

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the senior project authors' files submitted through the faculty.

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในรำข้าวที่ได้มาจากการสกัดด้วยการไฮโดรไลซิส  
ของน้ำกึ่งวิกฤต

โดย

นาย คุณานนต์ ปานสินธ์

นาย เขมชาติ นกอยู่

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ ดร. ดริช กวัคเพฑูรย์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Functional properties of rice bran protein from subcritical  
water extraction

Kunanon Pansint

Khemmachet Nokyoo

Project Advisor

Daris Kuakpetoon, Ph.D

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2018

หัวข้องานวิจัย สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในรำข้าวที่ได้มาจากการสกัดด้วยการไฮโดรไลซิสของ  
น้ำกึ่งวิกฤต

โดย นายคุณานนต์ ปานสินธ์

นายเข้มชาติ นกอยู่

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.ตรีษ กวัคเพฑูรย์

ปีการศึกษา 2561

---

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

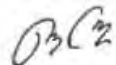
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ประจำปีการศึกษา 2561



.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา ธนานุวงศ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร



.....  
(อาจารย์ ดร. ตรีษ กวัคเพฑูรย์)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในรำข้าวที่ได้มาจากการสกัดด้วยการไฮโดรไลซิสของ

น้ำกึ่งวิกฤต

โดย นายคุณานนต์ ปานสินธ์

นายเขมชาติ นกอยู่

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.ตรีษ กวัคเพฑูรย์

ปีการศึกษา 2561

---

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (Subcritical water extraction; SWE) โดยนำรำข้าวมากำจัดน้ำมันและสตาร์ช จากนั้นนำมาสกัดโปรตีนด้วย SWE ที่อุณหภูมิ 180, 200 และ 220° C เป็นเวลา 30 นาที จะได้สารละลายโปรตีน 3 ชนิด (PSWE180, PSWE200 และ PSWE220) นอกจากนี้ยังนำรำข้าวอีกส่วนมาสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย 1 M NaOH (Alkaline extraction, AE) ซึ่งจะได้สารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดด้วยด่าง (PAE) เพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุม จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ PSWE และ PAE พบว่า SWE จะสามารถสกัดโปรตีนออกจากรำข้าวได้มากกว่า AE โดยเมื่ออุณหภูมิของการสกัดสูงขึ้น SWE จะสกัดโปรตีนได้มากขึ้น ซึ่ง PSWE220 จะมีร้อยละผลผลิตของการสกัดโปรตีนได้สูงที่สุด โดยมีค่าอยู่ที่ 41.78% เมื่อพิจารณาความสามารถในการละลาย (Solubility) พบว่า PSWE สามารถละลายน้ำได้มากกว่า PAE และเมื่ออุณหภูมิของการสกัดสูงขึ้นค่าการละลายของ PSWE ก็จะมีสูงขึ้น โดย PSWE220 จะมีค่าการละลายสูงที่สุดที่ 96.36% เมื่อสารละลายมี pH 2 จากการวิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟม (Foaming capacity) พบว่า PAE จะมีค่าสูงกว่า PSWE โดยจะมีค่าสูงสุดที่ 32 มิลลิลิตร เมื่อสารละลายมี pH 4 และ 8 อย่างไรก็ตามโฟมของ PSWE จะมีค่าความคงตัว (Foam stability) ที่สูงกว่าโฟมของ PAE โดยโฟมของ PSWE200 และ PSWE220 จะมีความคงตัวสูงที่สุด เมื่อพิจารณาถึงสมบัติการเกิดอิมัลชันพบว่า PSWE จะให้ค่าดัชนีกิจกรรมการเกิดอิมัลชัน (Emulsifying activity index) โดยวัดเป็นค่าการดูดกลืนแสง ( $A_{500}$ ) สูงกว่า PAE โดย PSWE180 จะมีค่า  $A_{500}$  สูงที่สุดซึ่งมีค่า 0.96 เมื่อสารละลายมี pH 7 และ 9 นอกจากนี้อิมัลชันของ PSWE ยังมีความเสถียรมากกว่าอิมัลชันของ PAE โดยอิมัลชันของ PSWE180 ที่ pH 7 จะมีความเสถียรดีที่สุด ซึ่งมีค่า 49.81 นาที

**Project Title** Functional properties of rice bran protein from subcritical water extraction

**Student** Khemmachet Nokyoo

Kunanon Pansint

**Study Program** Bachelor of Science in Food Technology

**Advisor** Daris Kuakpetoon, Ph.D

**Academic Year** 2018

---

### ABSTRACT

The objective of this research was to study the functional properties of rice bran protein extracted by subcritical water extraction (SWE). First, rice bran was removed oil and starch then it was extracted protein by SWE at 180, 200, and 220 °C for 30 minutes. Three SWE-protein solutions were obtained (PSWE180, PSWE200, and PSWE220). Rice bran protein was also extracted with alkaline extraction (AE) by 1 M NaOH obtaining AE-protein solution (PAE) and used as a control sample. According to chemical composition analysis of PSWE and PAE, SWE could extract protein from rice bran at a higher yield than AE. The higher extraction temperature, the higher extraction yield was obtained. PSWE220 had the highest extraction yield at 41.78%. According to solubility analysis, PSWE could solubilize at a higher degree than PAE. The solubility of PSWE increased with extraction temperature. PSWE220 had the highest solubility at 96.36% in the solution with pH 2. According to analysis of foaming properties, PAE had higher in foaming capacity (32 ml) than PSWE when the solution had pH at 4 and 8. However, PSWE exhibited higher foam stability than PAE. The foam of PSWE200 and 220 were the most stable. According to emulsion properties, PSWE exhibited a higher emulsifying activity index, measured as absorbance value ( $A_{500}$ ) than PAE. PSWE180 had the highest  $A_{500}$  at 0.96 when the solution had pH at 7 and 9. Furthermore, emulsions of PSWE were also more stable than that of PAE. The emulsion of PSWE180 was the most stable at 49.81 min, pH 7.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความอนุเคราะห์อย่างสูงจากศ.ดร.อาทิวรรณ โชติพิทักษ์ ผู้สนับสนุนเครื่องมือในการสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ณ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาควิชาวิศวกรรมเคมี ซึ่งโครงการนี้สามารถลุล่วงด้วยการให้คำแนะนำ ข้อคิด และความช่วยเหลือทั้งทางด้านข้อมูล และแนวทางการวิจัยที่ถูกต้อง ตลอดจนการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เป็นระยะเวลา 1 ปี ทำให้งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์จาก อ.ดร.ตรีช กวักเพฑูรย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ และ สารเคมีสำหรับในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ น.ส. พรรณีภา ได้สุข นิสิตปริญญาเอก คณะวิศวกรรมศาสตร์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี และรุ่นพี่ปริญญาโทภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด

ขอขอบคุณเพื่อนในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่สละเวลามาช่วยเหลือในส่วนที่ผู้วิจัยบกพร่อง และยังเป็นกำลังใจที่สำคัญในการให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้

ผู้จัดทำโครงการ

## สารบัญ

บทที่	หน้า
1. บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	2
2. แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ข้าว	3
2.2 รำข้าว	4
2.3 โพรตีนในรำข้าว	5
2.4 การสกัดโปรตีนจากรำข้าว	7
2.4.1 การสกัดโปรตีนจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยสารละลายต่าง (alkali extraction)	7
2.4.2 การสกัดโปรตีนจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (subcritical water extraction)	7
2.4.3 น้ำกึ่งวิกฤต (Subcritical water)	8
2.5 Proximate composition ของโปรตีนรำข้าว	8
2.6 ค่าสีของโปรตีนในรำข้าว	10
2.7 การวิเคราะห์กรดอะมิโนในโปรตีนรำข้าว	11
2.8 สมบัติทางหน้าที่ (functional properties) ของโปรตีนในรำข้าว	13



2.8.1	การละลายของโปรตีน/ไนโตรเจน (Nitrogen solubility)	13
2.8.2	ความสามารถในการดูดซึมน้ำ (Water absorption capacity)	14
2.8.3	ความสามารถในการดูดซึมน้ำมัน (Oil absorption capacity)	15
2.8.4	ความหนาแน่นรวม (Bulk density)	15
2.8.5	สมบัติในการเกิดโฟม (Foaming properties)	15
2.8.6	สมบัติการเป็น Emulsion (Emulsifying properties)	16
2.8.7	คุณสมบัติทางอุณหภูมิจ (Thermal properties)	17
2.9	คุณสมบัติทางกายภาพของรำข้าว	18
2.9.1	สี (color)	18
2.9.2	ค่า activity ของน้ำ (Water activity)	19
2.9.3	ขนาดของอนุภาค (Particle size)	19
2.9.4	ความหนาแน่นรวม (Bulk density)	20
3.	วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1	สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	21
3.1.1	วัตถุติดบ	21
3.1.2	สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	21
3.1.3	วัสดุและครุภัณฑ์	23
3.2	วิธีการทดลองที่ใช้ในงานวิจัย	25
3.2.1	การสกัดโปรตีนจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยสารละลายต่าง (alkali extraction)	25
3.2.2	การสกัดโปรตีนออกจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยน้ำกึ่งวิกฤต(subcritical water extraction)	25

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว	26
3.2.4 การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	26
3.2.4.1 การละลายของโปรตีน	26
3.2.4.2 กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน	26
3.2.4.3 ความสามารถที่จะเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟม	26
3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย	27
3.3.1 การเตรียมสารละลายโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	27
3.3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสกัดไขมันและรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ช	27
3.3.3 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	27
3.3.4 วิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของสารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	27
3.3.4.1 วิเคราะห์การละลายของโปรตีน	27
3.3.4.2 วิเคราะห์กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน	28
3.3.4.3 วิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟม	28
4. ผลและวิจารณ์การทดลอง	
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ	29
4.2 ปริมาณของโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	30
4.3 การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	31
4.3.1 การละลายของโปรตีน	31

4.3.2 ความสามารถในการเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟม	32
4.3.3 กิจกรรมของอีมีลชั่น และ ความเสถียรของอีมีลชั่น	39
5. สรุปการทดลอง	41
บรรณานุกรม	42
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก.	49
ภาคผนวก ข.	61
ภาคผนวก ค.	63
ภาคผนวก ง.	85
ภาคผนวก จ.	86

## สารบัญตาราง

### ตารางที่

2.1	องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวและไฟเบอร์ของรำข้าว	4
2.2	การเปรียบเทียบของกรดอะมิโนจากโปรตีนรำข้าว เทียบกับปริมาณที่เด็กทารกและเด็กเล็กต้องการ	6
2.3	Physico-chemical properties, bulk density, water/oil absorption capacity, surface hydrophobicity และ in vitro digestibility ของ โปรตีนรำข้าวสกัดไขมันจาก 3 สายพันธุ์	9
2.4	กรดอะมิโนของโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันใน 3 สายพันธุ์	12
2.5	องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีประจุ และกรดอะมิโนที่ไม่มีประจุของโปรตีนรำข้าวสกัดไขมัน	13
2.6	การเปรียบเทียบค่า Water absorption, Oil absorption, Bulk density ระหว่าง Caseinกับโปรตีนรำข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์	14
2.7	การแบ่งแยกขนาดอนุภาคของรำข้าว	19
2.8	ความแตกต่างรำที่ถูกทำให้เสถียรแล้ว	20
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสกัดไขมัน และ รำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ช	29
4.2	ร้อยละผลผลิตในการสกัดโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	30
4.3	การละลายของสารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	32
4.4	ความสามารถที่จะเกิดโฟมของโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	33
4.5	กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชันของโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต	40

## สารบัญรูป

รูปที่

2.1 Principal component analysis (PCA)biplot of different properties of rice bran protein concentrates. ESI: emulsion stability index, EAI: emulsion activity index, PAA: polar amino acids, A/B: acidic to basic amino acids ratio, WAC: water absorption activity, OAC: oil absorption activity, PC: protein concentration, PS: protein solubility, RCs: random coils, SH <sub>0</sub> : surface hydrophobicity, Td: denaturation temperature, dH: enthalpy of denaturation, FC: foaming capacity, IVDP: in vitro digestibility, Arg/Lys: Arginine/Lysine.	18
4.1 สารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 180 200 และ 220 °C ตามลำดับ	30
4.2 ความคงตัวของโฟม PAE ที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10	35
4.3 ความคงตัวของโฟม PSWE180 ที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10	36
4.4 ความคงตัวของโฟม PSWE200 ที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10	37
4.5 ความคงตัวของโฟม PSWE220 ที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10	38

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ข้าวถือเป็นอาหารที่เรียบง่ายที่สุดสำหรับคนที่อาศัยอยู่ในประเทศแถบเอเชีย โดยมีประมาณ 610 ล้านตันของข้าวที่ถูกผลิตต่อปี (IRRI, 2004) โดยประเทศที่ผลิตข้าวเกินครึ่งหนึ่งของโลกเป็นประเทศในแถบเอเชีย เช่น จีน, อินเดีย, อินโดนีเซีย, บังคลาเทศ, เวียดนาม, ไทย ด้วยปริมาณการผลิตข้าวที่มากนี้ทำให้มีปริมาณ by product ที่มากไปด้วย โดยหนึ่งใน by product ที่สำคัญ คือ รำข้าวซึ่งคิดเป็น 8 % ของข้าวที่ผ่านการโม่แล้ว (Shih และคณะ, 1999) รำข้าวเป็นแหล่งโปรตีน, ไขมัน, วิตามิน, เกลือแร่และแหล่งพลังงาน โดยน้ำมันจากรำข้าวสามารถนำมาทำเป็นน้ำมันคุณภาพดีสำหรับทำอาหารได้ ในขณะที่รำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันไปแล้วจะมีปริมาณโปรตีนที่สูงแต่ยังไม่ได้เอาไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพและกว้างขวาง ซึ่งมีคุณสมบัติที่น่าสนใจ เช่น มีปริมาณlysine ในปริมาณมาก และยังเป็นโปรตีนที่ก่อให้เกิดอาการแพ้ น้อยกว่า เมื่อเทียบกับโปรตีนชนิดอื่น (hypoallergenic) ซึ่งวิธีที่เป็นที่นิยมในการสกัดโปรตีนจากรำข้าว คือ การสกัดด้วยสารละลายต่าง ตามด้วยการตกตะกอนด้วยกรด ซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากสารเคมีที่นำมาใช้ในการสกัดนี้หาซื้อได้ง่าย (Connor และคณะ, 1977; Jiamyangyuen และคณะ, 2005) แต่ยังได้ผลผลิตของโปรตีนที่น้อยเนื่องจากการเสียดสภาพที่ pH สูง และต่างที่เหลืออยู่ยังต้องผ่านการล้างทำให้เกิดน้ำเสียปริมาณมาก (Goto และคณะ, 2008) จึงทำให้มีวิธีการสกัดโปรตีนใหม่ๆเป็นทางเลือก เช่น การใช้เอนไซม์, การใช้วิธีทางกายภาพและการใช้น้ำกึ่งวิกฤตในการสกัด (Fabian และคณะ, 2011) ซึ่งการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตก็เป็นอีกหนึ่งวิธีที่น่าสนใจ เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติในการเร่งไฮโดรไลซิสได้โดยการปรับอุณหภูมิและความดัน (ปราโมทย์ คุวิจิตรจากรู, 2012)

ทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีน อีกทั้งยังเป็นวิธีการสกัดที่ไม่มีการใช้สารเคมีทำให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และ ยังได้ผลผลิตผลของโปรตีนมากกว่าการสกัดด้วยต่างอีกด้วย แต่ยังไม่มียานวิจัยที่ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ที่อาจมีสมบัติที่เปลี่ยนไปเนื่องจากอุณหภูมิที่สูง และค่าคงที่การแตกตัว (ion product) ของน้ำที่สูงขึ้น งานวิจัยนี้จึงนำโปรตีนจากรำข้าวมาสกัดด้วยสารละลายด้วยต่าง และสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต มาศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในรำข้าว ได้แก่ สมบัติทางการละลายของโปรตีน, สมบัติการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน, สมบัติการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม เพื่อเปรียบเทียบสมบัติที่แตกต่างกันของทั้ง 2 วิธีนี้ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปแปรรูปอื่นๆ ที่มีคุณค่าต่อผู้บริโภค

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ที่จะสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

1.2.2 เพื่อศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิต่างๆ โดยเปรียบเทียบกับโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายต่าง

## 1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย

นำรำข้าวมากำจัดไขมันและสตาร์ชออก และนำมาสกัดโปรตีนด้วยน้ำกึ่งวิกฤต โดยแปรอุณหภูมิการสกัด นอกจากนั้นนำรำข้าวมาสกัดโปรตีนด้วยสารละลายต่างเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุม จากนั้นนำโปรตีนที่สกัดได้มาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในรำข้าว ได้แก่ การละลายของโปรตีน (Protein solubility), สมบัติในการเกิดโฟม (Foaming properties), สมบัติการเป็นอิมัลชัน (Emulsifying properties)

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1.4.1 ทราบสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวจากการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตเพื่อนำไปต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ในอนาคต

1.4.2 ทราบวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวที่เหมาะสม โดยคำนึงจากปริมาณผลผลิตที่ได้ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดมาได้

## บทที่ 2

### แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ข้าว

ข้าวเป็นธัญพืช (cereal grain) ชนิดหนึ่ง เมล็ดข้าวหุ้มด้วยชั้นเปลือกหลายชั้น ได้แก่ ชั้นนอกสุดเป็น แกลบ (husk) ซึ่งเป็นเซลลูโลส (cellulose) และ เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เมื่อสีเอาชั้นแกลบออกจะได้ข้าว กัดอง ในเมล็ดข้าวกัดองประกอบด้วย จมูกข้าวหรือคัพภะ (germ หรือ embryo) และส่วนเอนโดสเปอร์ม หรือ ข้าวขาว ห่อหุ้มด้วยชั้นรำข้าว (rice bran) ซึ่งประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ดหลายชั้น เยื่อออเลอรอน (aleurone layer) หรือชั้นรำละเอียด เป็นชั้นในสุดที่ติดกับเอนโดสเปอร์ม มีโปรตีนสูง และไขมันสูง นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วย cellulose และ hemicellulose จมูกข้าว (germ) อยู่ติดกับ endosperm ทางด้าน lemma เป็นส่วนที่จะเจริญ เป็นต้นต่อไปประกอบด้วย ต้นอ่อน (plumule) รากอ่อน (radicle) เยื่อหุ้มต้นอ่อน (coleoptile) เยื่อหุ้มรากอ่อน (coleorhiza) ท่อน้ำท่ออาหาร (epiblast) และใบเลี้ยง (scutellum) มีโปรตีน และลิพิด (lipid) วิตามินและ แร่ธาตุสูง

เอนโดสเปอร์ม (endosperm) คือส่วนเมล็ดข้าวสารที่นำมารับประทานมีส่วนประกอบส่วนใหญ่ คือ คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ที่เป็นสตาร์ช (starch) ซึ่งมี amylose และ amylopectin เป็นส่วนประกอบ หลัก อยู่รวมเป็นเม็ดสตาร์ช (starch granule) โปรตีนในข้าวที่ขัดสีแล้วมีปริมาณ ร้อยละ 7 ถึง 8 โดยสามารถ จำแนกตามความสามารถในการละลายได้ 4 ชนิด คือ albumin, globulin, prolamin และ glutelin ซึ่งโปรตีน เหล่านี้มีบทบาทในการขัดขวางการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (starch granule) (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์, 2010)



## 2.2 รำข้าว

รำข้าวมีการใช้งานอย่างมากในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเพิ่มคุณภาพทางโภชนาการของอาหารแปรรูป รำข้าวมีเส้นใยสูง และ ในด้านของทางการอุตสาหกรรมนั้นสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้า หรือ เพิ่ม Functional Foods ในสินค้า ในปัจจุบันการเสริมรำข้าวได้รับการประสบความสำเร็จในอาหารต่างๆ เช่น ขนมปัง, เค้ก, ก๋วยเตี๋ยว, พาสต้าและไอศกรีม โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่มีผลต่อคุณสมบัติการทำงานและเนื้อสัมผัส รำข้าวเป็น by-product ที่เกิดจากการโม่ข้าว โดยจะได้จากส่วนชั้นนอกของ brown(husked) kernel ของข้าว ที่จะได้ระหว่างโม่ข้าว เมื่อเทียบกับน้ำหนักทั้งหมดของข้าวแล้ว รำข้าวคิดเป็น 10% ขององค์ประกอบทั้งหมด (Hu และคณะ, 1996) ในด้านองค์ประกอบของรำข้าวนั้นจะประกอบไปด้วย เหล็ก, ฟอสฟอรัสและแมกนีเซียม 11 %, มีปริมาณโปรตีน 13% มีปริมาณใยอาหาร 11.5% และมีไขมัน 20% ซึ่งสามารถนำมาทำเป็นตารางองค์ประกอบได้ ดังนี้

**ตารางที่ 2.1** องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว และ ไฟเบอร์ของรำข้าว

Parameters	Moisture (g/100 g)	Protein (g/100 g)	Fat (g/100 g)	Ash (g/100 g)	Digestible carbohydrates (g/100 g)	Dietary fiber (g/100 g)
Rice bran	12.12±0.25	12.32±0.24	20.31±0.92	8.73±0.08	17.92±0.26	28.60±0.32
Rice bran fiber	11.73±0.32	21.91±0.43	4.31±0.43	7.42±0.24	1.38±0.18b	53.25±0.79

ที่มา: Gul และคณะ (2015)

ตารางที่ 2.1(ต่อ) องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว และไฟเบอร์ของรำข้าว

Parameters	pH	L	a	b
Rice bran	6.85±0.10	68.85±0.18	3.49±0.05	18.07±0.081
Rice bran fiber	7.07±0.04	66.10±0.20	4.73±0.04	16.06±0.06

อย่างไรก็ตามองค์ประกอบของสารต่างๆในรำข้าวขึ้นอยู่กับ ชนิดของข้าว, สภาพอากาศและกระบวนการแปรรูปข้าว ในแต่ละปี 90% ของรำข้าวที่ผลิตขึ้นทั่วโลกได้ถูกนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ราคาถูกสำหรับหมูและไก่ นอกจากนี้ยังมีการนำมาสกัดเป็นน้ำมันรำข้าว รำข้าวถือเป็นวัตถุดิบที่มีอายุการเก็บรักษาสั้นเนื่องจากมีปริมาณไขมันที่มาก และมีเอนไซม์ lipase ซึ่งจะทำให้รำข้าวเกิดการเหม็นหืนและไม่สามารถรับประทานได้ วิธีการทำให้รำข้าวมีความเสถียร (stabilize) ขึ้น สามารถทำได้โดยการทำให้เอนไซม์ lipase เสีย activity ในการย่อย เพื่อให้สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ เนื่องจากรำข้าวมีสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายในปริมาณที่สูง ได้แก่ แกลีอแร้, วิตามิน, ไฟเบอร์, กรดอะมิโน และมีองค์ประกอบของสาร antioxidant โดยเฉพาะ tocopherols, tocotrienol และ oryzanols โดย oryzanols มีสมบัติในการเป็น antioxidant ที่สูงกว่า tocopherols 10 เท่า และ tocotrienol มีสมบัติในการเป็น antioxidant สูงกว่า tocopherols 40-60 เท่า โดยในทางอุตสาหกรรมรำข้าวได้มีบทบาทในการเสริมคุณค่าทางโภชนาการให้แก่อาหารแปรรูป นอกจากนี้รำข้าวยังมี dietary fiber ในปริมาณที่สูงจึงนิยมนำมาเพิ่มคุณค่าของอาหาร รวมถึงทำมาเป็น functional foods รำข้าวจึงนิยมนำมาใช้ในอาหารหลายประเภท เช่น ขนมปัง, เค้ก, เส้นก๋วยเตี๋ยว, ไอศกรีม เป็นต้น โดยอาหารที่ถูกใส่ลงไปจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสมบัติเชิงหน้าที่กักรสสัมผัสของอาหาร

### 2.3 โปรตีนในรำข้าว

โปรตีนในรำข้าวส่วนใหญ่จะเป็น storage protein ได้แก่ albumin, globulin, prolamin, glutelin โดยคิดเป็นอัตราส่วน คือ 34% albumin, 15% globulin, 6% prolamin และ 22% glutelin (Hamada, 1997) ส่วนองค์ประกอบของ amino acid ในรำข้าวนั้นเมื่อนำมาเทียบกับปริมาณขั้นต่ำของกรดอะมิโนจำเป็นในเด็กทารก (FAO/WHO/UNU, 1985) ปรากฏว่า มีปริมาณ valine (63 mg/g ของ protein), histidine (29 mg/g ของ protein) และ tyrosine (33 mg/g ของ protein) ที่สูงกว่าปริมาณขั้นต่ำที่ทารกต้องการ แต่อย่างไรก็ตาม

ปริมาณ leucine, isoleucine, lysine, threonine และ tryptophan ในรำข้าวยังมีปริมาณที่ไม่เพียงพอแก่เด็กทารก

**ตารางที่ 2.2** ตารางการเปรียบเทียบของกรดอะมิโนจากโปรตีนรำข้าว เทียบกับปริมาณที่เด็กทารกและเด็กเล็กต้องการ

Amino acids	Infant (mg/g of protein)	2-5 years (mg/g of protein)	Rice bran protein (mg/g of protein)
His	26	19	29
Ile	46	28	39
Leu	93	66	74
Lys	66	58	47
SAA <sup>a</sup>	42	25	38
ARM <sup>b</sup>	72	63	79
Thr	43	43	37
Trp	17	11	12
Val	55	35	63

SAA<sup>a</sup>: กรดอะมิโนที่มี sulfur เป็นองค์ประกอบ Met และ Cys;<sup>b</sup>ARM: aromatic amino acids Phe และ Trp.

