คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์มีผลต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังตารางที่ 4.4 โดยพบว่ารำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตจากเอนไซม์ไซลาเนสมีปริมาณความชื้นในช่วง 5-6 เปอร์เซ็นต์ และได้ปริมาณผลผลิตประมาณ 76-79 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 19.85-21.88 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) โดยรำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตจากเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการย่อย 30 นาที ให้ปริมาณโปรตีนต่ำที่สุด (19.85 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง) และพบว่าหากเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ ทำให้ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังเช่นที่เวลาในการย่อย 30 นาที เมื่อแปรความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับ 0.5 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณโปรตีนที่สูงขึ้น คือ 19.85 21.38 และ 21.88 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และเมื่อพิจารณาถึงเวลาพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยทำให้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้น ดังเช่นที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ที่ระดับเวลาในการย่อย คือ 30 60 และ 120 นาที ให้ปริมาณเท่ากับ 21.38 21.22 และ 21.45 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และ ที่ความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับเวลาในการย่อย คือ 30 60 และ 120 นาที ให้ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 21.88 21.18 และ 21.48 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) แต่ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ทั้งนี้ปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส โดย Wang *et. al.* (1999) อธิบายว่าเอนไซม์ไซลาเนสจะเข้าไปทำการย่อยสลายส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลสในผนังเซลของรำข้าว ซึ่งมีไซแลน (D-xylan หรือ D-xylopyranose) ที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลไซโลสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1,4 เป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในภาพที่ 4.2 (4.2.1 และ 4.2.2) ซึ่งเป็นภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน (scanning electron microscope ; SEM) กำลังขยาย 1000 เท่า เห็นได้ว่าโครงสร้างของส่วนที่เป็นผนังเซลของรำข้าว

ถูกย่อยสลายไป (ภาพที่ 4.2.2) เปรียบเทียบกับภาพโครงสร้างของรำข้าวก่อนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไซลาเนส (ภาพที่ 4.2.1) ซึ่งยังคงเห็นโครงสร้างของส่วนที่เป็นผนังเซลที่มีลักษณะคล้ายตาข่ายอยู่ โดยเอนไซม์ทำการย่อยสลายที่พันธะเบต้า-1,4-ไซโลซิดิก (β-1,4-xylosidic) ระหว่างโมเลกุลของไซแลน ได้ผลผลิตเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharide) สายสั้น ๆ และน้ำตาลไซโลส ซึ่งภายหลังจากการย่อยสลายของไซแลน จะช่วยให้โปรตีนถูกปลดปล่อยออกจาก polysaccharide matrix และทำให้โปรตีนในรำข้าวที่ผ่านการย่อยสลายมีสัดส่วนเพิ่มสูงขึ้น และจากภาพที่ 4.2.2 เห็นได้ว่าภายหลังจากการย่อยเฮมิเซลลูโลสในโครงสร้างยังคงมีสตาร์ชหลงเหลืออยู่เช่นเดิม ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ไซลาเนสไม่ได้มีหน้าที่ในการย่อยสลายส่วนที่เป็นสตาร์ช

4.2.1

4.2.2

ภาพที่ 4.2 โครงสร้างของรำข้าว (ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน Scanning Electron Microscope; SEM)

(4.2.1) โครงสร้างของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน (X 1000 เท่า)

(4.2.2) โครงสร้างของรำข้าวภายหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนส (X 1000 เท่า)

ทั้งนี้เมื่อพิจารณาถึงปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลว พบว่าปัจจัยทั้งสองไม่ได้มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.09-1.26 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็น 7-8 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด ปริมาณที่พบแสดงให้เห็นว่าโปรตีนบางส่วนเกิดการสูญหายไปในระหว่างกระบวนการผลิต นั้นคือ โปรตีนชนิดอัลบูมิน (albumin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำ ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงไม่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนปริมาณเยื่อใย พบอยู่ในช่วง 14.43-15.63 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์มีผลต่อปริมาณเยื่อใยในรำข้าวโปรตีนสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยหากเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ทำให้ปริมาณเยื่อใยในรำข้าวโปรตีนสูงมีแนวโน้มสูงขึ้น ดังเช่นที่เวลาในการย่อย 30 นาที เมื่อแปรความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับ 0.5 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ จะให้ปริมาณเยื่อใยที่สูงขึ้น คือ 14.43 15.47 และ 15.37 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ เช่นเดียวกับปริมาณโปรตีน ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้เอนไซม์สามารถจับกับสับสเตรท (ไซแลน) ได้มากพอ ทำให้การย่อยสลายของไซแลนในส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลสมีมากขึ้น และทำให้ปริมาณเยื่อใย ซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลสและลิกนินที่ไม่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไซลาเนสมีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณเยื่อใยมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังเช่น ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการย่อย 30 60 และ 120 นาที ให้ปริมาณเยื่อใยเท่ากับ 14.43 14.47 และ 14.84 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ

ในส่วนของสารละลายน้ำตาลไซโลส พบว่าความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์มีผลต่อปริมาณน้ำตาลน้ำตาลไซโลสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่มีค่าอยู่ระหว่าง 1.79-3.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าหากเพิ่มความเข้มข้น และ/หรือ ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ ทำให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน ทั้งนี้ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นเกิดจากเอนไซม์ไซลาเนสทำการย่อยสลายพันธะเบต้า-1,4-ไซโลซิดิคระหว่างโมเลกุลของไซแลนได้เป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆและน้ำตาลไซโลส ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้น และเวลาในการย่อยของเอนไซม์จึงทำให้เกิดการย่อยสลายพันธะได้เพิ่มมากขึ้น

ดังนั้นจึงเลือกสภาวะในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนสที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) เวลาในการย่อย 60 นาที โดยพิจารณาจากปริมาณโปรตีนเป็นหลัก และคำนึงถึงการประหยัดพลังงาน และเวลาในกระบวนการผลิต รวมทั้งต้นทุนในเรื่องของวัตถุดิบ (ปริมาณเอนไซม์) โดยได้ผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงที่มีปริมาณโปรตีน และเยื่อใยเท่ากับ 21.41 และ 14.47 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ อีกทั้งยังได้สารละลายน้ำตาลที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสในปริมาณเท่ากับ 2.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวสกัดไขมัน)	เวลาในการย่อย (นาที)	องค์ประกอบของส่วนที่เป็นของแข็ง (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				องค์ประกอบของส่วนที่เป็นของเหลว (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
		โปรตีน	เยื่อใย	ความชื้น	ผลผลิต	น้ำตาลไซโลส	โปรตีน
0.5	30	19.85 ± 0.82^{a}	14.43 ± 0.12^{a}	5.64 ± 0.20^{ab}	80.81 ± 3.69^{a}	1.79 ± 0.01^{a}	1.09 ± 0.03^{a}
	60	21.41 ± 0.23^{b}	14.47 ± 0.29^{a}	5.89 ± 0.10^{b}	81.14 ± 2.13^{a}	2.28 ± 0.01^{a}	1.18 ± 0.02^{ab}
	120	21.13 ± 0.21^{b}	14.84 ± 0.16^{ab}	5.92 ± 0.01^{b}	79.49 ± 3.14^{a}	3.37 ± 0.08^{c}	1.20 ± 0.03^{ab}
1.0	30	21.38 ± 0.11^{b}	15.47 ± 0.06^{c}	5.29 ± 0.20^{a}	83.94 ± 3.14^{a}	2.01 ± 0.02^{a}	1.11 ± 0.03^{a}
	60	21.22 ± 0.26^{b}	15.52 ± 0.26^{c}	5.39 ± 0.28^{a}	81.58 ± 3.94^{a}	2.84 ± 0.34^{bc}	1.13 ± 0.01^{ab}
	120	21.45 ± 0.08^{b}	15.23 ± 0.46^{bc}	5.86 ± 0.13^{b}	82.73 ± 2.87^{a}	3.29 ± 0.41^{c}	1.14 ± 0.08^{ab}
3.0	30	21.88 ± 0.01^{b}	15.37 ± 0.18^{bc}	5.34 ± 0.06^{a}	78.67 ± 3.51^{a}	3.02 ± 0.17^{c}	1.13 ± 0.01^{ab}
	60	21.18 ± 0.02^{b}	15.71 ± 0.27^{c}	5.40 ± 0.21^{a}	79.19 ± 1.91^{a}	2.76 ± 0.42^{bc}	1.26 ± 0.05^{b}
	120	21.48 ± 0.11^{b}	15.63 ± 0.27^{c}	5.61 ± 0.08^{ab}	80.41 ± 3.32^{a}	3.21 ± 0.40^{c}	1.17 ± 0.11^{ab}

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษ supercript ที่เหมือนกันในแนวตั้งอย่างน้อยหนึ่งตัวอักษร หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.5 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ และองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนส

	ความเข้มข้นของเอนไซม์	เวลาในการย่อยของเอนไซม์	โปรตีนในส่วนของแข็ง	เยื่อใย	น้ำตาลไซโลส	โปรตีนในส่วนของเหลว
ความเข้มข้น	1.000					
เวลาในการย่อย	0.000	1.000				
โปรตีนในส่วนของแข็ง	0.618 **	0.219	1.000			
เยื่อใย	0.818 **	0.120	0.588 *	1.000		
น้ำตาลไซโลส	0.366	0.721**	0.516 *	0.359	1.000	
โปรตีนในส่วนของเหลว	0.193	0.397	0.401	0.365	0.318	1.000

หมายเหตุ ** ปัจจัยมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

* ปัจจัยมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อนำมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ และองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูง โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่อองค์ประกอบต่าง ๆในรำข้าวโปรตีนสูง ดังแสดงในตารางที่ 4.5

จากตารางที่ 4.5 พบว่าปัจจัยในกระบวนการผลิต คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ เวลาในการย่อยของเอนไซม์มีผลดังนี้ คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณโปรตีน และเยื่อใยในรำข้าวโปรตีนสูงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.618 และ 0.818 ตามลำดับ แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลไซโลส และโปรตีนในส่วนของเหลว สำหรับเวลาในการย่อยของเอนไซม์ พบว่ามีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณน้ำตาลไซโลส โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.721 แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน และเยื่อใยในรำข้าวโปรตีนสูง และปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลว และพบว่าปริมาณโปรตีนในส่วนรำข้าวโปรตีนสูงมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณเยื่อใย และน้ำตาลไซโลส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.588 และ 0.516 แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับโปรตีนในส่วนของเหลว

เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุ (multiple regression analysis) เพื่อหาสมการพยากรณ์ของปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงกับความเข้มข้น และเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส ดังนี้คือ

$$Z = 19.297 + 2.04186\,(X) + 0.0107973\,(Y) - 0.00533844\,(XY) - 0.374333\,(X^2)$$

$$R^2 = 0.417$$

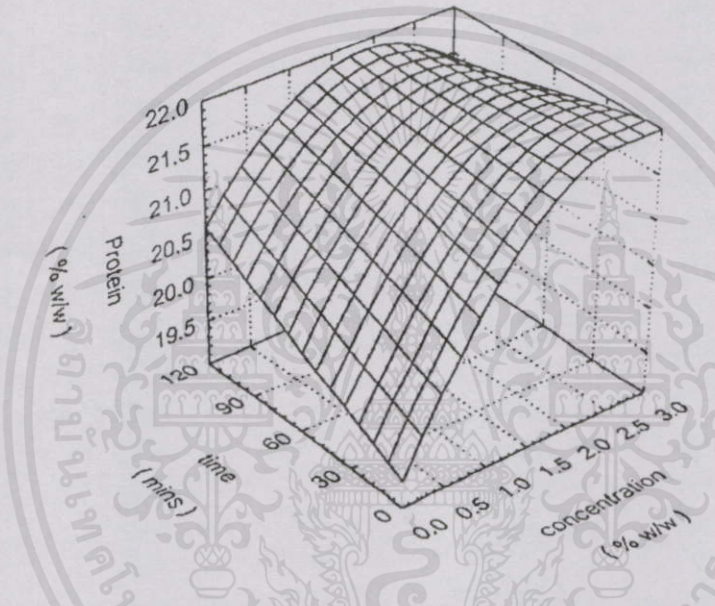
เมื่อ Z = ปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน)

Y = ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส (นาที)

จากสมการสามารถนำเสนอผลในรูปของความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ (3 D surface plot) ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เมื่อทำการย่อยที่ค่า pH 6.0 ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันกับน้ำ คือ 1 :10 แสดงดังภาพที่ 4.3

และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของตัวแปรที่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงที่ได้ พบว่าเทอมที่มีความสำคัญมากที่สุด คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ยกกำลังหนึ่ง และความเข้มข้นของเอนไซม์ยกกำลังสองเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญรองลงมา นอกจากนี้พบว่าเวลาในการย่อยของเอนไซม์ และเทอมความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ และเวลาในการย่อยของเอนไซม์เป็นตัวแปรที่มีความสำคัญต่อปริมาณโปรตีนอันเกิดจากความสัมพันธ์ของตัวแปรทั้งสอง โดยสมการดังกล่าวมีค่า R^2 เพียง 0.417 ซึ่งแสดงว่าปัจจัยในกระบวนการผลิตสามารถควบคุมได้เพียง 41.7 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.3 แสดงความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นและระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120 L type LS) ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

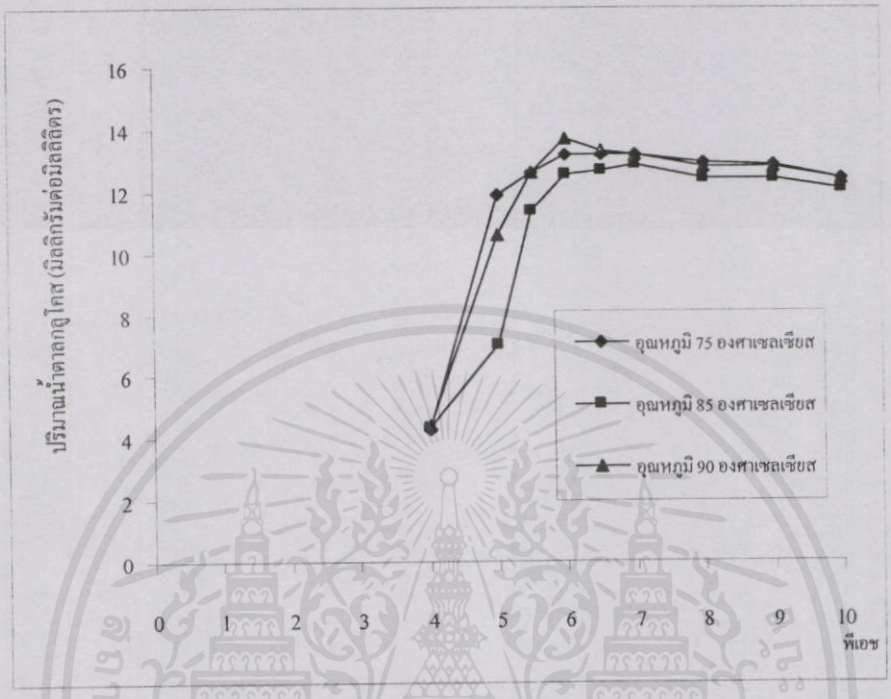
4.2.2.1 ศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

จากการศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสโดยให้เอนไซม์ทำงานที่ pH ระดับต่าง ๆ กัน คือ 4.0 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 และบ่มที่อุณหภูมิระดับต่าง ๆ กัน คือ 75 85 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง เมื่อกรองและนำส่วนที่เป็นของเหลวมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของน้ำตาลกลูโคสได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.4

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.4 พบว่า pH และอุณหภูมิในการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสมีผลต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ มีแนวโน้มในการผลิตน้ำตาลกลูโคสที่ใกล้เคียงกัน โดยที่ pH 4.0 ในทุกระดับอุณหภูมิ เอนไซม์สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ในปริมาณต่ำ คือ 4.28-4.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงถึงสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ แต่เมื่อ pH เพิ่มขึ้นจาก 4.0 เป็น 5.5 เอนไซม์จะทำงานได้ดีขึ้น และค่อนข้างคงที่ในช่วง pH 5.5-10.0 ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เติมลงไปทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ (cofactor) ให้กับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ทำให้เอนไซม์มีความคงตัวต่อ pH ที่กว้างขึ้น และช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ให้ดีขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง . 2543) ทั้งนี้ความสามารถในการผลิตน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น หรือลดลงนั้นมีเหตุผลดังที่กล่าวมาแล้วในข้อ 4.2.1.1

โดยพบว่าที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้สูงสุด คือ 13.66 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสภาวะดังกล่าวนี้สอดคล้องกับรายงานของ Reilly (1985) ที่รายงานว่าสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสทางการค้า คือ เทอร์มามิล (Termamyl) มีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงาน คือ ที่ pH ในช่วง 5.5-6.5 และอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 90-95 องศาเซลเซียส และพบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตได้จากการทำงานของเอนไซม์ในช่วง pH 5.5-10 ที่ทุกระดับอุณหภูมินั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 11.35-13.66 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่ทำการศึกษา (75 85 และ 90 องศาเซลเซียส) เป็นอุณหภูมิในช่วงเจลาติไนเซชั่น (gelatinization temperature) ของแป้งข้าวเจ้า คือ อุณหภูมิในช่วง 68-78 องศาเซลเซียส (กล้าณรงค์ ศรีรอต. 2542) โดยอุณหภูมิในช่วงดังกล่าวนี้จะทำลายพันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช (starch granule) ทำให้สตาร์ชเกิดการดูดซึมน้ำ (absorption) และพองตัว (swelling) ขึ้นอย่างรวดเร็ว โดย Shih and Daigle (1997) อธิบายว่าเมื่อสตาร์ชเกิด

การดูดซึมน้ำ และพองตัวขึ้นในช่วงเจลาติไนเซชั่น ทำให้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเข้าไปย่อยโมเลกุลของสตาร์ชภายในโครงสร้างได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ทำให้ได้ปริมาณผลผลิต คือ น้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ดังนั้นจากผลการทดลองจึงเลือกสภาวะที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส เนื่องจากเป็น pH และอุณหภูมิที่ช่วยในการประหยัดพลังงาน และค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิต ดังเหตุผลที่ได้กล่าวมาแล้วในข้อ 4.2.1.1 โดยให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 13.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	pH	น้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
75	4.0	4.28 ± 0.03^{a}
	5.0	11.83 ± 0.06^{cde}
	5.5	12.57 ± 0.50^{de}
	6.0	13.16 ± 0.21^{de}
	6.5	13.17 ± 0.06^{de}
	7.0	13.18 ± 0.11^{de}
	8.0	12.89 ± 0.01^{de}
	9.0	12.81 ± 0.04^{de}
	10.0	12.35 ± 0.17^{cde}
85	4.0	4.33 ± 0.10^{a}
	5.0	7.00 ± 3.95^{b}
	5.5	11.35 ± 0.18^{cd}
	6.0	12.47 ± 0.11^{de}
	6.5	12.65 ± 0.06^{de}
	7.0	12.80 ± 0.16^{de}
	8.0	12.37 ± 0.44^{cde}
	9.0	12.38 ± 0.04^{cde}
	10.0	12.07 ± 0.06^{cde}
90	4.0	4.39 ± 0.15^{a}
	5.0	10.54 ± 0.42^{c}
	5.5	12.55 ± 0.25^{de}
	6.0	13.66 ± 0.01^{e}
	6.5	13.26 ± 0.01^{de}
	7.0	13.14 ± 0.01^{de}
	8.0	12.76 ± 0.07^{de}
	9.0	12.76 ± 0.09^{de}
	10.0	12.36 ± 0.21^{cde}

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษ supercript ที่เหมือนกันในแนวตั้งอย่างน้อยหนึ่งตัวอักษร หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น การอ้างอิงหรือสำเนาส่วนหนึ่งส่วนใดของเอกสารนี้เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

4.2.2.2 ศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เตรียมโดยนำเอารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน 2 กิโลกรัม มาผสมกับน้ำ 20 ลิตร ในหม้อต้มด้วยไอน้ำที่มีการกวนผสมตลอดเวลา ทำการควบคุมสภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการทำงานของเอนไซม์จากการศึกษาในข้อ 4.2.2.1 คือ ที่ pH 6.0 ณ อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ กัน คือ 0.01 0.1 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) และบ่มที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน คือ 30 60 และ 90 นาที จากนั้นนำมากรอง นำส่วนของแข็ง และของเหลวที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงมาวิเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

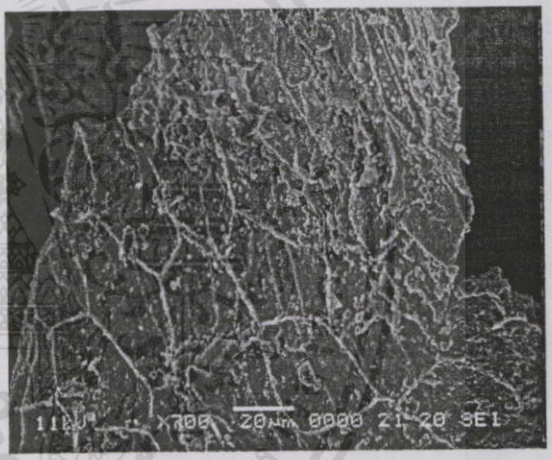
จากการศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส พบว่า ปัจจัยที่มีความสำคัญในการย่อย คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์อะไมเลสมีผลต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยสามารถผลิตรำข้าวโปรตีนสูงที่มีปริมาณความชื้นในช่วง 7-11 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณผลผลิตประมาณ 75-79 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 20.50-23.80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) โดยรำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตจากเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการย่อย 30 นาที มีค่าปริมาณโปรตีนที่ต่ำสุด (20.50 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง) และพบว่าหากเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะทำให้ปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงมีแนวโน้มสูงขึ้น ดังเช่นที่เวลาในการย่อย 30 นาที เมื่อแปรความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับ 0.01 0.1 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงที่สูงขึ้น คือ 20.50 22.25 และ 23.26 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และเมื่อพิจารณาถึงเวลา พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยทำให้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้น แต่ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังเช่นที่ระดับความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับเวลาในการย่อย คือ 30 60 และ 90 นาที ให้ปริมาณเท่ากับ 23.26 23.38 และ 23.80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับผลงานวิจัยของ Shih *et. al.* (1999) ที่รายงานว่าปริมาณโปรตีนของรำข้าวภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120 L) ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าว) ณ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 45 นาที ได้รำข้าวโปรตีนสูงที่มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 24.8 เปอร์เซ็นต์

ทั้งนี้ปริมาณโปรตีนในรำข้าวที่สูงขึ้นเกิดจากการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายพันธะแอลฟา-1,4-กูลโคซิดิค (α-1,4-glycosidic) ของสตาร์ชในลักษณะตัดภายในพอลิเมอร์อย่างอิสระในรำข้าว ดังภาพที่ 4.5 (4.5.1 และ 4.5.2) เห็นได้ว่าส่วนของสตาร์ชถูกย่อยสลายไปบางส่วน (ภาพที่ 4.5.2) เมื่อเปรียบเทียบกับภาพโครงสร้างของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รำข้าวก่อนการย่อยสลาย (ภาพที่ 4.5.1) ที่มีปริมาณสตาร์ชอยู่มากในโครงสร้าง โดยความสามารถในการย่อยสตาร์ชของเอนไซม์ แสดงออกมาในรูปของปริมาณสตาร์ชที่ลดลง และได้ปริมาณผลผลิต คือ น้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้น ซึ่งภายหลังจากการย่อยสลายของสตาร์ช ทำให้โปรตีนในรำข้าวที่ผ่านการย่อยสลายมีสัดส่วนที่สูงขึ้น โดย Shih and Daigle (1997) อธิบายเพิ่มเติมว่าการให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิเจลาติไนเซชั่น (68-78 องศาเซลเซียส) แก่เอนไซม์ในการทำงานดังเช่นในการศึกษานี้ (75 85 และ 90 องศาเซลเซียส) เป็นการทำลายพันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช (starch granule) ทำให้โครงสร้างของสตาร์ชเกิดการพองตัวอย่างสมบูรณ์ ทำให้เอนไซม์เข้าไปทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น และทำให้กลุ่มของโปรตีนที่อยู่ร่วมกับสตาร์ชสามารถแยกออกมาได้ง่ายขึ้น ทั้งนี้จากภาพที่ 4.5.2 สังเกตเห็นได้ว่าภายในโครงสร้างของรำข้าวยังคงมีส่วนที่เป็นเม็ดสตาร์ชหลงเหลืออยู่เล็กน้อย เนื่องจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสไม่สามารถเข้าไปทำการย่อยสลายพันธะแอลฟา-1,6-กูลโคซิดิคของสตาร์ชได้

4.5.1



4.5.2

ภาพที่ 4.5 โครงสร้างของรำข้าว (ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน Scanning Electron Microscope ; SEM)

(4.5.1) โครงสร้างของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน (X 1000 เท่า)

(4.5.2) โครงสร้างของรำข้าวภายหลังการการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (X 700 เท่า)

ทั้งนี้เมื่อทำการพิจารณาถึงโปรตีนในส่วนของเหลว พบว่าทั้งความเข้มข้น และเวลาในการย่อยของเอนไซม์มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนในส่วนที่เป็นของเหลวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำให้โปรตีนในส่วนของเหลวเพิ่มมากขึ้น โดยเมื่อความเข้มข้น และ/หรือเวลาในการย่อย

เพิ่มขึ้น โดยโปรตีนที่ละลายอยู่ในส่วนของเหลวมีค่าเท่ากับ 1.39-1.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็น 8-10 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด แสดงว่ามีปริมาณโปรตีนบางส่วนสูญหายไปในระหว่างกระบวนการ เนื่องจากรำข้าวประกอบด้วยโปรตีนชนิดอัลบูมินที่สามารถละลายน้ำได้ อีกทั้งการใช้ความร้อนสูงในกระบวนการผลิตอาจส่งผลให้โปรตีนในรำข้าวเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) ทำให้ปริมาณโปรตีนในส่วนที่เป็นของเหลวมีค่าสูงกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไซลาเนส และมีผลให้ปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงไม่เพิ่มขึ้น

สำหรับปริมาณสตาร์ช และน้ำตาลกลูโคสในรำข้าวโปรตีนสูง พบว่าความเข้มข้นและระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์มีผลต่อปริมาณสตาร์ช และน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในช่วง 4.20-11.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าปริมาณสตาร์ชจะถูกย่อยหมดไปที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ที่เวลา 90 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุด (11.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จากการศึกษาพบว่าหากเพิ่มความเข้มข้น และ/หรือ ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสมีแนวโน้มสูงขึ้น ในขณะที่ปริมาณสตาร์ชลดต่ำลง ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่เข้าทำปฏิกิริยากับสับสเตรท (สตาร์ช) มีมากขึ้น ทำให้เอนไซม์สามารถทำการย่อยพันธะแอลฟา-1,4-กลูโคซิดิคของสายโมเลกุลสตาร์ชได้เพิ่มขึ้น ปริมาณสตาร์ชจึงลดลง และได้โพลิแซคคาไรด์ที่มีขนาดเล็กลงมากขึ้น รวมทั้งปลายของพอลิแซคคาไรด์ซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ก็มีมากขึ้น ส่วนระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น และปริมาณสตาร์ชลดลง เช่นเดียวกับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น โดย Banks and Greenwood (1968) อธิบายว่าการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเป็นแบบ multiple attack คือ เอนไซม์สามารถเข้าจับกับสารตั้งต้นได้หลายครั้ง ภายหลังจากการย่อยเอนไซม์จะแยกออกจากผลิตภัณฑ์ที่ย่อยได้ และเข้าทำปฏิกิริยาใหม่กับโมเลกุลของสตาร์ชตัวต่อไป ทำให้โมเลกุลของสตาร์ชถูกย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการเพิ่มความเข้มข้น และเวลาในการย่อยทำให้การย่อยสลายพันธะของสตาร์ชมีมากขึ้น

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส คือ ที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 90 นาที โดยจะให้ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 23.80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และน้ำตาลกลูโคส คือ 11.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณสตาร์ชหลงเหลืออยู่เล็กน้อยหรือไม่มีเลย ทั้งนี้พบว่าการใช้แอลฟา-อะไมเลสในการย่อยสลายสตาร์ชในรำข้าว จะให้ปริมาณโปรตีน และน้ำตาลที่สูงกว่าการใช้เอนไซม์ไซลาเนส (21.41 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง และ 2.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในการย่อยสลายไซแลน เนื่องจากองค์ประกอบของสตาร์ช (13.46 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) มีค่าสูงกว่าเฮมิเซลลูโลสที่มีเพียง 9.6 เปอร์เซ็นต์ (Juliano. 1972) โดยผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตได้มีลักษณะสีอ่อน และไม่มีรสชาติ ที่เหมาะสมในการใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการสามารถเป็นแหล่งของโปรตีน และใยอาหารได้

