ว.114665

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์ด้วยกรรมวิธีแบบเกษตรอินทรีย์ เปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม

Production of Protein Isolates from Organic Rice Bran by Using Organic Processing Compared with Conventional Methods

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สาโรจน์ รอดคืน
อาจารย์ ดร. สิริรุ่ง วงศ์สกุล

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่สนับสนุนทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๖ ในโครงการวิจัยเรื่อง การผลิตโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์ด้วยกรรมวิธีแบบเกษตรอินทรีย์เปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม และขอขอบคุณ บริษัท อูรมัติ จำกัด จังหวัดเชียงราย สำหรับความอนุมเคราะห์ตัวอย่างรำข้าวอินทรีย์ตลอดโครงการวิจัยดังกล่าว

ขอขอบคุณ นักวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่ให้ความช่วยเหลือ และให้ความสะดวกในการติดต่อขอใช้เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์ทดสอบตลอดโครงการวิจัย

ขอขอบคุณนักศึกษาระดับปริญญาตรี และบัณฑิตศึกษาของหัวหน้าโครงการฯ ทุก ๆ คนที่เป็นกำลังสำคัญในการร่วมศึกษาวิจัยโดยเฉพาะในส่วนของงานวิเคราะห์ทดสอบ และติดต่อประสานงานต่าง ๆ จนงานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วง และได้พัฒนาข้อเสนอโครงการวิจัยต่อเนื่องเพื่อให้สามารถผลิตได้จริงในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สาโรจน์ รอดคืน

เมษายน พ.ศ. ๒๕๕๗

บทสรุปผู้บริหาร

ข้าว เป็นธัญพืชที่มีความสำคัญระดับโลก โดยพบว่าประชากรหลายล้านคนกินข้าวเป็นอาหารหลัก สำหรับประเทศไทยผลิตข้าวโดยเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 26 ล้านตัน ซึ่งจัดเป็นผลิตผลทางการเกษตรอันดับหนึ่งของประเทศหลายปีติดต่อกัน เมื่อผ่านกระบวนการสีข้าวจะทำให้ในแต่ละปี ประเทศไทยมีรำข้าวที่เป็นผลิตผลพลอยได้ประมาณ 2.60 ล้านตัน โดยในรำข้าวจะอุดมไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ มากมาย ซึ่งปกติรำข้าวจะถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันรำข้าว อย่างไรก็ตามพบว่าหลังการสกัดน้ำมันแล้วก็ยังเหลือกากรำข้าว ซึ่งในนั้นยังมีปริมาณโปรตีนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญอยู่เช่นเดิม มีการพัฒนาวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอยู่แพร่หลายแต่โดยส่วนใหญ่แล้ววิธีการดังกล่าวเหล่านั้นมีการใช้สารเคมีช่วยสกัด ซึ่งหากนำมาประยุกต์ใช้กับรำข้าวอินทรีย์ซึ่งกำลังเป็นที่สนใจของผู้บริโภคแล้วก็จะทำให้จุดขายดังกล่าวสูญเสียไป ดังนั้นจึงเป็นที่มาของงานวิจัยดังกล่าวในการพยายามจะศึกษาวิธีการสกัดและศึกษาสมบัติทางด้านต่าง ๆ ของโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยวิธีใหม่ให้เป็นทางเลือกอื่นนอกจากวิธีดั้งเดิม และหากวิธีดังกล่าวนอกจากจะให้ร้อยละผลผลิตสูงและเป็นกระบวนการแบบเกษตรอินทรีย์ด้วยก็จะเป็นประโยชน์ต่อทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค โดยขอบเขตของการวิจัยจะประกอบไปด้วยการศึกษาวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบใช้สารเคมีดั้งเดิมรวมถึงการสกัดแบบสมัยใหม่ด้วยเทคนิคแบบผสมผสาน เมื่อได้ตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นจากแต่ละวิธีก็นำมาศึกษาสมบัติทั้งทางด้านเคมี ด้านกายภาพ และสมบัติเชิงหน้าที่ เพื่อเปรียบเทียบกับการใช้วิธีแบบดั้งเดิม นอกจากนั้นประสิทธิภาพในการสกัดก็ถูกนำมาใช้เป็นเกณฑ์หนึ่งเพื่อประกอบการคัดเลือกวิธีการสกัดที่ดีที่สุดที่สามารถนำไปต่อยอดหรือขยายสู่การผลิตได้จริงในระดับอุตสาหกรรมด้วย

ผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ว่าวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ส่งผลกระทบต่อสมบัติด้านต่าง ๆ ของโปรตีนรำข้าวทั้งในเชิงบวกและเชิงลบ รวมถึงแนวทางการนำโปรตีนรำข้าวไปใช้ประโยชน์ต่อไป การใช้ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ตัวอย่างจะให้ประสิทธิภาพการสกัดที่สามารถเทียบเคียงได้กับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมซึ่งใช้สารละลายด่าง โดยให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นถึงเจ็ดเท่าจากตัวอย่างเริ่มต้น แต่เป็นวิธีที่ไม่สามารถนำมาใช้เพื่อคงความเป็นผลิตภัณฑ์เกษตรอินทรีย์ได้ การใช้ความถี่ร่วมกับโฮโมจิไนซ์จึงเป็นอีกวิธีที่นอกจากจะคงสมบัติทางด้านเคมีที่ดีแล้วยังสามารถใช้แทนวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมได้ และยังมีสมบัติการต้านออกซิเดชันและสมบัติเชิงหน้าที่ดีเหมาะในการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร อย่างไรก็ตามหากต้องการนำผลการทดลองดังกล่าวไปใช้จริง การศึกษาในระดับโรงงานต้นแบบยังมีความจำเป็นรวมถึงการประเมินจุดคุ้มทุนในทุก ๆ ด้านด้วย และถ้าเป็นไปได้ควรหาวิธีการสกัดที่ปราศจากการใช้สารเคมีในทุกขั้นตอนและเครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้สามารถขยายขนาดไปสู่การผลิตได้จริงในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนั้นการใช้วิธีการสกัดแบบร่วมกันหลายวิธีอาจจะให้ผลร้อยละการกลับคืนของโปรตีนจากรำข้าวที่ดีกว่าการเลือกใช้วิธีใดวิธีหนึ่ง แต่วิธีการที่เพิ่มเข้ามานั้นก็จะมีส่วนทำให้ความเป็นไปได้จริงในระดับอุตสาหกรรมเกิดความยุ่งยากมากขึ้นและอาจจะต้องมีการลงทุนเพิ่ม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการแยกและศึกษาสมบัติของโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ผ่านกระบวนการทางเกษตรอินทรีย์ในรูปแบบต่าง ๆ กันได้แก่ การใช้คลื่นความถี่ การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ การใช้การบดคอลลอยด์ร่วมกับเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ และการใช้เอนไซม์ไฟเตส-ไซลาเนสช่วยในการสกัด เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมด้วยการใช้สารละลายด่างที่พีเอช 9.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนาน 60 นาที เช่นเดียวกับการใช้วิธีการสกัดแบบผสมผสานต่าง ๆ ได้แก่ การใช้ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ การใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ จากนั้นติดตามประสิทธิภาพของวิธีการสกัด สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางด้านเคมีของโปรตีนสกัดเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์ที่ได้ จากผลการทดลองพบว่าร้อยละของผลผลิตสูงสุดได้จากการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายด่าง (ร้อยละ 20.92) ตามมาด้วยการใช้ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ (ร้อยละ 11.68) และการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ (ร้อยละ 5.38) ร้อยละของโปรตีนที่เก็บเกี่ยวได้มีค่าระหว่างร้อยละ 35.10 ถึงร้อยละ 77.24 ที่ความบริสุทธิ์ 3.52 ถึง 7.36 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนเริ่มต้นในรำข้าวอินทรีย์ การใช้ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ให้ค่าปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (ร้อยละ 93.86) ซึ่งเทียบเคียงได้กับปริมาณโปรตีนที่ได้จากการใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม (ร้อยละ 93.12) โปรตีนหลักที่พบมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 15-84 กิโลดาลตันซึ่งวิเคราะห์โดย SDS-PAGE โดยมีกรดอะมิโนหลักที่พบในปริมาณสูงคือ Lysine และ Histidine ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดพบในตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นจากการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม ในขณะที่การสกัดด้วยไมโครเวฟร่วมกับโฮโมจิไนซ์ให้ค่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ความสามารถในการละลายของไนโตรเจนของโปรตีนสกัดเข้มข้นจากรำข้าวมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 57.84 ถึงร้อยละ 73.12 ในขณะที่ตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้นมีค่าเพียงร้อยละ 18.04 ความสามารถในการดูดซับน้ำและน้ำมันมีค่าระหว่าง 1.72 ถึง 2.69 และ 1.85 ถึง 3.75 กรัมต่อกรัมตัวอย่างตามลำดับ ความสามารถในการเกิดโฟมสูงสุดพบในตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นที่ผ่านกระบวนการสกัดแบบการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ในขณะที่ค่าน้อยสุดพบในตัวอย่างโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์