ที่มา: FAO/WHO/UNU (1985)

## 2.4 การสกัดโปรตีนจากรำข้าว

### 2.4.1 การสกัดโปรตีนจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยสารละลายต่าง (alkali extraction)

เป็นวิธีพื้นฐานของการสกัดโปรตีนจากรำข้าว เพราะใช้หลักการที่ง่ายและสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการก็ง่ายต่อการซื้อ จึงเป็นข้อดีของการสกัดด้วยวิธีนี้ แต่ข้อเสียของการสกัดด้วยสารละลายต่าง คือ ได้ผลผลิตของโปรตีนที่น้อยเนื่องจากการเสียสภาพที่ pH สูง และค่าที่เหลืออยู่ยังต้องผ่านการล้างทำให้เกิดน้ำเสียปริมาณมาก (Goto และคณะ, 2008) จากการทดลองของ Jiamyangyuen และคณะ (2005) เป็นขั้นตอนการสกัดด้วยต่างโดยขั้นแรกนำรำข้าวไร้ไขมันไปแขวนลอยในน้ำกลั่นประมาณ 20% solid content จากนั้นนำ 5 ml ของสารแขวนลอยไปปรับ pH ให้เท่ากับ 11 โดยสารละลาย NaOH 0.2M โดยใช้อุณหภูมิที่ 30 °C และใช้เวลาในการ hydrolysis เป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นทำการปรับ pH ของสารแขวนลอยให้ได้ pH เท่ากับ 7 ด้วยสารละลาย 0.2 M HCl เพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำรำข้าวที่เหลืออยู่แยกออกจากส่วนที่ละลายได้ (soluble product) ด้วย vacuum filter ด้วยการใช้กระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วนำส่วนนั้นไปชั่งน้ำหนักหลังจากอบแห้งที่ 65 °C ด้วยเตาอบ และโปรตีนจะอยู่ในส่วนที่ละลายน้ำอยู่

### 2.4.2 การสกัดโปรตีนออกจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (subcritical water extraction)

จากการทดลองของ Goto และคณะ (2008) ได้ทำการสกัดโปรตีนจากรำข้าวไร้ไขมัน (จากรำข้าวพันธุ์ *Oryza sativa*) จากการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ในขั้นแรกจะนำรำข้าวไปแขวนลอยในน้ำกลั่นประมาณ 20% solid content จากนั้นนำ 5 ml ของสารแขวนลอยไปใส่ใน reactor (8.8 ml Stainless steel batch reactor) แล้วจึงอัด nitrogen เพื่อไล่อากาศออก จากนั้นให้ความร้อนแก่ reactor ตามอุณหภูมิที่ต้องการ โดยการทดลองนี้จะใช้ที่อุณหภูมิ 100-220 °C จากเครื่อง electric furnace heater ส่วนความดันใน reactor จะใช้ไอน้ำอิ่มตัวที่ความดันในช่วง 101.35 kPa และ 3.97 MPa ตามอุณหภูมิที่ใช้ ในการทำการสกัดโปรตีนนี้จะเริ่มด้วยการใช้ electric furnace ให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการ จากนั้นใส่ reactor เข้าไปใน furnace ซึ่งจะทำให้อุณหภูมิลดลงไป 2-3 °C จึงต้องใช้เวลาประมาณ 1 ถึง 3 นาทีในการให้ความร้อน reactants ให้มีอุณหภูมิที่ต้องการอีกครั้ง ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นภายในเวลา 5-30 นาที จากนั้นจะนำ reactor ไปทำให้เย็นลงอย่างฉับพลันที่อุณหภูมิห้องโดยการแช่ลงใน cool water bath ซึ่งกระบวนการทำให้เย็นนี้จะใช้เวลาประมาณ 3 ถึง 5 นาที จากนั้นแยกรำข้าวที่เหลืออยู่จากสารแขวนลอยด้วยการใช้ vacuum filter โดยการใช้กระดาษกรอง Whatman No.1 จากนั้นนำของแข็งที่ได้ไปชั่งน้ำหนักหลังจากการทำแห้งใน vacuum oven ที่อุณหภูมิ 65 °C โดยโปรตีนจะอยู่ในส่วนที่เป็น

น้ำ (soluble product) ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 100 °C และ 220 °C เป็นเวลา 0-30 นาที จะได้ปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่สูงกว่าการสกัดด้วยสารละลายต่าง โดยผลผลิตที่ได้จะแปรผันตรงกับอุณหภูมิที่ใช้และเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส แต่อย่างไรก็ตามการไฮโดรไลซิสเป็นเวลานานก็จะทำให้เกิด thermal degradation ของผลิตภัณฑ์ขึ้น โดยผลิตผลสูงสุดที่ได้จากการสกัดโปรตีน และกรดอะมิโน คือ  $219 \pm 26$  และ  $8.0 \pm 1.6$  mg/g ของ dry bran ตามลำดับ โดยทำการไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 200 °C เป็นเวลา 30 นาที ยิ่งไปกว่านั้นการใช้ อุณหภูมิ 200 °C เป็นเวลาที่มากกว่า 30 นาที จะไปยับยั้งสมบัติ antioxidant และสามารถนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ได้

### 2.4.3 น้ำกึ่งวิกฤต (Subcritical water)

น้ำกึ่งวิกฤต คือ น้ำที่ยังคงสถานะของเหลวที่อุณหภูมิระหว่างจุดเดือดที่ความดันบรรยากาศกับอุณหภูมิวิกฤต (Critical temperature = 374 °C) หรือน้ำที่มีอุณหภูมิตั้งแต่ 100 – 374 °C ซึ่งที่อุณหภูมิเหล่านี้จะต้องใช้ความดันในการทำให้น้ำยังคงสถานะของเหลวได้อยู่โดยความดันที่ใช้จะอยู่ในช่วง 16 bars ที่อุณหภูมิ 200 °C จนถึง 226 bars ที่อุณหภูมิ 374 °C ซึ่งคุณสมบัติสำคัญของน้ำกึ่งวิกฤต ได้แก่ 1.สมบัติ dielectric constant ลดลงที่จะส่งผลต่อความมีขั้วของน้ำทำให้น้ำกึ่งวิกฤตมีพฤติกรรมคล้ายกับตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ทำให้สามารถทำละลายสารไม่มีขั้วได้ดีกว่าน้ำที่สภาวะปกติมาก โดยที่อุณหภูมิ 200 °C น้ำจะมี dielectric constant เท่ากับ methanol ที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมิ 297 °C จะทำให้น้ำสามารถละลาย benzene ได้ 2.ค่าคงที่การแตกตัว ( $K_w$ ) ที่สูงขึ้นโดยน้ำที่ความดัน 15 MPa ค่า  $\log(K_w)$  มีค่าเพิ่มขึ้นจาก -14 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็น -11.3 ที่อุณหภูมิในช่วง 200 -250 °C ซึ่งส่งผลให้มีความเข้มข้นของ  $H_3O^+$  และ  $OH^-$  เพิ่มขึ้นซึ่งเปรียบเสมือนการเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดและเบส จึงส่งผลให้มีอัตราการไฮโดรไลซิสที่มากขึ้น ทำให้เหมาะแก่การสกัดสารชีวโมเลกุลจำพวก คาร์โบไฮเดรตและโปรตีน (ปราโมทย์ ครุวิจิตรจารุ, 2012)

### 2.5 Proximate compositionของโปรตีนรำข้าว

จากการทดลองของ Singh และ Sogi (2018) รำข้าวสกัดไขมันจากทางการค้ามีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ 17.6 – 19.8 %db ส่วนของเถ้าและเส้นใย อยู่ในช่วงตั้งแต่ 11.64 – 13.04 %db และ 11.67 – 13.25 %db ตามลำดับ คาร์โบไฮเดรต และไขมัน 52 – 55%db และ 3.5 - 3.8 %db ตามลำดับ superfine rice bran มีปริมาณโปรตีน (19.82%, db) เมื่อเทียบกับพันธุ์อื่น coarse rice bran มีเถ้า (13.04 %, db) และเส้นใย

(13.25 %, db) สูง อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ทางสถิติ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ของรำข้าวทั้งสามพันธุ์ (superfine rice bran, fine rice bran, coarse rice bran)

**ตารางที่ 2.3** Physico-chemical properties, bulk density, water/oil absorption capacity, surface hydrophobicity และ in vitro digestibility ของ โปรตีนรำข้าวสกัดไขมันจาก 3 สายพันธุ์

		Protein concentrates		
		SF-RBPC	F-RBPC	C-RBPC
<b>Constituents, % (dry basis)</b>	Ash	3.87 ± 0.44 <sup>a</sup>	3.63 ± 0.23 <sup>a</sup>	3.76 ± 0.02 <sup>a</sup>
	Fibre	NIL	NIL	NIL
	Protein	67.52 ± 0.68 <sup>b</sup>	72.16 ± 1.12 <sup>a</sup>	70.92 ± 1.47 <sup>a</sup>
	Fat	0.36 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>a</sup>
	Carbohydrate	28.25 ± 1.43 <sup>a</sup>	23.91 ± 1.86 <sup>b</sup>	25.01 ± 1.74 <sup>ab</sup>
<b>Minerals, mg/100 g</b>	Copper	15.71 ± 0.07 <sup>a</sup>	11.57 ± 0.17 <sup>b</sup>	11.50 ± 0.09 <sup>b</sup>
	Manganese	0.76 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.68 ± 0.00 <sup>ab</sup>
	Iron	29.65 ± 0.13 <sup>a</sup>	21.88 ± 0.09 <sup>b</sup>	20.44 ± 0.05 <sup>c</sup>
	Zinc	4.19 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.41 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.38 ± 0.00 <sup>b</sup>
	Magnesium	974 ± 0.36 <sup>a</sup>	930 ± 0.24 <sup>b</sup>	642 ± 0.17 <sup>c</sup>
<b>CIE color values</b>	Potassium	758 ± 0.19 <sup>c</sup>	1277 ± 0.77 <sup>a</sup>	1001 ± 0.94 <sup>b</sup>
	<i>L</i> *	67.75 ± 0.24 <sup>a</sup>	63.91 ± 0.16 <sup>b</sup>	62.47 ± 0.32 <sup>c</sup>
	<i>a</i> *	2.79 ± 0.02 <sup>c</sup>	4.27 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.22 ± 0.02 <sup>b</sup>
	<i>b</i> *	13.69 ± 0.15 <sup>a</sup>	13.41 ± 0.05 <sup>b</sup>	13.42 ± 0.10 <sup>b</sup>
<b>Surface hydrophobicity</b>	WI	26.69 ± 0.42 <sup>a</sup>	23.69 ± 0.14 <sup>b</sup>	22.23 ± 0.22 <sup>c</sup>
		473.99 ± 2.78 <sup>c</sup>	555.97 ± 2.40 <sup>a</sup>	499.84 ± 4.23 <sup>b</sup>
<b>Water absorption capacity, g/g</b>		4.09 ± 0.23 <sup>a</sup>	3.80 ± 0.22 <sup>b</sup>	3.78 ± 0.23 <sup>b</sup>
<b>Oil absorption capacity, g/g</b>		2.72 ± 0.15 <sup>b</sup>	3.30 ± 0.17 <sup>a</sup>	3.06 ± 0.16 <sup>ab</sup>
<b>In vitro digestibility, %</b>		53.33 ± 1.95 <sup>a</sup>	48.34 ± 3.24 <sup>b</sup>	46.96 ± 1.11 <sup>c</sup>

SF-RBPC: superfine; F-RBPC: fine; C-RBPC: coarse bran protein concentrate; WI: whitening index, RBPCs: rice bran protein concentrates, ค่าในตาราง คือ mean ± SD ของการพิจารณา 3 treatment ที่อิสระต่อกัน, a, b ...อักษรต่างกันเป็นหลักเดียวกันของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ที่มา: Singh และ Sogi (2018)

ปริมาณโปรตีนของโปรตีนรำข้าวเข้มข้น (rice bran protein concentrate; RBPCs) จาก 3 สายพันธุ์อยู่ในช่วงระหว่าง 67.5 – 72.2%db ซึ่งแสดงในตารางที่ 2.3 โดยสามารถเรียงลำดับปริมาณโปรตีนจากมากไปน้อยได้ดังนี้ RBPCs จากfine cultivars (F-RBPC), coarse (C-RBPC) และsuperfine cultivars(SF-RBPC) ตามลำดับ

ในทางสถิติ ปริมาณโปรตีนของ F-RBPC และ C-RBPC ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ในขณะที่ SF-RBPC มีปริมาณโปรตีนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยจะมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าสายพันธุ์อื่น ส่วนด้านองค์ประกอบอื่นนั้น RBPCs มีคาร์โบไฮเดรต ตั้งแต่ 23.91 – 28.25%db, ปริมาณไขมัน (0.30 – 0.36%, db) และปริมาณเถ้า 3.6-3.8%db การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า คาร์โบไฮเดรตของ SF-RBPC มีค่ามากกว่าอีก 2 สายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ไขมันและเถ้าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ใน 3 สายพันธุ์

แร่ธาตุสำคัญที่อยู่ในโปรตีนรำข้าวได้แก่ copper (11.50 – 15.71 mg/100 g) maganese (0.65-0.76 mg/100 g), iron (20.44 – 29.65 mg/100 g), zinc (3.38 – 4.19 mg/100 g), magnesium (642-974 mg/100 g) และpotassium (758-1277 mg/100 g) โดย SF-RBPC มีปริมาณ copper, manganese, iron, zinc และ magnesiumสูง และ F-RBPC มี potassium สูง การวิเคราะห์ทางสถิติของแร่ธาตุมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ใน 3 สายพันธุ์

## 2.6 ค่าสีของโปรตีนรำข้าว

จากการทดลองของ Singh และ Sogi (2018) ดังตารางที่ 2.3 ระบบ CIE พบว่า  $L^*$  ของ RBPCs มีค่าตั้งแต่ 62.47 ถึง 67.75 ในขณะที่  $a^*$  มีค่าตั้งแต่ 2.79-4.27 และ  $b^*$  มีค่าตั้งแต่ 13.41 – 13.69 โดยพบว่าค่า  $L^*$  ของทั้ง 3 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสามารถเรียงจากค่ามากไปค่าน้อยได้ ดังนี้ SF-RBPC > F-RBPC > C-RBPC ในการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า มีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ส่วนค่า  $a^*$  ก็มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เช่นเดียวกัน โดยสามารถเรียงจากค่ามากไปน้อยได้ ดังนี้ F-RBPC > C-RBPC > SF-RBPC ซึ่งการเกิดสีใน RBPC นั้น มีผลจากกระบวนการ Alkali extraction-acid precipitation จะทำให้เกิดสีดำถาวรลงใน protein concentrateหรือ isolate เพราะเกิดการ oxidationของ phenolic compound ในตัวรำข้าว ซึ่งส่งผลให้ต่อคุณค่าทางโภชนาการ, functional properties และ biological value ที่ต่ำลงโดย RBPC จะได้ค่า WI สูงสุด

## 2.7 การวิเคราะห์กรดอะมิโนในโปรตีนรำข้าว

จากตารางที่ 2.4 กรดอะมิโนของ RBPCs จากสายพันธุ์ที่แตกต่างแสดงให้เห็นว่ากรดอะมิโนใน RBPCs Glutamic acid เป็นกรดอะมิโนมีมากที่สุดในทั้งหมดสาม RBPCs ตามด้วย aspartic acid ใน SF-RBPC ในขณะที่ arginine และ valine เป็นกรดอะมิโนมีมากเป็นอันดับสองใน C- RBPC และ F-RBPC ตามลำดับ และจากการทดลองของ Wang, Xu, Li และ Zhang (2015) และการทดลองของ Wang, Hettiarachchy, Qi, Burks และ Siebenmorgen (1999) ได้ผลออกมาว่า มีปริมาณของ glutamic acid สูง ในโปรตีนรำข้าว ตามด้วย aspartic และ arginine กรดอะมิโนที่มี sulphur ในอยู่โครงสร้าง (methionine และ cystine) มีประมาณ 4.0% กรดอะมิโนทั้งหมดในทุก RBPCs แต่ F-RBPC มีกรดอะมิโนที่มี sulphur สูงอย่างน่าทึ่ง (4.81%) ตามด้วย SF-RBPC (3.78%) และ C-RBPC (3.40%)

ในตารางที่ 2.5 อัตราส่วนของ acidic amino acid ต่อ basic amino acid ของ SF-RBPC มีค่าสูงที่สุดตามด้วย F-RBPC และ C-RBPC การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ของส่วนต่างระหว่าง SF-RBPC, F-RBPC ในขณะที่ C-RBPC มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) อัตราส่วนที่ต่ำ

ผลลัพธ์เหล่านี้ระบุว่า SF-RBPC และ F-RBPC มี acidic amino acid ในธรรมชาติมากกว่า C-RBPC และ Uncharged polar amino acids ใน F-RBPC มีค่าสูง (19.76%) การเปลี่ยนแปลงในกรดอะมิโนอาจสืบเนื่องมาจากความแตกต่างในสายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ superfine, fine และ coarse cultivars



ตารางที่ 2.4 กรดอะมิโนของโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันใน 3 สายพันธุ์

Amino acids, %	Protein concentrates		
	SF-RBPC	F-RBPC	C-RBPC
Aspartic Acid (Asp)	8.56 ± 0.30 <sup>a</sup>	8.24 ± 0.24 <sup>a</sup>	7.21 ± 0.05 <sup>b</sup>
Glutamic acid (Glu)	14.64 ± 1.05 <sup>a</sup>	12.85 ± 0.84 <sup>a</sup>	14.16 ± 0.45 <sup>a</sup>
Serine (Ser)	4.45 ± 0.75 <sup>a</sup>	2.92 ± 0.78 <sup>a</sup>	3.34 ± 0.43 <sup>a</sup>
Histidine (His)	3.49 ± 0.23 <sup>a</sup>	3.37 ± 0.82 <sup>a</sup>	3.94 ± 0.15 <sup>a</sup>
Glycine (Gly)	4.47 ± 0.24 <sup>a</sup>	4.31 ± 0.31 <sup>a</sup>	3.62 ± 0.49 <sup>a</sup>
Threonine (Thr)	2.78 ± 0.13 <sup>b</sup>	6.02 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.87 ± 0.59 <sup>b</sup>
Arginine (Arg)	8.45 ± 0.17 <sup>a</sup>	7.84 ± 0.59 <sup>a</sup>	9.02 ± 0.57 <sup>a</sup>
Alanine (Ala)	6.13 ± 0.71 <sup>a</sup>	5.37 ± 0.83 <sup>a</sup>	6.28 ± 0.41 <sup>a</sup>
Tyrosine (Tyr)	4.64 ± 0.15 <sup>a</sup>	4.66 ± 0.74 <sup>a</sup>	5.68 ± 0.86 <sup>a</sup>
Cystine (Cys)	2.36 ± 0.36 <sup>a</sup>	1.85 ± 0.59 <sup>a</sup>	1.91 ± 0.06 <sup>a</sup>
Valine (Val)	6.19 ± 0.12 <sup>b</sup>	9.98 ± 0.81 <sup>a</sup>	5.70 ± 0.36 <sup>b</sup>
Methionine (Met)	1.42 ± 0.29 <sup>b</sup>	2.96 ± 0.41 <sup>a</sup>	1.49 ± 0.21 <sup>b</sup>
Tryptophan (Try)	0.79 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.12 ± 0.63 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.31 <sup>a</sup>
Phenylalanine (Phe)	5.93 ± 0.67 <sup>ab</sup>	4.17 ± 0.33 <sup>b</sup>	6.45 ± 0.30 <sup>a</sup>
Isoleucine (Ile)	2.69 ± 0.47 <sup>a</sup>	1.93 ± 0.93 <sup>a</sup>	1.34 ± 0.51 <sup>a</sup>
Leucine (Leu)	7.55 ± 0.33 <sup>a</sup>	5.87 ± 0.98 <sup>a</sup>	6.43 ± 0.67 <sup>a</sup>
Lysine (Lys)	5.45 ± 0.35 <sup>a</sup>	4.78 ± 0.38 <sup>a</sup>	4.93 ± 0.02 <sup>a</sup>
Proline (Pro)	2.70 ± 0.66 <sup>a</sup>	2.23 ± 0.61 <sup>a</sup>	2.73 ± 0.31 <sup>a</sup>
Total AA	92.71 ± 2.34 <sup>a</sup>	90.45 ± 1.94 <sup>a</sup>	88.58 ± 1.84 <sup>a</sup>
Total EAA	43.30 ± 0.78 <sup>a</sup>	46.71 ± 1.69 <sup>a</sup>	42.22 ± 2.06 <sup>a</sup>

SF-RBPC: superfine; F-RBPC: fine and C-RBPC: coarse rice bran protein concentrate; AA: amino acids; EAA (essential amino acids): Ile + Leu + Lys + Meth + Cys + Phe + Tyr + Thr + Val + His + Trp , ค่าในตาราง คือ mean ± SD ของการพิจารณา 3 treatment ที่อิสระต่อกัน, a,b,...อักษรต่างกันเป็นหลักเดียวกันของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p <0.05)

ที่มา: Singh และ Sogi (2018)

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีประจุ และกรดอะมิโนที่ไม่มีประจุของโปรตีนรำข้าวสกัดไขมัน

Protein concentrates	Amino acids composition					
	Charged*			Uncharged		Arg/Lys
	Acidic	Basic	Acidic/basic	Non-polar	Polar	
SF-RBPC	23.20 ± 1.35 <sup>a</sup>	17.39 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.33 ± 0.08 <sup>a</sup>	32.62 ± 1.33 <sup>a</sup>	18.71 ± 0.35 <sup>a</sup>	1.55 ± 0.04 <sup>c</sup>
F-RBPC	21.08 ± 1.08 <sup>b</sup>	15.98 ± 1.02 <sup>b</sup>	1.32 ± 0.02 <sup>a</sup>	32.51 ± 1.56 <sup>a</sup>	19.76 ± 1.85 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.06 <sup>b</sup>
C-RBPC	21.36 ± 0.40 <sup>b</sup>	17.89 ± 0.73 <sup>a</sup>	1.19 ± 0.03 <sup>b</sup>	30.43 ± 0.92 <sup>a</sup>	18.42 ± 1.57 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.11 <sup>a</sup>

SF-RBPC: superfine; F-RBPC: fine and C-RBPC: coarse rice bran protein concentrate; acidic amino acids: Asp + Glu; Basic amino acids: His + Arg + lys; Non-polar amino acids: Ala + Pro + Val + Met + Ile + Leu + Phe; Polar amino acids: Ser + Gly + Thr + Tyr + Cys; Arg/Lys: Arginine/Lysine, ค่าในตาราง คือ mean ± SD ของการพิจารณา 3 treatment ที่อิสระต่อกัน, a,b,...อักษรต่างกันแถวเดียวกันของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05) ที่มา: Singh และ Sogi (2018)

## 2.8 สมบัติทางหน้าที่ (functional properties) ของโปรตีนในรำข้าว

### 2.8.1 การละลายของโปรตีน/ไนโตรเจน (Nitrogen solubility)

จากการทดลองของ Bera และ Mukherjee (1989) โปรตีนจากรำข้าวจะมีความสามารถทางการละลายที่สูงขึ้นที่ pH สูง โดยจะมีสมบัติทางการละลายสูงสุด 75% ที่ pH 9.0-10.5 และมีสมบัติทางการละลายน้อยสุด 13 % ที่ pH 4.5-5.5 อันเป็นผลมาจากจุด isoelectric point ของโปรตีนรำข้าวจะอยู่ที่ pH 4.5 นอกจากนี้ยังพบว่าที่ pH เป็นกรดความสามารถในการละลายของไนโตรเจนจะน้อยเพราะ phytate จะฟอร์มตัวเป็น complex ที่ไม่สามารถละลายได้ ส่วนในการทดลองของ Gnanasambandam และ Hettiarachchy (1995) ที่ใช้การสกัดจากเอนไซม์ และสารละลายต่าง จะได้ค่าการละลายของไนโตรเจนสูงสุดที่ pH 10 82% และ 57% ตามลำดับ และได้ค่าการละลายที่น้อยสุดที่ pH 4 8% และ 5% ตามลำดับ