ตารางที่ 4.7 ผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวสกัดไขมัน)	เวลาในการย่อย (นาที)	องค์ประกอบของส่วนที่เป็นของแข็ง (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)			องค์ประกอบของส่วนที่เป็นของเหลว (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
		โปรตีน	สตาร์ช	ความชื้น	ผลผลิต	น้ำตาลกลูโคส	โปรตีน
0.01	30	20.50 ± 0.89^{a}	7.64 ± 1.29^{e}	7.31 ± 0.40^{a}	77.18 ± 2.16^{a}	4.20 ± 0.41^{a}	1.39 ± 0.06^{a}
	60	20.94 ± 1.69^{a}	4.59 ± 0.44^{d}	7.74 ± 0.30^{a}	78.41 ± 3.05^{a}	5.41 ± 0.04^{b}	1.37 ± 0.10^{a}
	90	21.09 ± 0.15^{a}	3.66 ± 0.00^{cd}	7.74 ± 0.40^{a}	76.95 ± 3.08^{a}	5.80 ± 0.38^{b}	1.52 ± 0.06^{a}
0.1	30	22.25 ± 0.89^{abc}	3.65 ± 0.01^{cd}	7.47 ± 0.40^{a}	76.58 ± 3.07^{a}	7.33 ± 0.71^{c}	1.37 ± 0.07^{a}
	60	21.64 ± 0.23^{ab}	2.45 ± 0.01^{bc}	7.50 ± 0.35^{a}	77.14 ± 2.98^{a}	8.90 ± 0.12^{d}	1.47 ± 0.22^{a}
	90	23.26 ± 0.56^{bc}	1.22 ± 0.01^{ab}	7.44 ± 0.27^{a}	76.48 ± 3.07^{a}	9.79 ± 0.03^{c}	1.62 ± 0.14^{a}
1.0	30	23.26 ± 0.78^{bc}	3.06 ± 0.87^{cd}	9.95 ± 0.04^{b}	75.62 ± 2.18^{a}	7.95 ± 0.04^{c}	1.46 ± 0.05^{a}
	60	23.38 ± 0.47^{bc}	1.21 ± 0.00^{ab}	9.95 ± 0.00^{b}	76.69 ± 2.73^{a}	9.66 ± 0.52^{dc}	1.49 ± 0.03^{a}
	90	23.80 ± 0.07^{c}	0.00 ± 0.00^{a}	10.22 ± 0.18^{b}	75.76 ± 2.91^{a}	11.45 ± 0.38^{f}	1.41 ± 0.15^{a}

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

2) ตัวอักษรภาษาอังกฤษ supercript ที่เหมือนกันในแนวตั้งอย่างน้อยหนึ่งตัวอักษร หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.8 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ และองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

	ความเข้มข้นของเอนไซม์	เวลาในการย่อยของเอนไซม์	โปรตีนในส่วนของแข็ง	สตาร์ช	น้ำตาลกลูโคส	โปรตีนในส่วนของเหลว
ความเข้มข้น	1.000					
เวลาในการย่อย	0.000	1.000				
โปรตีนในส่วนของแข็ง	0.833 **	0.244	1.000			
สตาร์ช	- 0.733 **	- 0.597 **	- 0.780 **	1.000		
น้ำตาลกลูโคส	0.826 **	0.458	0.816 **	- 0.936 **	1.000	
โปรตีนในส่วนของเหลว	0.098	0.402	0.188	- 0.318	0.257	1.000

หมายเหตุ ** ปัจจัยมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

* ปัจจัยมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อนำมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ และองค์ประกอบต่าง ๆ ของรำข้าวโปรตีนสูง โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่อองค์ประกอบต่าง ๆ ในรำข้าวโปรตีนสูง ดังแสดงในตารางที่ 4.8

จากตารางที่ 4.8 พบว่าปัจจัยในกระบวนการผลิต คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ เวลาในการย่อยของเอนไซม์มีผลดังนี้ คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง และน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.833 และ 0.826 ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับปริมาณสตาร์ช โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ –0.733 แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลว สำหรับเวลาในการย่อยของเอนไซม์ พบว่ามีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับปริมาณสตาร์ช โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ –0.597 แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน น้ำตาลกลูโคส และปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลว

และพบว่าปริมาณโปรตีนในส่วนที่เป็นของแข็งของรำข้าวโปรตีนสูงมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.816 และมีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับสตาร์ชอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ –0.780 แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับโปรตีนในส่วนของเหลว

เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุ (multiple regression analysis) เพื่อหาสมการพยากรณ์ของปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง ได้สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีน กับความเข้มข้น และเวลาในการย่อยของเอนไซม์ของแอลฟา-อะไมเลส ดังนี้คือ

$$Z = 21.1928 + 18.8965 (X) - 0.0381667 (Y) - 16.0494(X^2) + 0.000416667 (Y^2)$$

$$R^2 = 0.698$$

เมื่อ Z = ปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)

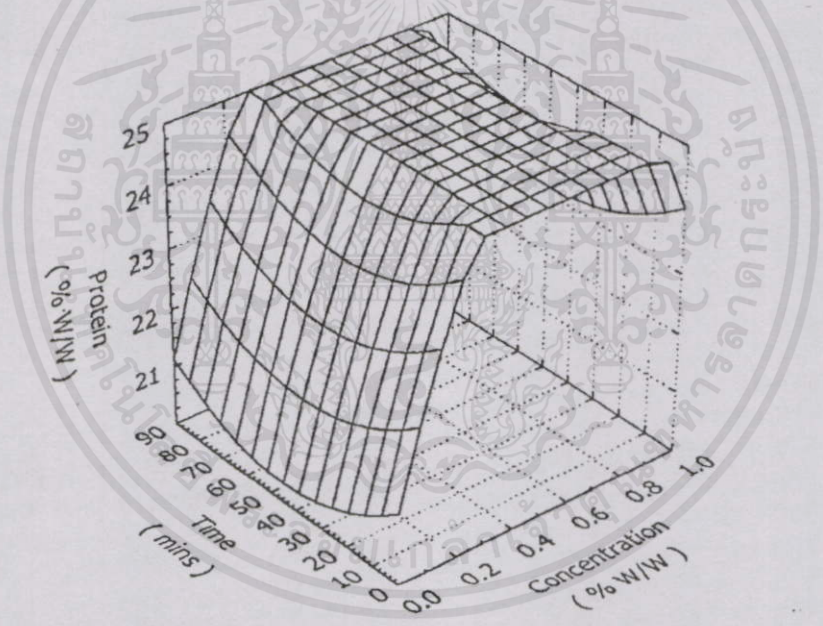
X = ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน)

Y = ระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการสามารถนำเสนอผลในรูปของความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ (3 D surface plot) ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เมื่อทำการย่อยที่ค่า pH 6.0 ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 75 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันกับน้ำ คือ 1 : 10 แสดงดังภาพที่ 4.6

และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของตัวแปรที่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงที่ได้ พบว่าเทอมที่มีความสำคัญมากที่สุด คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ยกกำลังหนึ่ง และความเข้มข้นของเอนไซม์ยกกำลังสองเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญรองลงมา นอกจากนี้พบว่าเวลาในการย่อยทั้งในรูปยกกำลังหนึ่ง และสองเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญเช่นเดียวกัน โดยสมการดังกล่าวมีค่า R^2 เท่ากับ 0.698 ซึ่งแสดงว่าปัจจัยในกระบวนการผลิตสามารถควบคุมได้ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ และสามารถนำมาใช้ในการทำนายผลได้



ภาพที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อปริมาณโปรตีนของรำข้าวโปรตีนสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนในรำข้าวโปรตีนสูงจากกระบวนการผลิต

การศึกษาถึงองค์ประกอบของกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงที่คัดเลือกแล้วจากกระบวนการผลิตโดยการใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิด คือ เอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส คือ รำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนสที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) เวลาในการย่อย 60 นาที ที่มีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 21.41 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) เวลาในการย่อย 90 นาที ที่มีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 23.80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ด้วยเครื่อง HPLC โดยห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน (วัตถุดิบ) เคซีน (casein) และโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (soy protein isolate) แสดงผลดังตารางที่ 4.9 ทั้งนี้เนื่องจากเคซีน และโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองเป็นแหล่งของโปรตีนที่สำคัญ ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับทารกในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการในการเจริญเติบโต (Wang *et. al.* 1999)

จากตาราง 4.9 พบว่าปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีปริมาณใกล้เคียงกับกรดอะมิโนทุกชนิดในรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน ซึ่งกรดอะมิโนที่มีปริมาณมากที่สุด คือ กรดกลูทามิก รองลงมา คือ กรดแอสพาร์ทิก สำหรับกรดอะมิโนไลซีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายที่มีไม่เพียงพอเป็นอันดับแรกนั้น พบว่ารำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลสมีปริมาณเท่ากับ 5.62 และ 5.34 กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีนตามลำดับ ใกล้เคียงกับกับรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่ใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการ และโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองที่มีปริมาณเท่ากับ 5.71 และ 5.2 กรัมต่อ100 กรัมโปรตีน ตามลำดับ แต่มีปริมาณที่ต่ำกว่าเคซีน และพบว่ามีปริมาณกรดแอสพาร์ทิก เซอรีน ไกลซีน ฮีสทิดีน อาร์จีนีน ทรีโอนีน อะลานีน ซีสทีน วาลีน ลิวซีน และเฟนีลอะลานีน ในปริมาณที่สูงกว่าหรือใกล้เคียงกับเคซีน และมีปริมาณกรดแอสพาร์ทิก เซอรีน กลูทามิก ไกลซีน ฮีสทิดีน อาร์จีนีน ทรีโอนีน อะลานีน วาลีน เมธทิโอนีน ไลซีน ลิวซีน และเฟนีลอะลานีน ในปริมาณที่สูงกว่า หรือใกล้เคียงกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง

และเมื่อนำผลการวิเคราะห์มาเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับทารก และเด็กในวัย 2-5 ปี ซึ่งมีความต้องการกรดอะมิโนในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตาราง 4.10 พบว่าองค์ประกอบของกรดอะมิโนในรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน และรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีปริมาณอีสทีดีนสูง (3.09-3.74 กรัมต่อ100 กรัมโปรตีน) และมีเฟนีลอะลานีน ไทโรซีน ทรีโอนีน และวาลีนในปริมาณที่มากกว่า หรือใกล้เคียงกับความต้องการกรดอะมิโนสำหรับทารก แต่มีปริมาณไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมธทิโอนีน ซีสทีน และวาลีนที่ต่ำกว่าความต้องการกรด

อะมิโนสำหรับทารก และพบว่ารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน รวมทั้งรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ทั้งสองชนิดประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กในวัย 2-5 ปี ทุกชนิดในปริมาณที่ร่างกายต้องการ เช่นเดียวกับ เคซีน และโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง

ตารางที่ 4.9 ชนิด และปริมาณของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส เปรียบเทียบกับเคซีน โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง และ รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน (กรัมต่อ100 กรัมโปรตีน)

ชนิดของกรดอะมิโน	เคซีน[1]	โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง[1]	รำข้าวสกัดไขมัน	รำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ไซลาเนส[2]	รำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส[3]
กรดแอสพาร์ติก	6.3	9.9	9.73	9.56	9.21
เซอรีน	4.6	4.2	5.89	6.04	6.05
กรดกลูทามิก	19.0	17.0	16.37	16.09	15.54
ไกลซีน	1.6	3.4	6.27	6.25	6.26
ฮีสทิดีน	2.7	2.3	3.74	3.09	3.09
อาร์จีนีน	3.3	6.6	7.95	8.15	8.44
ทรีโอนีน	3.7	3.0	4.77	4.71	4.78
อะลานีน	2.7	3.4	7.48	7.52	7.38
โพรลีน	-	-	5.33	5.48	5.56
ซีสทีน	0.04	4.5	0.84	0.84	0.84
ไทโรซีน	5.5	3.2	2.71	2.81	3.31
วาลีน	6.0	1.1	5.14	4.99	5.13
เมธทิโอนีน	2.6	1.1	1.31	1.05	1.41
ไลซีน	7.1	5.2	5.71	5.62	5.34
ไอโซลิวซีน	4.9	4.1	3.37	3.51	3.59
ลิวซีน	8.4	6.8	8.23	8.64	8.72
เฟนีลอะลานีน	4.5	5.2	4.96	5.20	5.34
ทริปโตแฟน	1.4	1.2	-	-	-

หมายเหตุ 1) ที่มา : Morita and Kiriyama (1993).

2) รำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตได้จากเอนไซม์ไซลาเนสความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการย่อย 60 นาที มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 21.41 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง)

3) รำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตได้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการย่อย 90 นาที มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 23.80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง)

4) - คือ ไม่มีข้อมูล / ไม่ได้วิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ชนิด และปริมาณของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส เปรียบเทียบกับรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับทารก กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กในวัย 2-5 ปี เคซีน และโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (กรัม ต่อ 100 กรัมโปรตีน)

ชนิดของกรดอะมิโน	เคซีน [1]	โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง [1]	กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับทารก [1]	กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กในวัย 2-5 [1]	รำข้าวสกัดไขมัน (วัตถุดิบ)	รำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ไซลาเนส [2]	รำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส [3]
ฮีสทิดีน	3.2	2.5	2.6	1.9	3.74	3.09	3.09
ไอโซลิวซีน	5.4	4.7	4.6	2.8	3.37	3.51	3.59
ลิวซีน	9.5	7.9	9.3	6.6	8.23	8.64	8.72
ไลซีน	8.5	6.1	6.6	5.8	5.71	5.62	5.34
เมธิโอนีน และ ซีสทีน	3.5	2.5	4.2	2.5	2.15	1.89	2.25
เฟนีลอะลานีน และไทโรซีน	11.4	8.7	7.2	6.3	7.67	8.01	8.65
ทรีโอนีน	4.2	3.7	4.3	4.3	4.77	4.71	4.78
ทริปโตแฟน	1.4	1.2	1.7	1.1	-	-	-
วาลีน	6.3	4.8	5.5	3.5	5.14	4.99	5.13

หมายเหตุ 1) ที่มา : Morita and Kiriyama (1993).

2) รำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตได้จากเอนไซม์ไซลาเนสความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการย่อย 60 นาที มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 21.41 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง)

3) รำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตได้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการย่อย 90 นาที มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 23.80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง)

4) - คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ดังนั้นรำข้าวโปรตีนสูงจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะแก่การนำมาใช้ประโยชน์ เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กในวัย 2-5 ปี ครบทุกชนิดในปริมาณที่เพียงพอ (essential amino acid requirement) โดยเฉพาะกรดอะมิโนไลซีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีไม่เพียงพอเป็นอันดับแรก อีกทั้งโปรตีนในรำข้าวเป็นโปรตีนที่ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ ไม่มีสารยับยั้งการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ และร่างกายสามารถย่อยได้ในปริมาณสูง จากประโยชน์ดังกล่าวสามารถนำเอารำข้าวโปรตีนสูงมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสัตว์ และมนุษย์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน ประกอบด้วย ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 7.17 16.27 2.91 14.68 11.07 และ 54.89 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง)

2. ปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคต่างๆ พบว่า รำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 40 เมซ มีปริมาณโปรตีนต่ำในช่วง 7.93-11.33 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และมีการกระจายตัวประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของรำข้าวทั้งหมด และส่วนรำข้าวที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 40 เมซ มีปริมาณโปรตีนต่ำในช่วง 14.85-17.16 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และมีการกระจายตัวประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของรำข้าวทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณโปรตีนที่ใกล้เคียงกับรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่ไม่ได้ผ่านการร่อน

3. การศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส โดยมีรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันเป็นสับสเตรท พบว่า pH และอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ pH 6 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส เท่ากับ 5.52 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต คือ ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) เวลาในการย่อย 60 นาที โดยได้ผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงที่มีปริมาณโปรตีน และเยื่อใยเท่ากับ 21.41 และ 14.47 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และได้สารละลายที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสในปริมาณ 2.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลของความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยในกระบวนการผลิต คือ ความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.618 ในขณะที่เวลาในการย่อยนั้นไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงยังมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณเยื่อใย น้ำตาลไซโลสอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยได้สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง กับความเข้มข้น และเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส คือ

$$Z = 19.297 + 2.04186(X) + 0.0107913(Y) - 0.00533844(XY) - 0.374333(X^2) \; ; \; R^2 = 0.417$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การศึกษาหา pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยมีรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันเป็นสับสเตรท พบว่า pH และอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ pH 6 อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส โดยให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส เท่ากับ 13.66 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6. การศึกษาผลของความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต คือ ที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) เวลาในการย่อย 90 นาที โดยได้ผลิตภัณฑ์รำข้าวโปรตีนสูงที่มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 23.80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และได้สารละลายที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสในปริมาณเท่ากับ 11.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลของความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยในกระบวนการผลิต คือ ความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.833 ในขณะที่เวลาในการย่อยนั้นไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงยังมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณน้ำตาลกลูโคส และมีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับปริมาณสตาร์ชอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) โดยได้สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงกับความเข้มข้นและเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส คือ

$$Z = 21.1928 + 18.8965(X) - 0.0381667(Y) - 16.0494(X^2) + 0.0004166(Y^2) \; ; \; R^2 = 0.698$$

7. การศึกษาองค์ประกอบของกรดอะมิโนในรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส พบว่า รำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ทั้งสองชนิด ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับเด็กในวัย 2-5 ปี ครบทุกชนิดในปริมาณที่เพียงพอต่อร่างกายเช่นเดียวกับเคซีนและโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง โดยเฉพาะกรดอะมิโนไลซีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีไม่เพียงพอเป็นอันดับแรกซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 5.34-5.62 กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาผลของความเข้มข้น และเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงควรทำการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร (dietary fiber) แทนการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (crude fiber) ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ไซลาเนสเข้าไปย่อยสลายไซแลนในส่วนของเฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของใยอาหาร ดังนั้นทำให้การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยซึ่งไม่ใช่ปริมาณใยอาหารที่แท้จริงไม่สามารถเห็นการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสได้อย่างชัดเจน

2. การเพิ่มปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง อาจใช้เอนไซม์คาร์โบไฮเดรสชนิดอื่น ๆ ร่วมด้วยในกระบวนการผลิต ดังเช่น เอนไซม์เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส ในการทำหน้าที่ย่อยสลายองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตในส่วนที่ไม่ใช่สตาร์ช (non-starch polysaccharide) ซึ่งมีปริมาณมากกว่าองค์ประกอบของส่วนที่เป็นสตาร์ช

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กล้าณรงค์ ศรีรอต. 2542. **เทคโนโลยีของแป้ง**. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. **เอนไซม์ทางอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปราณี วราสวัสดิ์. 2534. **เทคโนโลยีธัญพืช**. ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิศวกรรม และอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2541. **"สถิติการเกษตรของประเทศไทย"** ปีการเพาะปลูก 2541/2542. กรุงเทพฯ : กระทรวงเกษตร และสหกรณ์.

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2538. **เอกสารคำสอนวิชาเคมีทางธัญญาหาร**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ansharullah, J.A.H. and Chesterman, C.F. 1997. "Application of Carbohydrase in Extraction Protein From Rice Bran." **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 74 : 141-146.

AOAC. Official Method of Analysis. 1995. 16th. ed. **The Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International**. Virginia. USA.

Asp, N.G. 1987. **Definition and Analysis of Dietary Fiber**. Norwegian University Press.

Banks, W. and Greenwoods, C.T. 1968. "Studies on Starch Degrading Enzyme." **Die Starke**. 10 : 315-328.

Bera, M.B. and Mukherjee, R.K. 1989. "Solubility Emulsifying and Foaming Properties of Rice Bran Protein Concentrates." **Journal of Food Science**. 54 (11) : 142-145.

Betchart, A.A., Fong, R.Y. and Saundees, R.M. 1977. "Rice by Product : Comparative Extraction and Precipitation of Nitrogen from U.S and Spanish Bran and Germ." **Journal of Food Science.** 42 : 1088-1093.

Biely, P. 1985. "Microbial Xylanolytic Systems." **Trend in Biotechnology**. 3 (11) : 286-290.

Bradbury, J.H., Collins, J.G. and Pyliotis, N.A. 1980. "Methods of Separation of the Major Histological Components of Rice and Characteristization of Their Protein by Amino Acid Analysis." **Cereal Chemistry**. 57 (2) : 133-137.

Breecia, J.D., Sineriz, F., Balgori, M.D., Castro, G. and Ranji, H.K. 1998. "Purification and Characterization of a Thermostable Xylanase from Bacillus amyloquefaciens." **Enzyme and Microbial Technology**. 22 : 42-49.

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Buchert, J., Tenkanen, M., Kantelinen, A. and Vilikari, K. 1994. "Application of Xylanase in the Pulp and Paper Industry." **Bioresource Technology**. 50 : 65-72.

Cagampang, G.B., Cruz, L.J., Espiritu, S.G., Santiago, R.G. and Juliano, B.O. 1966. "Studies on the Extraction and Composition of Rice Protein." **Cereal Chemistry**. 43 : 145-155.

Carroll, L.E. 1990. "Functional and Nutritional Characteristics of Rice Bran in Bakery Products." **Food Technology.** 44 : 74-76.

Champagne, E.T., Rao, R.M., Liuzzo, J.A., Robinson, J.W., Rale, R.J. and Miller, F. 1985. "Solubility Behavior of Minerals Protein and Phytic Acid in Rice Bran with Time Temperature and pH." **Cereal Chemistry.** 62 : 218-221.

Chaplin, M.F. and Kennedy, J.F. 1986. **Carbohydrate Analysis a Practical Approach**. IRL Press Limited. Washington. England.

Chen, C.C., Adolphson, R., Jeffrey, F.D., Eriksson, K.E., Michael, W.W.A. and Wastpheling, J. 1997. "Release of lignin from Kraft Pulp by a Hyperthermophilic Xylanase from *Thermotaga maritima*." **Enzyme and Microbial Technology**. 20 : 39-45.

Chen, I. and Houston, D.F. 1970. "Solubilization and Recovery of Protein from Defatted Rice Bran." **Cereal Chemistry**. 47 : 92-97.

Conor, A.A., Saunder, R.M. and Kohler, G.O. 1976. "Rice Bran Protein Concentrates Obtain by Wet Alkaline Extraction." **Cereal Chemistry**. 53 : 448-458.

DeGroot, A.P. and Slump, P. 1969. "Effect of Severe Alkali Treatment of Protein on Amino Acid Composition and Nutritive Value." **Journal Nutrition.** 98 : 45-48.

Dekker, R.F.H. and Richards, G.N. 1976. "Hemicellulose : Their Occurrence, Purification, Properties and Mode of Action." **Advanced Carbohydrate Chemistry and Biochemistry.** 32 : 277-352.

Euber, J.R., Puski, G., Hartman, J.R. and Grant, H. 1991. **Method for Making Soluble Rice Protein Concentrate and the Product Produces Thereform.** US. Patent no. 4990344.

Finfeeds International Ltd. **"Porzyme : Application in Corn-Based Diets for Young and Grower/Fisher Pigs and for Lactating Sows."** [COMPACT DISC]. (n.d.)

Goksory, J. and Eriksen, J. 1980. **Cellulase : Microbial Enzyme and Bioconversions**. New York : Academic Press.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gilbert, W.J. and Hazlewod, G.P. 1983. "Bacterial Cellulase and Xylanase." **Journal General Microbiology**. 139 : 150-155.

Gnanasambandam, R. and Hettiarachchy, N.S. 1995. "Protein Concentrate From Unstabilized and Stabilized Rice Bran : Preparation and Properties." **Journal. of Food Science.** 60 : 1066-1069.

Gnanasambandam, R., Hettiarachchy, N.S. and Coleman, M. 1997. "Mechanical and Barrier Properties of Rice Bran Film." **Journal of Food Science**. 62 : 395-398.

Grodfrey, T. and Reichelt, J. 1983. **Starch Industrial Enzymology**. The Application of Enzymes in Industry. New York. : Academic Press.

Hammer, B.R. 1994. The Influence of Rice Protein on Rice Quality. In W.E. Marshall and J.I. Wadworth. ed. **Rice Science and Technology**. Mercel Dekker. Inc. New York : 177-793.

Hammond, N. 1994. "Functional and Nutritional Characteristics of Rice Bran Extracts." **Cereal Chemistry.** 39 (10) : 752-753.

Helm, R.M. and Burks, A.W. 1996. "Hypoallergenicity of Rice Protein." **Cereal Food World.** 41 (11) : 837-843.

Hernandez, M., Alegria, M.E., Gonzalez, F. and Lopez, A. 2000. "Enzymatic Treatment of Rice Bran to Improve Processing." **Journal of American Oil Chemists Society**. 77 (2) : 177-180.

Juliano, B.O. 1972. **Rice Chemistry and Technology**. American Association of Cereal Chemists. Inc. Minnesota.

Jurasek, L. and Paice, M.G. 1992. Saving Bleaching Chemicals and Minimizing Pollution with Xylanase. In Proceeding of the International Symposium on Pollution Preventation in the Manufacture of Pulp and Paper : Opportunities and Barriers. **Pulp and Paper Cluster**. U.S. Environmental Protection Agency. Washington. D.C.

Kohler, G.O. and Palter, R. 1697. "Studies on Methods for Amino Acid Analysis of Wheat Products." **Cereal Chemistry**. 44 : 512-520.

Lasztity, R. 1995. **The Chemistry of Cereal Proteins**. 2nd . ed CRC Press. London.

Lew, E.J.L., Houston, D.F. and Fellers, D.A. 1975. "A Note on Protein Concentrate From Full Fat Rice Bran." **Cereal Chemistry**. 52 : 748-750.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. **Journal of Biological and Chemistry**. 193 : 265-272.

Lugay, J.C. and Juliano, B.O. 1964. "Fatty acid Composition of Rice Lipids by Gas Liquid Chromatography. **Journal of American Oil Chemists Society**. 41 : 273-275.

Lynn, L. 1969. "Edible Rice Bran Foods, in Protein Enriched Cereal Foods for World Needs. " **American Association of Cereal Chemists.** St. Pual : Minnesota.

Morita, T. and Kiriyama, S. 1993. "Mass Production Method For Rice Protein Isolate and Nutrition Evaluation." **Journal of Food Science**. 58 (6) : 1393-1396.

Oates, C.G. 1997. "Towards an Understanding of Starch Granule Structure and Hydrolysis." **Trend in Food Science and Technology**. 8 : 375-382.

Prakash, J. and Ramanatham, G. 1994. "Effect of Drying Technique on Functionality of Protein Concentrates. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** 67 : 181-185.

Prakash, J. 1996. "Rice Bran Proteins : Properties and Food Uses". **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** 36 (6) : 537-552.

Reilly, P.J. 1985. **Starch Conversion Technology**. In. G.M.A. Van Beynus and L.A. Roets (eds). New York : Marcel Dekker. Inc.

Saunders, R.M. 1990. "The Properties of Rice Bran as a Foodstuff." **Cereal Food World.** 35 (7) : 632-636.

Scott, T. and Eagleson, M. 1988. **Concise Encyclopedia Biochemistry**. Walter de Gruyter and Co. Berlin.

Segel, I.H. 1976. **Biochemical Calculations : How to Solve Mathematical Problems in General Biochemistry.** New York : John Wiley and Sons.

Shih, F.F. and Daigle, K. 1997. "Use of Enzymes for the Separation of Protein from Rice Flour." **Cereal Chemistry**. 74 (4) : 437-441

Shih, F.F., Champagne, E.T., Daigle, K. and Zarinz, Z.Z. 1999. "Use of Enzymes in the Processing of Protein Products from Rice Bran and Rice Flour." **Nahrung**. 43 : 14-18.

Slavin, J.L. and Lampe, J.W. 1992. "Health Benefits of Rice Bran in Human Nutrition." **Cereal Chemistry**. 37 (10) : 760-766.

Tsao, G.T. and Chiang, L. 1983. **Cellulose and Hemi-cellulose Technology**. In S.D. Berry and B.R. Kristianiansen. The Filaments Fungi : Fungi Technology. John Wiely and Sons Inc. New York : 296-326.

Visser, J., Beldman, B., Someren, M.A.K.V. and Voragen, A.G. 1992. **Xylan and Xylanase**. Elsevier Science Publishers. Netherlands.

Wayne, E.M. and James, I.W. 1994. **Rice Science and Technology**. New York : Marcel Press.

Wang, M., Hettiarachchy, N.S., Burks, M.Qi.W. and Siebenmorgen, T. 1999. "Preparation and Functional Properties of Rice Bran Protein Isolate." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 47 :411-416.

Whister., R.L. and Smart, C.L. 1953. **Polysaccharide Chemistry**. New York : Marcel Press

Whitaker, J.R. 1994. **Principles of Enzymology for the Food Science**. 2 nd. ed. Marcel Dekker. Inc. New York.

Wong, K.K.Y., Ten, L.U.L. and Saddler, J.N. 1986. "Purification of a Third Distinct Xylanase from the Xylanolytic System of *Trichoderma hariannum*." **Journal of Microbiology.** 32 : 570-576.

Wong, K.K.Y., Ten, L.U.L. and Saddler, J.N. 1988. "Multiplicity of β-1,4-Xylanase in Microorganisms : Functions and Applications." **Microbiological Reviews.** 52 (3) : 305-317.