คำสำคัญ: การสกัด รำข้าวอินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สมบัติเชิงหน้าที่ โปรตีนเข้มข้น

ABSTRACT

This experiment aimed to isolate and characterize protein from organic rice bran by using differnt organic extraction processes: sonication, critical water extraction, colloid milk-homogenization, and enzymatic-assisted extraction (phytase-xylanase) compared with alkaline extraction (AKE: pH 9.5 at 50C for 60 min), as well as the combination extraction techniques; microwave-assisted extraction with homogenization, and the ultrasonic-assisted extration with colloid milled. Extraction efficiency physical properties, and chemical properties of rice bran protein isolate (RBPI) were determined. The highest recovery of RBPI was obtained by using AKE with 20.92% followed with MAE-H (11.68%) and UAE-C (5.38%), respectively. Protein yield of RBPI ranged in 35.10 to 77.24% with the purity of 3.52 to 7.36-fold, compared to protein existed in original rice bran. The chemical compositions showed that MAE-H provided high protein content (93.86%) of RBPI comparable to the conventional AKE method (93.12%). The main protein components of RBPI showed molecular weight of 15-84 kDa indicated by SDS-PAGE. Lysine and histidine are the major amino acids in RBPI. The highest total phenolic content was found in RPBI using AKE (15.89 mg/g), while MAE-H gave the highest content antioxidant activities. Nitrogen solubility index of RBPI were 57.84 to 73.12%, while in original rice bran was 18.04%. Water-holding and oil absorption capacity ranged 1.72 to 2.69 g/g, and 1.85 to 3.75 g/g, respectively. The highest foaming capacity was found in RBPI using UAE-C, while the lowest was observed in RBPI using MAE-H.

Keywords: extraction, organic rice bran, antioxidant, functional properties, protein isolate

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 1	**บทนำ**	**8**
บทที่ 2	**แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	**9**
	ข้าว	9
	การแปรรูปเกษตรอินทรีย์	11
	กระบวนการสีข้าว	13
	รำข้าว	15
	โปรตีนรำข้าว	16
	การสกัดโปรตีนจากรำข้าว	17
	การประยุกต์ใช้โปรตีนรำข้าว	23
บทที่ 3	**ระเบียบวิธีวิจัย**	**25**
	วัตถุดิบและสารเคมี	25
	การสกัดโปรตีนจากรำข้าว	25
	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	27
	การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี	29
	การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ	31
	การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่	31
	การวิเคราะห์ทางสถิติ	31
บทที่ 4	**ผลการวิจัย**	**32**
	ประสิทธิภาพของวิธีการสกัดแยกโปรตีนแบบต่าง ๆ จากรำข้าวอินทรีย์	32
	องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น	34
	สมบัติทางเคมีของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น	36
	สมบัติทางกายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น	43
	สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น	45
บทที่ 5	**สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ**	**53**
เอกสารอ้างอิง		**54**
ประวัตินักวิจัย		**60**
ภาคผนวก		**65**

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ผลผลิตข้าวของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2550-2555 9

ตารางที่ 2.2 ผลผลิตข้าวของโลกระหว่างปี พ.ศ. 2552-2556 10

ตารางที่ 2.3 ปริมาณการบริโภคข้าวของทั้งทั่วโลก 10

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว 16

ตารางที่ 2.5 ปริมาณโปรตีนจากข้าวและส่วนต่าง ๆ 16

ตารางที่ 2.6 กรดอะมิโนจากโปรตีนในรำข้าว 17

ตารางที่ 2.7 การสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยเอนไซม์ 18

ตารางที่ 2.8 วิธีสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยวิธีทางกายภาพ 19

ตารางที่ 2.9 การใช้ประโยชน์จากรำข้าวในผลิตภัณฑ์ต่าง 24

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลผลิตของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์เข้มข้นที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ 32

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพของการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ด้วยวิธีผสมผสาน 33

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวและโปรตีนสกัดเข้มข้น 34

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวและโปรตีนสกัดเข้มข้นด้วยวิธีแบบผสมผสาน 35

ตารางที่ 4.5 ความเป็นกรด-ด่างและค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ 36

ตารางที่ 4.6 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น 41

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ 44

ตารางที่ 4.8 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น 45

ตารางที่ 4.9 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้นด้วยวิธีการแบบผสมผสาน 46

ตารางที่ 4.10 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น 47

ตารางที่ 4.11 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้นด้วยวิธีการแบบผสมผสาน 48

ตารางที่ 4.12 ต้นทุนการผลิตโปรตีนเข้นข้นจากรำข้าวอินทรีย์ต่อกิโลกรัมผลิตภัณฑ์ 51

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 ขั้นตอนกระบวนการสีข้าว	13
รูปที่ 2.2 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว	14
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของเมล็ดข้าว	15
รูปที่ 2.4 การแยกชั้นของสารผสมด้วยระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาค	21
รูปที่ 4.1 รูปแบบของโปรตีนรำข้าวที่สกัดแยกด้วยวิธีการต่าง ๆ	37
รูปที่ 4.2 รูปแบบของโปรตีนรำข้าวที่สกัดแยกด้วยวิธีการผสมผสานเปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม	39
รูปที่ 4.3 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์	42

บทที่ 1 บทนำ

ข้าว เป็นธัญพืชที่มีความสำคัญระดับโลก โดยพบว่าประชากรหลายล้านคนกินข้าวเป็นอาหารหลัก สำหรับประเทศไทยผลิตข้าวโดยเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 26 ล้านตัน ซึ่งจัดเป็นผลิตผลทางการเกษตรอันดับหนึ่งของประเทศหลายปีติดต่อกัน (FAOSTAT, 2012) จากยอดการผลิตในแต่ละปีเมื่อผ่านกระบวนการสีข้าวจะทำให้ในแต่ละปีประเทศไทยมีรำข้าวที่เป็นผลิตผลพลอยได้ประมาณ 2.60 ล้านตัน (รำข้าวจะมีสัดส่วนประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนักของข้าวทั้งเมล็ด) โดยรำข้าวจะอุดมไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ มากมายซึ่งเป็นที่ต้องการร่างกายมนุษย์ ปกติรำข้าวจะถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันรำข้าว หรือนำไปเป็นวัตถุดิบเพื่อทำอาหารสัตว์ แต่ในบางครั้งมีการผลิตโปรตีนเสริมจากกากรำข้าวที่เหลือจากการสกัดน้ำมัน โดยทั่วไปราคาของรำข้าวจะอยู่ที่ประมาณ 4-5 บาทต่อกิโลกรัม ส่วนของราคาน้ำมันรำข้าวประมาณ 90-100 บาทต่อลิตร และราคาของโปรตีนรำข้าวมีค่าประมาณ 1,700 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งถือเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับรำข้าวเป็นอย่างมากหากสามารถแยกโปรตีนออกมาจากรำข้าวได้ นอกเหนือจากการศึกษาเกี่ยวกับการสกัดน้ำมันรำข้าวแล้ว ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนรำข้าว รวมถึงสมบัติต่าง ๆ ของโปรตีนรำข้าวที่ได้ อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการสกัดโปรตีนรำข้าวโดยมีวัตถุดิบเริ่มต้นเป็นรำข้าวอินทรีย์

จากรายงานวิจัยพบว่าปริมาณโปรตีนในรำข้าวนั้นมีค่าอยู่ประมาณร้อยละ 10-16 (Juliano, 1985, และ Saunders, 1990) ซึ่งถือว่ามากเป็นอันดับ 2 รองจากไขมัน (ร้อยละ 33-48) หากไม่นับรวมส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรต (Connor, 1976 และ Prakash, 1991) โดยปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น กระบวนการและสภาวะที่ใช้ในการสกัด ตัวอย่างเริ่มต้น วิธีการหลักที่มักนิยมใช้ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวคือ การใช้วิธีการทางเคมี ตัวอย่างเช่น การใช้สารละลายด่างในการสกัด (Prakash, 1996) และตกตะกอนโปรตีนออกมาด้วยการปรับสภาพกรด-ด่างให้เข้าใกล้จุด Isoelectric point (pI) ของโปรตีนนั้น ๆ เป็นต้น วิธีทางกายภาพ เช่น การปั่นด้วยความเร็วสูง การบด และการใช้น้ำกึ่งวิกฤต (Fabian และ Ju, 2011) การสกัดด้วยคลื่นความถี่ หรือไมโครเวฟ และการใช้เอนไซม์ เช่น โปรติเอส ไซลาเนส และไฟเตส เป็นต้น (Wang และคณะ, 1999; Tang และคณะ, 2003) แต่ละวิธีก็จะมีข้อจำกัดและข้อดีที่แตกต่างกันออกไป การจะเลือกใช้วิธีใดนั้นขึ้นอยู่กับความต้องการของผู้วิจัยที่ต้องการให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีสมบัติเป็นอย่างไร