## 2.8.2 ความสามารถในการดูดซึมน้ำ (Water absorption capacity)

จากการทดลองของ Chandi และSogi (2007) ได้ทำการทดลองหาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในรำข้าวของข้าว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Basmati 370, Basmati 386 และ HBC 19 เปรียบเทียบกับ casein ซึ่งแสดงใน **ตารางที่ 2.6** พบว่าทุกตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งได้ผลการทดลอง ดังนี้ Casein และ Basmati 370 มีค่าการจับตัวกับน้ำ (water-binding capacities) ที่ต่ำที่สุด คือ 2.48 และ 3.87 (g/g) ตามมาด้วย HBC 19 และ Basmati 386 ที่มีค่า water absorption capacities 4.04 และ 5.60 (g/g) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์กับค่า nitrogen solubility ที่แปรผันตรงกัน ซึ่งคุณสมบัติการดูดซึมน้ำของโปรตีนนี้สามารถนำไปใช้ลดการสูญเสียความชื้นในผลิตภัณฑ์ประเภทเบเกอรี่ เพื่อรักษาความสดและความชุ่มน้ำโดยค่า water absorption capacities ที่อยู่ในช่วง 1.49 ถึง 4.72 (g/g) จะสามารถนำมาใช้ในอาหารที่มีความหนืดสูง เช่น ซุปและน้ำกวี ทำให้โปรตีนรำข้าวเหมาะแก่การนำมาเพิ่มเสถียรภาพของอาหารที่มีความชื้นสูง

**ตารางที่ 2.6** การเปรียบเทียบค่า Water absorption, Oil absorption, Bulk density ระหว่าง Casein กับโปรตีนรำข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์

	Casein	Basmati 370	Basmati 386	HBC 19	LSD*
Water absorption (g/g)	2.48 <sup>a</sup> ± 0.11	3.87 <sup>b</sup> ± 0.28	5.60 <sup>c</sup> ± 0.85	4.04 <sup>d</sup> ± 0.20	1.28
Oil absorption (g/g)	1.72 <sup>a</sup> ± 0.09	3.74 <sup>b</sup> ± 0.93	9.18 <sup>c</sup> ± 0.74	8.14 <sup>c</sup> ± 0.72	1.94
Bulk density (g/ml)	0.89 <sup>a</sup> ± 0.02	0.21 <sup>b</sup> ± 0.01	0.13 <sup>c</sup> ± 0	0.12 <sup>c</sup> ± 0.01	0.03

โปรตีนรำข้าวสายพันธุ์ต่างๆ (n=3), a,b,... อักษรต่างกันแถวเดียวกันของข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

( $p < 0.05$ ) \*LSD = Least significant difference

ที่มา: Chandi และSogi (2007)

### 2.8.3 ความสามารถในการดูดซึมน้ำมัน (Oil absorption capacity)

จากการทดลองของ Chandi และ Sogi (2007) ซึ่งแสดงในตารางที่ 2.6 โปรตีนในรำข้าวของสายพันธุ์ Basmati 386 มีค่าการดูดซึมน้ำมันสูงสุด คือ 9.18 g/g และ Basmati 370 มีค่าการดูดซึมน้ำมันต่ำสุด คือ 3.74 g/g และ HBC 19 ที่มีค่าการดูดซึมน้ำมันที่ใกล้เคียงกับ Basmati 386 โดย HBC 19 และ Basmati 386 นั้นจะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ซึ่งค่าการดูดซึมของน้ำมันของโปรตีนรำข้าวทั้ง 3 ชนิดมี ค่ามากกว่า Casein อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งมีแนวโน้มที่จะนำโปรตีนรำข้าวไปใช้ในอาหาร จำพวก ไส้กรอก, เค้กแบทเทอร์, มายองเนสและน้ำสลัด

### 2.8.4 ความหนาแน่นรวม (Bulk density)

จากการทดลองของ Chandi และ Sogi (2007) ซึ่งแสดงในตารางที่ 2.6 โปรตีนในรำข้าวของสายพันธุ์ Basmati 370 จะมีความหนาแน่นรวมที่มากที่สุด 0.21 g/ml ตามมาด้วย Basmati 386 และ HBC 19 ซึ่งมีค่า ความหนาแน่นรวมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) จะมีความหนาแน่นรวม 0.13 และ 0.12 g/ml ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามค่าความหนาแน่นรวมของโปรตีนรำข้าวก็มีค่าที่น้อยกว่าความหนาแน่น รวมของ Casein (0.89 g/ml) อย่างมาก โดยค่าความหนาแน่นรวมจะเป็นตัวกำหนดขนาดของห่อบรรจุภัณฑ์ นอกจากนั้นอาหารที่มีความหนาแน่นสูงจะไม่เหมาะแก่การนำมาทำอาหารเพื่อการหย่านมเด็ก

### 2.8.5 สมบัติในการเกิดโฟม (Foaming properties)

สมบัติในการเกิดโฟมของโปรตีนขึ้นอยู่กับ 1.ความสามารถในการดูดซึมอากาศ และน้ำให้รวมกันได้อย่าง รวดเร็ว 2.ความสามารถในการเกิดการเปลี่ยนโครงสร้าง (Conformational) อย่างฉับพลัน และการเรียงตัว (Rearrangement) ของทั้ง 2 ภูมิภาค(น้ำและอากาศ) 3.แรงเชื่อมตติระหว่างของเหลวกับของเหลว (Cohesive) ของ viscoelastic ฟิล์มที่จุดเชื่อม (Interface) ด้วยแรงระหว่างโมเลกุล ความสามารถในการเกิดโฟม (Foaming capacity) ใช้อธิบายปริมาณของพื้นที่ผิวสัมผัส (Interfacial area) ที่ยังสามารถคงสภาพความเป็นโฟมอยู่ได้ (มีภูมิภาคของเหลวเป็นภูมิภาคต่อเนื่องและภูมิภาคกระจาย คือ แก๊ส) ทำให้คงน้ำหนักและความเข้มข้นอยู่ได้ โดย ค่านี้อาจขึ้นอยู่กับความยืดหยุ่นของโมเลกุล, ความหนาแน่นของประจุ, ความเป็นhydrophobicity, คุณสมบัติทาง rheological ของฟิล์มโปรตีน, ความหนืด, การทนต่อแรงเฉือน และ ความยืดหยุ่นของฟิล์ม ล้วนส่งผลถึงความคง ตัวของโฟม (Foam stability) ซึ่งก็คือ ความสามารถในการทำให้โฟมสามารถทนต่อแรงโน้มถ่วงและความเครียด ทางกลต่างๆ ในการศึกษา foaming capacity ของ Cao และคณะ (2009) เมื่อ pH เพิ่มขึ้นจาก 5 ถึง 11 ค่า

foaming capacity ของข้าวกล้อง, ข้าวขาวและโปรตีนรำข้าวจะเพิ่มขึ้น โดยที่ pH 11 จะได้ค่าที่สูงกว่า pH 5 นอกจากนั้นค่า foaming capacity ของโปรตีนรำข้าวจะเพิ่มขึ้นได้โดยการใส่ sodium chloride (NaCl) ที่ความเข้มข้น 0.4 ถึง 2% ส่วนค่า foaming capacity ของข้าวกล้องและข้าวขาวจะเพิ่มขึ้นได้ในการใส่ NaCl ที่ความเข้มข้น 0.4 ถึง 0.8% ในขณะที่ sucrose ความเข้มข้น 12% ขึ้นไปจะมีผลในการลดค่า foaming capacity โปรตีนจากข้าวทั้ง 3 ชนิด ส่วนในการทดลอง Chandi และ Sogi (2007) จะได้ค่า foaming capacity ที่ต่ำลง และค่า foaming stability ที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับ casein ในสภาวะ pH 5 ถึง 9, NaCl 0.5 ถึง 1.5% และ sucrose 5 ถึง 15%

### 2.8.6 สมบัติการเป็นอิมัลชัน (Emulsifying properties)

สมบัติการเป็น emulsion ของโปรตีนจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่คล้ายกับการเกิดโฟมประกอบไปด้วยอัตราการดูดซึมโปรตีนที่น้ำกับน้ำมัน interface, ปริมาณของโปรตีนที่ถูกดูดซึม, การเกิด conformational rearrangement ที่ interface, การลดลงของแรงตึงผิว และการเกิดแรงเชื่อมติดระหว่างของเหลวกับของเหลว (cohesive) ค่า emulsion activity และ emulsion stability จะใช้ในการประเมินผล โดยค่า emulsion activity จะแสดงถึง interfacial area (บริเวณรอยต่อของอนุภาคน้ำกับน้ำมัน) ที่มากที่สุดต่อน้ำหนักของโปรตีนของสารละลายที่คงตัว ส่วน emulsion stability จะแสดงถึงความสามารถของโปรตีนที่จะกลายมาเป็นอิมัลชันที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นช่วงเวลาหนึ่ง โดยอุณหภูมิต่ำที่แน่นอนและแรงโน้มถ่วงของโลก (Pearce และ Kinsella, 1978) การวัดสมบัติการเป็นอิมัลชันของโปรตีนทำได้โดยการวัดขนาด และการกระจายตัวของหยดโปรตีนเมื่อถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน และระยะเวลาที่ผ่านไปที่มีผลต่ออิมัลชัน (McClements และ Piorkowski, 2014) จากการวิจัยของ Daigle และ Shin (2000) ค่า emulsion activity ของ rice protein isolate ที่ได้จากการสกัดด้วย เอนไซม์จะมีค่าค่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะที่ pH < 6 ในการทดลองของ Agboola, Ng และ Mill (2005) 20% oil-in-water emulsion ที่ถูกเตรียมโดยน้ำมันถั่วเหลือง และถูกทำให้คงตัวโดยโปรตีน glutelin จากข้าว (1 และ 2% protein) ซึ่งส่งผลให้พื้นผิวของเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดไขมันอยู่ที่ 0.73 ถึง 1.94  $\mu\text{m}$  ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 1 ถึง 2% จากงานวิจัยของ Cao และคณะ (2009) ได้รายงานไว้ว่า emulsion capacity ของข้าวขาว, ข้าวกล้อง และโปรตีนรำข้าว มีค่าน้อยที่สุดที่ pH 5 และมีค่าเพิ่มขึ้นที่ pH สูงและต่ำกว่านั้น ข้าวกล้อง, ข้าวขาว, โปรตีนรำข้าวมีปริมาตรของ emulsion มากที่สุด คือ 44, 47 และ 43% ตามลำดับที่ pH 11 ส่วนค่า emulsion stability จะมีแนวโน้มที่เหมือนกับ emulsion activity โดยจะได้ค่าที่มากที่สุดที่ pH 3 สำหรับโปรตีน

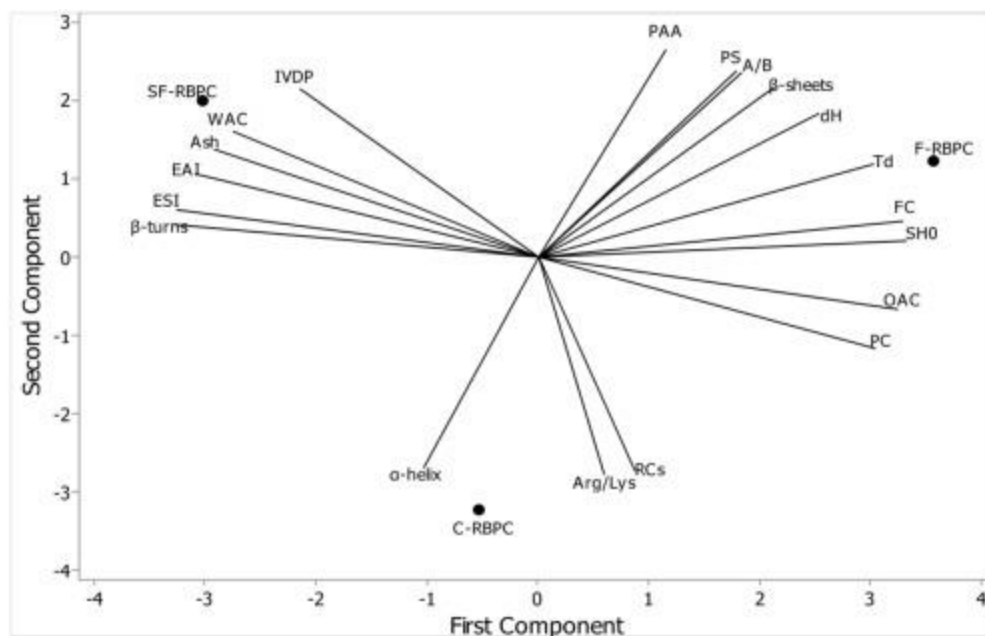
จากข้าวทั้ง 3 การเพิ่มความเข้มข้น NaCl ในช่วง 0.4-2% จะทำให้เสถียรสมบัติการเป็นอิมัลชันแต่จะได้ค่า emulsion capacity สูงสุดที่ 4% sucrose และจะมีค่า emulsion activity ค่อยๆลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้น

### 2.8.7 คุณสมบัติทางอุณหภูมิจ (Thermal properties)

จากการทดลองของ Singh และ Sogi (2018) ได้กล่าวว่า Differential scanning calorimeter ให้ข้อมูลเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและโครงสร้างของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสลายของพันธะที่เกี่ยวข้องกับความคงตัวของโปรตีน denaturation temperature ( $T_d$ ) แสดงถึงเสถียรภาพทางความร้อนและเอนทัลปีของการ denaturation ( $\Delta H$ ) ให้ข้อมูลเชิงลึกที่ดีขึ้นของ hydrophilic/hydrophobic interaction และ ordered structure (Tang และ Sun, 2011), RBPCs ในสายพันธุ์ที่แตกต่างกันจะมี  $T_d$  ประมาณ 88 องศาเซลเซียส กับ  $\Delta H$  มีค่าเท่ากับ 5.76-6.89 J/g SF-RBPC, F-RBPC และ C-RBPC มีค่าของ  $T_d$  88.93, 88.97 และ 87.18 °C ตามลำดับ

F-RBPC มีค่า  $\Delta H$  สูงสุด แสดงว่ามี non-denaturated proteins ในสัดส่วนที่สูง (Tang และ Sun, 2011) ผลลัพธ์ที่ได้แสดงให้เห็นว่าค่า  $T_d$  คล้ายกัน (88.26 °C) แต่ค่า  $\Delta H$  (4.95 J/g) สูงกว่าในรายงานของ Wang และคณะ (2016) อย่างไรก็ตามการทดลองของ Tang, Hettiarachchy, Eswaranandam และ Crandall (2003) และการทดลองของ Zhou, และคณะ (2016) รายงานค่า  $T_d$  เท่ากับ 84.1 °C และ 79.9 °C ตามลำดับ และ endotherm 2.37 J/g และ 1.70 J/g ตามลำดับของ proteins isolate ของ heat stabilized rice bran

Thermal stability สะท้อนให้เห็นถึง hydrophobic interaction, protein structure และ conformation ของถั่วแดง การวิเคราะห์ PCA เปิดเผยว่า thermal stability ของโปรตีนที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ  $\beta$ -sheet และมีความสัมพันธ์เชิงลบกับ  $\alpha$ -helix (ภาพที่ 2.1) การมีเกล็ดโปรตีนมีผลต่อการทนความร้อนมากขึ้นแต่ผลการทดลองไม่ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการทนความร้อนกับปริมาณถั่ว เอนทัลปีก็มีค่าเป็นบวกซึ่งมีความสัมพันธ์กับโครงสร้าง  $\beta$ -sheets ผลการทดลองแสดงว่า การมีโครงสร้าง  $\beta$ -sheets มากจะเพิ่มสมบัติ hydrophobic interaction และ hydrogen bond ซึ่งมีผลให้มีเสถียรภาพต่อความร้อนและเสถียรต่อการ denature เอนทัลปีของโปรตีน



รูปที่ 2.1 Principal component analysis (PCA) biplot of different properties of rice bran protein concentrates. ESI: emulsion stability index, EAI: emulsion activity index, PAA: polar amino acids, A/B: acidic to basic amino acids ratio, WAC: water absorption activity, OAC: oil absorption activity, PC: protein concentration, PS: protein solubility, RCs: random coils, SH<sub>0</sub>: surface hydrophobicity, Td: denaturation temperature, dH: enthalpy of denaturation, FC: foaming capacity, IVDP: in vitro digestibility, Arg/Lys: Arginine/Lysine. ที่มา: Singh และ Sogi (2018)

## 2.9 คุณสมบัติทางกายภาพของรำข้าว

### 2.9.1 สี (Color)

รำข้าวดิบมีสีน้ำตาล หรือสีเหลืองน้ำตาล และแตกต่างกันตามความหลากหลายกระบวนการแปรรูป ส่วนใหญ่ของรำข้าวมีเสถียรภาพก่อนที่จะใช้ในเชิงพาณิชย์ โดยกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนสีของรำจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และรำจะเสถียรด้วยการเปลี่ยนแปลงความร้อนแห้งสีจะรำอัดสีน้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงของรำเป็นน้ำตาลเข้มเมื่อผ่านการextruded(Garcia และคณะ, 2012) เมื่อรำพาความร้อน การเปลี่ยนแปลงของสีอาจมีส่วนของ formatting Maillard Reaction compoundและ บางส่วนของเม็ดสีของรำดิบ

รำข้าวประกอบด้วย beta-carotene และ lycopene ซึ่งถือเป็น carotenoid ซึ่งทำให้สีของมันปรากฏสีน้ำตาลแดง beta-carotene และ lycopene เป็นสารตั้งต้นของ vitamin A และทั้งสองอย่างมีantioxidants

ในอาหาร และระบบทางชีวภาพ (Lamberts และคณะ, 2006) carotenoid ทำหน้าที่เป็นตัวแทนของ photoprotective ด้วยการดูดซับพลังงานแสงอันตราย หรือโดย quenching singlet oxygen และดักจับ free peroxy radicals

## 2.9.2 ค่า activity ของน้ำ (Water activity)

สำหรับรำข้าวนั้นมีความจำเป็นที่ต้องทราบ water activity เพื่อหลีกเลี่ยงการ hydrolysis เมื่อ water activity ต่ำกว่า 0.30 จะอยู่ในช่วง primary adsorption zone กล่าวคือ โมเลกุลของน้ำจะสร้างพันธะกับ หมู่ carbonyl (-COOH) และเชื่อมโยงกับโมเลกุลอื่นด้วย hydrogen bond ซึ่งชั้นน้ำนี้จะไม่ละลายส่วนประกอบอาหาร แต่มันจะครอบคลุมอาหารไว้ ซึ่งมีแนวโน้มที่เร่งการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation

รำดิบมีค่า water activity ประมาณ  $0.54 \pm 0.03$  และ เมื่อถูกนำเข้าสู่กระบวนการ dry heat stabilization ค่า water activity จะลดลงเหลือประมาณ  $0.25 \pm 0.0$  (Garcia และคณะ, 2012)

## 2.9.3 ขนาดของอนุภาค (Partical size)

ขนาดอนุภาคของรำจะแตกต่างกันตามชนิดของการขัดที่ใช้ในการนำรำข้าวหลุดออกจากเมล็ดข้าว และ ต้องใช้กระบวนการแปรรูปหลากหลายเพื่อความคงตัว (stabilization) ของรำข้าว

รำข้าวเชิงพาณิชย์จะถูกร้อนผ่านตะแกรงที่ขนาดต่างๆ เพื่อที่จะได้ขนาดของรำข้าวที่เหมาะสมสำหรับการใช้ รำ เช่น เพื่อที่จะได้ปริมาณน้ำมันที่มากที่สุดหลังจากผ่านการ stabilization เป็นต้น

ตารางที่ 2.7 การแบ่งแยกขนาดอนุภาคของรำข้าว

Mesh	Particle size ( $\mu\text{m}$ )	Raw bran	Moist heat stabilized bran
18	>1000	0	0
18-30	1000-595	2.4	18.6
30-50	595-297	30.0	32.7
50-80	297-177	12.2	18.5
80-100	177-149	8.5	10.8
<100	<149	46.7	19.4

ที่มา: Luh และคณะ (1991)



#### 2.9.4 ความหนาแน่นรวม (Bulk density)

Bulk density ของรำข้าวที่ทำให้เสถียรแล้วจะมีมากขึ้นเมื่อเทียบกับรำข้าวดิบ (0.500 g/ml) การเพิ่มขึ้นของ bulk density หลังการ stabilization ซึ่งเป็นการเพิ่มอัตราการซึมของตัวทำละลายในการสกัดน้ำมัน และในขณะการสกัดน้ำมันจะมี bulk density เพิ่มขึ้น (Sharma และคณะ, 2004) แต่หลังจากการสกัดน้ำมัน bulk density จะลดลงเป็น 0.34 g/ml

ตารางที่ 2.8 ความแตกต่างของรำข้าวที่ถูกทำให้เสถียรแล้ว

	Bulk density (g/ml)	Water absorption (g/100g)	Water solubility (g/100g)	Fat absorption (g/100g)
Raw bran	0.500	143.68	7.57	96.32
Commercially defatted rice bran	0.340	240.00	–	210.00
Extruded stabilized bran	0.593	170.93	9.33	72.80
Dry heat stabilized bran	0.548	156.91	9.34	81.28

ที่มา: Sairam และคณะ (2011); Sharma และคณะ (2004)

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

##### 3.1.1 วัตถุดิบ

- รำข้าวจาก บริษัท ไรซ์แลนด์กรุ๊ป จำกัด จากนั้นนำไปสกัดไขมันออกไปด้วย petroleum ether และ สกัดสตาร์ชออกไปด้วย  $\alpha$ -amylase (Liquozyme<sup>®</sup> 2.8X) และ glucoamylase (Dextrozyme<sup>®</sup> GA 1.5X) ดังนั้น รำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชจึงเป็นวัตถุดิบในการทดลอง

##### 3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

###### สารเคมีที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยสารละลายต่าง

- Distilled water
- Amylase: Liquozyme<sup>®</sup> 2.8X A.R. grade
- Glucoamylase: Dextrozyme<sup>®</sup> GA 1.5X A.R. grade
- Sodium hydroxide A.R. grade
- Hydrochloric acid A.R. grade

###### สารเคมีที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

- Distilled water A.R. grade
- $\alpha$ -amylase: Liquozyme<sup>®</sup> 2.8X A.R. grade
- Glucoamylase: Dextrozyme<sup>®</sup> GA 1.5X A.R. grade
- Sodium hydroxide A.R. grade
- Hydrochloric acid A.R. grade

**สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Crude fiber**

- Sodium hydroxide A.R. grade
- Hydrochloric acid A.R. grade
- Sulfuric acid A.R. grade
- Ethanol A.R. grade
- Boiling distilled water A.R. grade

**สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Crude fat**

- Petroleum ether A.R. grade

**สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Crude protein และ การละลายของโปรตีน**

- Sulfuric acid A.R. grade
- Kjeldahl catalyst A.R. grade
- Sodium hydroxide A.R. grade
- Hydrochloric acid A.R. grade
- Boric acid A.R. grade
- Methyl red A.R. grade
- Bromocresol green A.R. grade

**สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน**

- Sodium hydroxide A.R. grade
- Hydrochloric acid A.R. grade
- Sodium dodecyl sulfate (SDS) A.R. grade

**สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถที่จะเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟม**

- Sodium hydroxide A.R. grade

- Hydrochloric acid A.R. grade

### 3.1.3 วัสดุและครุภัณฑ์

#### ครุภัณฑ์ที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยสารละลายต่าง

- Vacuum filter
- Filter paper Whatman No.1 (Whatman, Maidstone, England)
- pH meter (Eutech Instruments, pH 2700 meter, Ayer Rajah Crescent, Singapore)
- Buchner funnel
- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchleugern, Germany)
- Stirring Hot Plate (IKA C-Mag HS Digital Stirring Hot Plate, 7 x 7", 230 VAC)

#### ครุภัณฑ์ที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

- Batch reactor (AKICO Co., Japan)
- Electric furnace heater (AKICO Co., Japan)
- Vacuum filter
- Filter paper Whatman No.1 (Whatman, Maidstone, England)
- Buchner funnel
- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchleugern, Germany)
- Stirring Hot Plate (IKA C-Mag HS Digital Stirring Hot Plate, 7 x 7", 230 VAC)