Wong, K.K.Y. and Saddler, J.N. 1992. *Trichoderma* Xylanses. Their Properties and Application. In J. Visser., G. Beldman., M.A.V.S. Kuster and A.G.T. Voragen. **Progress in Biotechnology**. Vol 7. Elsevier Science Publishers. Netherland.

Youssef, A.M., El-Fouly, M.M. and El-Baz, F.K. 1974. "Isolation and Chemical Composition of Protein Concentrates from Soyabean Rice bran and Proteinelean." **Plant Food and Human Nutrition.** 27 : 71-80.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (Moisture Content) (AOAC. 1995)

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

1.1.2 ถ้วยอลูมิเนียม (aluminium can)

1.1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)

1.1.4 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 อบถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่อุณหภูมิ 130 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง

1.2.2 นำใส่โถดูดความชื้นทิ้งให้เย็น 30 นาที

1.2.3 ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่ผ่านการอบแห้งมาก่อน เพื่อให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

1.2.4 ชั่งตัวอย่างใส่ถ้วยอลูมิเนียมประมาณ 2 กรัม ปิดฝาแล้วนำไปชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

1.2.5 นำไปอบในตู้อบโดยเปิดฝาถ้วยอลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 130 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.2.6 เมื่อครบกำหนดเวลาที่อบ ปิดฝาถ้วยอลูมิเนียมนำมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้นก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก

1.2.7 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแน่นอนที่ผ่านการอบแล้วพร้อมทั้งถ้วยอลูมิเนียมและฝา

1.2.8 นำไปอบและชั่งน้ำหนักซ้ำอีก 2 ครั้งเพื่อให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

$$\text{ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะหลังอบ} - \text{น้ำหนักภาชนะบรรจุ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (Ash Content) (AOAC. 1995)

2.1 อุปกรณ์

2.1.1 ครูซิเบิล (crucible)

2.1.2 เตาเผา (muffle furnace)

2.1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)

2.1.4 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 อบครูซิเบิลที่อุณหภูมิ 130 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น 30 นาที ชั่งน้ำหนักเพื่อให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

2.2.2 ชั่งตัวอย่างใส่ในครูซิเบิลประมาณ 3–5 กรัม นำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2.2.3 นำไปใส่เผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกว่าจะได้เถ้าสีเทาอ่อน หรือจนได้น้ำหนักแน่นอน ชั่งน้ำหนักหลังเผา

$$\text{ปริมาณเถ้า (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (Fat Content) (AOAC. 1995)

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet automatic extraction unit)

3.1.2 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

3.1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)

3.1.4 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)

3.1.5 ทิมเบิล (thimble)

3.1.6 ปีกเกอร์ไขมัน

3.1.7 ปิโตรเลียมอีเธอร์

3.2 วิธีวิเคราะห์

3.2.1 เตรียมเครื่องสกัดไขมัน โดยตั้งอุณหภูมิของ Bath liquids ให้อยู่ในช่วง 150 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิถึง 150 องศาเซลเซียส เปิดปั๊มที่ใช้ในการดูดส่ง Bath liquids และเปิดน้ำหล่อเย็น (cooling) ให้ไหลผ่านเข้าเครื่องสกัดไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 นำตัวอย่าง 3-4 กรัม อบที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่

3.2.3 ชั่งตัวอย่างจากข้อ 3.2.2 ประมาณ 3-4 กรัม (น้ำหนักที่แน่นอน) ห่อด้วยกระดาษกรอง ใส่ลงในทิมเบิล (thimble) ปิดทิมเบิลด้วยสำลี

3.2.3 นำทิมเบิลเข้าเครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus) เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ลงในปีกเกอร์ไขมันที่อบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำปีกเกอร์ไขมันและชุดสกัดต่อเข้ากับคอนเดนเซอร์ ทำการสกัดโดยใช้เวลาประมาณ 5 ชั่วโมง

3.2.4 นำปีกเกอร์ไขมันไประเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นชั่งน้ำหนัก

$$\text{ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้} \times 100}{100 - \text{ปริมาณความชื้น}}$$

4. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนแบบ Buchi - Kjeldahl – System (AOAC. 1995)

4.1 อุปกรณ์และสารเคมี

4.1.1 หลอดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask)

4.1.2 เครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน (Buchi-Kjeldahl system รุ่น B-316)

4.1.3 บิวเรต (buret)

4.1.4 กรดซัลฟูริคเข้มข้น (conc. sulfuric ; H_2SO_4)

4.1.5 กรดบอริคความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (boric acid)

4.1.6 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์(sodium hydroxide ; NaOH)

4.1.7 กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (hydrochlotic acid ; HCl)

4.1.8 คะตะลิสต์ (catalyst) เตรียมโดยผสมคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) อัตราส่วน 8 :1

4.1.9 อินดิเคเตอร์ผสม (mix indicator)

ก. เตรียมโบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ และเตรียมเมทธิลเรด (methyl red) ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

ข. ผสมโบรโมครีซอลกรีน 10 มิลลิลิตร กับเมทธิลเรด 2 มิลลิลิตร

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 วิธีวิเคราะห์

4.2.1 วิธีการสำหรับการย่อยโปรตีน

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างโดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่มีไนโตรเจนมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ใช้ 0.5 กรัม ส่วนตัวอย่างที่มีค่าไนโตรเจนน้อยกว่า 5 กรัม ใช้ 1.0 กรัม ใส่ลงไปในหลอดย่อย เติมคะตะ-ลิสต์ 7 กรัม ใส่เม็ด Glass beads ลงไป 2–3 เม็ด และเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น (concentrate sulfuric acid ; H_2SO_4) 15 มิลลิลิตรลงไปในหลอดย่อย ทำการย่อยตัวอย่างเป็นเวลา 45-60 นาที หรือจนกระทั่งได้สารละลายสีเขียวใส ปล่อยให้สารละลายเย็น และหมดควันของไอกรด

4.2.2 วิธีการสำหรับกลั่นโปรตีน

นำหลอดตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้วเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ไปวางที่ด้านซ้ายของเครื่องโดยมี Tube holder เป็นที่จับหลอดย่อย กดปุ่ม Power และกดปุ่ม NaOH เพื่อเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 60 มิลลิลิตร ตั้งเวลาในการกลั่นประมาณ 3-5 นาที นำฟลาก์สที่มีกรดบอริกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 60 มิลลิลิตร แล้วเติมอินดิเคเตอร์ผสมลงไปจำนวน 2–3 หยด ไปวางบนแท่นที่มีท่อด้านขวามือ โดยกรดบอริกจะทำหน้าที่เป็นตัวจับก๊าซแอมโมเนีย (receiver) กดปุ่ม Start เริ่มการทำงาน จากนั้นนำไปไทเทรต (titration) กับกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{(Normality ของ HCl) (Titerของตัวอย่าง – Titer ของ Blank) (14) (100)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)}}$$

ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) = 5.95 (เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจน)

5. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย (Crude Fiber Content) (AOAC. 1995)

5.1 อุปกรณ์และสารเคมี

5.1.1 ชุดย่อยเยื่อใย (digestion apparatus)

5.1.2 เตาเผา (muffle furnace)

5.1.3 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

5.1.4 โถดูดความชื้น (desiccator)

5.1.5 ครูซิเบิล (crucible)

5.1.6 กรดซัลฟูริคความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ (sulfuric acid ; H_2SO_4)

5.1.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.25เปอร์เซ็นต์ (sodium hydroxide ; NaOH)

5.1.8 แอลกฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (alcohol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 วิธีวิเคราะห์

5.2.1 ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 2 กรัม (W_s) ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริคความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เติม Glass beads ลงไป 2–3 เม็ด วางบีกเกอร์ลงบนชุดเครื่องย่อย (digestion apparatus) แล้ววางคอนเดนเซอร์ (condenser) ทรงกลมบนบีกเกอร์ เปิดน้ำหล่อเย็นให้ไหลผ่าน ต้มสารละลายเดือดนาน 30 นาที กวนสารละลายในบีกเกอร์ เพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกาะติดข้างบีกเกอร์

5.2.2 กรองกากด้วยผ้ากรองบน Buchner funnel ล้างกากด้วยน้ำต้มเดือดประมาณ 50–75 มิลลิเมตร ล้างซ้ำอีกครั้งด้วยน้ำต้มเดือดจำนวน 50 มิลลิเมตร

5.2.3 เทกากกลับไปในบีกเกอร์เดิม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 200 มิลลิลิตร ต้มสารละลายนาน 30 นาที

5.2.4 กรองกากบนกระดาษกรอง (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนหลังจากอบที่อุณหภูมิ 130 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส (W_b) และล้างกากด้วยกรดซัลฟูริคความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ที่ต้มเดือด ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ล้างซ้ำอีกครั้งด้วยน้ำต้มเดือด 50 มิลลิลิตร แล้วล้างกากด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 25 มิลลิลิตร

5.2.5 นำกากที่ได้ใส่ลงไปในครูซิเบิล (ทราบน้ำหนักแน่นอนหลังจากอบที่อุณหภูมิ 130 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส (W_a)) นำไปอบที่อุณหภูมิ130 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (W_c)

5.2.6 นำเอาไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 $\pm$ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15นาที หรือจนกระทั่งกากเป็นสีเทา ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (W_d)

ปริมาณเยื่อใย (เปอร์เซ็นต์) $= \dfrac{(W_c - W_b) - (W_d - W_a)}{W_s} \times 100$

หมายเหตุ

W_s = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

W_a = น้ำหนักของครูซิเบิลที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (กรัม)

W_b = น้ำหนักของกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (กรัม)

W_c = น้ำหนักกาก กระดาษกรอง และครูซิเบิลหลังจากอบที่อุณหภูมิ 130 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (กรัม)

W_d = น้ำหนักกากที่เหลืออยู่ในครูซิเบิลหลังจากเผาที่อุณหภูมิ 600 $\pm$ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือจนกระทั่งได้สีเทา และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Total Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์) = 100 - (ปริมาณความชื้น + ปริมาณเถ้า + ปริมาณไขมัน + ปริมาณโปรตีน + ปริมาณเยื่อใย)

7. การวิเคราะห์ปริมาณสตาร์ช (Starch)

7.1 อุปกรณ์ และสารเคมี

7.1.1 หลอดหมุนเหวี่ยง (centrifuge tube)

7.1.2 เตาต้ม (hot plate)

7.1.3 ปิโตรเลียมอีเธอร์ (petroleum ether)

7.1.4 แอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์

7.1.5 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์

7.1.6 กรดอะซิติกความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์

7.1.7 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

7.1.8 เครื่องโพลาริมิเตอร์ (polarimeter)

7.2 วิธีวิเคราะห์

7.2.1 ชั่งตัวอย่าง 2-2.5 กรัม ใส่ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร (centrifuge tube) ล้างด้วยปิโตเลียมอีเทอร์ เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นล้างด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 65 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยการคนด้วยแท่งแก้ว และนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบ เป็นเวลา 30 นาที และรินเทส่วนใสทิ้ง จากนั้นทำการล้างเช่นเดิมโดยการล้างต่อด้วยแอลกอฮอล์จนครบปริมาตร 60 มิลลิลิตร รินเทส่วนใสทิ้งไป

7.2.2 เทกากที่ได้ใส่ลงในขวดชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 58 มิลลิลิตร และเติมกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มบนเตาต้ม เป็นเวลา 15-17 นาที ทำการคนตลอดเวลาในการต้ม โดยระวังอย่าให้ไหม้ หรือเป็นฟอง เมื่อครบเวลานำไปทำให้เย็น นำสารละลายที่ได้เทใลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ให้ครบ 100 มิลลิลิตร

7.2.3 นำตัวอย่างที่ได้ไปทำการกรองจนกระทั่งใส นำไปวัดด้วยเครื่องโพลาริมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรในการหาปริมาณสตาร์ช

ปริมาณสตาร์ช = 49 * R / น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

R = ค่าที่อ่านได้จากเครื่องโพลาริมิเตอร์

8. การกระจายตัวของอนุภาค (Particle distribution)

8.1 อุปกรณ์

8.1.1 เครื่องร่อนขนาด (sieving apparatus)

8.1.2 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)

8.2 วิธีวิเคราะห์

8.2.1 ชั่งน้ำหนักตะแกรงทุกขนาด จดบันทึกน้ำหนักไว้

8.2.2 ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม ใส่ลงในเครื่องร่อนชั้นบนสุด ปิดฝา และล็อคเครื่องให้แน่นพร้อมทำงาน เปิดสวิทซ์เดินเครื่อง ตั้งเวลา 5 นาที และตั้งความแรงในการเขย่า 10 แอมพิจูด

8.2.3 เมื่อร่อนจนครบ 5 นาที นำตะแกรงแต่ละชั้นไปชั่งน้ำหนัก เพื่อหาน้ำหนักของตัวอย่างที่ค้างอยู่บนตะแกรง บันทึกน้ำหนักที่ได้

$$\text{การกระจายตัวของอนุภาค (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ค้างบนตะแกรง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

กิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส

1. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300) โดยวิธีของ Finnfeeds

คำจำกัดความของยูนิต (unit)

1 ยูนิต คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิดน้ำตาลไซโลส 1 ไมโครโมลจากสับสเตรทภายใต้สภาวะที่กำหนด

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.