โปรตีนจากรำข้าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้หลายชนิด เช่น ขนมปัง (Jiamyangyuen และคณะ, 2005a,b) อาหารทารกหรืออาหารเด็ก เนื่องจากมีกรดอะมิโนจำเป็นที่เด็กต้องการซึ่งไม่พบในธัญพืชชนิดอื่น และทำให้เกิดอาการแพ้ได้น้อย (Shih, 2003) อาหารเช้าธัญพืช อาหารเสริมโปรตีน เครื่องดื่ม และใช้เป็นส่วนผสมของเนื้อและไส้กรอก (Prakash, 1996) อีกทั้งยังมีความสามารถต้านสารอนุมูลอิสระ และต้านมะเร็งได้อีกด้วย (Kawamura และ Muramoto, 1993) ด้วยสมบัติและคุณประโยชน์ของโปรตีนรำข้าวดังกล่าวข้างต้นจึงเป็นที่มาของการศึกษาในครั้งนี้โดยจะมุ่งเน้นศึกษาถึงวิธีการในการสกัดโปรตีน การศึกษาสมบัติบางประการ และการนำโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์ไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้าว

ข้าวเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อชีวิตความเป็นอยู่ของมนุษย์มาก ทุกวันนี้คนเอเชียประมาณ 3,000 ล้านคนบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ข้าวจึงนับว่ามีความสำคัญและมีคุณประโยชน์ต่อชีวิตและความเป็นอยู่ของมนุษย์นับแต่อดีตถึงปัจจุบัน จากสถิติพบว่าประเทศไทยเป็นผู้ผลิตข้าวลำดับที่ 6 ของโลก (ร้อยละ 4.30) รองจากประเทศจีน (ร้อยละ 30.41) อินเดีย (ร้อยละ 22.12) อินโดนีเซีย (ร้อยละ 7.98) บังคลาเทศ (ร้อยละ 7.23) และเวียดนาม (ร้อยละ 5.88) โดยมีผลผลิตข้าวรวม 20.26 ล้านตันข้าวสาร (USDA, 2012) อย่างไรก็ตามข้าวจัดเป็นผลิตผลทางการเกษตรที่ครองสถิติอันดับหนึ่งของประเทศไทยในด้านปริมาณการผลิตหลายทศวรรษติดต่อกัน ซึ่งผลผลิตข้าวของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2550-2555 และผลผลิตข้าวของโลกระหว่างปี พ.ศ. 2552-2556 จะแสดงดังตารางที่ 2.1 และตารางที่ 2.2 ตามลำดับ นอกจากนี้การส่งออกข้าวของไทยตลอด จาก พ.ศ. 2541 จนถึง 2551 มีแนวโน้มสูงขึ้น โดยผลการสำรวจล่าสุดในปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยมียอดการส่งออกข้าวมากถึง 10.50 ล้านตันข้าวสาร (สมพร และปรุฬห์ 2555)

ตารางที่ 2.1 ผลผลิตข้าวของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2550-2555 (ล้านตันข้าวเปลือก)

รายการ	2550/51	2551/52	2552/53	2553/54	2554/55	%การเปลี่ยนแปลง
นาปี	23.308	23.235	23.253	25.442	22.996	-9.6
นาปรัง	8.791	8.415	8.863	10.141	11.247	10.6
ผลผลิตรวม	32.009	31.650	32.116	35.583	34.243	-3.8

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2555) อ้างอิงจาก อรอนงค์ (2556)

จากการคาดการณ์ของ World Market and Trade, USDA ประเทศสหรัฐอเมริกา คิดเป็นเมตริกตันเปรียบเทียบระหว่าง 7 ประเทศที่มีการผลิตข้าวสูงที่สุดของโลก (จีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังกลาเทศ เวียดนาม ฟิลิปปินส์ และไทย) ทั้งนี้ประเทศไทยมีการบริโภคข้าวระหว่างปี พ.ศ. 2552-2555 อยู่ในเกณฑ์ 9.50-10.40 เมตริกตัน และคาดว่าจะปริมาณการบริโภคจะเพิ่มขึ้นอีกในปี พ.ศ. 2556 เป็น 10.60 เมตริกตัน ซึ่งคิดเป็นร้อยละการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.2 ผลผลิตข้าวของโลกระหว่างปี พ.ศ. 2552-2556 (ล้านตันข้าวสาร)

ประเทศ/ปี	2552	2553	2554	2555	2556	%การเปลี่ยนแปลง
จีน	134.33	136.57	137.00	140.70	143.00	1.68
อินเดีย	99.18	89.09	95.98	104.32	99.00	-5.10
อินโดนีเซีย	38.31	36.37	35.50	36.50	36.90	1.10
บังกลาเทศ	31.20	31.00	31.70	34.00	34.10	0.29
เวียดนาม	24.39	24.99	26.37	26.74	26.88	0.52
ไทย	19.85	20.26	20.26	20.46	21.05	2.88
ฟิลิปปินส์	10.76	9.77	10.54	10.70	11.00	2.80
อื่น ๆ	90.68	93.34	91.95	91.46	93.18	2.42
รวมทั้งโลก	448.70	441.40	449.30	464.87	465.10	0.05

ที่มา: ปรับปรุงจากสมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย (2555) ซึ่งอ้างอิงจาก USDA (2012)

ตารางที่ 2.3 ปริมาณการบริโภคข้าวของทั้งทั่วโลก (เมตริกตัน)

ประเทศ/ปี	2552	2553	2554	2555	2556	%การเปลี่ยนแปลง
จีน	133.00	134.32	135.00	139.50	143.50	2.87
อินเดีย	91.09	85.51	90.21	92.82	95.25	2.62
อินโดนีเซีย	37.10	38.00	39.00	39.55	40.00	1.14
บังกลาเทศ	31.20	31.60	32.40	34.50	34.80	0.87
เวียดนาม	19.00	19.15	19.40	19.75	20.10	1.77
ไทย	13.10	13.13	12.90	12.85	12.95	0.78
ฟิลิปปินส์	9.50	10.20	10.30	10.40	10.60	1.92
อื่น ๆ	103.16	106.71	106.60	108.71	111.38	2.27
รวมทั้งโลก	437.15	438.62	445.81	458.08	468.58	2.29

ที่มา: สมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย (2555) ซึ่งอ้างอิงจาก อรอนงค์ (2556)

ข้าวอินทรีย์

ข้าวอินทรีย์ (Organic rice) เป็นข้าวที่ได้จากการผลิตแบบเกษตรอินทรีย์ (Organic agriculture หรือ Organic Farming) ซึ่งเป็นวิธีการผลิตที่หลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี หรือสารสังเคราะห์ต่าง ๆ เป็นต้นว่า ปุ๋ยเคมี สารควบคุมการเจริญเติบโต สารควบคุมและกำจัดวัชพืช สารป้องกันกำจัดโรคแมลงและสัตว์ศัตรูข้าว ในทุกขั้นตอนการผลิตและในระหว่างการเก็บรักษาผลผลิต หากมีความจำเป็นแนะนำให้ใช้วัสดุจากธรรมชาติ และสารสกัดจากพืชที่ไม่มีพิษต่อคน หรือไม่มีสารพิษตกค้างปนเปื้อนในผลิตผลในดินและน้ำ ในขณะเดียวกัน ก็เป็นการรักษาสภาพแวดล้อม ทำให้ได้ผลิตผลข้าวที่มีคุณภาพดี ปลอดภัยจากอันตรายของผลตกค้างส่งผล

ให้ผู้บริโภคมีสุขอนามัยและคุณภาพชีวิตที่ดี (http://www.oatthailand.org) การขยายพันธุ์ของข้าวอินทรีย์สามารถเกิดได้จากเชื้อจุลินทรีย์ในระบบนิเวศ การเผาผลาญของพวกมันจะช่วยให้เกิดการหมุนเวียนของสารอาหารในดิน (Phetcharat และ Duangpaeng, 2012)

สินค้าทางการเกษตรของประเทศไทยที่อยู่ในลำดับที่ 1 ของปริมาณการผลิตมาอย่างต่อเนื่องคือข้าว โดยปริมาณการผลิตเมื่อปี ค.ศ. 2010 อยู่ที่ประมาณ 31,597,200 เมตริกตัน และอยู่ในลำดับที่ 7 ของยอดการผลิตทั่วโลก (FAOSTAT, 2012) สำหรับข้าวอินทรีย์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 เป็นต้นมา กรมวิชาการเกษตรได้ให้การสนับสนุนบริษัทในเครือสยามไชยวิวัฒน์ และบริษัทในเครือนครหลวงค้าข้าว จำกัด ดำเนินการผลิตข้าวอินทรีย์ โดยให้คำปรึกษาแนะนำ และประสานงานกับทุกๆ ฝ่ายที่เกี่ยวข้อง มีเกษตรกรในพื้นที่ภาคเหนือโดยเฉพาะจากจังหวัดพะเยาและเชียงราย ขอเข้าร่วมโครงการเป็นจำนวนมาก หลังจากได้คัดเลือกเกษตรกรที่มีคุณสมบัติเหมาะสมไว้เพียงบางส่วนเพื่อเข้าร่วมโครงการแล้ว ได้มีการชี้แจงให้เกษตรกรเข้าใจหลักการและขั้นตอนการผลิตข้าวอินทรีย์ที่ถูกต้อง การจัดทำข้อตกลงและการยอมรับนำไปปฏิบัติตามหลักการการผลิตข้าวอินทรีย์ รวมทั้งจัดนักวิชาการออกติดตามให้คำแนะนำในทุกขั้นตอนของการผลิตจากการดำเนินงานตั้งแต่ฤดูกาลผลิตปี พ.ศ. 2535 เป็นต้นมา มีเกษตรกรเข้าร่วมโครงการประมาณปีละ 100 รายในพื้นที่ประมาณ 4,000 ไร่ ได้ผลผลิตเฉลี่ย ประมาณ 400-500 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นผลผลิตรวมประมาณปีละ 2000 ตัน (http://www.oatthailand.org)