#### ครุภัณฑ์ที่ใช้วิเคราะห์ทางเคมี

- hot air oven (Mettler, UF 110, Büchenbach, Germany)
- muffle furnace (CARBOLITE, model CWF 1200, Cambridge, England)
- Soxhlet extractor (Gerhardt, model EV 16, Brackley, UK)
- rotary vacuum evaporator (Eyela rotary vacuum evaporator N-N series SB-651, Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)

- protein digestion unit (BÜCHI model K-424, Flawil, Switzerland)
- kjedahl apparatus (BÜCHI model K-350, Switzerland)
- scrubber (BÜCHI, model B-414, Flawil, Switzerland)
- spectrophotometer (Thermo Spectronic, GENESYS 10UV, Rochester, NY, USA)
- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchlengern, Germany)
- pH meter (Eutech Instruments, pH 2700 meter, Ayer Rajah Crescent, Singapore)
- homogenizer (Ystral GmbH, Ballrechten-Dottingen, Germany)
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, BA4100S, Bradford, Germany)
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Scaltec Instrument GmbH, SBC 31, Goettingen, Germany)
- กระดาษกรอง เบอร์ 41 (Whatman, Maidstone, England)
- Stirring Hot Plate (IKA C-Mag HS Digital Stirring Hot Plate, 7 x 7", 230 VAC)

#### **ครุภัณฑ์ที่ใช้วิเคราะห์กิจกรรมของอีมีลชั่น และความเสถียรของอีมีลชั่น**

- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchlengern, Germany)
- spectrophotometer (Thermo Spectronic, GENESYS 10UV, Rochester, NY, USA)
- pH meter (Eutech Instruments, pH 2700 meter, Ayer Rajah Crescent, Singapore)
- cylinder 25 ml

#### **ครุภัณฑ์ที่ใช้วิเคราะห์ความสามารถที่จะเกิดโฟม และความเสถียรของโฟม**

- homogenizer (Ystral GmbH, Ballrechten-Dottingen, Germany)
- pH meter (Eutech Instruments, pH 2700 meter, Ayer Rajah Crescent, Singapore)

#### **ครุภัณฑ์ที่ใช้วิเคราะห์ค่าการละลายของโปรตีน**

- pH meter (Eutech Instruments, pH 2700 meter, Ayer Rajah Crescent, Singapore)
- vertical shaker

- protein digestion unit (BÜCHI model K-424, Flawil, Switzerland)
- scrubber (BÜCHI, model B-414, Flawil, Switzerland)
- kjedahl apparatus (BÜCHI model K-350, Switzerland)

### 3.2 วิธีการทดลองที่ใช้ในงานวิจัย

#### 3.2.1 การสกัดโปรตีนจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยสารละลายต่าง (alkali extraction)

อ้างอิงจากวิธีของ Jiamyangyuen และคณะ (2005) ซึ่งมีขั้นตอนพอสังเขป ดังนี้

นำรำข้าวสกัดไขมันไปแขวนลอยน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 10% solid content (100 กรัมรำข้าว:1000 มิลลิลิตรน้ำกลั่น) แล้วนำไปกำจัดสตาร์ชด้วยเอนไซม์  $\alpha$ -amylase ที่ pH 5.60 เป็นเวลา 90 นาที โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง และ glucoamylase ที่ pH 4.4 เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงแยกส่วนตะกอนมาแขวนลอยในน้ำกลั่นใหม่ โดยทำอย่างนี้ 3 ครั้งเพื่อลดปริมาณน้ำตาลในรำข้าว เมื่อครบทั้ง 3 รอบแล้ว จึงนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วจึงนำรำข้าวที่ได้มาแขวนลอยในน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 7.14% solid content (0.5 กรัมรำข้าว:7 มิลลิลิตรน้ำกลั่น) แล้วนำไปปรับให้เป็น pH 11 ด้วยสารละลาย NaOH 1.0 M นำรำข้าวที่เหลืออยู่แยกออกจากส่วนที่ละลายได้ (soluble product) ด้วย vacuum filter ด้วยการใช้กระดาษกรอง (Whatman No.1) ส่วนของเหลวที่ได้จะเป็นสารละลายโปรตีน ซึ่งจะถูเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์สมบัติต่างๆต่อไป

#### 3.2.2 การสกัดโปรตีนออกจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (subcritical water extraction)

ดัดแปลงจากการทดลองของ Goto และคณะ (2008) ซึ่งมีขั้นตอนพอสังเขป ดังนี้

นำรำข้าวสกัดไขมันไปแขวนลอยน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 10% solid content (100 กรัมรำข้าว:1000 มิลลิลิตรน้ำกลั่น) แล้วนำไปกำจัดสตาร์ชด้วยเอนไซม์  $\alpha$ -amylase ที่ pH 5.60 เป็นเวลา 90 นาที โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง และ glucoamylase ที่ pH 4.4 เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงแยกส่วนตะกอนมาแขวนลอยในน้ำกลั่นใหม่ โดยทำอย่างนี้ 3 ครั้งเพื่อลดปริมาณน้ำตาลในรำข้าว เมื่อครบทั้ง 3 รอบแล้ว จึงนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วจึงนำรำข้าวไปแขวนลอยในน้ำกลั่นประมาณ 7.14% solid content (0.5 g ในน้ำกลั่น 7 ml) แล้วนำสารแขวนลอยไปใส่ใน stainless steel batch reactor 8.8 ml เปิดเครื่อง electric furnace ตั้งอุณหภูมิตามที่ต้องการ (สำหรับงานวิจัยนี้จะทำที่ 3 อุณหภูมิ

คือ 180, 200 และ 220 °C) แล้วใส่ reactor เข้าไปในตัว electric furnace รอถึงอุณหภูมิที่ต้องการและทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที แยกรำข้าวที่เหลือออกจากสารแขวนลอยด้วยการใช้ vacuum filter โดยการใช้กระดาษกรอง (Whatman No.1) จากนั้นทำการชะล้าง reactor ด้วยน้ำกลั่น 5 ml แล้วจึงเทลงใน suction flask อันเดิม สารละลายส่วนในสีที่ได้ คือ สารละลายโปรตีนซึ่งจะถูกเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์สมบัติต่างๆต่อไป

### 3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว

การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสกัดไขมัน และรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชด้วยวิธีของ AOAC (2000) ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.2

### 3.2.4 การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

นำสารละลายโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และน้ำกึ่งวิกฤตมาศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ ดังนี้

#### 3.2.4.1 การละลายของโปรตีน

การวิเคราะห์การละลายของโปรตีนอ้างอิงจากวิธีของ Bera และ Mukherjee (1989) ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.3.1

#### 3.2.4.2 กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน

การวิเคราะห์กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน อ้างอิงจากวิธีของ Pearce และKinsella (1978) ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.3.2

#### 3.2.4.3 ความสามารถในการเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟม

ผลของ pH ต่อคุณสมบัติในการเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟมอ้างอิงจากวิธีของ Kato, Lee และ Kobayashi (1989) ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.3.3

### 3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.3.1 การเตรียมสารละลายโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

นำรำข้าวมาสกัดไขมันด้วย petroleum ether แล้วจึงนำไปสกัดสตาร์ชด้วยเอนไซม์ จากนั้นจึงนำรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชไปสกัดโปรตีนด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต (ภาคผนวก ก.1)

#### 3.3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสกัดไขมันและรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ช

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยการทำ proximate analysis 2 ซ้ำ ดังนี้

- |                      |                            |
|----------------------|----------------------------|
| - ปริมาณความชื้น     | ด้วยวิธีของ AOAC (2000)    |
| - ปริมาณโปรตีน       | ด้วยวิธีของ AOAC (2000)    |
| - ปริมาณไขมัน        | ด้วยวิธีของ AOAC (2000)    |
| - ปริมาณคาร์โบไฮเดรต | คำนวณเป็นค่าผลต่างจาก 100% |
| - ปริมาณเส้นใยอาหาร  | ด้วยวิธีของ AOAC (2000)    |
| - ปริมาณเถ้า         | ด้วยวิธีของ AOAC (2000)    |

#### 3.3.3 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ AOAC (2000) 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Fisher's Least Significant Difference Test (LSD Test) และนำไปคำนวณหาร้อยละผลผลิตในการสกัดโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

#### 3.3.4 วิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของสารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

##### 3.3.4.1 วิเคราะห์การละลายของโปรตีน

การวิเคราะห์การละลายของโปรตีนอ้างอิงจากวิธีของ Bera และ Mukherjee (1989) ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.3.1 ซึ่งวิเคราะห์ 2 ซ้ำ และวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ



completely randomized design (CRD) แบบ 2 ปัจจัยแยกกัน ได้แก่ ผลของ pH ต่อค่าการละลายของโปรตีน ในแต่ละวิธีการสกัด และ ผลของวิธีการสกัดที่สกัดต่อค่าการละลายของโปรตีนในแต่ละ pH และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Fisher's Least Significant Difference Test (LSD Test)

### 3.3.4.2 วิเคราะห์กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน

การวิเคราะห์กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน อ้างอิงจากวิธีของ Pearce และ Kinsella (1978) ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.3.2 ซึ่งวิเคราะห์ 2 ชั้น และวางแผนแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ completely randomized design (CRD) แบบ 2 ปัจจัยแยกกันในแต่ละค่าของการวิเคราะห์ ได้แก่ ผลของ pH ต่อค่ากิจกรรมของอิมัลชันและความเสถียรของอิมัลชันในแต่ละวิธีการสกัด และ ผลของวิธีการสกัดต่อค่ากิจกรรมของอิมัลชันและความเสถียรของอิมัลชันในแต่ละ pH และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Fisher's Least Significant Difference Test (LSD Test)

### 3.3.4.3 วิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟม

ผลของ pH ต่อคุณสมบัติในการเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟมอ้างอิงจากวิธีของ Kato, Lee และ Kobayashi (1989) ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ก.3.3 ซึ่งวิเคราะห์ 2 ชั้น สำหรับความสามารถในการเกิดโฟมวางแผนแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ completely randomized design (CRD) แบบ 2 ปัจจัยแยกกันในแต่ละค่าของการวิเคราะห์ ได้แก่ ผลของ pH ต่อค่าความสามารถในการเกิดโฟมในแต่ละวิธีการสกัด และ ผลของวิธีการสกัดต่อความสามารถในการเกิดโฟมและความเสถียรของโฟมในแต่ละ pH และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Fisher's Least Significant Difference Test (LSD Test)

สำหรับความเสถียรของโฟมประกอบด้วย 3 ปัจจัย ได้แก่ pH เวลา และ วิธีการสกัด สำหรับการวิเคราะห์ค่า pH และเวลาต่อความเสถียรของโฟมในแต่ละวิธีการสกัด จะวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ 4x5 factorial completely randomized design (CRD) และ วิธีการสกัดต่อความเสถียรของโฟมในแต่ละ pH และเวลา จะวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Fisher's Least Significant Difference Test (LSD Test)

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์การทดลอง

#### 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสาคัดไขมัน และรำข้าวสาคัดไขมันและสตาร์ช ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่า รำข้าวสาคัดไขมันและสตาร์ช มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น เนื่องจากสกัดสตาร์ชออกไปด้วย เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส จึงทำให้คาร์โบไฮเดรตในรำข้าวสาคัดไขมันและสตาร์ชลดลง โดยผู้วิจัยจะนำรำข้าวสาคัดไขมันและสตาร์ชมาใช้ในการสกัดโปรตีนรำข้าว เนื่องจากการสกัดด้วยน้ำก็งักฤตสามารถไฮโดรไลซ์สตาร์ชทำให้เกิดเป็นน้ำตาลได้ จึงต้องการลดปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่เกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำตาลรีดิวซิงกับหมู่เอมีนของโปรตีน เพื่อให้โปรตีนยังคงสภาพเป็นโปรตีนที่มีโภชนาการต่อร่างกาย และจากรูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าเมื่อทำการสกัดสตาร์ชออกไป สีนํ้าตาลของสารละลายจะสว่างขึ้นเมื่อเทียบกับสารละลายโปรตีนที่มาจากรำข้าวสาคัดไขมันอย่างชัดเจน ซึ่งเมื่ออุณหภูมิการสกัดมากขึ้นสีของสารละลายก็จะเข้มขึ้น อย่างไรก็ตามแม้จะสกัดสตาร์ชออกไปแล้ว สารละลายโปรตีนก็ยังคงมีสีน้ำตาลเกิดขึ้นซึ่งอาจจะเกิดจากปฏิกิริยาเคมีจากสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดออกมาจากรำข้าวรวมอยู่ในสารละลาย

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสาคัดไขมัน และ รำข้าวสาคัดไขมันและสตาร์ช

องค์ประกอบ** (%น้ำหนักแห้ง)	รำข้าวสาคัดไขมัน	รำข้าวสาคัดไขมันและสตาร์ช
โปรตีน (N × 6.25) (%)	24.21 ± 0.18	33.23 ± 0.12
ความชื้น (%)	7.30 ± 0.41	7.30 ± 0.76
ไขมัน (%)	12.26 ± 0.51	13.27 ± 2.43
เถ้า (%)	9.13 ± 0.01	5.65 ± 0.06
เส้นใย (%)	25.07 ± 0.62	29.91 ± 6.41
คาร์โบไฮเดรต* (%)	22.03 ± 1.00	10.64 ± 1.00

\*คำนวณจากผลต่างของ 100 กับปริมาณองค์ประกอบอื่น, \*\*ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ



**รูปที่ 4.1** สารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 180 200 และ 220 °C ตามลำดับ

#### 4.2 ปริมาณของโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

จากตารางที่ 4.2 พบว่า Subcritical water extraction (SWE) จะสกัดโปรตีนได้มากกว่า Alkaline extraction (AE) ( $p < 0.05$ ) และจะสกัดได้สูงขึ้นตามอุณหภูมิของการสกัดที่สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการงานวิจัยของ Goto และคณะ (2008) ที่ใช้ SWE ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวสกัดไขมันโดยพบว่า เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 180 ถึง 220 °C สารละลายจะมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้นเมื่อสกัดที่อุณหภูมิสูงขึ้น แต่ ที่อุณหภูมิ 200 และ 220 °C ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

**ตารางที่ 4.2** ร้อยละผลผลิตในการสกัดโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

	PAE	PSWE180	PSWE200	PSWE220
ผลผลิต (%)	20.15 <sup>D</sup> ± 0.27	36.63 <sup>C</sup> ± 0.77	38.89 <sup>B</sup> ± 0.99	41.78 <sup>A</sup> ± 1.09

\*ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ, PAE; protein by alkaline extraction, PSWE180; protein by subcritical water extraction ที่ 180 °C, PSWE200; protein by subcritical water extraction ที่ 200 °C, PSWE 220; protein by subcritical water extraction ที่ 220 °C, A, B, C, ... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

### 4.3 การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

#### 4.3.1 การละลายของโปรตีน

จากตารางที่ 4.3 เมื่อพิจารณาการละลายของ PAE พบว่า pH มีผลต่อการละลาย ซึ่งโปรตีนรำข้าวจะมีค่าการละลายต่ำสุดที่ค่า pI ที่อยู่ในช่วง pH 4.5 ถึง 5.5 ซึ่งค่าการละลายจะค่อยๆเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ออกจาก pI (Zayas, 1997) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Singh และ Sogi (2018) ที่โปรตีนจากรำข้าวพันธุ์ superfine สกัดไขมันจะมีค่าการละลายสูงสุดที่ 78.92% เมื่อสารละลายมี pH 12

สำหรับ PSWE ที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 อุณหภูมิ จะมีการละลายที่แตกต่างกันไปอันเนื่องมาจากโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์ทำให้โครงสร้างของโปรตีนถูกเปลี่ยนเมื่ออุณหภูมิการสกัดแตกต่างกัน และผลของ pH ส่งผลให้มีประจุบวกและลบเปลี่ยนแปลงไป นำไปสู่ความแตกต่างของค่าการละลาย (Zayas, 1997) โดย PSWE ที่ได้จากการสกัด 3 อุณหภูมินั้นที่สภาวะกรด (pH 2, 4 และ 6) จะมีค่าการละลายที่สูงกว่าที่สภาวะด่าง (pH 8, 10 และ 12) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วน PSWE220 จะมีค่าการละลายมากกว่า PSWE180 และ PSWE200 ที่ pH 2, 4, 6 และ 10 ( $p < 0.05$ ) ซึ่งอาจเนื่องมาจากการเกิดไฮโดรไลซิสมากที่สุด และเกิดกรดอะมิโนที่มากขึ้น (Goto และคณะ, 2008) ซึ่งทำให้มีความสามารถในการละลายสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าการละลายของ PSWE และ PAE พบว่า PAE ที่ pH 10 และ 12 มีค่าการละลายมากกว่า PSWE อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจาก PAE อาจจะมีปริมาณของกรดกลูตามิก และ กรดแอสปาร์ติกที่สูง (Sogi และ Singh, 2018) ทำให้มีประจุลบที่มากที่ pH 10 และ 12 เนื่องจากเป็น pH ที่มีค่าสูงกว่าค่า  $pK_{a2}$  ส่งผลให้มีค่าการละลายที่มากกว่า PSWE เพราะ PSWE มีกรดแอสปาร์ติกที่ละลายออกมาสูงเพียงชนิดเดียวที่โดดเด่น (Hui-juan, Ying-li และ Jing, 2014) ค่าการละลายของ PSWE จึงต่ำกว่า แต่ที่ pH 2, 4, 6 และ 8 ค่าการละลายของ PSWE จะมากกว่า PAE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลของการไฮโดรไลซ์ของโมเลกุลโปรตีน ทำให้มีกรดอะมิโนมากขึ้น ค่าการละลายจึงมากขึ้น

**ตารางที่ 4.3** การละลายของสารละลายโปรตีนรำข้าวสกัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

pH	PAE (%)	PSWE180 (%)	PSWE200 (%)	PSWE220 <sup>ns</sup> (%)
2	58.42 <sup>cb</sup> ± 1.63	82.27 <sup>ba</sup> ± 2.90	94.04 <sup>aA</sup> ± 4.64	96.36 <sup>A</sup> ± 3.46
4	47.57 <sup>db</sup> ± 4.06	94.53 <sup>aA</sup> ± 0.29	89.73 <sup>aA</sup> ± 0.21	95.05 <sup>A</sup> ± 1.31
6	62.58 <sup>bcB</sup> ± 1.98	90.84 <sup>aA</sup> ± 4.17	89.17 <sup>aA</sup> ± 1.00	95.25 <sup>A</sup> ± 2.77
8	67.79 <sup>bc</sup> ± 3.80	78.30 <sup>bb</sup> ± 2.66	95.76 <sup>aA</sup> ± 1.63	93.08 <sup>AB</sup> ± 0.82
10	91.53 <sup>aA</sup> ± 2.26	77.30 <sup>bb</sup> ± 3.02	76.13 <sup>bb</sup> ± 7.80	91.69 <sup>A</sup> ± 3.49
12	96.87 <sup>aA</sup> ± 1.48	78.80 <sup>bc</sup> ± 3.23	91.34 <sup>aAB</sup> ± 1.37	87.43 <sup>B</sup> ± 3.82

PAE; protein by alkaline extraction, PSWE180; protein by subcritical water extraction ที่ 180 °C, PSWE200; protein by subcritical water extraction ที่ 200 °C, PSWE 220; protein by subcritical water extraction ที่ 220 °C , ns; ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ), a, b, c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ), A, B, C, ... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

#### 4.3.2 ความสามารถในการเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟม

ความสามารถในการเกิดโฟมขึ้นอยู่กับ ค่าการละลายของโปรตีน, โมเลกุลของโปรตีน, pH และ ความยืดหยุ่นของโปรตีน (flexibility) ซึ่งเกี่ยวข้องกับปริมาณของพันธะไดซัลไฟด์ (Townsend, 1983) จากตารางที่ 4.4 เมื่อพิจารณาความสามารถในการเกิดโฟมของ PAE พบว่า ที่ pH ต่างกัน ความสามารถในการเกิดโฟมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และเมื่อพิจารณา PSWE ที่สกัดที่ 3 อุณหภูมิ พบว่าที่ pH 4 PSWE จะมีความสามารถในการเกิดโฟมน้อยที่สุด เนื่องจากเป็น pH ที่อยู่ใกล้ pI ของโปรตีนรำข้าว ส่งผลให้โปรตีนมีการละลายน้อยที่สุด ค่าการเกิดโฟมจึงน้อยที่สุด และเมื่อ pH สูงขึ้น ความสามารถในการเกิดโฟมจะมากขึ้น เนื่องจากประจุลบของโปรตีนสูงขึ้น ซึ่งมีแนวโน้มทำให้โปรตีนมีความยืดหยุ่นสูงขึ้น และ ปฏิกริยาไฮโดรโฟบิกอย่างอ่อนสูงขึ้น ส่งผลต่อการคลายตัวของโปรตีนและการแพร่ผ่านไปยัง ภูมิภาคของน้ำและอากาศ (air-water interface) ได้เร็วขึ้น จึงทำให้เกิดโฟมได้ดีขึ้น (Tang, Hettiarachchy, Horax และ Eswaranandam, 2003) ซึ่ง

เมื่ออุณหภูมิการสกัดของ PSWE เพิ่มขึ้น ความสามารถในการเกิดโพลีเมอร์จะสูงขึ้น เนื่องจาก เกิดการไฮโดรไลซิสของ โปรตีนที่เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการละลายของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น ทำให้มีปริมาณโปรตีนแพร่ไปที่วอลลูมของอากาศกับ น้ำได้มากขึ้น (Cherry และ McWatters, 1981) และเมื่อเปรียบเทียบ PAE และ PSWE พบว่า PAE จะมีค่าการ เกิดโพลีเมอร์มากกว่า PSWE เนื่องจาก PSWE ถูกความร้อนทำลายพันธะไดซัลไฟด์ ซึ่งส่งผลต่อความยืดหยุ่นของ โปรตีน (Townsend, 1983) และ PSWE มีน้ำตาลที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสของคาร์โบไฮเดรตส่งผลให้ป้องกันการ เกิดปฏิสัมพันธ์ไฮโดรโฟบิกของโปรตีน ปริมาณการกักอากาศน้อยลงทำให้มีปริมาณในการเกิดโพลีเมอร์น้อยกว่า PAE (Ochia, Katsuta, Maruyama, Kubo และ Ueda, 2000)

#### ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการเกิดโพลีเมอร์ของโปรตีนรำข้าวสาลีไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่ง วิกฤต