1.1.2 คิวเวต

1.1.3 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

1.1.4 เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex)

1.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

1.2 การเตรียมสารเคมี

1.2.1 ไซแลนสับสเตรท (xylan substrate) 1เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ชั่งไซแลน (xylan) 1 กรัม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ 10 มิลลิลิตร กวนผสมนาน 30 นาที จากนั้นเติมโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 5.3 ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3

1.2.2 กรดอะซิติกความเข้นข้น 1โมลาร์

ปิเปตกรดอะซิติกเข้มข้น 5.7 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

1.2.3 โซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3

ก. ละลายโซเดียมอะซิเตท 41 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

ข. ละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 5 กรัมในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

ปรับพีเอชของสารละลาย ก. เป็นพีเอช 5.3 ด้วยสารละลาย ข.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.4 สารละลาย DNS

ละลาย 3,5- dinitrosalicylic acid 20 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 300 มิลลิลิตร (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร) คนจนสารละลายใส จากนั้นเติมโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต 600 กรัม คนจนละลาย ปรับปริมาตรเป็น 2000 มิลลิลิตร

1.3 วิธีวิเคราะห์

1.3.1 สารละลายเอนไซม์ (enzyme solution)

ชั่งเอนไซม์ 10 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร กวนผสมเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง

1.3.2 ตัวอย่างเอนไซม์ (enzyme sample)

นำเอนไซม์เจือจาง (ในโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3) บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เติมไซแลนสับสเตรท 1 มิลลิลิตร เขย่าแล้วบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลาย DNS 3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

1.3.3 เอนไซม์แบลงค์ (enzyme blank)

บ่มไซแลนสับสเตรท 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลาย DNS 3 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากัน เติมเอนไซม์เจือจาง 1 มิลลิลิตร (ในโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3) เขย่าให้เข้ากัน แล้วต้มในน้ำเดือด 5 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างระหว่าง ตัวอย่างเอนไซม์ และเอนไซม์แบลงค์ควรอยู่ในช่วง 0.3–0.5

1.3.4 กราฟมาตรฐาน

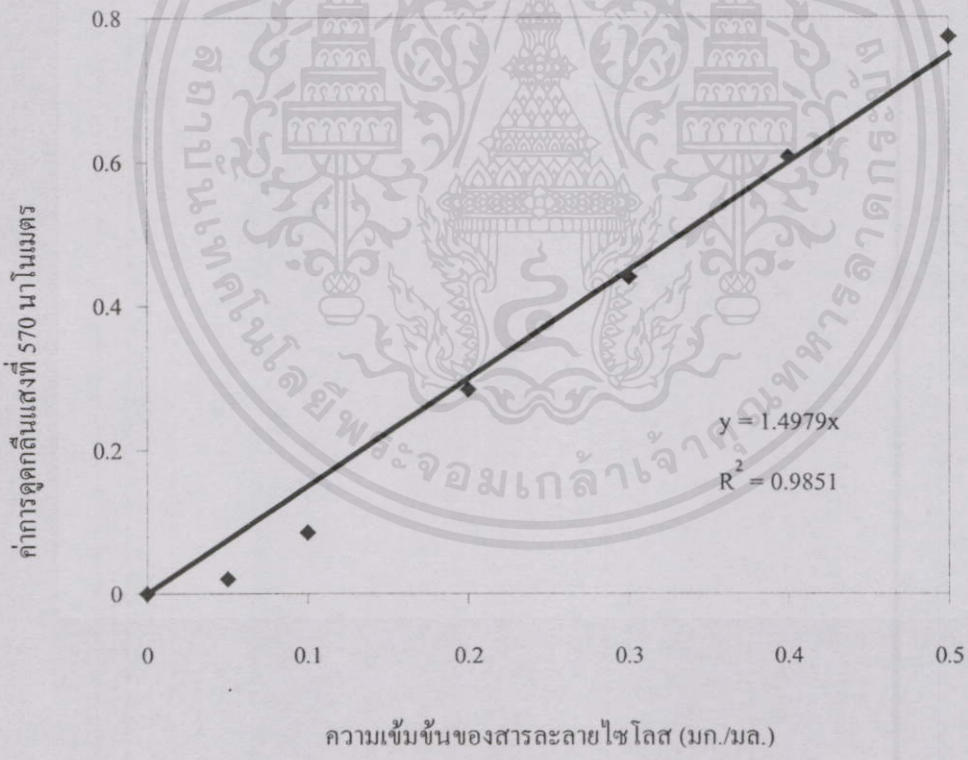
เตรียมสารละลายมาตรฐานจากไซโลส (anhydrous xylose) ในโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3 ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.05 – 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ 1 มิลลิลิตร ไซแลนสับสเตรท 1 มิลลิลิตร และสารละลาย DNS 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ทำการเขย่าให้เข้ากันแล้วต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร (ตารางที่ ก1 และภาพที่ ก1)

ส่วนแบลงค์ของกราฟมาตรฐานใช้โซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐานไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลสในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไซลาเนส

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0.00	0.0000	0.0000	0.0000
0.05	0.0219	0.0184	0.0202
0.10	0.0776	0.0922	0.0849
0.20	0.2848	0.2830	0.2839
0.30	0.4353	0.4447	0.4400
0.40	0.6019	0.6122	0.6071
0.50	0.7538	0.7922	0.7730



ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.5 การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300)

จากกราฟมาตรฐานไซโลสในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส

สมการเส้นตรง คือ $y = 1.4979 X$

ความเข้มข้นของไซโลส = $\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง}}{1.4979}$

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้น เมื่อเจือจางตัวอย่างเอนไซม์ 10000 เท่า ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0. 2121

ความเข้มข้นของไซโลส = $\frac{0.21}{1.4979} = 0.1416$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

<u>สูตรในการคำนวณ</u>

ยูนิต ต่อ มิลลิลิตร = $\frac{\text{(จำนวนโมลไซโลสที่ได้) (จำนวนเท่า)}}{30}$

เมื่อเจือจางตัวอย่างเอนไซม์ 10000 เท่า = $\frac{0.1416 \times 1000 \times 1000}{150.13 \times 30}$

= 314.39 ยูนิต ต่อ มิลลิลิตรเอนไซม์

<u>สูตรในการคำนวณ</u>

ยูนิต ต่อ กรัมของแข็ง = $\frac{\text{ยูนิต ต่อ มิลลิลิตรเอนไซม์}}{\text{กรัมของแข็ง ต่อ มิลลิลิตรเอนไซม์}}$

= 314.39 / 0.1

= 3143.9

ดังนั้น เอนไซม์ไซลาเนส มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 3143.9 ยูนิต ต่อ กรัมของแข็ง

2. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS) โดยวิธีของบริษัท Novo Nordisk

<u>คำจำกัดความของยูนิต (unit)</u>

1 Novo-alpha-amylase unit (NU) คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถทำลายพันธะของแป้ง (starch) 5.26 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่กำหนด

<u>สภาวะที่กำหนด</u>

อุณหภูมิ	37 $\pm$ 0.5 องศาเซลเซียส
ปริมาณแคลเซียม	ประมาณ 0.0043 โมลาร์
พีเอช	ประมาณ 5.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 อุปกรณ์

2.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.

2.1.2 คิวเวต

2.1.3 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

2.1.4 เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex)

2.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

2.2 การเตรียมสารละลาย

2.2.1 แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 0.43 โมลาร์

ละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$) 63.22 กรัม และทริส (Tris) 1.10 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 7 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.2.2 สารละลายไอโอดีน A (stock solution)

ละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 22.0 กรัม ในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และละลายไอโอดีน (I_2) 11.0 กรัม ในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.2.3 สารละลายไอโอดีน B

เตรียมจากสารละลายไอโอดีน A 4 มิลลิลิตร และโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 40.0 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.2.4 สารละลายเกลือ (salt stock solution) พีเอช 5.2

ละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 9.366 กรัม โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 69.0 กรัม และโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4.2H_2O$) 4.8 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.2.5 สารละลายสตาร์ช (Starch solution) พีเอช 5.6

ละลายสตาร์ช 6.25 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เทลงในปีกเกอร์ที่มีน้ำร้อน 200 มิลลิลิตร (กวนผสมตลอดเวลา) ต้มต่ออีก 30 วินาที ทิ้งให้เย็นในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายในข้อ 2.2.4 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.2.6 สารละลายเอนไซม์ (enzyme solution)

ปิเปตสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทั้งหมด ชั่งเอนไซม์และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (สารละลายเอนไซม์ควรมีเอนไซม์ 0.07 K Novo units ต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 วิธีวิเคราะห์

2.3.1 ปิเปตสารละลายสตาร์ช 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 8 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2.3.2 ปิเปตสารละลายไอโอดีน B 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2.3.3 ปิเปตสารละลายสตาร์ชที่เติมสารละลายเอนไซม์แล้ว 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารละลายไอโอดีน B ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ กัน (0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 และ 20 นาที)

2.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และคำนวณกิจกรรม

<u>สูตรการคำนวณกิจกรรมเอนไซม์</u>

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์} = \frac{1585 \times V}{t \times a \times v} = \text{Novo-alpha-amylase-units (NU/g)}$$

เมื่อ V = ปริมาตรของเอนไซม์ที่เจือจาง (มิลลิลิตร)

t = เวลาที่วัดค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 0 (นาที)

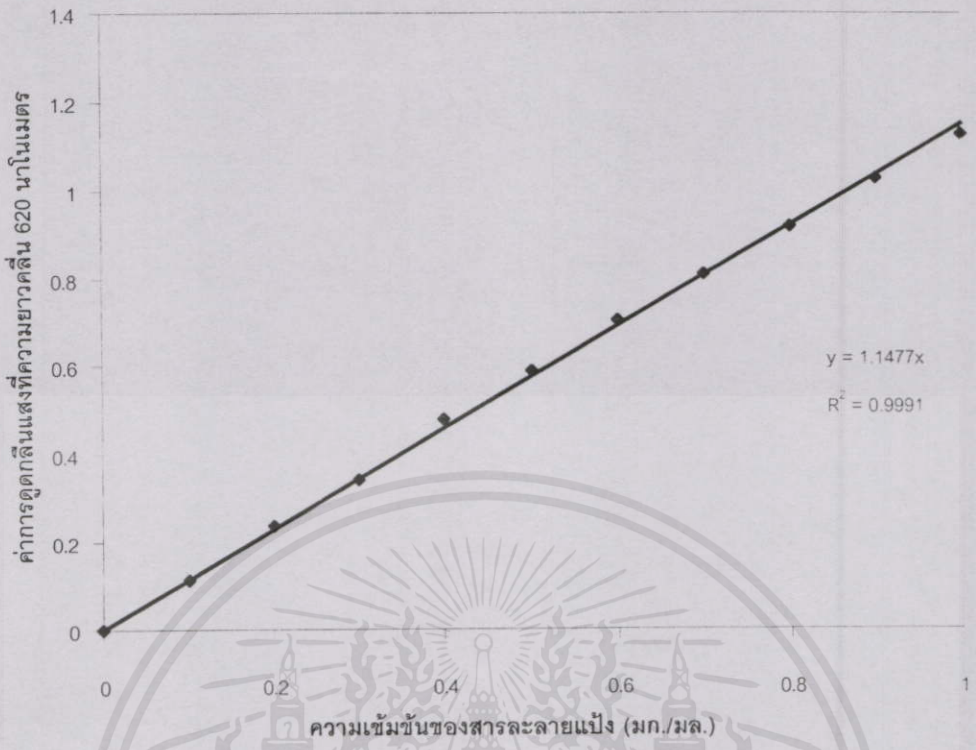
a = น้ำหนักเอนไซม์ที่ชั่งมา (กรัม)

v = ปริมาตรของเอนไซม์ที่เติมในสารละลาย (มิลลิลิตร)

ตารางที่ ข2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแป้งในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

ความเข้มข้น	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร			
(มก./มล.)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.1	0.1140	0.1150	0.1122	0.1137
0.2	0.2308	0.2398	0.2389	0.2365
0.3	0.3329	0.3453	0.3483	0.3422
0.4	0.4747	0.4778	0.4788	0.4771
0.5	0.5845	0.5873	0.5944	0.5887
0.6	0.7068	0.6998	0.7015	0.7027
0.7	0.8019	0.8104	0.8107	0.8077
0.8	0.9186	0.9164	0.9172	0.9174
0.9	1.0667	0.9940	1.0172	1.0260
1.0	1.1029	1.1475	1.1329	1.1278

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข2 กราฟมาตรฐานของสารละลายแป้งในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแป้งที่เหลือ ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตรในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

เวลา	ค่าการดูดกลืนแสง (620 นาโนเมตร)			ปริมาณแป้งที่เหลือ	ปริมาณแป้งที่ใช้ไป
(นาที)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	(มก./มล.)	(มก./มล.)
0	2.8341	2.8341	2.8341	2.4693	4.4807
1	2.7372	2.7688	2.7520	2.3978	4.5524
2	2.5710	2.5914	2.5812	2.2490	4.7010
3	2.3118	2.3341	2.3230	2.0240	4.9260
4	1.9591	1.9545	1.9568	1.7050	5.2450
5	1.5867	1.5745	1.5806	1.3772	5.5728
6	1.2041	1.2266	1.2154	1.0590	5.8910
7	0.9281	0.9354	0.9318	0.8119	6.1381
8	0.6919	0.6572	0.6746	0.5878	6.3622
9	0.4751	0.4941	0.4846	0.4222	6.5278
10	0.3319	0.3413	0.3366	0.2933	6.6567
11	0.2385	0.2279	0.2332	0.2032	6.7468
12	0.1731	0.1469	0.1600	0.1394	6.8106
13	0.1234	0.1056	0.1145	0.0998	6.8502
14	0.0670	0.0887	0.0792	0.0690	6.8810
15	0.0468	0.0652	0.0560	0.0488	6.9012
16	0.0503	0.0353	0.0428	0.0373	6.9127
17	0.0398	0.0228	0.0313	0.0273	6.9227
18	0.0202	0.0194	0.0198	0.0173	6.9327
19	0.0164	0.0187	0.0176	0.0153	6.9347
20	0.0160	0.0160	0.0160	0.0139	6.9361

จากสูตร

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์} = \frac{1585 \times V}{t \times a \times v} = \text{Novo-alpha-amylase-units (NU/g)}$$

$$= \frac{1585 \times 1000}{14 \times 0.0490 \times 2} = 115.52 \text{ K NU/g}$$

ดังนั้นเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS) มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 115.52 K NU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.
การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

1. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Chaplin and Kennedy. 1986)

1.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.