การแปรรูปเกษตรอินทรีย์

เกษตรอินทรีย์ หมายรวมถึง เกษตรธรรมชาติ และเกษตรนิเวศ โดยมีหลักการและความมุ่งหมายที่สำคัญเกี่ยวกับการแปรรูป คือยึดหลักการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวและการแปรรูปที่เป็นวิธีการธรรมชาติ ประหยัดพลังงาน และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด โดยมีแนวปฏิบัติดังนี้คือ การจัดการและกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ อินทรีย์จะต้องเป็นไปตามแนวทางการปฏิบัติที่ดี (Good Manufacturing Practice: GMP) ถูกสุขลักษณะและคำนึงถึงความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ใช้การจัดการและกระบวนการผลิตที่รักษาคุณค่าทางอาหารไว้ให้ได้มากที่สุด ใช้พลังงานน้อย และมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด และมีข้อกำหนดด้านวัตถุดิบ ส่วนผสม สารปรุงแต่ง สารช่วย แปรรูป และกระบวนการแปรรูปดังนี้

1. วัตถุดิบในผลิตภัณฑ์แปรรูปอินทรีย์ ต้องเป็นผลิตผลที่ได้รับการรับรองมาตรฐานเกษตรอินทรีย์

2. ในกรณีที่วัตถุดิบจากเกษตรอินทรีย์มีปริมาณไม่เพียงพอ อาจอนุญาตให้ใช้วัตถุดิบจากเกษตรเคมีหรือเกษตรทั่วไปที่ไม่ได้รับการรับรองมาตรฐานฯ มาเป็นส่วนผสมได้ ทั้งนี้ผู้ประกอบการจะต้องรายงานให้ทราบเพื่อทำการตรวจสอบ

3. ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อินทรีย์ชนิดหนึ่งไม่อนุญาตให้ใช้วัตถุดิบชนิดเดียวกันทั้งจากเกษตรอินทรีย์และเกษตรทั่วไปที่ไม่ได้รับการรับรองมาตรฐานฯ มาผสมกัน

4. ผลิตภัณฑ์แปรรูปอินทรีย์ที่ไม่ได้มีส่วนผสมมาจากผลิตผลอินทรีย์ทั้งหมด สามารถขอรับรองได้เมื่อมีส่วนผสมจากผลิตผลอินทรีย์เป็น 2 ระดับ ดังนี้

4.1 มีสัดส่วนผลิตผลอินทรีย์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 95โดยน้ำหนัก ทั้งนี้ไม่รวมน้ำและเกลือและมีส่วนผสมอื่นที่อนุญาตให้ใช้ได้ รวมแล้วไม่เกินร้อยละ 5

4.2 มีสัดส่วนผลิตผลอินทรีย์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70 โดยน้ำหนัก ทั้งนี้ไม่รวมน้ำและเกลือและมีส่วนผสมอื่นที่อนุญาตให้ใช้ได้รวมแล้วไม่เกินร้อยละ 30

5. ควรพยายามใช้สารปรุงแต่งและสารช่วยแปรรูปให้น้อยที่สุด ในกรณีที่จำเป็นต้องใช้ อนุญาตให้ใช้สารปรุงแต่งและสารช่วยแปรรูปเฉพาะที่ระบุไว้

6. ไม่อนุญาตให้ใช้สารต่อไปนี้ในการแปรรูป ขัณฑสกรหรือซัคคาริน สารบอแรกซ์ ผงชูรส สารกันหืน สารกันบูดสังเคราะห์ สารแต่งกลิ่นสังเคราะห์ สารฟอกสีจำพวกซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และห้ามเติมวิตามินและแร่ธาตุในผลิตภัณฑ์แปรรูปเกษตรอินทรีย์

7. วัตถุดิบจากเกษตรเคมีหรือเกษตรทั่วไปที่ไม่ได้รับการรับรองมาตรฐานฯ สารปรุงแต่ง สารช่วยแปรรูป เชื้อจุลินทรีย์ และเอนไซม์ ที่ใช้ในการแปรรูป ต้องไม่มาจากกระบวนการทางพันธุวิศวกรรม

8. เชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่ใช้ในการแปรรูปต้องมาจากการเพาะเลี้ยงโดยใช้วัสดุตั้งต้นที่เป็นอินทรีย์ และอนุญาตให้ใช้สารปรุงแต่งและสารช่วยแปรรูปที่ระบุไว้

9. น้ำที่ใช้เป็นวัตถุดิบ หรือใช้ในการแปรรูปและสัมผัสกับผลิตผลแปรรูปโดยตรง จะต้องเป็นไปตามมาตรฐานน้ำดื่ม และวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการกรองจะต้องไม่มีส่วนประกอบของสารแอสเบสตอส

10. อนุญาตให้ใช้กระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ดังต่อไปนี้

- 10.1 กระบวนการทางกายภาพ เช่น การสี การคั้นน้ำ การหีบน้ำมัน
- 10.2 กระบวนการทางชีวภาพ เช่น การหมัก การดอง แต่ต้องไม่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ได้มาจากการทำพันธุวิศวกรรม
- 10.3 การผึ่งลมการตากแดด การอบแห้งด้วย ความร้อน การทอด การกวน การเคี่ยว และ การรมควัน
- 10.4 การสกัด เฉพาะด้วยน้ำ เอทานอล น้ำมัน น้ำส้มสายชู ไนโตรเจน คาร์บอนไดออกไซด์
- 10.5 การตกตะกอน
- 10.6 การกรอง
- 10.7 การกลั่น

11. ไม่อนุญาตให้มีการจัดการวัตถุดิบ ส่วนผสมสารปรุงแต่ง ด้วยระบบไมโครเวฟ และการใช้รังสีที่ทำให้เกิดการแตกตัวของไอออน

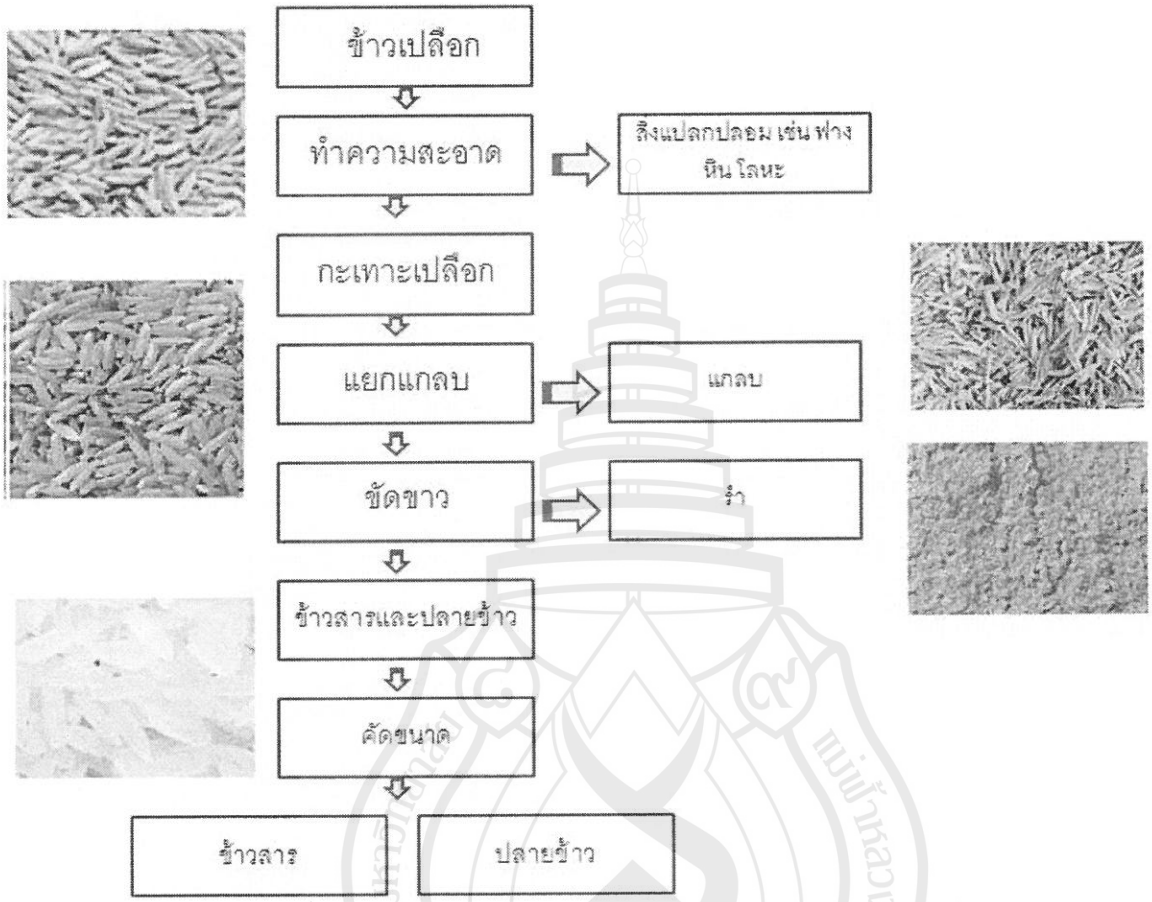
12. ห้ามใช้สารและเทคนิคต่าง ๆ เพื่อชดเชยคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ ซึ่งสูญเสียไปเนื่องจากกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา

13. อนุญาตให้ใช้วิธีการกรองที่ไม่ทำปฏิกิริยาทางเคมีกับตัวผลิตภัณฑ์ หรือ มีผลทำให้โครงสร้างโมเลกุลเปลี่ยนไป และเครื่องมือที่ใช้ในการกรองต้องไม่ทำจากแอสเบสตอส หรือเป็นวัสดุที่มีผลกระทบต่อตัวผลิตภัณฑ์ (มาตรฐานเกษตรอินทรีย์ 2012)

กระบวนการสีข้าว

กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ของประเทศไทยได้รายงานสถานการณ์การผลิตและการตลาดข้าวของโลกว่าในปี พ.ศ. 2555 ทั่วโลกมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวสูงถึง 988.63 ล้านไร่ ได้ผลผลิตเป็นข้าวเปลือกและข้าวสารประมาณ 470.2 และ 700.7 ล้านตัน ตามลำดับ ทั้งนี้กระบวนการขัดสีข้าวเปลือกโดยทั่วไปจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ข้าวสารประมาณร้อยละ 70-68 แกลบร้อยละ 20-24 และรำข้าวร้อยละ 8 -

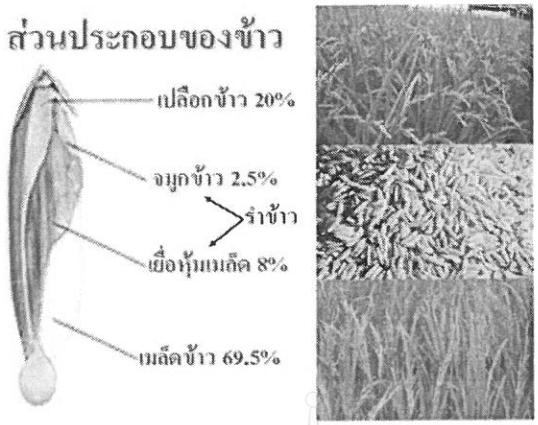
10 ซึ่งก็หมายความว่าในช่วงปีดังกล่าวจะมีรำข้าวเกิดขึ้นประมาณ 38-47 ล้านตัน ซึ่งโดยทั่วไปกระบวนการสีข้าวจะมีขั้นตอนหลัก ๆ แสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนกระบวนการสีข้าว

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3644/การสีข้าว-rice-milling

อย่างไรก็ตามจากกระบวนการสีข้าวนอกจากจะได้เมล็ดข้าวที่เป็นผลผลิตหลักกว่าร้อยละ 69.5 แล้ว (รูปที่ 2.2) ยังมีผลิตผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการสีข้าว ได้แก่ เปลือกข้าวร้อยละ 20 จมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดหรือที่เรียกว่า รำข้าว อีกประมาณร้อยละ 10.5 ของข้าวทั้งเมล็ด ซึ่งในเมล็ดข้าวจะมีวิตามิน แร่ธาตุและสารอาหาร ที่สำคัญต่อร่างกายรวมกว่า 20 ชนิด แต่ข้าวที่อุดมไปด้วยคุณค่าของสารอาหารที่กล่าวมานี้ จะต้องผ่านการขัดสีแต่น้อย คือ สีเอาเปลือกข้าวหรือที่ชาวบ้านเรียกว่า "แกลบ" ออกโดยที่ยังมีจมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวที่เราเรียกว่า "รำ" อยู่ ซึ่งจมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวนี้ยังคงมีคุณค่าอาหารที่มีประโยชน์มากอีกด้วย



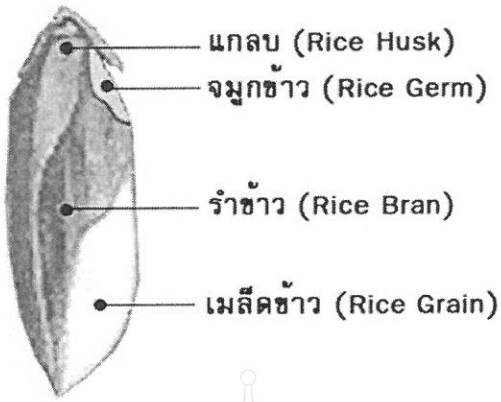
รูปที่ 2.2 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว
ที่มา : http://www.mfu.ac.th/school/agro2012/events/298

อรอนงค์ (2556) ได้แบ่งกลุ่มผลิตภัณฑ์ข้าวไทยเป็น 4 กลุ่มหลักได้แก่

1. **ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดข้าว** เริ่มจากข้าวกล้อง หรือข้าวสาร ซึ่งบรรจุถุงแบบธรรมดา หรือแบบสุญญากาศ เมื่อนำข้าวกล้อง หรือข้าวสารมาแปรรูปอีกขั้น เป็นข้าวกึ่งสำเร็จรูป คือข้าว 7 นาที ข้าวผสมหุง 5 นาที และข้าวสำเร็จรูป คือ ข้าวบรรจุกระป๋อง หรือบรรจุภัณฑ์ชนิดอ่อนตัว และข้าวแช่เยือกแข็ง เป็นต้น
2. **ผลิตภัณฑ์จากแป้งข้าว** ทำเป็นอาหารเส้น เช่น ก๋วยเตี๋ยว ขนมจีน เส้นหมี่ อาหารว่าง เช่น ขนมอบกรอบ อาหารหวาน เช่น ขนมถ้วย และขนมชั้น เป็นต้น
3. **ผลิตภัณฑ์หมักดอง** เช่น ข้าวหมาก อุ สาโท เหล้าขาว และน้ำส้มสายชู เป็นต้น
4. **ผลิตภัณฑ์จากผลพลอยได้ของข้าว** เช่น รำข้าวทำเป็นน้ำมันรำข้าว และนำส่วนของรำที่สกัดไขมันออกแล้วไปใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์อาหารอื่น เพื่อเป็นแหล่งเส้นใยอาหารได้อีกมากมายหลายชนิด ส่วนแกลบนำไปทำเชื้อเพลิงเป็นส่วนใหญ่

รำข้าว

ผลิตผลพลอยได้ที่ได้จากกระบวนการผลิตของข้าวประกอบไปด้วย เปลือกข้าวร้อยละ 60 รำข้าว และจมูกข้าวร้อยละ 35 และส่วนอื่นๆ อีกประมาณร้อยละ 5 (รูปที่ 2.3) ข้าวจะถูกเก็บเกี่ยวในรูปของข้าวเปลือก หลังจากที่ข้าวถูกทำให้แห้งแล้ว ขั้นตอนแรกของกระบวนการสีข้าวคือการเอาเปลือกข้าวออกซึ่งข้าวที่ได้ออกมาคือ ข้าวกล้อง หลังจากนั้นชั้นนอกของเมล็ดข้าวกล้องจะถูกเอาออก และได้ออกมาเป็นข้าวขาว ชั้นที่ถูกเอาออกไปในขั้นตอนนี้คือรำข้าว ในแต่ละปีปริมาณรำข้าวที่ได้คือประมาณ 60 ถึง 68 ล้านเมตตริกตัน ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ หรืออาหารสำหรับคน หรือทิ้งเป็นของเสีย (Ryan, 2011)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

ที่มา : http://www.xn22c9ba5alz0egeb9vh8bf.com/

รำข้าว อุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน วิตามินและแร่ธาตุ ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวแสดงในตารางที่ 2.4 คุณภาพของรำข้าวขึ้นอยู่กับชนิดของอุปกรณ์ที่ใช้ในการขัดสีข้าว ซึ่งถ้าเกิดการปนเปื้อนของเปลือกข้าว จะไม่สามารถนำมาใช้เป็นอาหารได้ ในรำข้าวมีเอนไซม์ไลเปสอยู่ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้รำข้าวและน้ำมันรำข้าวเสื่อมคุณภาพ โดยน้ำมันจะกลายเป็นกรดไขมันอิสระกับกลีเซอรอล โดยทั่วไปจึงมีวิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการแก้ไขปัญหานี้ เช่น การใช้ความร้อน การเก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ การใช้สารเคมี การควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงที่เก็บรำข้าว และการสีข้าวและสกัดน้ำมันพร้อมกัน เพื่อที่จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส จากรายงานวิจัยพบว่า ในรำข้าวมีร้อยละของโปรตีนอัลบูมิน และโกลบูลิน สูงกว่าโปรตีนชนิดอื่นๆ โปรตีนในรำข้าวที่ถูกสกัดออกมาจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการสกัดไขมันมีประมาณร้อยละ 19.4 ถึง 76.1 และในรำข้าวที่สกัดไขมันแล้วมีประมาณร้อยละ 17.5 ถึง 85.0 รำข้าวจะถูกนำไปประยุกต์ใช้กับอาหารในผลิตภัณฑ์ขนมปัง อาหารเช้าธัญพืช เวเฟอร์ อาหารเสริมโปรตีน ส่วนผสมของเนื้อและไส้กรอก และเครื่องดื่ม เป็นต้น (Prakash และ Ramaswamy, 1996)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว (% dry basis)