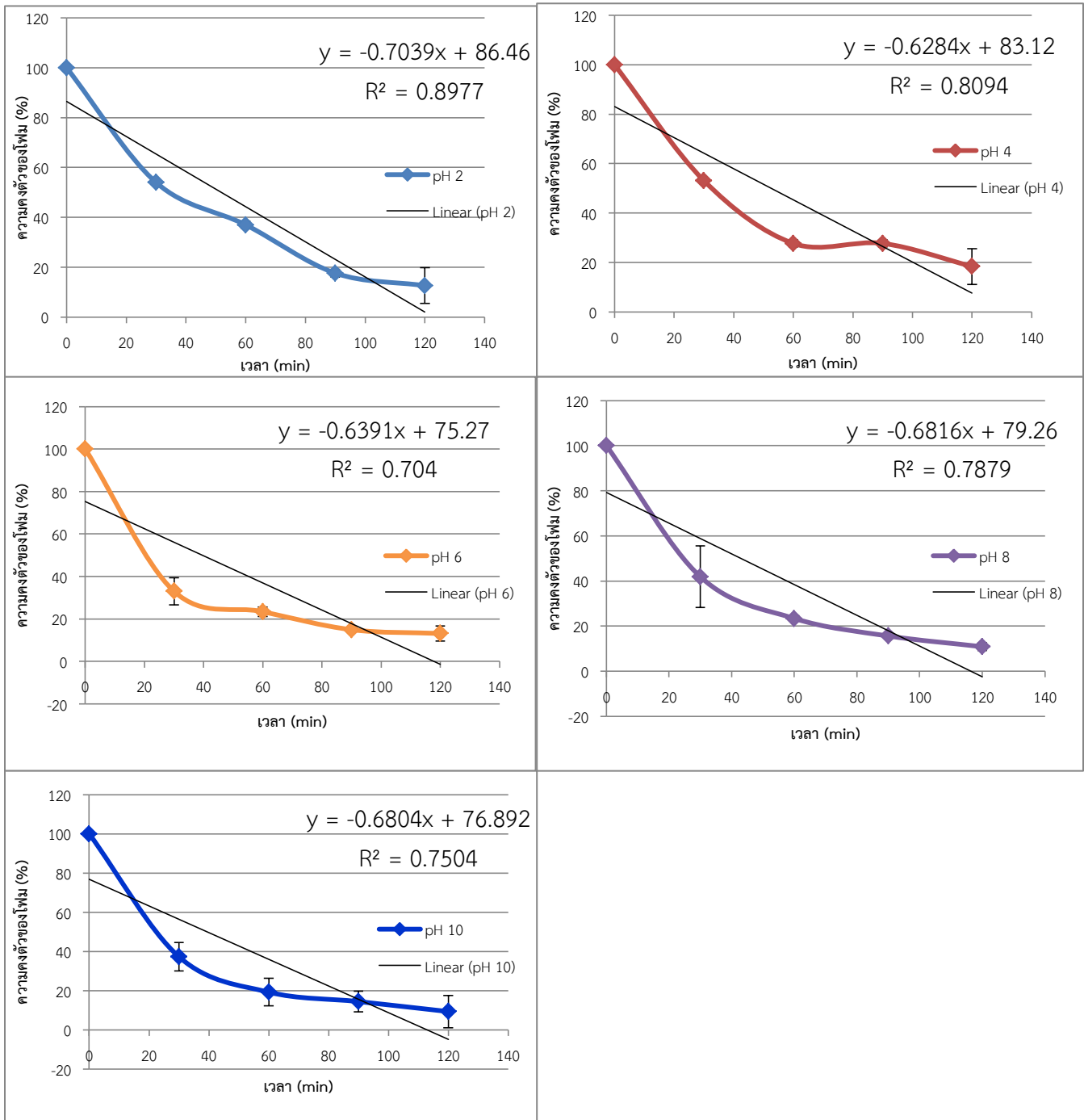
pH	PAE <sup>ns</sup> (ml)	PSWE180 (ml)	PSWE200 (ml)	PSWE220 (ml)
2	31.00 <sup>A</sup> ± 1.41	17.00 <sup>bc</sup> ± 1.00	18.00 <sup>abBC</sup> ± 0.00	21.00 <sup>bb</sup> ± 2.83
4	32.00 <sup>A</sup> ± 2.83	5.67 <sup>dc</sup> ± 1.53	15.33 <sup>bb</sup> ± 0.58	15.00 <sup>cb</sup> ± 0.00
6	30.00 <sup>A</sup> ± 2.83	9.33 <sup>cd</sup> ± 0.58	17.33 <sup>bc</sup> ± 2.52	23.50 <sup>abb</sup> ± 2.12
8	32.00 <sup>A</sup> ± 1.41	21.00 <sup>aAB</sup> ± 2.65	18.00 <sup>ac</sup> ± 0.00	23.50 <sup>abb</sup> ± 2.12
10	30.50 <sup>A</sup> ± 3.54	20.67 <sup>ab</sup> ± 2.89	21.00 <sup>ab</sup> ± 2.65	25.50 <sup>aAB</sup> ± 2.12

PAE; protein by alkali extraction, PSWE180; protein by subcritical water extraction ที่ 180 °C, PSWE200; protein by subcritical water extraction ที่ 200 °C, PSWE220; protein by subcritical water extraction ที่ 220 °C , ns; ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p > 0.05), a, b, c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05), A, B, C, ... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

เมื่อพิจารณาในส่วนของความคงตัวของโพลีเมอร์ จากรูปที่ 4.2 ที่ pH ต่างกัน PAE มีความคงตัวของโพลีเมอร์ต่างกัน จากการพิจารณาความชันของกราฟแต่ละ pH พบว่า ที่ pH 4 จะมีความชันน้อยที่สุด จึงมีความคงตัวของโพลีเมอร์มากที่สุด เนื่องจากที่ pH 4 มีค่าเข้าใกล้ pI ประจุสุทธิบนตัวโปรตีนจึงน้อย ส่งผลให้มีการผลึกกันของ

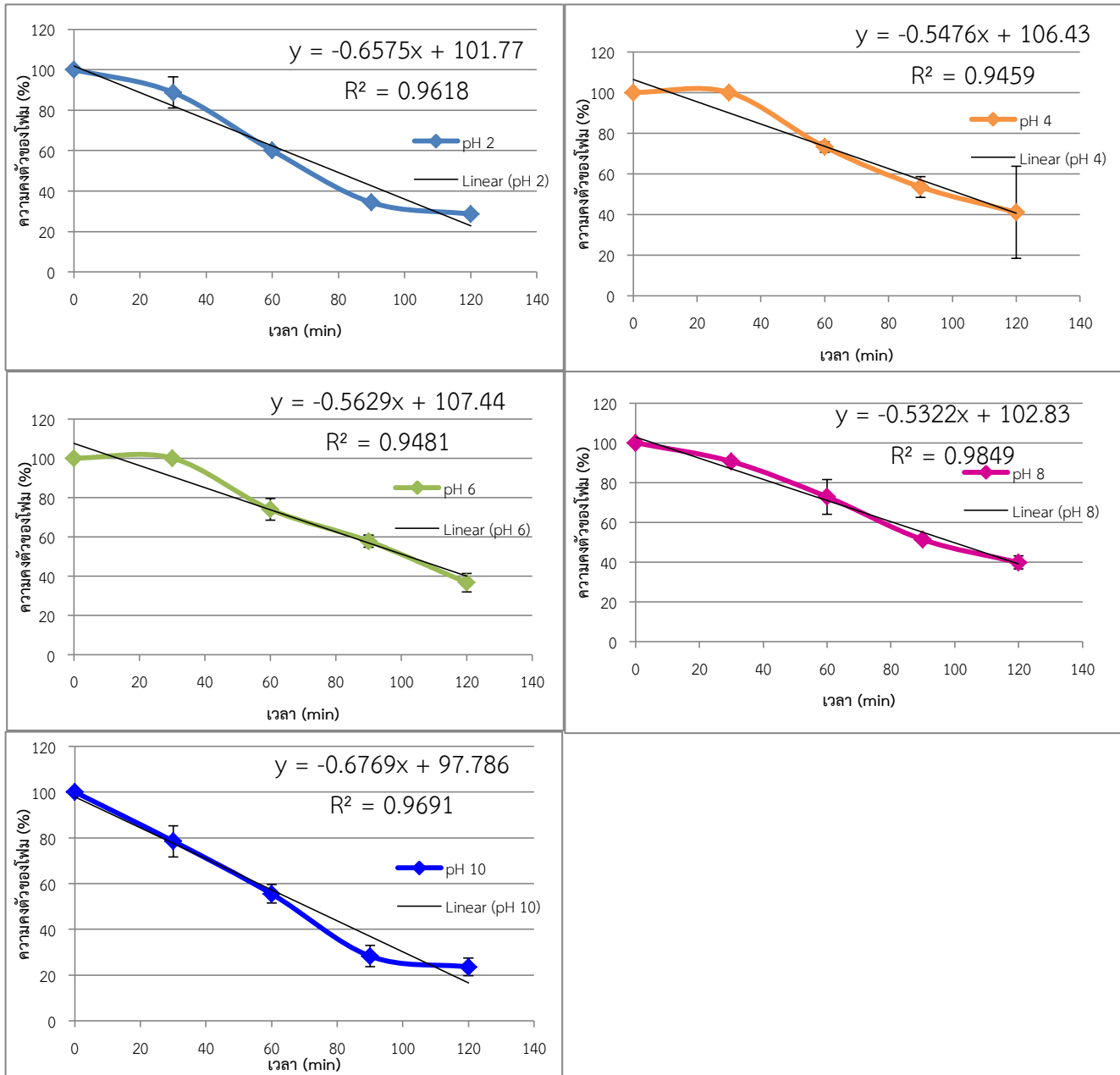
ประจุน้อยลง โฟมจึงคงตัวมากกว่าที่ pH อื่น(Singh และ Sogi, 2018) ซึ่งเมื่อ pH ออกห่างจาก pI ความคงตัวของโฟมก็ลดลงเช่นกัน เนื่องจากเกิดการผลักรันของประจุบนโปรตีน ฟิล์มจึงถูกทำลาย (Yoon และคณะ, 2009)

จากรูปที่ 4.3, 4.4 และ 4.5 PSWE180, PSWE200 และ PSWE220 ที่ pH 8 มีความชันน้อยที่สุด จึงมีความคงตัวของโฟมมากที่สุด ส่วนค่าความคงตัวของ PSWE180 ที่น้อยที่สุดจะอยู่ที่ pH 10 ซึ่ง PSWE200 และ PSWE220 มีค่าความคงตัวน้อยที่สุดอยู่ที่ pH 4 ซึ่ง PSWE200 แลพ PSWE220 จะให้ค่าความคงตัวมากที่สุด อาจเนื่องมาจากเกิดการไฮโดรไลซิสของคาร์โบไฮเดรตเกิดเป็นน้ำตาล ซึ่งน้ำตาลจะส่งผลให้โฟมมีความคงตัวสูงขึ้น (Ochia, Katsuta, Maruyama, Kubo และ Ueda, 2000) อาจจะไปเพิ่ม hydrophilicity ของสารละลาย (Antipova และคณะ, 1999) จึงละลายน้ำได้ดีขึ้น ความคงตัวของโฟมจึงดีขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบค่าความคงตัวของ PAE กับ PSWE ที่มากที่สุด พบว่า PSWE200 และ PSWE220 มีความคงตัวมากที่สุด ที่ pH 8 เนื่องจาก PSWE จะมีการไฮโดรไลซิสของคาร์โบไฮเดรตกลายเป็นน้ำตาล ซึ่งน้ำตาลจะส่งผลให้โฟมมีความคงตัวสูงขึ้น (Ochia, Katsuta, Maruyama, Kubo และ Ueda, 2000) และจากงานวิจัยของ Nakamura และ Sato (1964) ได้ทำการเปรียบเทียบการเติมน้ำตาลกลูโคส 20% และ 30% ในอัลบูมิน (โปรตีน 3.3 % และ 1.9 % ตามลำดับ) พบว่าอัลบูมินที่เติมน้ำตาล 30% มีค่าความคงตัวของโฟมมากกว่า

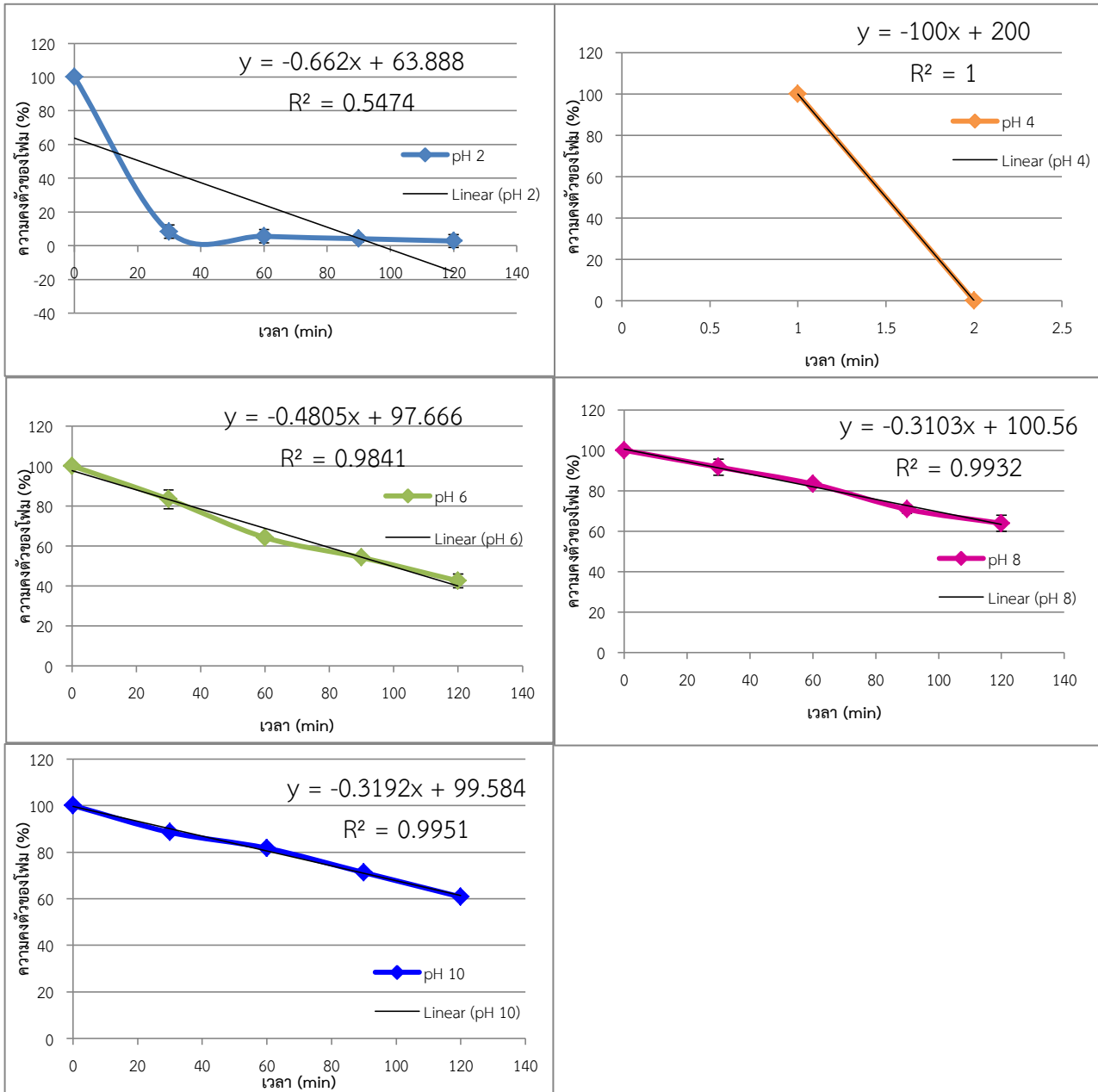


รูปที่ 4.2 ความคงตัวของโพลีเมอร์ PAE ที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10

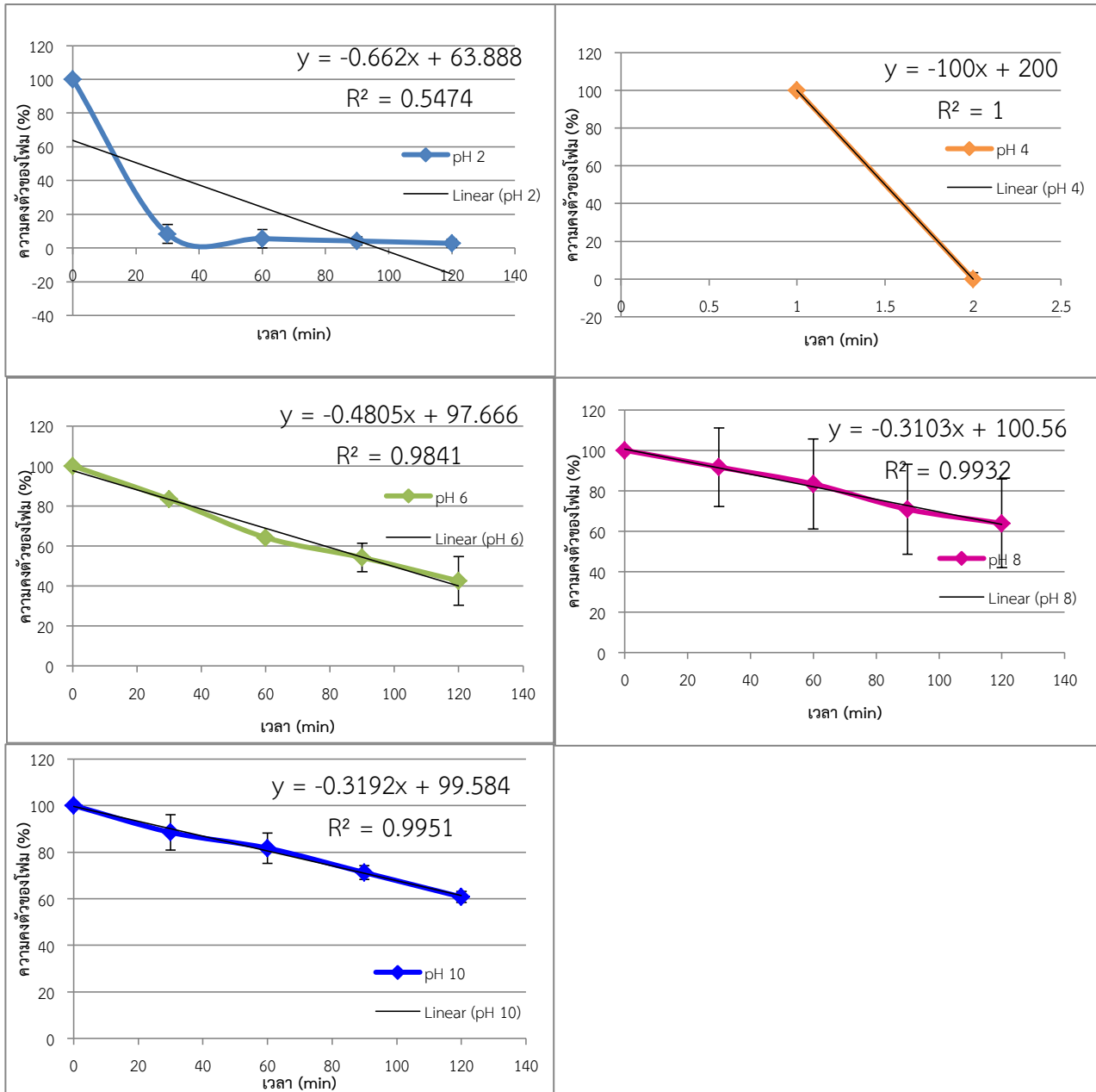




รูปที่ 4.3 ความคงตัวของโพลีเมอร์ PSWE180 ที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10



รูปที่ 4.4 ความคงตัวของโพลีเมอร์ PSWE200 ที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10



รูปที่ 4.5 ความคงตัวของโพลีเมอร์ PSWE220 ที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10

### 4.3.3 กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน

การเกิดอิมัลชันที่ดีของโปรตีนต้องมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เพื่อเป็นตัวเชื่อมน้ำกับน้ำมันเข้าด้วยกัน โดยส่วนที่มีขั้วจะไปจับกับโมเลกุลของน้ำและส่วนที่ไม่มีขั้วจะไปจับกับโมเลกุลของน้ำมัน จากตารางที่ 4.5 พบว่า PAE ที่ pH 3 จะมีค่า emulsion activity ต่ำที่สุด เนื่องจากเป็นจุดที่ใกล้ค่า pI ส่งผลให้โปรตีนมีการละลายที่น้อยมาก จึงไม่สามารถทำให้น้ำกับน้ำมันอยู่ในอนุภาคเดียวกันได้ และเมื่อสารละลายมีค่า pH เพิ่มขึ้น ค่า emulsion activity จะเพิ่มขึ้นเช่นกัน อันเนื่องมาจาก ค่าการละลายของโปรตีนเนื่องจากประจุอิทธิบนตัวของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป และเมื่อพิจารณา PSWE ที่สกัดที่ 3 อุณหภูมิ พบว่าค่า emulsion activity มีแนวโน้มเดียวกันกับ PAE ที่ pH 3 และที่ pH สูงขึ้น โดย PSWE180 จะมี emulsion activity ที่ pH 3, 5 และ 9 สูงกว่า PSWE200 และ PSWE220 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจาก เกิดการไฮโดรไลซิสของโปรตีนมากเกินไป ส่งผลให้ emulsion activity ต่ำลง (Cheetangdee, 2014) และเมื่อเปรียบเทียบ PAE กับ PSWE พบว่า ที่ pH 9 PAE มี emulsion activity ไม่แตกต่างจาก PSWE200 และ PSWE220 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แต่ PAE มี emulsion activity ต่ำกว่า PSWE180 เนื่องจากการไฮโดรไลซิสของโปรตีนที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า surface hydrophobicity และการละลายของโปรตีนที่ดีขึ้น (Cheetangdee, 2014) โดยการเพิ่มขึ้นของค่า surface hydrophobicity จะเพิ่มประสิทธิภาพของการดูดซับ (adsorption) ของโปรตีนบนพื้นผิวของน้ำมัน การเพิ่มขึ้นของการละลายจะส่งผลต่อการกระจายตัวของโปรตีนไปที่วสุภาคทั้งสองทำให้ emulsion activity มีค่าสูงขึ้น

ค่า emulsion stability จะได้รับอิทธิพลจากการไฮโดรไลซิสของโปรตีนไปในแนวโน้มเดียวกับ emulsion activity เมื่อพิจารณาค่า emulsion stability ของ PAE ต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH (ตารางที่ 4.5) พบว่า ที่ pH 3 มีค่าเข้าใกล้ pI จึงมีค่า emulsion stability ต่ำที่สุด และเมื่อ pH สูงขึ้น ค่า emulsion stability จะสูงขึ้น เช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh และ Sogi (2018) ในการทดลองใช้โปรตีนรำข้าวพันธุ์ superfine สกัดไขมัน พบว่า emulsion stability มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อ pH เพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณา PSWE พบว่า ที่ pH 3 PSWE180 มี emulsion stability ต่ำกว่า PSWE200 และ PSWE220 ( $p < 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาผลของ pH พบว่า ที่ pH 5 PSWE180 และ PSWE200 มี emulsion stability สูงที่สุด และที่ pH 7 พบว่า PSWE180 มีค่า emulsion stability สูงที่สุด นอกจากนั้นเมื่อเปรียบเทียบ PAE และ PSWE จะพบว่า PSWE ส่วนใหญ่มีค่า emulsion stability สูงกว่า เนื่องจากมีการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งจากการทดลองของ Lesmes และ McClements (2010) ได้กล่าวไว้ว่า emulsion stability จะมีค่าสูงขึ้นตาม

ปริมาณ carbohydrate-protein conjugate ซึ่งได้ใช้  $\beta$ -lactoglobulin และ Dextrans เป็นวัตถุติดในการทดลอง ซึ่งยังมีอีกหลายงานวิจัยที่กล่าวข้างต้น เช่น การใช้ไข่ขาวและกาแลคโตแมนแนนในการวิเคราะห์ (Kato, Minaki และ Kobayashi, 1993), การใช้เวย์โปรตีนและเพกทินในการวิเคราะห์ (Neiryck และคณะ, 2004) ที่ได้ผลสอดคล้องกัน

**ตารางที่ 4.5** กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชันของโปรตีนรำข้าวสาคัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

	pH	PAE	PSWE180	PSWE200	PSWE220
Emulsion activity ( $A_{500}$ )	3	0.06 <sup>cb</sup> $\pm$ 0.02	0.28 <sup>ba</sup> $\pm$ 0.09	0.15 <sup>db</sup> $\pm$ 0.02	0.06 <sup>cb</sup> $\pm$ 0.01
	5	0.53 <sup>ba</sup> $\pm$ 0.03	0.17 <sup>cc</sup> $\pm$ 0.03	0.33 <sup>cb</sup> $\pm$ 0.01	0.55 <sup>ba</sup> $\pm$ 0.04
	7	0.76 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.04	0.96 <sup>aa</sup> $\pm$ 0.02	0.54 <sup>bc</sup> $\pm$ 0.09	0.77 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.03
	9	0.75 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.12	0.96 <sup>aa</sup> $\pm$ 0.38	0.67 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.05	0.79 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.11
Emulsion stability (min)	3	12.52 <sup>dc</sup> $\pm$ 0.52	13.12 <sup>cc</sup> $\pm$ 0.30	22.59 <sup>cb</sup> $\pm$ 0.30	35.97 <sup>aa</sup> $\pm$ 4.42
	5	25.30 <sup>bc</sup> $\pm$ 0.72	44.98 <sup>aa</sup> $\pm$ 3.73	48.18 <sup>aa</sup> $\pm$ 3.73	33.61 <sup>abb</sup> $\pm$ 3.57
	7	23.45 <sup>cc</sup> $\pm$ 0.01	49.81 <sup>aa</sup> $\pm$ 5.68	37.13 <sup>bb</sup> $\pm$ 5.68	21.57 <sup>cc</sup> $\pm$ 2.94
	9 <sup>ns</sup>	27.73 <sup>a</sup> $\pm$ 0.18	24.18 <sup>b</sup> $\pm$ 2.62	27.69 <sup>c</sup> $\pm$ 2.62	28.99 <sup>b</sup> $\pm$ 6.36

PAE; protein by alkali extraction, PSWE180; protein by subcritical water extraction ที่ 180 °C, PSWE200; protein by subcritical water extraction ที่ 200 °C, PSWE220; protein by subcritical water extraction ที่ 220 °C , ns; ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ), a, b, c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ), A, B, C, ... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า มีความเป็นไปได้ในการใช้น้ำกึ่งวิกฤตสกัดโปรตีนรำข้าว ซึ่งได้ปริมาณผลผลิตที่สูงสุดเท่ากับ 41.78% เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 220 °C โดยมีความมากกว่าการสกัดด้วยสารละลายต่าง จากการวิเคราะห์ค่าการละลายของโปรตีน PSWE220 มีค่าการละลายมากที่สุด ซึ่ง PSWE220 จะให้ค่าการละลายที่มากกว่า PAE ที่ pH 2, 4, 6 และ 8 แต่ PAE จะมีความสามารถในการเกิดโฟมที่ดีกว่า PSWE ที่ได้จากการสกัดที่ 3 อุณหภูมิในทุก pH แต่ความคงตัวของโฟมนั้น PSWE จะมีค่าที่สูงกว่า PAE เมื่อพิจารณาจากอัตราการลดลงของโฟม ซึ่ง PSWE200 และ PSWE220 มีความคงตัวของโฟมสูงที่สุด และเมื่อวิเคราะห์สมบัติการเกิดอิมัลชันพบว่า PSWE180 จะให้ค่าดัชนีกิจกรรมการเกิดอิมัลชันสูงกว่า PAE ที่ pH 7 แลพ 9 นอกจากนั้นความเสถียรของอิมัลชันของ PSWE ยังมีค่าสูงกว่า PAE ที่ pH 5 ในทุกอุณหภูมิของการสกัด และ PSWE180 จะมีความเสถียรของอิมัลชันสูงที่สุดที่ pH 7

จากข้อมูลข้างต้น PSWE อาจจะเหมาะสำหรับนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีสภาวะเป็นกรด เช่น กาแฟ, sport drink เพื่อเสริมคุณค่าทางอาหารและช่วยในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ในเครื่องดื่มได้ เนื่องจากมีสมบัติการละลายที่ดีใน pH ที่เป็นกรด และอาจนำ PSWE ไปเป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารประเภทอิมัลชันได้ เช่น มายองเนส, น้ำสลัด เป็นต้น ด้วยสมบัติการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันที่ดี

### บรรณานุกรม

- Adebiyi, A. P., Adebiyi, A. O., Yamashita, J., Ogawa, T., Muramoto, K. 2009. Purification and characterization of oxidative peptides derived from rice bran protein hydrolysates. Eur. Food Res. Technol. 228, 553-563.
- Agboola, S., Ng, D., Mill, D. 2005. Characterisation and functional properties of Australian rice protein isolates. Journal of Cereal Science. 41: 283–290
- Amagliani, L., O’Regan, J., Kelly, A.L. 2017. The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. Trends in Food Science & Technology. 64: 1-12.
- Antipova, A.S., Semenova ,M.G., Belyakova, LE. 1999. Effect of sucrose on the thermodynamic properties of ovalbumin and sodium caseinate in bulk solution and at air-water interface. Colloids Surf B: Biointerfaces. 12: 261-270.
- AOAC, in, Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, MD, USA, 2000.
- Arntfield, S.D. 2004, Proteins from oil-producing plants. Proteins in Food Processing. pp. 146-175.
- Bera, M.B., Mukherjee, R.K. 1989. Solubility, emulsifying, and forming properties of rice bran protein concentrates. Journal of Food Science. 54: 142-145.
- Cao, X., Wen, H., Li, C., Gu, Z. 2009. Differences in functional properties and biochemical characteristics of congenetic rice proteins. Journal of Cereal Science. 50: 184-189.
- Chandi, G. K., Sogi, D.S. 2007. Functional properties of rice bran protein concentrates. Journal of Food Engineering. 79: 592-597.
- Cheetangdee, N. 2014. Effects of rice bran protein hydrolysates on the physicochemical stability of oil-in-water emulsion. J. Oleo Sci. 63(12): 1231-1241.