1.1.2 คิวเวต

1.1.3 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

1.1.4 3,5 ไดไนโตรซาลิกไซลิก (3,5 dinitrosalicylic acid)

1.1.5 โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (sodium potassium tartate)

1.1.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide)

1.2 การเตรียมสารละลาย DNS

ละลาย 3,5 –ไดไนโตรซาลิกไซลิก 0.25 กรัม และโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 75 กรัม ใน 2 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.3 วิธีวิเคราะห์

1.3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส และไซโลส ความเข้มข้น 0.5-5 และ 0.5-3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานจำนวน 0.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย DNS จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ทำการเขย่าและต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร (ตารางที่ ค1 ค2 และภาพที่ ค1 ค2)

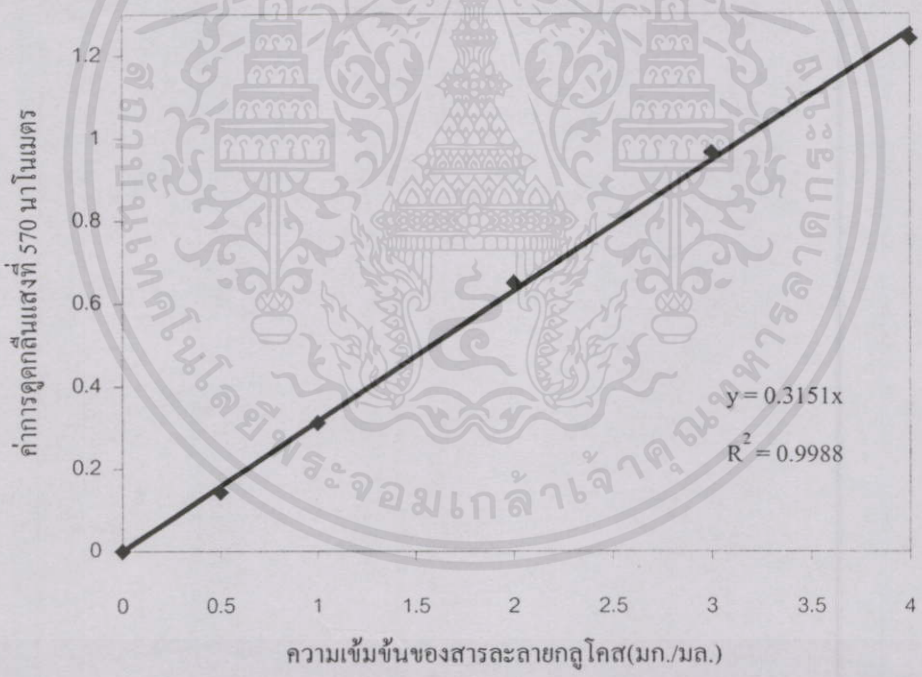
ส่วนแบลงค์ของกราฟมาตรฐานใช้น้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐาน

1.3.2 เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.5–5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างจำนวน 0.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย DNS จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ทำการเขย่าและต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเทียบกราฟสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	0.1465	0.1445	0.1396	0.1435
1.0	0.3214	0.3165	0.2987	0.3122
2.0	0.6555	0.6476	0.6454	0.6495
3.0	0.9559	0.9740	0.9625	0.9641
4.0	1.2203	1.2410	1.2560	1.2391

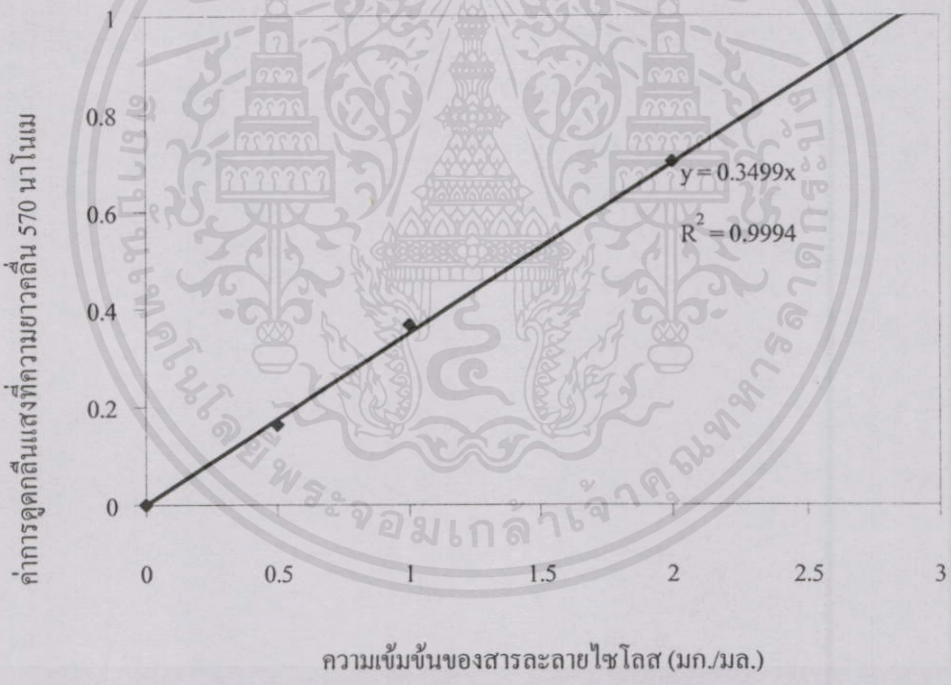


ภาพที่ ค1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	0.1573	0.1716	0.1635	0.1641
1.0	0.3628	0.3617	0.3734	0.3660
2.0	0.6969	0.7106	0.6930	0.7002
3.0	1.1112	1.0150	1.0128	1.0460



ภาพที่ ค2 กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Lowry

1. การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Lowry (Lowry *et al.* 1951)

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.

1.1.2 คิวเวต

1.1.3 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

1.1.4 เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex)

1.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

1.2 การเตรียมสารเคมี

1.2.1 สารละลาย ก. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 20 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1ลิตร

1.2.2 สารละลาย ข. สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) 0.5 กรัม ในสารละลายโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร

1.2.3 สารละลาย ค. สารละลาย ก. 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย ข. 1 มิลลิลิตร

1.2.4 สารละลาย ง. สารละลายโฟลินฟีนอล (folin phenol reagent) 1 นอร์มัล

1.2.5 สารละลาย Bovine serum albumin (BSA) มาตรฐาน 0.1 เปอร์เซ็นต์

1.3 วิธีวิเคราะห์

1.3.1 เตรียมสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 0.0125 0.025 0.0375 0.05 0.075 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์

1.3.2 นำตัวอย่าง และสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย ค. 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

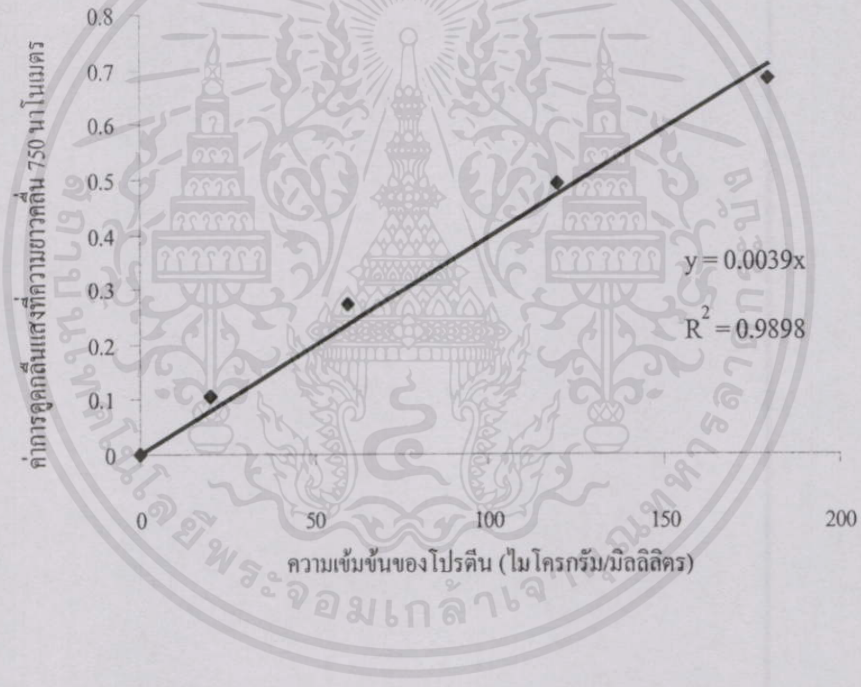
1.3.3 เติมสารละลาย ง. 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

1.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (ตารางที่ ง1 และภาพที่ ง1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Bovine serum albumin มาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
20	0.1147	0.1122	0.0917	0.1062
60	0.2682	0.2727	0.2756	0.2722
120	0.4935	0.4771	0.4996	0.4901
180	0.6713	0.6909	0.6794	0.6805



ภาพที่ ง1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin มาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.

การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดอะมิโนโดยวิธี HPLC

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดอะมิโนโดยวิธี HPLC โดยห้องปฏิบัติการวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี (โดยวิธี AccQ. Tag)

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 เครื่อง High Performance Liquid chromatography ยี่ห้อ Water

1.1.2 ดีเทกเตอร์ชนิด Fluorescent detector

1.1.3 คอลัมน์ชนิด Waters AccQ. Tag Amino Acid Analysis Column ชนิด Nova-Pak ™ C 18 ขนาด 4 ไมโครเมตร

1.2 สารเคมี

1.2.1 Mobile phase แบบ Gradient ใช้ Waters AccQ. Tag Eluent

1.2.2 AQC (AccQ-Flour reagent ; 6-Amino quinolyl-N-hydroxyl succinimidyl carbomate)

1.2.3 Waters Amino Acid hydrolysate standard 1 ml Ampoules ประกอบด้วย กรดอะมิโนไฮโดรไลเซต (hydrolysate amino acid) 17 ชนิด ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ และซีสทีน (cystine) ความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์

1.2.4 กรดไฮโดรคลอริค (hydrochloric acid) หรือกรดซัลฟูริค (sulfuric acid) ความเข้มข้น 6 นอร์มัล

1.3 วิธีวิเคราะห์

1.3.1 เตรียมกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโน 17 ชนิด (ตารางที่ จ1 และภาพที่ จ1)

1.3.2 เตรียมตัวอย่างโดยการแช่ตัวอย่างในกรดไฮโดรคลอริค หรือกรดซัลฟูริคความเข้มข้น 6 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เย็น และตั้งทิ้งไว้

1.3.3 นำส่วนที่ได้จากการย่อยปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาละลายในบัฟเฟอร์ (AccQ Flour Borate Buffer) ปริมาตร 60 ไมโครลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมสาร Water AccQ Flour Reagent Power ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน

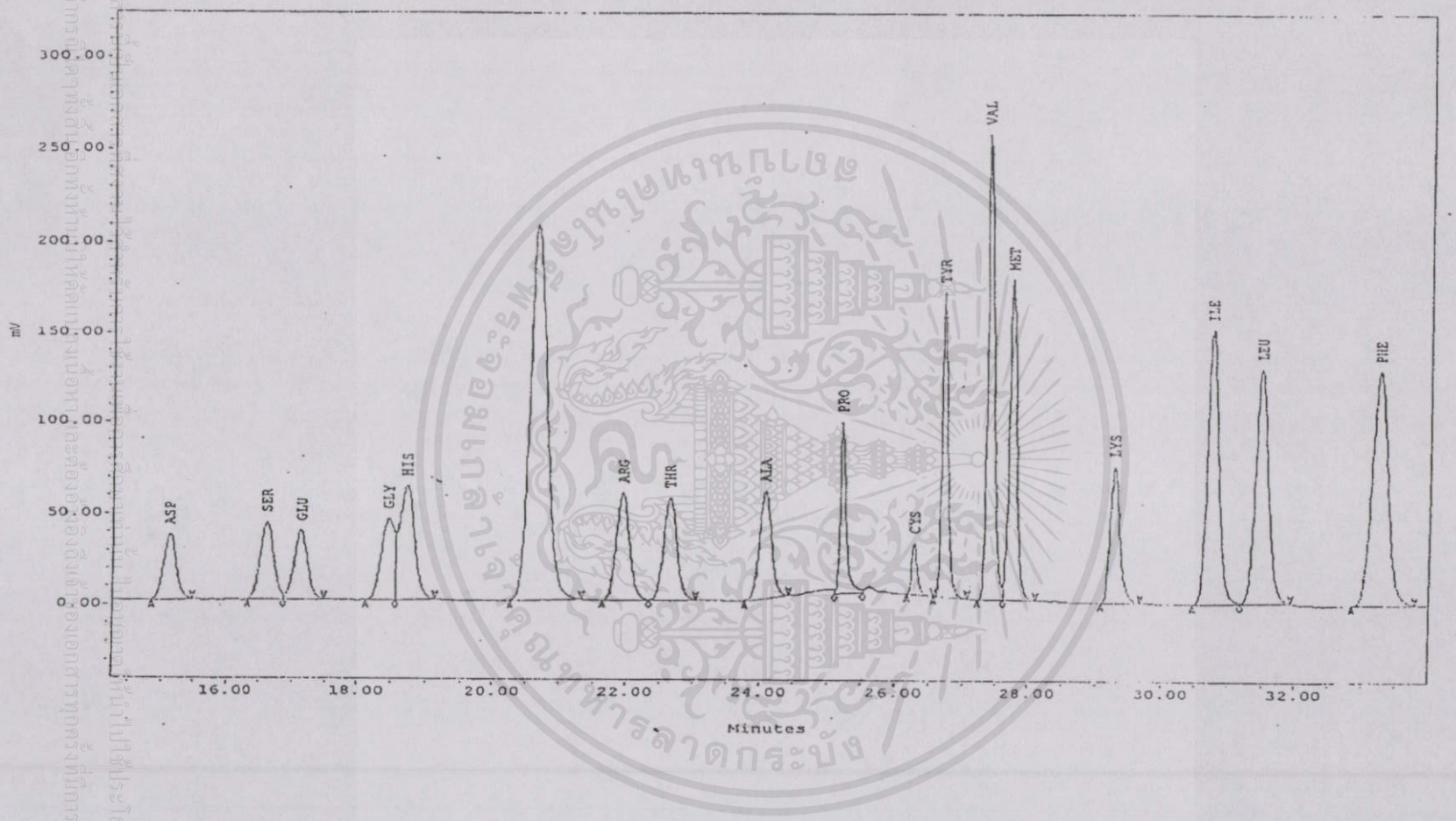
1.3.4 นำตัวอย่างที่เตรียมได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ควบคุมอุณหภูมิที่ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที บันทึกผลและคำนวณผลที่ได้ ผลแสดงดังภาพที่ จ2 จ3 และ จ4

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

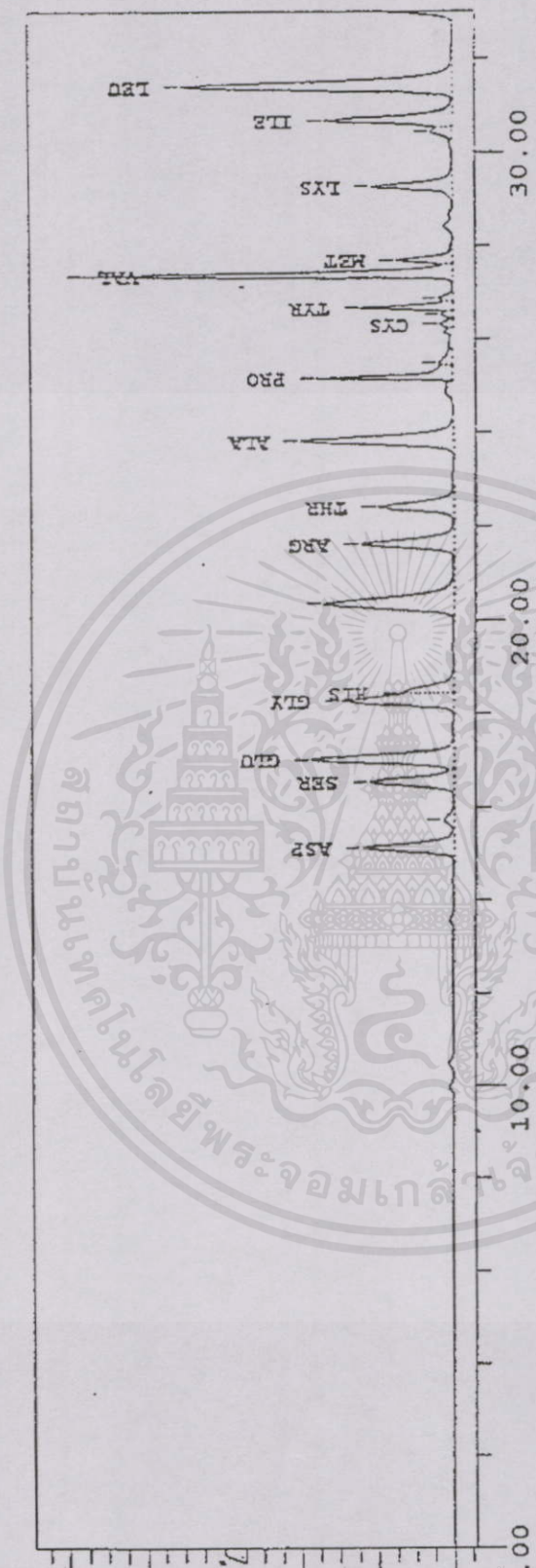
ตารางที่ จ1 ค่า retention time และพื้นที่ใต้กราฟของกรดอะมิโนมาตรฐาน 17 ชนิด