รำข้าว	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	กากใย	คาร์โบไฮเดรต
ไขมันเต็ม[a]	12.0	13.7	12.1	14.4	25.4
ไขมันเต็ม[b]	14.1	20.9	12.8	8.4	43.5
ไขมันเต็มจากข้าวนึ่ง[b]	11.4	21.2	21.3	8.4	32.3
สกัดน้ำมันออก[c]	12.8	7.0	8.9	8.2	58.2
สกัดน้ำมันออก[a]	18.3	5.4	11.2	8.6	31.6
สกัดน้ำมันออก[b]	18.2	1.6	15.3	10.5	54.3
สกัดน้ำมันออกจากรำข้าวนึ่ง[b]	16.0	0.5	25.7	14.5	43.4
สกัดน้ำมันออก โม่-ร่อนผ่านตะแกรง (80 mesh)[b]	19.2	1.6	14.8	5.5	58.9

ที่มา : [a] Connor (1976) [b] Prakash (1991) [c] Youssef (1974)

โปรตีนรำข้าว

ในรำข้าวมีโปรตีนหลักอยู่ด้วยกัน 4 ชนิดซึ่งจำแนกตามความสามารถในการละลาย ได้แก่ อัลบูมิน (ร้อยละ 35) โกลบูลิน (ร้อยละ 15-26) กลูเตลิน (ร้อยละ 11-27) โปรลามิน (ร้อยละ 4) โดย โปรตีนอัลบูมิน โกลบูลิน โปรลามิน และกลูเตลิน จะละลายได้ในน้ำ สารละลายเกลือ สารละลายแอลกอฮอล์ และสารละลายด่าง ตามลำดับ การสกัดโปรตีน เช่น การสกัดโดยใช้ด่าง การใช้เอนไซม์ในการสกัด การใช้กระบวนการทางกายภาพ และการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต ในแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อด้อยที่แตกต่างกัน (Fabian และ Ju, 2011)

ตารางที่ 2.5 ปริมาณโปรตีนจากข้าวและส่วนต่าง ๆ

ส่วนต่าง ๆ ของข้าว	ปริมาณโปรตีน (g Nx5.95)
Rough rice	5.6-7.7
Brown rice	7.1-8.3
Milled rice	6.3-7.1
Rice bran	11.3-14.9
Rice hull	2.0-2.8

ที่มา: Shih (2003)

ปริมาณโปรตีนในรำข้าวจะแตกต่างกันเมื่อข้าวผ่านกระบวนการสีในแต่ละขั้นตอน แสดงดังตารางที่ 2.5 โดยพบว่าในส่วนของรำข้าวจะมีปริมาณโปรตีนสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่น ๆ ที่ได้จากกระบวนการสีข้าว นอกจากนั้นพบว่า กรดอะมิโนชนิดกลูทามิคมีปริมาณสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนชนิดแอสปาติก อาร์จินีน ลิวซีน วาลีน และไลซีน ตามลำดับ (Shih, 2003) (ตารางที่ 2.6)

ตารางที่ 2.6 กรดอะมิโนจากโปรตีนในรำข้าว

กรดอะมิโน	**กรดอะมิโน/โปรตีน**			
	Houston และคณะ 1969	**Juliano, 1985**	**Wang และคณะ 1999**	**Tang และคณะ 2003**
Lysine	4.81	5.5	4.7	5.4
Histidine	2.71	3.0	2.9	3.3
Arginine	8.28	9.0	8.9	10.2
Aspatic acid	9.09	10.5	8.0	11.2
Threonine	3.78	4.4	3.7	3.7
Serine	4.68	5.3	4.1	4.5

ตารางที่ 2.6 กรดอะมิโนจากโปรตีนในรำข้าว (ต่อ)

กรดอะมิโน	กรดอะมิโน/โปรตีน			
	Houston และคณะ 1969	Juliano, 1985	Wang และคณะ 1999	Tang และคณะ 2003
Glutamic acid	**13.58**	**15.3**	**12.5**	**18.1**
Proline	4.23	-	-	-
Glycine	5.47	6.1	5.4	6.2
Alanine	6.15	6.8	6.1	7.3
Cystine	2.32	2.6	1.6	-
Valine	6.00	5.7	6.3	7.0
Methionine	2.32	2.0	2.2	-
Isoleucine	3.94	3.0	3.9	4.5
Leucine	6.91	8.0	7.4	8.0
Tyrosine	3.13	3.7	3.3	3.7
Phenylalanine	4.43	5.1	4.6	5.1
Tryptophan	-	0.7	1.2	-

ที่มา : (Fabian และ Ju 2011)

การสกัดโปรตีนรำข้าว

การสกัดโดยใช้เอนไซม์

การสกัดด้วยเอนไซม์จะช่วยให้โปรตีนไม่ต้องสัมผัสกับสภาวะด่างนาน ๆ (การใช้วิธีทางเคมี) ซึ่งไม่ทำให้เกิดสารพิษ เอนไซม์หลายตัวที่ใช้ในการวิจัยทำหน้าที่รบกวนหรือทำลายผนังเซลล์ซึ่งจะทำให้ปริมาณโปรตีนที่ได้มาเพิ่มขึ้น เนื่องจากโปรตีนถูกปลดปล่อยออกมาจากรำข้าวมากขึ้น เอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัย เช่น ไซลาเนส และไฟเตส เป็นต้น จากการศึกษาของ Wang และคณะ (1999) พบว่าการใช้เอนไซม์ไซลาเนส หรือ ไฟเตสเพียงตัวใดตัวหนึ่งนั้นจะให้ปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าการที่ใช้เอนไซม์ทั้งสองร่วมกัน อย่างไรก็ตาม การที่ใช้เอนไซม์เพียงตัวใดตัวหนึ่งนั้นโปรตีนจะมีความบริสุทธิ์น้อยกว่าการใช้เอนไซม์ทั้งสองตัว นอกจากเอนไซม์ทั้งสองตัวดังกล่าวข้างต้น พบว่ายังมีการใช้เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวและให้ร้อยละของผลผลิตที่สูงเช่นเดียวกัน เช่น Flavoenzyme, Alcalase, Viscozyme, Carbohydrase เป็นต้น

จากการศึกษาของ Tang และคณะ (2002) นั้นมีการเปรียบเทียบปริมาณของโปรตีนที่สกัดได้โดยการใช้เอนไซม์อะไมเลสและโปรติเอส กับวิธีทางกายภาพอื่น ๆ (ตารางที่ 2.7) พบว่าการใช้เอนไซม์อะไมเลสในการ สกัดโปรตีนจากรำข้าวนั้นมีปริมาณโปรตีนทีสกัดได้เท่ากับร้อยละ 37.3 ซึ่งมีปริมาณที่มากกว่าวิธีอื่นที่ศึกษา

ตารางที่ 2.7 การสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยเอนไซม์

เอนไซม์	ผลผลิต (%)	ความบริสุทธิ์ (%)	อ้างอิง
Flavoenzyme	88	30	Hamada, 2000
Alcalase	81	28	Hamada, 2000
Xylanase	82	54	Wang และคณะ, 1999
Phytase	80	57	Wang และคณะ, 1999
Amylase	37	-	Tang และคณะ, 2002
Protease	48	-	Tang และคณะ, 2002
Xylanase+Phytase	75	92	Wang และคณะ, 1999
Carbohydrase	53	-	Ansharullah และคณะ, 1997