Cherry, J. P., McWatters, K. H. 1981. Whippability and aeration, In Protein Functionality in Foods, ACS Symposium Series 147 (1. P. Cherry, ed.).

Choi, Y.S., Choi, J.H., Han, D.J., Kim, H.Y., Lee, M.A., Kim, H.W., Jeong, J.Y., Kim, C.J. 2011. Effects of rice bran fiber on heat-induced gel prepared with pork salt-soluble meat proteins in model system. Meat Science. 88: 59-66.

Connor, M.A., Saunders, R.M., Kohler, G.O., 1977. Preparation and properties of protein concentrates obtained by wet alkali processing of rice bran. In: Barber, S., Tortosa, E. (Eds.), Rice By-products Utilization International Conference 1974. IACFT, Spain.

Daigle, W., Shin, F.F. 2000. Preparation and characterization of rice protein isolates. Journal of the American Oil Chemists' Society. 77(8): 885-889

Fabian, C., Ju, Y.H. 2011. A Review on Rice Bran Protein: Its Properties and Extraction Methods . Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 51: 816-827.

FAO/WHO/UNU (1985) Energy and Protein Requirements. World Health Organization, Geneva.

Garcia, M.C., Benassi, M.D.T., Soares Júnior, M.S. 2012. Physicochemical and sensory profile of rice bran roasted in microwave. Food Sci Technol. 32(4):754-761.

Gnanasambandam, R., Hettiarachchy, N.S. 1995. Protein Concentrates from Unstabilized and Stabilized Rice Bran: Preparation and Properties. Journal of Science. 60(5): 1066-1069

Goto, M., Prapintip, S., Sasaki, M., Sereewatthanawut, I., Shotipruk, A., Watchirarujj, K. 2008. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. Bioresource Technology. 99: 555-561.

Gul, K., Yousuf, B., Singh, A.K., Singh, P., Wani, A.A. 2015. Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food—A review. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 6:24-30



Hamada, J.S. 1997. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization. Cereal Chemistry. 74: 662-668.

Hartonen, K. 2009. Subcritical water. Retrieved November 15, 2018 from [http://www.greenfluids.org/html/Techniques/hot\\_water.html](http://www.greenfluids.org/html/Techniques/hot_water.html)

Hui-juan, Z., Ying-li, L., Jing, W. 2014. Heat-Stable Defatted Rice Bran Protein Extracted by Subcritical Water Extraction. 食品科学. 35(2): 5-11.

Hu, W., Wells, J. H., Shin, T. S., Godber J. S. 1996. Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran. Journal of the American Oil Chemists' Society. 73: 1653-1656.

Jiamyangyuen, S., Srijesaruk, V., Harper, W.J. 2005. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. Songklanakarin. Journal of Science and Technology. 27(1): 55-64

Kato, A., Lee, Y., Kobayashi, K. 1989. Deamidation and functional properties of food proteins by the treatment with immobilized chymotrypsin at alkaline pH, J. Food Sci. 54: 1345–1347.

Kato, A., Minaki, K. , Kobayashi, K. 1993. Improvement of emulsifying properties of egg white proteins by the attachment of polysaccharide through Maillard reaction in a dry state. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 41(4): 540-543.

Lamberts, L., Brijs, K., Mohamed, R., Verhelst, N., Delcour, J.A. 2006. Impact of browning reactions and bran pigments on color of parboiled rice. J. Agric Food Chem. 54(26): 9924-9929.

Lavanya M.N., Venkatachalapathy N., and Manickavasagan A. 2017. Brown rice. Physicochemical Characteristics of Rice Bran. Brown rice. pp. 79-90.

Lesmesand, U., McClements, D.J. 2010. Behaviour of emulsions stabilized by maillard-based glycoconjugates under simulated gastrointestinal conditions.

Luh, B.S., Barber, S., Barger, C.B. 1991. Rice utilization, New York : Van Nostrand Reinhold.

Mcclements, D.J., Piorkowski, D. 2014. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. Food Hydrocolloids. 42: 5-41.

Nakamura, R., Yasushi, S. 1964. Studies on the Foaming Property of the Chicken Egg White, Agricultural and Biological Chemistry. 28(8): 524-534.

Neiryneck, N., Van der Meeren, P., Bayarri Gorbe, S., Dierckx, S., Dewettinck, K. 2004. Improved emulsion stabilizing properties of whey protein isolate by conjugation with pectins. Food Hydrocolloids. 18(6): 949-957.

Ochia, A., Katsuta, K. Maruyama, E., Kubo, M., Ueda, T. 2000. Effects of sugars on stability of egg foam and their rheological properties. Hydrocolloids. 275-280.

Pearce, K.N., Kinsella, J.E. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique, J. Agric. Food Chem. 26:716–723.

Sairam, S., Krishna, A.G., Urooj, A. 2011. Physico-chemical characteristics of defatted rice bran and its utilization in a bakery product. J. Food Sci Technol. 48(4): 478-483.

Sharma, H.R., Chauhan, G.S., Agrawal, K. 2004. Physico-chemical characteristics of rice bran processed by dry heating and extrusion cooking. Int J. Food Prop. 7(3): 603-614

Shih, F.F., Champagne, E.T., Daigle, K., Zarins, Z., 1999. Use of enzymes in the processing of protein products from rice bran and rice flour. Nahrung 43(1), 14–18.

Singh, T.P., Sogi, D.S. 2018. Comparative study of structural and functional characterization of bran protein concentrates from superfine, fine and coarse rice cultivars. International Journal of Biological Macromolecules. 111: 281-288.

Tang, C.H., Sun, X. 2011. A comparative study of physicochemical and conformational properties in three vicilins from Phaseolus legumes: implications for the structure-function relationship, Food Hydrocoll. 25: 315-324

Tang, S., Hettiarachchy, N.S., Horax, R., Eswaranandam, S. 2003. Physicochemical properties and functionality of rice bran protein hydrolyzate prepared from heat-stabilized defatted rice bran with the aid of enzymes. J. Food Sci. 68:152–157.

Townsend, A. M., Nakai, S. 1983. Relationships between hydrophobicity and foaming characteristics of food proteins, J Food Sci., 48: 588.

Yousuf, B., Singh, A.K., Singh, P., Wani, A. A. 2015. Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food—A review. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 6: 24-30

Wang, C.H., Xu, F., Li, D., Zhang, M. 2015. Physico-chemical and structural properties of four rice bran protein fractions based on the multiple solvent extraction method, Czech J.Food Sci. 33: 283–291.

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

Wang, T., Zhang, H., Wang, L., Wang, R., Chen, Z. 2015. Mechanistic insights into solubilization of rice protein isolates by freeze–milling combined with alkali pretreatment. Food chem. 178: 82-88

World Rice Statistics, 2004. International Rice Research Institute (IRRI), Philippines.

Yoon, J.H., Jung, D.C., Lee, E.H., Kang, Y.S., Lee, S.Y., Park, S.R., Yeom, H.J., Ha, M.S., Park, S.K., Lee, Ha, S.D., Kim, G.H., Bae, D.H. 2009. Characteristics of a black soybean (*Glycine max* L. Merrill) protein isolate partially hydrolyzed by alcalase, Korean J. Food Sci.Technol. 18:488–493.

Zayas, J. S., 1997. Functional properties of protein in food. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Zhang, H.-J., Zhang, H., Wang, L., Guo, X.-N. 2012. Preparation and functional properties of rice bran proteins from heat-stabilized defatted rice bran. Food Research International. 47: 359-363.

Zhou, L., Yang, Y., Ren, H., Zhao, Y., Wu, F., Xiao, Z. 2016. Structural changes in rice bran protein upon different extrusion temperatures: a Raman spectroscopy study. J. Chemother. 2016:1-8

ปราโมทย์ คูวิจิตรจรรู, 2012. การปรับปรุงคุณสมบัติของกากมะพร้าวด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรมมหาวิทยาลัยศิลปากร

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนูปนนท์. 2010. Rice/ข้าว. ค้นเมื่อ 20 กันยายน 2018, จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1657/rice-%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7>

## ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### วิธีดำเนินงานวิจัย

#### ก.1 การสกัดโปรตีนจากรำข้าว

##### ก.1.1 การสกัดโปรตีนจากรำข้าวสกัดไขมันด้วยสารละลายต่าง (alkali extraction)

##### สารเคมี

- $\alpha$ -amylase (Liquozyme<sup>®</sup> 2.8X, A.R. grade)
- glucoamylase (Dextrozyme<sup>®</sup> GA 1.5X, A.R. grade)
- sodium hydroxide (A.R. grade)
- hydrochloric acid (A.R. grade)

##### อุปกรณ์

- Vacuum filter
- Filter paper Whatman No.1 (Whatman, Maidstone, England)
- Buchner funnel
- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchlengern, Germany)
- Stirring Hot Plate (IKA C-Mag HS Digital Stirring Hot Plate, 7 x 7", 230 VAC)

##### วิธีการทดลอง

อ้างอิงจากวิธีของ Jiamyangyuen และคณะ (2005) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยมีขั้นตอน ดังนี้

1. นำรำข้าวมาละลายในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 แล้วปรับpH ให้เท่ากับ5.60 ด้วยสารละลาย 1.0 M NaOH หรือ 1.0 M HCl จึงเติม  $\alpha$ -amylase ลงไป 0.5 ml แล้วนำไปบ่มที่ 83 °C เป็นเวลา 90 นาที โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง
2. นำรำข้าวจากข้อ 1 มาปรับpH ให้เท่ากับ 4.4 แล้วจึงเติม glucoamylase ลงไป 0.5 ml นำไปบ่มที่ 60 °C เป็นเวลา 60 นาที โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง 60 นาที แล้วจึงนำมาให้ความร้อนเพื่อยับยั้งเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 10 นาที

3. นำรำข้าวจากข้อ 2 มาปั่นเหวี่ยงที่ 8000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงส่วนของตะกอนออกมาแขวนลอยในน้ำกลั่นแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเช่นเดิม โดยทำดังนี้ 3 ครั้ง
4. นำรำข้าวจากข้อ 3 ไปอบแห้งข้ามคืนที่อุณหภูมิ 40 °C
5. นำรำข้าวสกัดไขมันจากข้อ 4 ไปแขวนลอยในน้ำกลั่นประมาณ 7.14% solid content (0.5 g ในน้ำกลั่น 7 ml)
6. นำสารแขวนลอยไปปรับ pH ให้เท่ากับ 11 โดยใช้สารละลาย NaOH 1 M ที่อุณหภูมิ 25 °C และใช้เวลาในการไฮโดรไลซิส เป็นเวลา 45 นาที
7. ทำการปรับ pH ของสารแขวนลอยให้ได้ pH 7 ด้วยสารละลาย HCl 1 M เพื่อหยุดปฏิกิริยา
8. นำรำข้าวที่เหลืออยู่แยกออกจากส่วนที่ละลายได้ (soluble product) ด้วย vacuum filter ด้วยการใช้กระดาษกรอง (Whatman No.1)
9. เก็บส่วนสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สมบัติต่างๆต่อไป

### ก1.2 การสกัดโปรตีนออกจากรำข้าวไร้ไขมันด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (subcritical water extraction)

#### สารเคมี

- Amylase: Liquozyme® 2.8X (A.R. grade)
- Glucoamylase: Dextrozyme® GA 1.5X (A.R. grade)
- Sodium hydroxide (A.R. grade)
- Hydrochloric acid (A.R. grade)

#### อุปกรณ์

- Batch reactor (AKICO Co., Japan)
- Electric furnace heater (AKICO Co., Japan)
- Vacuum filter
- Filter paper Whatman No.1 (Whatman, Maidstone, England)
- Buchner funnel
- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchlengern, Germany)

- Stirring Hot Plate (IKA C-Mag HS Digital Stirring Hot Plate, 7 x 7", 230 VAC)

### วิธีการทดลอง

อ้างอิงจากการวิธีของ Goto และคณะ (2008) ได้ทำการสกัดโปรตีนจากรำข้าวสกัดไขมันด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (subcritical water) แต่มีการตัดแปลงเล็กน้อย ดังนี้

1. นำรำข้าวมาละลายในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 แล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 5.60 ด้วยสารละลาย 1 M NaOH หรือ 1 M HCl จึงเติม  $\alpha$ -amylase ลงไป 0.5 ml แล้วนำไปบ่มที่ 83 °C เป็นเวลา 90 นาที โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง
2. นำรำข้าวจากข้อ 1 มาปรับ pH ให้เท่ากับ 4.4 แล้วจึงเติม glucoamylase ลงไป 0.5 ml นำไปบ่มที่ 60 °C เป็นเวลา 60 นาที โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง แล้วจึงนำมาให้ความร้อนเพื่อยับยั้งเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 10 นาที
3. นำรำข้าวจากข้อ 2 มาปั่นเหวี่ยงที่ 8000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงส่วนของตะกอนออกมาแขวนลอยในน้ำกลั่นแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเช่นเดิม โดยทำดังนี้ 3 ครั้ง
4. นำรำข้าวจากข้อ 3 ไปอบแห้งข้ามคืนที่อุณหภูมิ 40 °C
5. นำรำข้าวที่ผ่านการอบแห้งไปแขวนลอยในน้ำกลั่นประมาณ 7.14% solid content (0.5 g ในน้ำกลั่น 7 ml)
6. นำสารแขวนลอยไปใส่ใน Stainless steel batch reactor 8.8 ml
7. ใช้เครื่อง electric furnace ตั้งอุณหภูมิตามที่ต้องการ (สำหรับงานวิจัยนี้จะทำที่ 3 อุณหภูมิ คือ 180, 200 และ 220 °C)
8. ใส่ reactor เข้าไปใน electric furnace heater รอประมาณ 20 นาทีเพื่อให้อุณหภูมิไปสู่อุณหภูมิที่ต้องการ พร้อมกับปรับความดันใน reactor ให้อยู่ที่ประมาณ 3.97 MPa จากนั้นทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที
9. จากนั้นจะนำ reactor ไปทำให้เย็นลงอย่างฉับพลันที่อุณหภูมิห้องโดยการแช่ลงใน cool water bath โดยกระบวนการทำให้เย็นนี้จะใช้เวลาประมาณ 3-5 นาที
10. แยกรำข้าวที่เหลืออยู่จากสารแขวนลอยด้วยการใช้ vacuum filter โดยการใช้กระดาษกรอง (Whatman No.1) จากนั้นชะล้าง reactor ด้วยน้ำกลั่น 5 ml แล้วจึงเทผ่านกระดาษกรองอีกครั้ง



11. เก็บสารละลายส่วนใสไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติต่างๆต่อไป

## ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบหลักในรำข้าวพิจารณาจากทฤษฎีของ AOAC (2000)

### ก.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในรำข้าว

#### อุปกรณ์

- ตู้อบลมร้อน (hot air oven, Memmert รุ่น UF110, Germany)
- ถ้วยอะลูมิเนียม
- เดสิคเคเตอร์

#### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักจานอลูมิเนียมที่อบแห้งและทิ้งให้เย็นในdesiccatorแล้ว(บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนทศนิยม 3 ตำแหน่ง)
2. ใส่รำข้าวประมาณ 0.5 g ลงในจานอลูมิเนียม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนทศนิยม 3 ตำแหน่ง
3. นำจานตัวอย่างไปใส่ในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100 – 105 °C เป็นเวลา 1 ชม. 30 นาที
4. นำจานตัวอย่างออกจากตู้อบ แล้วนำมาใส่ในdesiccator ทิ้งให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง
5. ชั่งน้ำหนักจานตัวอย่างแล้วบันทึกค่า (ทศนิยม 3 ตำแหน่ง)
6. นำจานตัวอย่างเข้าเตาอบอีก 1 ชม.
7. นำจานตัวอย่างออกมาจากตู้อบ มาใส่ในdesiccator ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
8. ชั่งน้ำหนักจานตัวอย่างพร้อมฝาและบันทึกน้ำหนัก
9. ทำข้อ 6-8 ซ้ำทุก 1 ชม. จนน้ำหนักคงที่ (เปลี่ยนแปลงไม่เกิน 0.001 g)
10. คำนวณน้ำหนักที่หายไประหว่างการอบและคำนวณปริมาณความชื้นเป็นร้อยละน้ำหนักเปียก (wet basis) โดยน้ำหนักที่หายไป คือ น้ำหนักของน้ำ

$$\text{ร้อยละความชื้นน้ำหนัสด} = \frac{(\text{น้ำหนักน้ำ} \times 100)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

## ก.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยในรำข้าว

### อุปกรณ์

- แท่งแก้วปลายยาง
- ผ้าขาวบาง
- กระดาษลิตมัส
- Buncher funnel
- Vacuum filter
- ครุชีเปิด
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert รุ่น UF110, Germany)
- Stirring Hot Plate (IKA C-Mag HS Digital Stirring Hot Plate, 7 x 7", 230 VAC)
- muffle furnace (CARBOLITE, model CWF 1200, Cambridge, England)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Scaltec Instrument GmbH, SBC 31, Goettingen, Germany)
- เดสิคเคเตอร์
- ถ้วยอะลูมิเนียม

### สารเคมี

- sulfuric acid 1.25% (w/w) (A.R. grade)
- sodium hydroxide 5% (w/w) (A.R. grade)
- hydrochloric acid 1% (w/w) (A.R. grade)
- ethanol 95% (A.R. grade)
- น้ำกลั่นต้มเดือด

### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างแห้งที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว ประมาณ 5 กรัม ใส่ในปิกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
2. เติม  $H_2SO_4$  1.25% จนถึงขีดบอกปริมาตร 200 มิลลิลิตร

3. ให้ความร้อนจนเดือด แล้วต้มด้วยไฟอ่อน 20 นาที ในระหว่างการต้ม หากปริมาตรลดลงต่ำกว่าขีด 200 มิลลิลิตร ให้เติมน้ำกลั่นต้มเดือดให้ถึงขีด ระหว่างต้ม ให้คนด้วยแท่งแก้วที่มีปลายายเป็นระยะๆ
4. นำส่วนผสมมากรองผ่านผ้าขาวบางหลายๆ ชั้น บนกรวยบุชเนอร์ ซึ่งวางบนขวดรูปชมพู่ ที่ต่อกับบีบสุญญากาศ
5. ล้างกากของตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นต้มเดือดหลายๆ ครั้ง จนน้ำที่ผ่านออกมาไม่เป็นกรดอีก (ทดสอบความเป็นกรดของน้ำที่ผ่านออกมาด้วยกระดาษลิตมัส)
6. นำกากใส่กลับลงในปีกเกอร์ใบเดิม หากมีกากติดอยู่ที่ผ้าขาวบาง ให้ชะออกด้วยน้ำกลั่นปริมาณน้อยที่สุด
7. เติม NaOH 5% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
8. เติมน้ำกลั่นต้มเดือดจนถึงขีดบอกปริมาตร 200 มิลลิลิตร
9. ให้ความร้อนจนเดือด แล้วต้มด้วยไฟอ่อน 20 นาที ในระหว่างการต้ม หากปริมาตรลดลงต่ำกว่าขีด 200 มิลลิลิตร ให้เติมน้ำกลั่นต้มเดือดจนถึงขีด ระหว่างต้ม คนด้วยแท่งแก้วที่มีปลายายเป็นระยะๆ
10. นำส่วนผสมมากรองผ่านผ้าขาวบางหลายๆ ชั้น บนกรวยบุชเนอร์ ซึ่งวางบนขวดรูปชมพู่ ที่ต่อกับบีบสุญญากาศ
11. ล้างกากด้วยน้ำกลั่นต้มเดือดหลายๆ ครั้ง แล้วชะด้วย HCl 1% 1 ครั้ง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นต้มเดือดจนน้ำล้างที่ผ่านออกมาไม่เป็นกรดอีก (ทดสอบความเป็นกรดของน้ำล้างที่ผ่านออกมาด้วยกระดาษลิตมัส)
12. ชะกากด้วย ethanol 95% จากนั้นนำกากใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ  $100 \pm 5$  °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
13. นำถ้วยอะลูมิเนียมออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนัก (หักลับน้ำหนักของภาชนะ กำหนดให้น้ำหนักตัวอย่างเป็น  $W_1$ )
14. ชั่งครุชชีเบลพร้อมฝาที่เผาและทิ้งให้เย็น (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน)
15. นำกากออกมาใส่ครุชชีเบล นำไปเผาบน hot plate จนได้เถ้าสีดำและหมดควัน
16. นำไปเผาต่อในเตาเผา (muffle furnace) ที่ 550 °C จนได้เถ้าสีขาว
17. นำครุชชีเบลออกมาจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก (หักลับน้ำหนักของภาชนะ กำหนดให้น้ำหนักตัวอย่างเป็น  $W_2$ ) คำนวณ %crude fiber ตามสมการ

$$\% \text{ crude fiber} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100 \%}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (g)}}$$

เมื่อ  $W_1$  = น้ำหนัก crude fiber + น้ำหนักเถ้า,  $W_2$  = น้ำหนักเถ้า

### ก.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Crude fat)

#### อุปกรณ์

- เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet extractor, Gerhardt, รุ่น HC61, Germany)
- เครื่องระเหย (rotary vacuum evaporator, Eyela รุ่น SB-651, Japan)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert รุ่น UF110, Germany)
- desiccator