No.	Amino acid	Retention time (min)	Area (uV*sec)	Amount	Units
1	Aspartic acid	15.125	483790	15.000	Pmol/ul
2	Serine	16.617	616518	15.000	Pmol/ul
3	Glutamic acid	17.133	542129	15.000	Pmol/ul
4	Glycine	18.467	605294	15.000	Pmol/ul
5	Histidine	18.725	923436	15.000	Pmol/ul
		20.675	3743239		
6	Arginine	21.942	820276	15.000	Pmol/ul
7	Threonine	22.658	786111	15.000	Pmol/ul
8	Alanine	24.083	742834	15.000	Pmol/ul
9	Proline	25.225	541407	15.000	Pmol/ul
10	Cysteine	26.275	162440	15.000	Pmol/ul
11	Tyrosine	26.717	1062098	15.000	Pmol/ul
12	Valine	27.408	1822267	15.000	Pmol/ul
13	Metionine	27.742	1366368	15.000	Pmol/ul
14	Lysine	29.267	738786	15.000	Pmol/ul
15	Isoleucine	30.742	1833393	15.000	Pmol/ul
16	Leucine	31.483	1714933	15.000	Pmol/ul
17	Phenylalanine	33.250	2130134	15.000	Pmol/ul

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

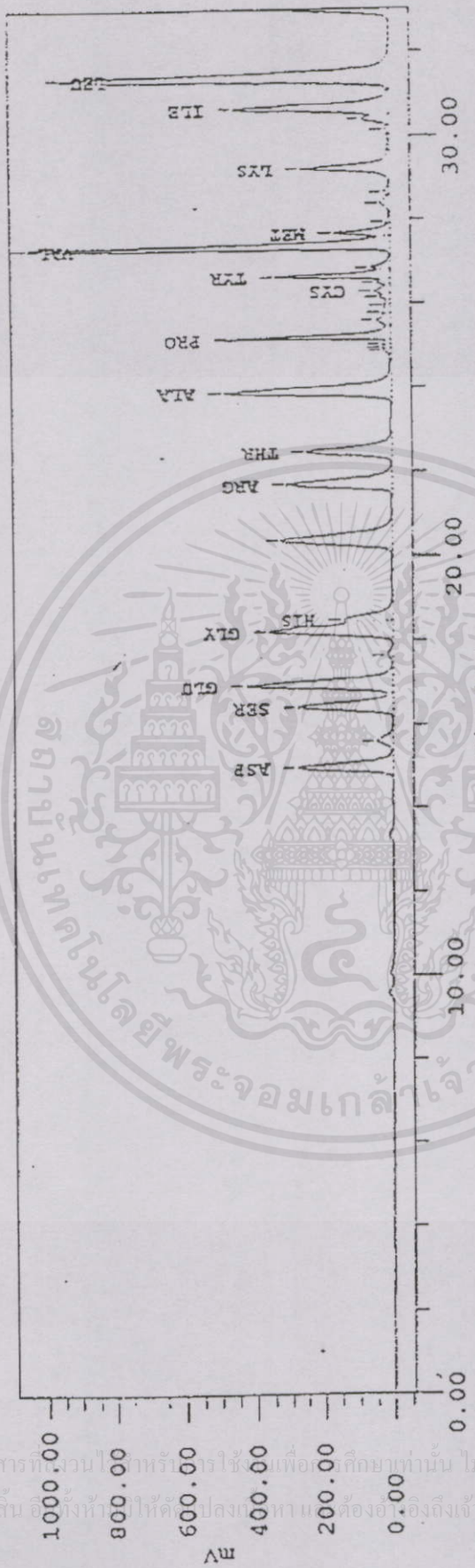


ภาพที่ จ1 โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนมาตรฐาน



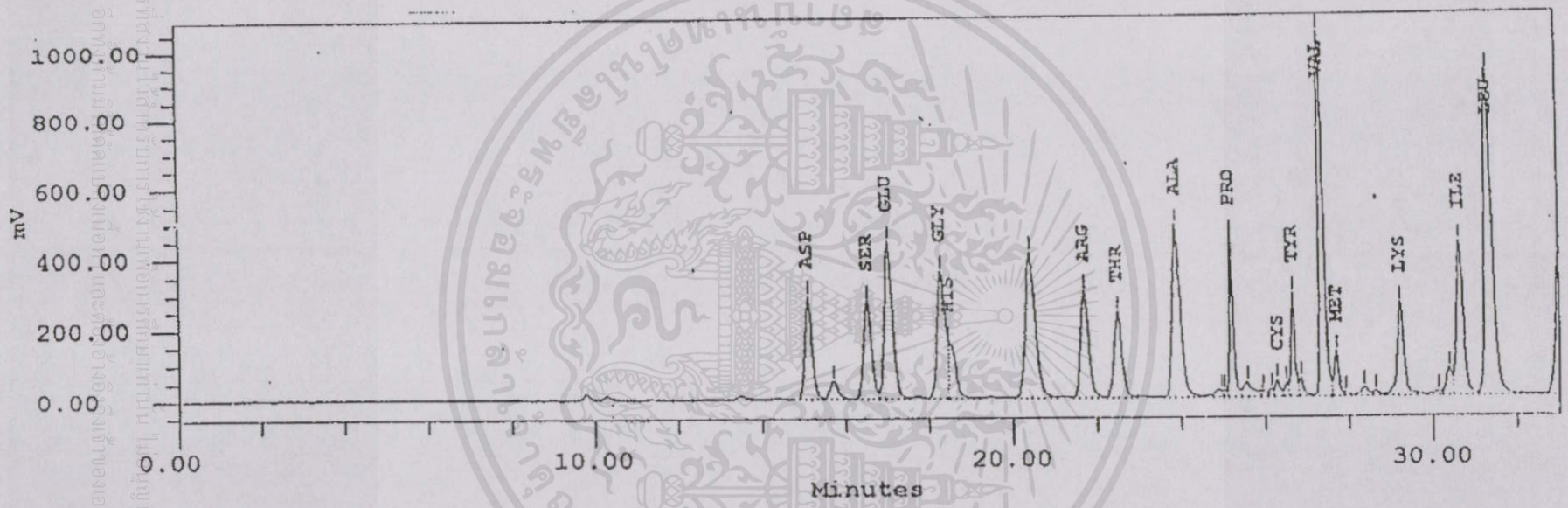
ภาพที่ 32 โครมาโตแกรมของตัวอย่างรำข้าวสกัดไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 23 โครมาโตแกรมของร้าข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตจากเอนไซม์โซลาเนสที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักร้าข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) ที่เวลา 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ จ4 โครมาโตแกรมของรำข้าวโปรตีนสูงที่ผลิตจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน) ที่เวลา 90 นาที

ภาคผนวก ฉ.

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ฉ1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลไซโลส เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง pH และอุณหภูมิในการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	65.160 [a]	23	2.833	204.553	0.000
Intercept	622.944	1	622.944	44977.928	0.000
pH	48.648	7	6.950	501.784	0.000
Temp	6.264	2	3.132	226.130	0.000
pH * Temp	10.249	14	0.732	52.855	0.000
Error	0.332	24	0.01		
Total	688.437	48			

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.995 (Adjusted R squared = 0.990)

ตารางที่ ฉ2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลกลูโคส เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง pH และอุณหภูมิในการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	420.881[a]	26	16.188	26.314	0.000
Intercept	7073.124	1	7073.124	11497.761	0.000
pH	391.186	8	48.898	79.487	0.000
Temp	10.560	2	5.280	8.583	0.001
pH * Temp	19.135	16	1.196	1.944	0.062
Error	16.610	27	0.615		
Total	7510.615	54			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.962 (Adjusted R squared = 0.925)

ตารางที่ ฉ3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.416 [a]	8	0.677	7.020	0.004
Intercept	8148.112	1	8148.112	84489.902	0.000
Conc	2.448	2	1.224	12.691	0.002
Time	0.558	2	0.279	2.891	0.107
Conc * Time	2.410	4	0.603	6.248	0.011
Error	0.868	9	0.09		
Total	8154.396	18			

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.862 (Adjusted R squared = 0.739)

ตารางที่ ฉ4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเยื่อใยในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.826 [a]	8	0.478	7.404	0.003
Intercept	4149.301	1	4149.301	64247.247	0.000
Conc	3.388	2	1.694	26.230	0.000
Time	0.083	2	0.042	0.644	0.548
Conc * Time	0.354	4	0.089	1.372	0.318
Error	0.581	9	0.065		
Total	4153.708	18			

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.868 (Adjusted R squared = 0.751)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในส่วนที่เป็นของเหลวในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0.041 [a]	8	0.005	1.887	0.182
Intercept	24.012	1	24.012	8948.739	0.000
Conc	0.010	2	0.005	1.795	0.221
Time	0.019	2	0.010	3.584	0.072
Conc * Time	0.012	4	0.029	1.084	0.420
Error	0.024	9	0.027		
Total	24.077	18			

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.626 (Adjusted R squared = 0.294)

ตารางที่ ฉ6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.486 [a]	8	3.061	4.872	0.015
Intercept	8897.558	1	8897.558	14163.794	0.000
Conc	21.116	2	10.558	16.807	0.001
Time	2.077	2	1.039	1.653	0.245
Conc * Time	1.292	4	0.323	0.514	0.728
Error	5.654	9	0.628		
Total	8927.697	18			

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.812 (Adjusted R squared = 0.646)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสตาร์ชในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	81.174 [a]	8	10.147	35.056	0.000
Intercept	167.567	1	167.567	578.926	0.000
Conc	48.463	2	24.232	83.718	0.000
Time	30.687	2	15.344	53.010	0.000
Conc * Time	2.024	4	0.506	1.748	0.223
Error	2.605	9	0.289		
Total	251.346	18			

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.969 (Adjusted R squared = 0.941)

ตารางที่ ฉ8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	89.715 [a]	8	11.214	80.483	0.00
Intercept	1103.404	1	1103.404	7918.849	0.000
Conc	68.421	2	34.210	245.519	0.000
Time	19.319	2	9.660	69.325	0.000
Conc * Time	1.975	4	0.494	3.543	0.053
Error	1.254	9	0.139		
Total	1194.373	18			

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.986 (Adjusted R squared = 0.974)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในส่วนที่เป็นของเหลวในรำข้าวโปรตีนสูง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0.108 [a]	8	0.013	1.044	0.470
Intercept	37.990	1	37.990	2941.172	0.000
Conc	0.021	2	0.006	0.444	0.655
Time	0.037	2	0.019	1.448	0.285
Conc * Time	0.059	4	0.0148	1.142	0.396
Error	0.116	9	0.013		
Total	38.214	18			

หมายเหตุ [a] : R squared = 0.481 (Adjusted R squared = 0.020)

ตารางที่ ฉ10 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงที่ได้จากกระบวนการผลิตโดยเอนไซม์ไซลาเนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	p-value
Constant	19.297	0.640942	30.1073	0.0000
X	2.04186	0.920324	2.21863	0.0449
Y	0.0107973	0.00500463	2.15747	0.0503
X*Y	-0.00533844	0.00270751	-1.97171	0.0703
X^2	-0.374333	0.0245654	-1.52382	0.1515

R-SQ.(ADJ) = 0.417 SEE = 0.464 MAE = 0.242 และ DurbWat = 1.23

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

Y = เวลาในการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนส (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงที่ได้จากกระบวนการผลิตโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	p-value
Constant	21.1928	1.3331	15.8974	0.0000
X	18.8765	5.23835	3.60353	0.0032
Y	-0.0381667	0.0492543	-0.77489	0.4523
X^2	-16.0494	4.99208	-3.21497	0.0068
Y^2	0.000416667	0.000406243	1.02566	0.3238

R-SQ.(ADJ) = 0.698 SEE = 0.731 MAE = 0.513 และ DurbWat = 2.39

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

Y = เวลาในการย่อยของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช.
ข้อมูลการทดลองเบื้องต้น

1. การศึกษาผลของขนาดอนุภาคของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส

การศึกษาผลของขนาดอนุภาคของรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันต่อปริมาณโปรตีนในรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลส เตรียมโดยนำเอารำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันชนิดต่าง ๆ คือ รำข้าวที่มีขนาดเล็กกว่า และใหญ่กว่า 40 เมซ และรำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการร่อนมาผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 10 ทำการควบคุม pH และอุณหภูมิ สำหรับเอนไซม์ไซลาเนสทำการควบคุมที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ส่วนของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสทำการควบคุมที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการต้มให้เดือดเป็นเวลา 5 นาที และนำไปลดอุณหภูมิให้เย็นลงทันที จากนั้นทำการกรอง นำส่วนของแข็งที่ได้ไปวิเคราะห์หาโปรตีน

ตาราง ช1 ปริมาณโปรตีนของรำข้าวโปรตีนสูงจากเอนไซม์ไซลาเนส และแอลฟา-อะไมเลสที่ผ่านการสกัดไขมันชนิดต่าง ๆ

ชนิดของรำข้าว	ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง)	
	รำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนส	รำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส
รำข้าวที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 40 เมซ	13.83	16.85
รำข้าวที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 40 เมซ	23.50	24.28
รำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการร่อน	21.97	23.35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวจารุดา วิเศษสรรโชค เกิดวันที่ 4 เมษายน 2520 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) คณะเทคโนโลยีชีวภาพ สาขาเทคโนโลยีการอาหาร จากมหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ ปีการศึกษา 2540 ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ในปี พ.ศ. 2542 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้