การสกัดด้วยการใช้ด่าง

โปรตีนในรำข้าวสามารถสกัดออกมาได้อย่างง่ายดายด้วยกระบวนการสกัดโดยใช้ด่างและตามด้วยการตกตะกอนที่ค่าจุดไอโซอิเลคทริคของโปรตีน (Connor และคณะ 1976) ซึ่งโดยทั่วไปจะสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เจือจางแล้วที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ตามด้วยการแยกใยอาหารตกค้างด้วยกรดและความร้อน และ ได้ผลผลิตออกมาเป็นโปรตีนเข้มข้นที่มีปริมาณโปรตีนในช่วงร้อยละ 33 ถึง 38 โดยน้ำหนัก Prakash และ Ramanatham (1994) รายงานว่าภายใต้สภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่ระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 11.0 และ ตามด้วยการแยกด้วยกรดที่ระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.0 ปริมาณโปรตีนเข้มข้นที่ได้จากรำข้าวที่ไม่ได้ทำให้คงตัวเทียบกับรำข้าวที่ทำให้คงตัว (stabilized) ด้วยกรดนั้นอยู่ในช่วงของร้อยละ 71 ถึง 73 ในทางตรงกันข้ามโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวที่ทำให้คงตัวด้วยความร้อน และรำข้าวนึ่งนั้นมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าโดยมีปริมาณอยู่ที่ร้อยละ 39.5 และ 54.5 ตามลำดับ การทำให้คงตัวด้วยความร้อนนั้นไม่เพียงแต่ทำให้ความสามารถในการสกัดโปรตีนในรำข้าวนั้นบกพร่องแต่ยังเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดอะมิโน และรูปแบบของโปรตีนบนเจลอิเลคโทรโฟเรซิสอีกด้วย โดยทั่วไปแล้วในสภาวะด่างจะมีประสิทธิภาพในการละลายสูง และสามารถสกัดโปรตีนออกมาจากรำข้าวได้ แต่การสกัดด้วยด่างก็มีจุดด้อยเช่นกัน กล่าวคือที่สภาวะความเป็นด่างสูงสามารถนำไปสู่การเกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่ไม่เป็นที่ต้องการได้ซึ่งรวมไปถึงการ cross- link และการเรียงตัวใหม่ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการก่อตัวของสารประกอบที่เป็นพิษ เช่น ลัยซิโนอะลานีน การเสียสภาพของโมเลกุล และการเสื่อมสลายเกิดขึ้นบ่อยครั้ง ซึ่งจะลดสมบัติเชิงหน้าที่ที่ใช้กับอาหาร และคุณค่าทางอาหารของโปรตีน

ตัวทำละลายด่างจะมีประสิทธิภาพในการช่วยให้การสกัดโปรตีนในเนื้อข้าวสะดวกขึ้น โดยให้ร้อยละของผลผลิตมากถึงร้อยละ 97 ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของกลูเตลิน โดยสามารถสกัดได้โดยใช้ โซเดียมไฮดร-อกไซด์ หรือโพแทสซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติ การใช้ด่างในการสกัดแป้งข้าวเจ้านั้นไม่ค่อยจะมีการใช้ในกระบวนการผลิตโปรตีน แต่จะนำไปใช้ในการกำจัดโปรตีนในแป้งข้าวออกจากกระบวนการผลิตแป้ง

การสกัดโดยใช้วิธีทางกายภาพ

โดยทั่วไปเทคนิคทางกายภาพจะง่ายต่อการปรับแต่งและการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมได้ง่ายกว่า และสามารถทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายได้มากกว่าวิธีการอื่น วิธีการทางกายภาพมักจะเป็นที่ต้องการมากกว่าวิธีการที่ใช้สารเคมี หรือวิธีการที่ใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิตอาหาร เพราะว่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารน้อยกว่า และความกังวลเรื่องสุขภาพก็น้อยกว่า กระบวนการทางกายภาพจะทำให้เซลล์แตกและปล่อยโปรตีนออกมา จึงเป็นผลให้ความสามารถในการสกัดเพิ่มขึ้น วิธีการทางกายภาพที่พบบ่อยที่ถูกใช้ในการสกัดโปรตีนนั้นรวมไปถึง การใช้เครื่องบด การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน เครื่องผสมความเร็วสูง เครื่องแช่แข็งและละลาย การใช้ความดันสูง การสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ เป็นต้น (Fabian และ Ju, 2011) ปริมาณร้อยละผลผลิตของโปรตีนรำข้าวที่ได้จากกระบวนการสกัดด้วยวิธีทางกายภาพแสดงดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 วิธีสกัดโปรตีนรำข้าวด้วยวิธีทางกายภาพ

วิธีทางกายภาพ	ผลผลิต (%)	อ้างอิง
แช่แข็ง (16 ชม.)-ละลาย	12	Tang และคณะ, 2002
การสั่นสะทือนด้วยคลื่นความถี่	13	Tang และคณะ, 2002
การปั่นด้วยความเร็วสูง	12	Tang และคณะ, 2002
การใช้ความดันสูง	11	Tang และคณะ, 2002
การคนปกติ (1 ชม.)	14	Anderson และ Guraya, 2001
การบด	15	Anderson และ Guraya, 2001
การบด+ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน	16	Anderson และ Guraya, 2001

ตัวอย่างวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยวิธีการทางกายภาพได้แก่

1. ใช้เครื่องบดคอลลอยด์และโฮโมจีไนเซอร์

จากผลทดลองของ Anderson และ Guraya (2001) พบว่าการใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์นั้นให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (ร้อยละ 40 ถึง 67 ในของแข็งที่เหลืออยู่ และร้อยละ 3 ถึง 38 ในของเหลว) เมื่อเทียบกับวิธีทางกายภาพอื่น ๆ

2. การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติเป็นเทคนิคที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ที่มีการประยุกต์ใช้ที่หลากหลาย เช่น การสกัด การย่อยของสารอินทรีย์ น้ำกึ่งวิกฤตนั้นคือน้ำร้อนที่อุณหภูมิในช่วงระหว่าง 100 ถึง 180 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันที่เพียงพอเพื่อคงสภาพให้อยู่ในรูปของของเหลว (Pourali และคณะ, 2009) เมื่อมีการใช้น้ำกึ่งวิกฤตในการสกัดสารประกอบต่าง ๆในรำข้าวพบว่าได้ปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง จากการศึกษาของ Watchararuji และคณะ (2008) ได้รายงานปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากวิธีการนี้เท่ากับร้อยละ 84 จากผลการศึกษาก่อนหน้าดูเหมือนว่าวิธีการที่ใช้น้ำกึ่งวิกฤตเป็นวิธีการที่มีแนวโน้มประสบความสำเร็จสูงมากที่สุด Khuwijitjaru และคณะ (2007) พบว่าเมื่อใช้น้ำกึ่งวิกฤตในการศึกษาสมบัติของโปรตีนรำข้าวที่สกัดได้ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตนั้นมีปริมาณโปรตีนเท่ากับประมาณร้อยละ 96 หรือ 136.6 มิลลิกรัมโปรตีน ต่อ กรัมรำข้าว จาก

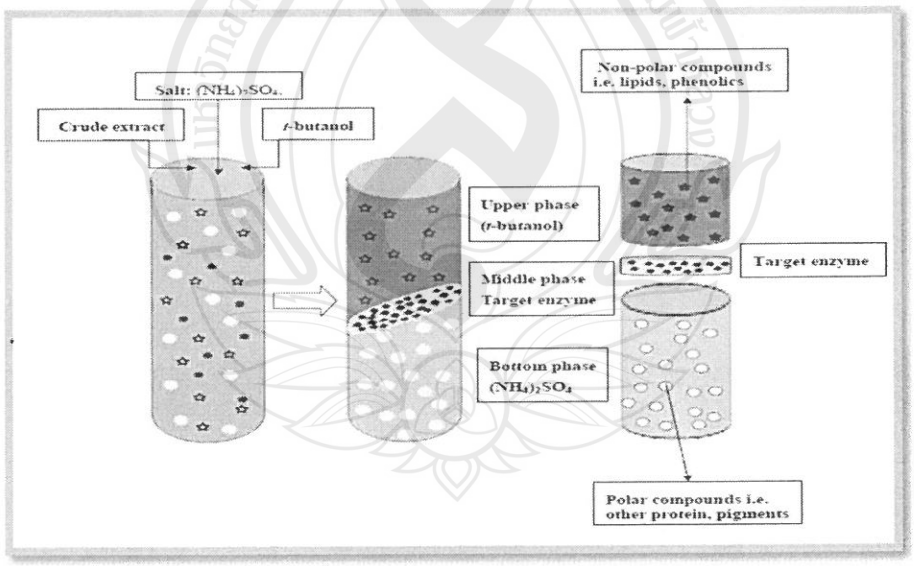
การศึกษาของ Wiboonsirikul และคณะ (2008) และ Sereewatthanawut และคณะ (2008) พบว่าเมื่อสกัดโปรตีนจากรำข้าวโดยการใช้น้ำกึ่งวิกฤต จะได้ปริมาณโปรตีนออกมามากกว่าร้อยละ 100 ซึ่งอาจจะเกิดจากการมีอยู่ของสารประกอบที่รบกวนในระหว่างการวิเคราะห์โปรตีน

3. การสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่

การสั่นสะเทือนด้วยคลื่นสามารถทำให้ผนังของเซลล์แตก และทำลายพันธะของโมเลกุล เนื่องมาจากผลกระทบของอุณหภูมิสูง และคลื่นช็อคของมัน ที่ทำให้เกิดการแตกตัวองฟองอากาศที่เกิดขึ้นจากอัลตราซาวด์ วิธีการนี้ถูกใช้เพื่อช่วยในการสกัดโปรตีน จากงานวิจัยของ Tang และคณะ (2002) พบว่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้มีค่าเท่ากับร้อยละ 15