#### สารเคมี

- petroleum ether (A.R. grade)

#### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักขวดกันแบนที่ผ่านการอบแห้งและทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้ว (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
2. ชั่งรำข้าว 3 g ใส่ลงไปใน thimble
3. ใส่ thimble ลงใน central syphon ของ Soxhlet apparatus โดยต้องมีสำลีสรองอยู่ที่ก้น thimble
4. ต่อขวดกันแบนเข้ากับ Soxhlet syphon และ condenser
5. ใส่ petroleum ether ลงไป 200 – 250 ผ่านส่วน central syphon ของ Soxhlet apparatus
6. ตั้งค่าอัตรา reflux เป็น 5 หรือ 6 หยดต่อวินาที ทำการควบแน่นนาน 2 ชม.
7. นำขวดกันแบนไปต่อกับ vacuum rotary evaporator เพื่อกำจัด petroleum ether
8. นำขวดกันแบนไปอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100 – 105 °C เป็นเวลา 1 ชม. และทิ้งให้เย็นใน desiccator
9. นำขวดกันแบนไปชั่งน้ำหนัก (หากลบน้ำหนักภาชนะ จะได้ปริมาณ crude fat )
10. คำนวณ %Crude fat ด้วยสูตร

$$\%Crude\ fat = \frac{\text{น้ำหนัก crude fat} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

## ก.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Crude protein)

### อุปกรณ์

- protein digestion unit (BÜCHI model K-424, Flawil, Switzerland)
- kjedahl apparatus (BÜCHI model K-350, Switzerland)
- scrubber (BÜCHI, model B-414, Flawil, Switzerland)

### สารเคมี

- conc. sulfuric acid 98% w/w (A.R. grade)
- hydrochloric acid 0.1 และ 0.5 N (A.R. grade)
- สารละลาย sodium hydroxide 50% w/v (A.R. grade)
- สารละลาย boric acid 4% w/v (A.R. grade)
- selenium mixture (A.R. grade)
- อินดิเคเตอร์ (เตรียมโดยละลาย methyl red 0.125 g และ methylene blue 0.0825 g ใน 90% ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร, AR-grade)

### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งรำข้าวมาประมาณ 1 g ใส่ลงใน 500 ml Kjeldahl flask
2. ใส่ Kjeldahl catalyst 5 g (มีอัตราส่วน 1:9 ของ  $K_2SO_4$ : $CuSO_4$ ) และ 20 ml conc. $H_2SO_4$
3. นำสารละลายไปให้ความร้อนด้วยเครื่องย่อย ที่อุณหภูมิประมาณ 350 – 380 °C จนสารละลายที่ได้มีสีเขียวใส
4. ทิ้งให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 50 ml. ลงใน Kjeldahl flask
5. ใส่ Kjeldahl flask ไปที่เครื่องกลั่นแอมโมเนีย (distillation apparatus) ฝั่ง distillation bulb ส่วนทางฝั่ง receiver จะต่อ flask 250 ml. ที่ประกอบไปด้วย 25 ml ของ 4% boric acid และ 3 หยดของ indicator (1 ส่วนของ 0.2% methyl red ใน ethanol 95% : 5 ส่วนของ 0.2% bromocresol green ใน ethanol 95%)
6. ใส่ NaOH ลงใน Kjeldahl flask จนสารละลายเป็นสีดำ

7. ทำการกลั่นแอมโมเนีย เป็นเวลา 5 นาที
8. นำ receiving flask ไป titrate กับ 0.1N HCl
9. คำนวณ %Protein ในตัวอย่างด้วยสูตร

$$\%N = (\text{ml HCl} - \text{ml blank}) \times \text{normality} \times 1.4007 \times \frac{1}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

$$\%Protein = \%N \times \text{conversion factor}$$

### ก.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash)

#### อุปกรณ์

- crucible
- muffle furnace (CARBOLITE, model CWF 1200, Cambridge, England)
- hot plate
- desiccator
- เครื่องชั่ง

#### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่ง crucible ที่อบแห้งแล้ว และทิ้งให้เย็นแล้วใน desiccator (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
2. ชั่งรำข้าว 1 g (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ใน crucible
3. นำ crucible ไปเผาบน burner ที่ตู้ดูดควัน จนได้เถ้าสีดำและหมดควัน
4. นำไปเผาต่อใน furnace ที่ 550 °C จนได้เถ้าสีขาวเทา
5. นำ crucible ออกจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง น้ำหนักที่ได้จะเป็นน้ำหนักเถ้า)
6. คำนวณ %ash ด้วยสูตร

$$\%ash = \frac{\text{น้ำหนักash} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

### ก.3 การศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่สกัดได้

#### ก.3.1 การละลายของโปรตีน

##### สารเคมี

- 1.0 M sodium hydroxide (A.R. grade)
- 1.0 M hydrochloric acid (A.R. grade)
- สารเคมีในการวิเคราะห์ crude protein

##### อุปกรณ์

- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchleingern, Germany)
- vertical shaker
- อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ crude protein

##### วิธีวิเคราะห์

สมบัติการละลายของตัวอย่างโปรตีนอ้างอิงจากวิธีของ Bera และ Mukherjee (1989) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ดังนี้

1. นำสารละลายโปรตีนที่มีปริมาณโปรตีน 0.25 %w/v มา 5 ml เติลงในบีกเกอร์ 50 ml.
2. ปรับ pH จาก 2 ถึง 12 (2, 4, 6, 8, 10 และ 12) โดยใช้ 1.0 M NaOH/HCl แล้วนำสารละลายไปใส่หลอด centrifuge แล้วนำไปเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. จากนั้นไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,400g เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนของ supernatant มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ AOAC(2000) และ สมบัติการละลายของโปรตีนสามารถประเมินได้จากสมการดังนี้

$$\text{สมบัติการละลายของโปรตีน} = \frac{\text{โปรตีนในsupernatant (mg)}}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในโปรตีนตัวอย่าง}} \times 100$$

### ก.3.2 กิจกรรมของอิมัลชัน และ ความเสถียรของอิมัลชัน

#### สารเคมี

- 0.1 M Sodium hydroxide (A.R. grade)
- 0.1 M Hydrochloric acid (A.R. grade)
- Sodium dodecyl sulfate (SDS) (A.R. grade)

#### อุปกรณ์

- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchleugern, Germany)
- spectrophotometer (Thermo Spectronic, GENESYS 10UV, Rochester, NY, USA)
- pH meter (Eutech Instruments, pH 2700 meter, Ayer Rajah Crescent, Singapore)
- cylinder 25 ml

#### วิธีวิเคราะห์

กิจกรรมของอิมัลชันและ ความเสถียรของอิมัลชัน อ้างอิงจากวิธีของ Pearce และKinsella (1978) ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

1. นำสารละลายโปรตีนที่มีปริมาณโปรตีน 0.1% (w/v) มา 9 ml
2. ปรับpH ให้เป็น pH 3, 5, 7 และ 9 โดยใช้ 0.1 M NaOH/HCl มาละลายในน้ำมันถั่วเหลือง 3 ml
3. นำสารละลายโปรตีนไปhomogenize ที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที
4. หลังจากปั่นเหวี่ยงแล้ว ปิดอิมัลชันที่ก้นของ cylinder ที่เวลา 0 และ 10 นาที ปริมาตร 50  $\mu$ l ด้วย micro pipette นำมาผสมกับ 5 ml of 0.1% SDS แล้ววัด Absorbance ที่ 500 nm ค่า Absorbance ที่ 0 นาที เป็นค่าที่แสดง Emulsion activity และ Absorbance ที่ 10 นาที ของการเกิดemulsion คือ ค่าความเสถียรของอิมัลชันตามการคำนวณของสมการดังนี้

$$\text{Emulsion stability index (min)} = \frac{A_0 \times \Delta t}{\Delta A}$$



### ก.3.3 ความสามารถที่จะเกิดโฟม และ ความเสถียรของโฟม

#### สารเคมี

- 1.0 M Sodium hydroxide (A.R. grade)
- 1.0 M Hydrochloric acid (A.R. grade)

#### อุปกรณ์

- centrifuge (Hettich, Rotanta 460 R, Kirchleugern, Germany)
- spectrophotometer (Thermo Spectronic, GENESYS 10UV, Rochester, NY, USA)
- pH meter (Eutech Instruments, pH 2700 meter, Ayer Rajah Crescent, Singapore)
- cylinder 50 ml

#### วิธีวิเคราะห์

ผลของ pH ต่อคุณสมบัติการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมอ้างอิงจากวิธีของ Kato, Lee และ Kobayashi (1989) แต่มีการปรับเปลี่ยนเล็กน้อย ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. นำสารละลายโปรตีนที่มีปริมาณโปรตีน 0.25% w/v มา 30 ml
2. ปรับ pH ให้เป็น 2, 4, 6, 8 และ 10 ด้วย 1.0 M NaOH/HCl
3. นำสารละลายโปรตีนไป homogenize ด้วย high speed homogenizer ที่เบอร์ 6 (54,000 rpm) เป็นเวลา 1 นาที
4. คำนวณความสามารถในการเกิดโฟม ถูกคำนวณด้วยปริมาตรของโฟมที่เพิ่มขึ้น (ml) และ ความคงตัวของโฟม พิจารณาจาก ปริมาตรโฟม ที่เวลาต่างๆ (30, 60, 90, 120 นาที) โดยจะคิดเป็น ร้อยละของโฟมที่เหลืออยู่จากสมการดังนี้

$$\text{ค่าคงตัวของโฟมโปรตีน (\%)} = \frac{\text{ปริมาตรของโฟมเริ่มต้น} - \text{ปริมาตรของโฟมที่เวลานั้นๆ}}{\text{ปริมาตรโฟมเริ่มต้น}} \times 100$$

## ภาคผนวก ข.

## ผลวิจัยเพิ่มเติม

ตารางที่ ข.1 ความคงตัวของโฟมของโปรตีนรำข้าวสาคัดไขมันและสตาร์ชด้วยสารละลายต่างและน้ำกึ่ง  
วิกฤต

เวลาที่ผ่านไป (นาที)	pH	PAE (%)	PSWE180 (%)	PSWE200 (%)	PSWE220 (%)
30	2	53.96 <sup>ab</sup> ± 3.24	88.73 <sup>abA</sup> ± 7.63	8.33 <sup>hC</sup> ± 3.93	9.15 <sup>efC</sup> ± 5.50
	4	53.14 <sup>ab</sup> ± 0.28	100.00 <sup>aA</sup> ± 0.00	0.00 <sup>iD</sup> ± 0.00	3.33 <sup>efC</sup> ± 3.33
	6	33.04 <sup>bcdC</sup> ± 6.31	100.00 <sup>aA</sup> ± 0.00	83.33 <sup>bcB</sup> ± 4.71	76.64 <sup>abB</sup> ± 0.90
	8	41.89 <sup>abB</sup> ± 13.62	90.57 <sup>abA</sup> ± 1.55	91.67 <sup>aA</sup> ± 3.93	81.73 <sup>aA</sup> ± 19.41
	10	37.28 <sup>bcB</sup> ± 7.27	78.51 <sup>bcA</sup> ± 6.82	88.49 <sup>abA</sup> ± 1.40	75.81 <sup>abA</sup> ± 7.69
60	2	36.98 <sup>bcB</sup> ± 5.16	59.97 <sup>deA</sup> ± 1.62	5.56 <sup>hiC</sup> ± 3.93	9.15 <sup>efC</sup> ± 5.50
	4	27.75 <sup>bcdE</sup> ± 1.52	73.21 <sup>cdA</sup> ± 2.52	0.00 <sup>iC</sup> ± 0.00	0.00 <sup>fc</sup> ± 0.00
	6	23.44 <sup>cdefC</sup> ± 2.21	73.89 <sup>cdA</sup> ± 5.50	64.17 <sup>eb</sup> ± 1.18	59.55 <sup>abcB</sup> ± 0.64
	8	23.41 <sup>cdefB</sup> ± 1.18	72.81 <sup>cdA</sup> ± 8.68	83.33 <sup>bcA</sup> ± 0.00	79.73 <sup>abA</sup> ± 22.24
	10	19.26 <sup>defC</sup> ± 7.04	55.48 <sup>efB</sup> ± 4.03	81.69 <sup>ca</sup> ± 3.56	45.37 <sup>cdB</sup> ± 6.55
90	2	17.60 <sup>efB</sup> ± 6.04	34.31 <sup>jkA</sup> ± 1.39	4.17 <sup>hiC</sup> ± 1.96	6.98 <sup>efC</sup> ± 2.43
	4	27.75 <sup>bcdE</sup> ± 1.53	53.57 <sup>efgA</sup> ± 5.05	0.00 <sup>iC</sup> ± 0.00	0.00 <sup>fc</sup> ± 0.00
	6	14.96 <sup>efB</sup> ± 0.95	57.78 <sup>ea</sup> ± 3.14	54.17 <sup>fa</sup> ± 1.18	55.00 <sup>bcA</sup> ± 7.07
	8	15.64 <sup>efB</sup> ± 0.69	51.32 <sup>efghA</sup> ± 1.86	70.83 <sup>da</sup> ± 1.96	79.73 <sup>abA</sup> ± 22.24
	10	14.44 <sup>efC</sup> ± 5.28	28.29 <sup>jkB</sup> ± 4.65	71.22 <sup>da</sup> ± 3.49	35.42 <sup>cdB</sup> ± 2.95

	2	12.60 <sup>fAB</sup> ± 13.11	28.59 <sup>jkA</sup> ± 1.16	2.78 <sup>hiB</sup> ± 3.92	6.98 <sup>efB</sup> ± 2.43
	4	18.43 <sup>efAB</sup> ± 7.21	41.07 <sup>fgHiA</sup> ± 22.72	0.00 <sup>iB</sup> ± 0.00	0.00 <sup>fB</sup> ± 0.00
120	6	13.17 <sup>efB</sup> ± 3.47	36.67 <sup>ijkA</sup> ± 4.71	42.50 <sup>gA</sup> ± 3.53	49.45 <sup>cdA</sup> ± 12.09
	8	10.89 <sup>fC</sup> ± 1.73	39.80 <sup>ghiBC</sup> ± 3.26	63.88 <sup>eAB</sup> ± 3.93	75.45 <sup>abA</sup> ± 21.86
	10	9.36 <sup>fC</sup> ± 8.19	23.57 <sup>kB</sup> ± 3.88	60.75 <sup>eA</sup> ± 3.41	27.55 <sup>deB</sup> ± 2.29

PAE; protein by alkaline extraction, PSWE180; protein by subcritical water extraction ที่ 180 °C, PSWE200; protein by subcritical water extraction ที่ 200 °C, PSWE 220; protein by subcritical water extraction ที่ 220 °C , a, b, c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ), A, B, C, ... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันของข้อมูลในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

## ภาคผนวก ค.

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ค.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมของอิมัลชันของ PAE

## Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.640 <sup>a</sup>	3	.213	52.958	.001
Intercept	2.218	1	2.218	550.858	.000
trt	.640	3	.213	52.958	.001
Error	.016	4	.004		
Total	2.873	8			
Corrected Total	.656	7			

a. R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .957)

ตารางที่ ค.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมของอิมัลชันของ PSWE180

## Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.633 <sup>a</sup>	3	.544	245.365	.000
Intercept	4.229	1	4.229	1906.012	.000
trt	1.633	3	.544	245.365	.000
Error	.018	8	.002		
Total	5.880	12			
Corrected Total	1.651	11			

a. R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .985)

ตารางที่ ค.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมของอิมัลชันของ PSWE200

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.475 <sup>a</sup>	3	.158	53.742	.000
Intercept	2.127	1	2.127	722.470	.000
trt	.475	3	.158	53.742	.000
Error	.024	8	.003		
Total	2.625	12			
Corrected Total	.498	11			

a. R Squared = .953 (Adjusted R Squared = .935)

ตารางที่ ค.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมของอิมัลชันของ PSWE220

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1142.621 <sup>a</sup>	3	380.874	23.949	.000
Intercept	13791.152	1	13791.152	867.191	.000
trt	1142.621	3	380.874	23.949	.000
Error	127.226	8	15.903		
Total	15060.999	12			
Corrected Total	1269.847	11			

a. R Squared = .900 (Adjusted R Squared = .862)

ตารางที่ ค.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชัน PAE

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	270.100 <sup>a</sup>	3	90.033	441.411	.000
Intercept	3954.177	1	3954.177	19386.374	.000
trt	270.100	3	90.033	441.411	.000
Error	.816	4	.204		
Total	4225.092	8			
Corrected Total	270.916	7			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .995)

ตารางที่ ค.6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชัน PSWE180

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2697.592 <sup>a</sup>	3	899.197	67.689	.000
Intercept	13087.966	1	13087.966	985.223	.000
trt	2697.592	3	899.197	67.689	.000
Error	106.274	8	13.284		
Total	15891.832	12			
Corrected Total	2803.866	11			

a. R Squared = .962 (Adjusted R Squared = .948)

ตารางที่ ค.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชัน PSWE200

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1142.621 <sup>a</sup>	3	380.874	23.949	.000
Intercept	13791.152	1	13791.152	867.191	.000
trt	1142.621	3	380.874	23.949	.000
Error	127.226	8	15.903		
Total	15060.999	12			
Corrected Total	1269.847	11			

a. R Squared = .900 (Adjusted R Squared = .862)

ตารางที่ ค.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชัน PSWE220

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	361.971 <sup>a</sup>	3	120.657	11.577	.003
Intercept	10826.634	1	10826.634	1038.854	.000
trt	361.971	3	120.657	11.577	.003
Error	83.374	8	10.422		
Total	11271.978	12			
Corrected Total	445.344	11			

a. R Squared = .813 (Adjusted R Squared = .743)

ตารางที่ ค.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมของอิมัลชันที่ pH 3

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.088 <sup>a</sup>	3	.029	11.233	.005
Intercept	.203	1	.203	77.869	.000
trt	.088	3	.029	11.233	.005
Error	.018	7	.003		
Total	.336	11			
Corrected Total	.106	10			

a. R Squared = .828 (Adjusted R Squared = .754)

ตารางที่ ค.10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมของอิมัลชันที่ pH 5

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.266 <sup>a</sup>	3	.089	157.014	.000
Intercept	1.682	1	1.682	2977.009	.000
trt	.266	3	.089	157.014	.000
Error	.004	7	.001		
Total	1.899	11			
Corrected Total	.270	10			

a. R Squared = .985 (Adjusted R Squared = .979)

ตารางที่ ค.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมของอิมัลชันที่ pH 7

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.271 <sup>a</sup>	3	.090	15.118	.002
Intercept	6.205	1	6.205	1036.912	.000
trt	.271	3	.090	15.118	.002
Error	.042	7	.006		
Total	6.716	11			
Corrected Total	.313	10			

a. R Squared = .866 (Adjusted R Squared = .809)



ตารางที่ ค.12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมของอิมัลชันที่ pH 9

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.135 <sup>a</sup>	3	.045	7.399	.014
Intercept	6.694	1	6.694	1099.462	.000
trt	.135	3	.045	7.399	.014
Error	.043	7	.006		
Total	7.148	11			
Corrected Total	.178	10			

a. R Squared = .760 (Adjusted R Squared = .658)

ตารางที่ ค.13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชันที่ pH 3

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1002.632 <sup>a</sup>	3	334.211	56.706	.000
Intercept	4726.974	1	4726.974	802.039	.000
trt	1002.632	3	334.211	56.706	.000
Error	41.256	7	5.894		
Total	6284.455	11			
Corrected Total	1043.888	10			

a. R Squared = .960 (Adjusted R Squared = .944)

ตารางที่ ค.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชันที่ pH 5

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	826.909 <sup>a</sup>	3	275.636	23.147	.001
Intercept	15404.422	1	15404.422	1293.603	.000
trt	826.909	3	275.636	23.147	.001
Error	83.357	7	11.908		
Total	17781.689	11			
Corrected Total	910.266	10			

a. R Squared = .908 (Adjusted R Squared = .869)

ตารางที่ ค.15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชันที่ pH 7

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1464.696 <sup>a</sup>	3	488.232	19.821	.001
Intercept	11610.511	1	11610.511	471.355	.000
trt	1464.696	3	488.232	19.821	.001
Error	172.425	7	24.632		
Total	14248.254	11			
Corrected Total	1637.121	10			

a. R Squared = .895 (Adjusted R Squared = .850)

ตารางที่ ค.16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของอิมัลชันที่ pH 9

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	38.201 <sup>a</sup>	3	12.734	4.316	.051
Intercept	7862.403	1	7862.403	2665.038	.000
trt	38.201	3	12.734	4.316	.051
Error	20.651	7	2.950		
Total	8135.504	11			
Corrected Total	58.852	10			

a. R Squared = .649 (Adjusted R Squared = .499)

ตารางที่ ค.17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายของ PAE

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3757.575 <sup>a</sup>	5	751.515	100.687	.000
Intercept	60135.793	1	60135.793	8056.927	.000
trt	3757.575	5	751.515	100.687	.000
Error	44.783	6	7.464		
Total	63938.151	12			
Corrected Total	3802.358	11			

a. R Squared = .988 (Adjusted R Squared = .978)

ตารางที่ ค.18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายของ PSWE180

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	529.051 <sup>a</sup>	5	105.810	12.096	.004
Intercept	84011.578	1	84011.578	9604.122	.000
trt	529.051	5	105.810	12.096	.004
Error	52.485	6	8.747		
Total	84593.114	12			
Corrected Total	581.536	11			

a. R Squared = .910 (Adjusted R Squared = .835)

ตารางที่ ค.19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายของ PSWE200

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	484.085 <sup>a</sup>	5	96.817	6.610	.020
Intercept	95825.713	1	95825.713	6542.105	.000
trt	484.085	5	96.817	6.610	.020
Error	87.885	6	14.648		
Total	96397.684	12			
Corrected Total	571.970	11			

a. R Squared = .846 (Adjusted R Squared = .718)

ตารางที่ ค.20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายของ PSWE220

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	106.220 <sup>a</sup>	5	21.244	2.614	.137
Intercept	104108.105	1	104108.105	12811.417	.000
trt	106.220	5	21.244	2.614	.137
Error	48.757	6	8.126		
Total	104263.083	12			
Corrected Total	154.978	11			

a. R Squared = .685 (Adjusted R Squared = .423)

ตารางที่ ค.21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายที่ pH 2

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1809.721 <sup>a</sup>	3	603.240	54.081	.001
Intercept	54807.664	1	54807.664	4913.548	.000
trt	1809.721	3	603.240	54.081	.001
Error	44.618	4	11.154		
Total	56662.002	8			
Corrected Total	1854.338	7			

a. R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .958)

ตารางที่ ค.22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายที่ pH 4

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3144.712 <sup>a</sup>	3	1048.237	229.104	.000
Intercept	53424.591	1	53424.591	11676.525	.000
trt	3144.712	3	1048.237	229.104	.000
Error	18.302	4	4.575		
Total	56587.605	8			
Corrected Total	3163.013	7			

a. R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .990)

ตารางที่ ค.23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายที่ pH 6

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1316.411 <sup>a</sup>	3	438.804	58.552	.001
Intercept	57067.557	1	57067.557	7614.900	.000
trt	1316.411	3	438.804	58.552	.001
Error	29.977	4	7.494		
Total	58413.945	8			
Corrected Total	1346.387	7			

a. R Squared = .978 (Adjusted R Squared = .961)

ตารางที่ ค.24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายที่ pH 8

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1031.386 <sup>a</sup>	3	343.795	55.272	.001
Intercept	56089.482	1	56089.482	9017.435	.000
trt	1031.386	3	343.795	55.272	.001
Error	24.880	4	6.220		
Total	57145.748	8			
Corrected Total	1056.266	7			

a. R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .959)

ตารางที่ ค.25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายที่ pH 10

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	445.306 <sup>a</sup>	3	148.435	6.821	.047
Intercept	56662.775	1	56662.775	2603.681	.000
trt	445.306	3	148.435	6.821	.047
Error	87.050	4	21.763		
Total	57195.132	8			
Corrected Total	532.357	7			

a. R Squared = .836 (Adjusted R Squared = .714)

ตารางที่ ค.26 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการละลายที่ pH 12

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	346.599 <sup>a</sup>	3	115.533	15.890	.011
Intercept	62811.918	1	62811.918	8638.796	.000
trt	346.599	3	115.533	15.890	.011
Error	29.084	4	7.271		
Total	63187.601	8			
Corrected Total	375.683	7			

a. R Squared = .923 (Adjusted R Squared = .865)

ตารางที่ ค.27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมของ PAE

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.400 <sup>a</sup>	4	1.600	.246	.900
Intercept	9672.100	1	9672.100	1488.015	.000
trt	6.400	4	1.600	.246	.900
Error	32.500	5	6.500		
Total	9711.000	10			
Corrected Total	38.900	9			

a. R Squared = .165 (Adjusted R Squared = -.504)

ตารางที่ ค.28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมของ PSWE180

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	572.933 <sup>a</sup>	4	143.233	37.693	.000
Intercept	3256.067	1	3256.067	856.860	.000
trt	572.933	4	143.233	37.693	.000
Error	38.000	10	3.800		
Total	3867.000	15			
Corrected Total	610.933	14			

a. R Squared = .938 (Adjusted R Squared = .913)

ตารางที่ ค.29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมของ PSWE200

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	49.600 <sup>a</sup>	4	12.400	4.537	.024
Intercept	4824.067	1	4824.067	1764.902	.000
trt	49.600	4	12.400	4.537	.024
Error	27.333	10	2.733		
Total	4901.000	15			
Corrected Total	76.933	14			

a. R Squared = .645 (Adjusted R Squared = .503)

ตารางที่ ค.30 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมของ PSWE220

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	132.600 <sup>a</sup>	4	33.150	7.709	.023
Intercept	4708.900	1	4708.900	1095.093	.000
trt	132.600	4	33.150	7.709	.023
Error	21.500	5	4.300		
Total	4863.000	10			
Corrected Total	154.100	9			

a. R Squared = .860 (Adjusted R Squared = .749)

ตารางที่ ค.31 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมที่ pH 2

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	274.900 <sup>a</sup>	3	91.633	45.817	.000
Intercept	4541.400	1	4541.400	2270.700	.000
trt	274.900	3	91.633	45.817	.000
Error	12.000	6	2.000		
Total	4655.000	10			
Corrected Total	286.900	9			

a. R Squared = .958 (Adjusted R Squared = .937)

ตารางที่ ค.32 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมที่ pH 4

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	834.767 <sup>a</sup>	3	278.256	125.215	.000
Intercept	2774.400	1	2774.400	1248.480	.000
trt	834.767	3	278.256	125.215	.000
Error	13.333	6	2.222		
Total	3313.000	10			
Corrected Total	848.100	9			

a. R Squared = .984 (Adjusted R Squared = .976)

ตารางที่ ค.33 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมที่ pH 6

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	570.267 <sup>a</sup>	3	190.089	44.150	.000
Intercept	3856.017	1	3856.017	895.591	.000
trt	570.267	3	190.089	44.150	.000
Error	25.833	6	4.306		
Total	4093.000	10			
Corrected Total	596.100	9			

a. R Squared = .957 (Adjusted R Squared = .935)

ตารางที่ ค.34 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมที่ pH 8

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	212.500 <sup>a</sup>	3	70.833	14.912	.012
Intercept	4512.500	1	4512.500	950.000	.000
trt	212.500	3	70.833	14.912	.012
Error	19.000	4	4.750		
Total	4744.000	8			
Corrected Total	231.500	7			

a. R Squared = .918 (Adjusted R Squared = .856)

ตารางที่ ค.35 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการเกิดโฟมที่ pH 10

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	148.433 <sup>a</sup>	3	49.478	6.228	.028
Intercept	5723.267	1	5723.267	720.411	.000
trt	148.433	3	49.478	6.228	.028
Error	47.667	6	7.944		
Total	5813.000	10			
Corrected Total	196.100	9			

a. R Squared = .757 (Adjusted R Squared = .635)



ตารางที่ ค.36 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 2, 30 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9046.594 <sup>a</sup>	3	3015.531	105.482	.000
Intercept	12827.291	1	12827.291	448.691	.000
Trt	9046.594	3	3015.531	105.482	.000
Error	114.353	4	28.588		
Total	21988.237	8			
Corrected Total	9160.946	7			

a. R Squared = .988 (Adjusted R Squared = .978)

ตารางที่ ค.37 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 4, 30 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	13427.835 <sup>a</sup>	3	4475.945	802.892	.000
Intercept	12241.522	1	12241.522	2195.876	.000
Trt	13427.835	3	4475.945	802.892	.000
Error	22.299	4	5.575		
Total	25691.657	8			
Corrected Total	13450.135	7			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

ตารางที่ ค.38 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 6, 30 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4891.785 <sup>a</sup>	3	1630.595	103.708	.000
Intercept	42926.086	1	42926.086	2730.153	.000
Trt	4891.785	3	1630.595	103.708	.000
Error	62.892	4	15.723		
Total	47880.762	8			
Corrected Total	4954.677	7			

a. R Squared = .987 (Adjusted R Squared = .978)

ตารางที่ ค.39 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 8, 30 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3306.807 <sup>a</sup>	3	1102.269	7.600	.040
Intercept	46772.332	1	46772.332	322.495	.000
Trt	3306.807	3	1102.269	7.600	.040
Error	580.130	4	145.033		
Total	50659.269	8			
Corrected Total	3886.937	7			

a. R Squared = .851 (Adjusted R Squared = .739)

ตารางที่ ค.40 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 10, 30 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3036.570 <sup>a</sup>	3	1012.190	25.220	.005
Intercept	39225.022	1	39225.022	977.345	.000
Trt	3036.570	3	1012.190	25.220	.005
Error	160.537	4	40.134		
Total	42422.129	8			
Corrected Total	3197.107	7			

a. R Squared = .950 (Adjusted R Squared = .912)

ตารางที่ ค.41 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 2, 60 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3922.912 <sup>a</sup>	3	1307.637	69.834	.001
Intercept	6233.460	1	6233.460	332.897	.000
Trt	3922.912	3	1307.637	69.834	.001
Error	74.900	4	18.725		
Total	10231.271	8			
Corrected Total	3997.811	7			

a. R Squared = .981 (Adjusted R Squared = .967)

ตารางที่ ค.42 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 4, 60 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7163.846 <sup>a</sup>	3	2387.949	1097.456	.000
Intercept	5096.399	1	5096.399	2342.208	.000
Trt	7163.846	3	2387.949	1097.456	.000
Error	8.704	4	2.176		
Total	12268.948	8			
Corrected Total	7172.549	7			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .998)

ตารางที่ ค.43 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 6, 60 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2914.802 <sup>a</sup>	3	971.601	105.232	.000
Intercept	24429.011	1	24429.011	2645.848	.000
Trt	2914.802	3	971.601	105.232	.000
Error	36.932	4	9.233		
Total	27380.745	8			
Corrected Total	2951.734	7			

a. R Squared = .987 (Adjusted R Squared = .978)

ตารางที่ ค.44 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 8, 60 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4686.847 <sup>a</sup>	3	1562.282	10.935	.021
Intercept	33612.841	1	33612.841	235.268	.000
Trt	4686.847	3	1562.282	10.935	.021
Error	571.483	4	142.871		
Total	38871.171	8			
Corrected Total	5258.330	7			

a. R Squared = .891 (Adjusted R Squared = .810)

ตารางที่ ค.45 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 10, 60 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3999.081 <sup>a</sup>	3	1333.027	43.918	.002
Intercept	20362.728	1	20362.728	670.874	.000
Trt	3999.081	3	1333.027	43.918	.002
Error	121.410	4	30.353		
Total	24483.219	8			
Corrected Total	4120.491	7			

a. R Squared = .971 (Adjusted R Squared = .948)

ตารางที่ ค.46 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 2, 90 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1118.292 <sup>a</sup>	3	372.764	30.966	.003
Intercept	1988.532	1	1988.532	165.190	.000
Trt	1118.292	3	372.764	30.966	.003
Error	48.151	4	12.038		
Total	3154.975	8			
Corrected Total	1166.443	7			

a. R Squared = .959 (Adjusted R Squared = .928)

ตารางที่ ค.47 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีที่ pH 4, 90 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3973.188 <sup>a</sup>	3	1324.396	190.313	.000
Intercept	3306.189	1	3306.189	475.091	.000
Trt	3973.188	3	1324.396	190.313	.000
Error	27.836	4	6.959		
Total	7307.213	8			
Corrected Total	4001.024	7			

a. R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .988)

ตารางที่ ค.48 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีเมอร์ที่ pH 6, 90 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2498.155 <sup>a</sup>	3	832.718	53.584	.001
Intercept	16543.769	1	16543.769	1064.554	.000
Trt	2498.155	3	832.718	53.584	.001
Error	62.162	4	15.541		
Total	19104.086	8			
Corrected Total	2560.318	7			

a. R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .958)

ตารางที่ ค.49 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีเมอร์ที่ pH 8, 90 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4846.704 <sup>a</sup>	3	1615.568	12.860	.016
Intercept	23656.751	1	23656.751	188.315	.000
Trt	4846.704	3	1615.568	12.860	.016
Error	502.493	4	125.623		
Total	29005.948	8			
Corrected Total	5349.197	7			

a. R Squared = .906 (Adjusted R Squared = .836)

ตารางที่ ค.50 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีเมอร์ที่ pH 10, 90 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3514.622 <sup>a</sup>	3	1171.541	66.586	.001
Intercept	11155.892	1	11155.892	634.064	.000
Trt	3514.622	3	1171.541	66.586	.001
Error	70.377	4	17.594		
Total	14740.891	8			
Corrected Total	3584.999	7			

a. R Squared = .980 (Adjusted R Squared = .966)

ตารางที่ ค.51 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีเมอร์ที่ pH 2, 120 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	767.645 <sup>a</sup>	3	255.882	5.261	.071
Intercept	1298.263	1	1298.263	26.692	.007
Trt	767.645	3	255.882	5.261	.071
Error	194.555	4	48.639		
Total	2260.463	8			
Corrected Total	962.200	7			

a. R Squared = .798 (Adjusted R Squared = .646)

ตารางที่ ค.52 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีเมอร์ที่ pH 4, 120 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2282.864 <sup>a</sup>	3	760.955	5.354	.069
Intercept	1770.292	1	1770.292	12.455	.024
Trt	2282.864	3	760.955	5.354	.069
Error	568.562	4	142.140		
Total	4621.717	8			
Corrected Total	2851.425	7			

a. R Squared = .801 (Adjusted R Squared = .651)

ตารางที่ ค.53 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีเมอร์ที่ pH 6, 120 นาที

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1487.449 <sup>a</sup>	3	495.816	10.285	.024
Intercept	10052.323	1	10052.323	208.523	.000
Trt	1487.449	3	495.816	10.285	.024
Error	192.829	4	48.207		
Total	11732.601	8			
Corrected Total	1680.278	7			

a. R Squared = .885 (Adjusted R Squared = .799)

ตารางที่ ค.54 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีเมอร์ที่ pH 8, 120 นาที

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4897.823 <sup>a</sup>	3	1632.608	12.888	.016
Intercept	18058.624	1	18058.624	142.556	.000
Trt	4897.823	3	1632.608	12.888	.016
Error	506.708	4	126.677		
Total	23463.155	8			
Corrected Total	5404.531	7			

a. R Squared = .906 (Adjusted R Squared = .836)

ตารางที่ ค.55 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโพลีเมอร์ที่ pH 10, 120 นาที

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2836.343 <sup>a</sup>	3	945.448	38.213	.002
Intercept	7348.107	1	7348.107	296.991	.000
Trt	2836.343	3	945.448	38.213	.002
Error	98.967	4	24.742		
Total	10283.418	8			
Corrected Total	2935.310	7			

a. R Squared = .966 (Adjusted R Squared = .941)

ตารางที่ ค.56 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโคมของ PAE

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6921.579 <sup>a</sup>	19	364.294	9.747	.000
Intercept	25502.272	1	25502.272	682.348	.000
Trt	6921.579	19	364.294	9.747	.000
Error	747.485	20	37.374		
Total	33171.336	40			
Corrected Total	7669.064	39			

a. R Squared = .903 (Adjusted R Squared = .810)

ตารางที่ ค.57 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโคมของ PSWE180

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	22515.948 <sup>a</sup>	19	1185.050	27.362	.000
Intercept	141168.298	1	141168.298	3259.498	.000
Trt	22515.948	19	1185.050	27.362	.000
Error	866.197	20	43.310		
Total	164550.443	40			
Corrected Total	23382.145	39			

a. R Squared = .963 (Adjusted R Squared = .928)



ตารางที่ ค.58 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโฝมของ PSWE200

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	50388.980 <sup>a</sup>	19	2652.052	329.742	.000
Intercept	76888.413	1	76888.413	9559.910	.000
Trt	50388.980	19	2652.052	329.742	.000
Error	160.856	20	8.043		
Total	127438.249	40			
Corrected Total	50549.836	39			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .994)

ตารางที่ ค.59 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความคงตัวของโฝมของ PSWE200

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	39764.869 <sup>a</sup>	19	2092.888	18.589	.000
Intercept	60375.235	1	60375.235	536.253	.000
Trt	39764.869	19	2092.888	18.589	.000
Error	2251.743	20	112.587		
Total	102391.847	40			
Corrected Total	42016.612	39			

a. R Squared = .946 (Adjusted R Squared = .895)

ตารางที่ ค.60 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ%yeild protein ของการสกัดด้วยต่างและน้ำกึ่งวิกฤต

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	848.262 <sup>a</sup>	3	282.754	398.254	.000
Intercept	14167.770	1	14167.770	19955.063	.000
trt	848.262	3	282.754	398.254	.000
Error	5.680	8	.710		
Total	15021.712	12			
Corrected Total	853.942	11			

a. R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .991)

## ภาคผนวก ง

## ภาพอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย



รูปที่ 1 ง. 8.8-ml stainless steel (SUS-316) batch reactor (AKICO Co., Japan)



รูปที่ 2 ง. Electric furnace heater (AKICO Co., Japan)

## ภาคผนวก จ.

## รายละเอียดโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ปีงบประมาณ 2561

## ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์

ชื่อโครงการ สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในรำข้าวที่ได้มาจากการสกัดด้วยการไฮโดรไลซิสของน้ำกึ่งวิกฤต

Functional properties of rice bran protein from subcritical water extraction

รายชื่อนิสิตที่ร่วมโครงการ นาย เขมชาติ นกอยู่ 5832507323

นาย คุณานนต์ ปานสินธ์ 5832509623

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ อาจารย์ ดร. ดริช กวักเพฑูรย์

#### มูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

ข้าวถือเป็นอาหารที่เรียบง่ายที่สุดสำหรับคนที่อาศัยอยู่ในประเทศแถบเอเชีย โดยมีประมาณ 610 ล้านตันของข้าวที่ถูกผลิตต่อปี (IRRI, 2004) โดยประเทศที่ผลิตข้าวเกินครึ่งหนึ่งของโลกเป็นประเทศในแถบเอเชีย เช่น จีน, อินเดีย, อินโดนีเซีย, บังคลาเทศ, เวียดนาม, ไทย ด้วยปริมาณการผลิตข้าวที่มากนี้ทำให้มีปริมาณ by product ที่มากไปด้วย โดยหนึ่งใน by product ที่สำคัญ คือ รำข้าวซึ่งคิดเป็น 8 % ของข้าวที่ผ่านการโม่แล้ว (Shih และคณะ, 1999) รำข้าวเป็นแหล่งโปรตีน, ไขมัน, วิตามิน, เกลือแร่และแหล่งพลังงาน โดยน้ำมันจากรำข้าวสามารถนำมาทำเป็นน้ำมันคุณภาพดีสำหรับทำอาหารได้ ในขณะที่รำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันไปแล้วจะมีปริมาณโปรตีนที่สูงแต่ยังไม่ได้เอาไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพและกว้างขวาง ซึ่งมีคุณสมบัติที่น่าสนใจ เช่น มีปริมาณlysine ในปริมาณมาก และยังเป็นโปรตีนที่ก่อให้เกิดอาการแพ้น้อยกว่า เมื่อเทียบกับโปรตีนชนิดอื่น (hypoallergenic) ซึ่งวิธีที่เป็นที่นิยมในการสกัดโปรตีนจากรำข้าว คือ การสกัดด้วยสารละลายต่าง ตามด้วยการตกตะกอนด้วยกรด ซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากสารเคมีที่นำมาใช้ในการสกัดนี้หาซื้อได้ง่าย (Connor และคณะ, 1977; Jiamyangyuen และคณะ, 2005) แต่ยังได้ผลผลิตของโปรตีนที่น้อยเนื่องจากการเสียดสภาพที่ pH สูง และต่างที่เหลืออยู่ยังต้องผ่านการล้างทำให้เกิดน้ำเสียปริมาณมาก (Goto และคณะ, 2008) จึงทำให้มีวิธีการสกัดโปรตีนใหม่ๆเป็นทางเลือก เช่น การใช้เอนไซม์, การใช้วิธีทางกายภาพและการใช้น้ำกึ่งวิกฤตในการสกัด (Fabian และคณะ, 2011) ซึ่งการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตก็เป็นอีกหนึ่งวิธีที่น่าสนใจ เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่มี

คุณสมบัติในการเร่งไฮโดรไลซิสได้โดยการปรับอุณหภูมิและความดัน (ปราโมทย์ คูวิจิตรจากรู, 2012)

ทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีน อีกทั้งยังเป็นวิธีการสกัดที่ไม่มีการใช้สารเคมีทำให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และ ยังได้ผลผลิตของโปรตีนมากกว่าการสกัดด้วยด่างอีกด้วย แต่ยังไม่มียานวิจัยที่ศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ที่อาจมีสมบัติที่เปลี่ยนไปเนื่องจากอุณหภูมิที่สูง และค่าคงที่การแตกตัว (ion product) ของน้ำที่สูงขึ้น งานวิจัยนี้จึงนำโปรตีนจากรำข้าวมาสกัดด้วยสารละลายด้วยด่าง และสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต มาศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในรำข้าว ได้แก่ สมบัติทางการละลายของโปรตีน, สมบัติการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน, สมบัติการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม เพื่อเปรียบเทียบสมบัติที่แตกต่างกันของทั้ง 2 วิธีนี้ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปแปรรูปอื่นๆ ที่มีคุณค่าต่อผู้บริโภค

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการ

### ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ

รำข้าวมีการใช้งานอย่างมากในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของอาหารแปรรูป รำข้าวมีเส้นใยสูง และ ในด้านของทางการอุตสาหกรรมนั้นสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้า หรือ เพิ่ม Functional Foods ในสินค้า ในปัจจุบันการเสริมรำข้าวได้รับการประสบความสำเร็จในอาหารต่างๆ เช่น ขนมปัง, เค้ก, ก๋วยเตี๋ยว, พาสต้าและไอศกรีม โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่มีผลต่อคุณสมบัติกลิ่นรสและเนื้อสัมผัส รำข้าวเป็น by-product ที่เกิดจากการโม่ข้าว โดยจะได้จากส่วนชั้นนอกของ brown(husked) kernel ของข้าว ที่จะได้ระหว่างโม่ข้าว เมื่อเทียบกับน้ำหนักทั้งหมดของข้าวแล้ว รำข้าวคิดเป็น 10% ขององค์ประกอบทั้งหมด (Hu และคณะ, 1996)

น้ำกึ่งวิกฤต คือ น้ำที่ยังคงสถานะของเหลวที่อุณหภูมิระหว่างจุดเดือดที่ความดันบรรยากาศกับอุณหภูมิวิกฤต (Critical temperature = 374 °C) หรือน้ำที่มีอุณหภูมิ 100 ถึง 374 °C ซึ่งที่อุณหภูมิเหล่านี้จะต้องใช้ความดันในการทำให้น้ำยังคงสถานะของเหลวได้อยู่โดยความดันที่ใช้จะอยู่ในช่วง 16 bars ที่อุณหภูมิ 200 °C จนถึง 226 bars ที่อุณหภูมิ 374 °C ซึ่งคุณสมบัติสำคัญของน้ำกึ่งวิกฤต ได้แก่ 1.สมบัติ dielectric constant น้อยลงจะส่งผลต่อความมีขั้วของน้ำทำให้น้ำกึ่งวิกฤตมีพฤติกรรมคล้ายกับตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ทำให้สามารถทำละลายสารไม่มีขั้วได้ดีกว่าน้ำที่สถานะปกติมาก โดยที่อุณหภูมิ 200 °C น้ำจะมี dielectric constant เท่ากับ methanol ที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมิ 297 °C จะทำให้น้ำสามารถละลาย benzene ได้ 2.ค่าคงที่การแตกตัว( $K_w$ ) ที่สูงขึ้นโดยน้ำที่ความดัน 15 MPa ค่า  $\log(K_w)$  มีค่าเพิ่มขึ้นจาก -14 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็น -11.3 ที่อุณหภูมิ

ในช่วง 200 -250 °C ซึ่งส่งผลให้มีความเข้มข้นของ  $H_3O^+$  และ  $OH^-$  เพิ่มขึ้นซึ่งเปรียบเสมือนการเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดและเบส จึงส่งผลให้มีอัตราการไฮโดรไลซิสที่มากขึ้น ทำให้เหมาะแก่การสกัดสารชีวโมเลกุลจำพวกคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน (ปราโมทย์ ครูวิจิตรจากรู, 2012)

### วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ที่จะสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยน้ำกึ่งวิกฤต
2. เพื่อศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิต่างๆ โดยเปรียบเทียบกับโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายต่าง

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวที่เหมาะสม โดยคำนึงจากปริมาณผลผลิตที่ได้และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดมาได้
2. ทราบสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวจากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำกึ่งวิกฤต เพื่อนำไปต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ในอนาคต

### ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับโครงการนี้ สำหรับการออกแบบและดำเนินการทดลอง ได้แก่ ข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีนในรำข้าว วิธีการสกัดโปรตีนจากสารละลายต่างและจากน้ำกึ่งวิกฤต วิธีการทดสอบสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ได้แก่ สมบัติการละลาย, สมบัติการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม, สมบัติการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน รวมถึงวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว และสารละลายโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยสารละลายต่าง และน้ำกึ่งวิกฤต
2. วิเคราะห์ข้อมูล และวางแผนการทดลอง
3. จัดหาและเตรียมวัตถุดิบ วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีสำหรับการทดลอง
4. ดำเนินการทดลอง บันทึกผล รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยมีรายละเอียดดังนี้
  - 4.1. การเตรียมตัวอย่างรำข้าว



วัสดุอุปกรณ์ที่ต้อง ใช้ในงานทดลอง										
ดำเนินการทดลอง และเก็บรวบรวม ข้อมูลจากการ ทดลอง										
สรุปผลการ ทดลอง เขียนรายงาน เตรียมการ นำเสนอ										

### งบประมาณที่ใช้ในการทำโครงการ

1. ค่าใช้จ่ายทั่วไป	2,000 บาท
2. ค่าวัสดุดิบและสารเคมี	6,000 บาท
3. หมวดวัสดุอุปกรณ์	2,000 บาท
งบประมาณรวม	10,000 บาท

### บรรณานุกรม

Connor, M.A., Saunders, R.M., Kohler, G.O., 1977. Preparation and properties of protein concentrates obtained by wet alkali processing of rice bran. In: Barber, S., Tortosa, E. (Eds.), Rice By-products Utilization International Conference 1974. IACFT, Spain.

.Fabian, C., Ju, Y.H. 2011 . A Review on Rice Bran Protein: Its Properties and Extraction Methods .827-816 :51 .Nutrition Critical Reviews in Food Science and

Goto, M., Prapintip, S., Sasaki, M., Sereewatthanawut, I., Shotipruk, A., Watchirarujj, K. 2008. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. Bioresource Technology. 99: 555-561.

.W., Wells, J. H., Shin, T. S., Godber J. S ,Hu 1996.Comparison of isopropanol and hexane for Journal of the American Oil .extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran .1656-1653 :73 .Chemists' Society

Jiamyangyuen, S., Srijesdaruk, V., Harper, W.J. 2005. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. Songklanakarin. Journal of Science and Technology. 27(1): 55-64

Shih, F.F., Champagne, E.T., Daigle, K., Zarins, Z., 1999. Use of enzymes in the processing of protein products from rice bran and rice flour. Nahrung 43(1), 14–18.

World Rice Statistics, 2004. International Rice Research Institute (IRRI), Philippines.

ปราโมทย์ คูวิจิตรจรรู, 2012. การปรับปรุงคุณสมบัติของกากมะพร้าวด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรมมหาวิทยาลัยศิลปากร



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นายคุณานนต์ ปานสินธ์

ตำแหน่ง หัวหน้าโครงการ

วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จการศึกษา 2561

โทรศัพท์ 084-771-1103

Email kendo102@hotmail.com



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นายเขมชาติ นกอยู่

ตำแหน่ง ผู้วิจัยร่วม

วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จการศึกษา 2561

โทรศัพท์ 081-107-3146

Email [techno.ok@windowlive.com](mailto:techno.ok@windowlive.com)