4. การแยกสารสกัดด้วยวิธีการแยกชั้น

การแยกโปรตีนหรือเอนไซม์ด้วยระบบการแยกเฟส หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าเป็นการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction) จัดเป็นขั้นตอนสำคัญขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการผลิตทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ และวิศวกรรมเคมี พบมากในอุตสาหกรรมปิโตรเคมี อุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมอาหาร และ อุตสาหกรรมยา การสกัดของเหลวด้วยของเหลวเป็นการสกัดสารโดยอาศัยคุณสมบัติทางเคมีของสารในระบบที่แตกต่างกัน เทคนิคหรือระบบที่นิยมใช้สำหรับการแยกสารแบบนี้ได้แก่ ระบบสารละลายน้ำ 2 วัฏภาค (Aqueous two-phase system: ATPS) และระบบสารละลายน้ำ 3 วัฏภาค (Three-phase partitioning: TPP)



รูปที่ 2.4 การแยกชั้นของสารผสมด้วยระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาค

การแยกสารด้วยระบบละลายน้ำสามวัฏภาคสามารถกระทำได้ง่ายและมีประสิทธิภาพสูงสำหรับแยกส่วนต่าง ๆ ของโปรตีน เช่น แยกเอนไซม์จากส่วนผสมอื่น ๆ องค์ประกอบของระบบสารละลายน้ำ 3 วัฏภาค จะประกอบไปด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วนได้แก่ ส่วนแรกคือ สารละลายโปรตีนตัวอย่างที่ต้องการแยกซึ่งปกติจะลายอยู่ในน้ำหรือบัพเฟอร์ ส่วนที่สองได้แก่ เกลือ ซึ่งโดยทั่วไปมักจะใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และส่วนที่

สามคือสารละลายอินทรีย์ซึ่งที่นิยมใช้ได้แก่บิวทานอล หลังจากที่ผสมองค์ประกอบครบแล้วก็วางทิ้งไว้หรือเขย่าด้วยความเร็วต่ำ ๆ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการแยกชั้นขึ้น จากนั้นจึงแยกเอาสารที่สนใจซึ่งจะแยกไปอยู่ในชั้นใดนั้นก็ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางด้านเคมีของสารนั้น ๆ ซึ่งโดยทั่วไปจะแยกออกเป็น 3 ชั้น (รูปที่ 2.4) ได้แก่ ชั้นของบิวทานอลจะแขวนลอยอยู่ที่ชั้นบนสุด ชั้นกลางซึ่งโดยส่วนใหญ่จะเป็นตะกอนของโปรตีน และชั้นล่างซึ่งปกติจะเป็นชั้นของสารละลายเกลือ สารที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีจะและมีขั้วมากจะอยู่ในชั้นล่างของระบบ เช่น พวกแซคคาร์ไรด์ โปรตีนจะจับตัวเป็นตะกอนแล้วแขวนลอยอยู่ในชั้นกลาง สำหรับสารที่แยกไปอยู่ในชั้นบน (บิวทานอล) ได้แก่พวก รงควัตถุ ไขมัน และตัวยับยั้งเอนไซม์ และรวมถึงสารโมเลกุลเล็กอื่น ๆ

มีรายงานการใช้ระบบสารละลายน้ำ 3 วัฏภาคสำหรับการสกัดแยกไขมันจากพืชน้ำมัน โดยพบว่าในร้อยละผลผลิตที่สูงถึงร้อยละ 98 ในตัวอย่างถั่วเหลืองร้อยละ 86 ในรำข้าว และร้อยละ 79 ในเนื้อเมล็ดมะม่วง (Gaur และคณะ 2007) ในขณะที่ Shah และคณะ (2004) พบว่าเมื่อใช้ระบบสารละลายน้ำ 3 วัฏภาคซึ่งประกอบกด้วยบิวทานอลต่อตัวอย่างในสัดส่วน 1 ต่อ 1 และเกลือแอมโมเนียมร้อยละ 30 ในการสกัดน้ำมันจากเมล็ดสบู่ดำจะให้ร้อยละของผลผลิตสูงถึงร้อยละ 97 เมื่อนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการสกัดแยกน้ำมันจากถั่วเหลืองพบว่าให้ร้อยละของผลผลิตสูงถึงร้อยละ 82 โดยใช้เวลาในการสกัดนาน 1 ชั่วโมง (Sharma และคณะ 2002)

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าว

โปรตีนนอกจากให้คุณค่าทางสารอาหารแล้ว โปรตีนยังมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (Functional Properties) ที่มีความสำคัญต่อคุณลักษณะของอาหาร เช่น สี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส ซึ่งจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน หมายถึงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่โปรตีนแสดงออกมาในอาหาร ระหว่างการเตรียม แปรรูป เก็บรักษาและบริโภคซึ่งจะมีผลต่อคุณภาพและการยอมรับของอาหาร โดยคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติความชอบน้ำ และความไม่ชอบน้ำของโปรตีน เนื่องจากโปรตีนมีคุณสมบัติเป็นแอมพิไฟล์ จึงมีส่วนที่ชอบน้ำ และส่วนที่ไม่ชอบน้ำทั้งสองส่วนสามารถเกิดปฏิกิริยากับส่วนประกอบต่าง ๆ ในอาหารทำให้เกิดคุณสมบัติเชิงหน้าที่ต่าง ๆ ได้ นอกจากนั้นคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น ขนาด รูปร่าง องค์ประกอบและลำดับการเรียงของกรดอะมิโน ประจุรวม การกระจายของประจุ โครงสร้าง ความยืดหยุ่นหรือความคงตัวของโมเลกุลต่อสภาพแวดล้อม หรือปฏิกิริยาร่วมกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในอาหาร (http://nqf.agro.ku.ac.th/UP/e-courseware/supranee/food-protein/32.html)

จากการศึกษาการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยวิธีการต่าง ๆ Wang และคณะ (1999) แสดงให้เห็นว่าโปรตีนรำข้าวมีสมบัติการเกิดโฟมที่เหมือนกับของไข่ขาว แต่มีสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟด์ที่ต่ำกว่า BSA ซึ่งบ่งบอกว่าโปรตีนรำข้าวสามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับการเกิดโฟมได้เป็นอย่างดี

ความสามารถในการละลายไนโตรเจนของโปรตีนรำข้าวจะสูงสุด (มากกว่าร้อยละ 75) ที่ pH 9.0 ถึง 10.5 และต่ำสุด (ร้อยละ 15) ที่ pH 4.5 ถึง 5.5 ที่จุดที่เหนือกว่า หรือต่ำกว่าจุดไอโซอิเลคทริคของโปรตีนรำข้าว (pH 4.5) พบว่าจะทำให้ความสามารถในการละลายไนโตรเจนเพิ่มขึ้น (Bera และ Mukhejee, 1989) นอกจากนี้จากงานศึกษาของ Tang และคณะ (2003) พบว่าความสามารถในการละลายของโปรตีน

รำข้าวที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งนั้นเท่ากับประมาณร้อยละ 60-65 ที่ pH 10-12 ซึ่งจะมีค่าที่มากกว่าโปรตีนรำข้าวที่ทำแห้งแบบพ่นฝอย

ความสามารถในการดูดน้ำของโปรตีนเป็นสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่ง จากการศึกษาของ Chandi และ Sogi (2007) พบว่าโปรตีนรำข้าวเข้มข้นนั้นมีค่าการดูดซึมความชื้นเท่ากับ 3.87-5.60 กรัมต่อกรัม ในขณะที่การศึกษาของ Khan และคณะ (2011) เกี่ยวกับสมบัติของโปรตีนจากรำข้าวทั้งที่ผ่านการทำให้คงตัว และไม่ทำให้คงตัว พบว่าโปรตีนจากรำข้าวที่ไม่ผ่านการทำให้คงตัวมีการดูดซึมน้ำสูงที่สุด คือ 3.8 มิลลิลิตรต่อกรัม แต่ไม่ได้แตกต่างกันทางนัยสำคัญ

รูปแบบของโปรตีนด้วยเจลอิเลคโตรโฟเรซิศ

จากการศึกษาของ Anderson และ Guraya (2001) พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนรำข้าวนั้นอยู่ในช่วง 6.00-97.4 กิโลดาลตัน การใช้ size-exclusion HPLC ในขณะที่ Hamada (2000) บ่งชี้ว่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนรำข้าวที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสอยู่ในช่วง 1-150 กิโลดาลตัน ดังนั้น โปรติเอสนั้นน่าจะมีประสิทธิภาพมากกว่าในทำลายรำข้าวสำหรับการสกัดโปรตีนมากกว่าการใช้เทคนิคการบดร่วมกับการทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน Zhang และคณะ (2012) ได้มีการศึกษาถึงน้ำหนักโมเลกุลของตัวอย่างที่ผ่านการทำให้คงตัว และไม่ผ่านการทำให้คงตัว พบว่าแบนด์โปรตีนของตัวอย่างทั้งสองนั้นแสดงถึงความแตกต่างบางตัวที่เด่นชัด แบนด์โปรตีนของรำข้าวที่ไม่ผ่านการทำให้คงตัวนั้นมีเยอะกว่า ในตัวอย่างโปรตีนรำข้าวที่ผ่านการทำให้คงตัวนั้นมีขนาดโมเลกุลใหญ่ที่สุดเท่ากับ 97.4 กิโลดาลตัน แบนด์โปรตีนความหนาแน่นสูงกว่าสองแบนด์ของโปรตีนรำข้าวที่ทำให้คงตัวถูกพบอยู่ในช่วง 31-66.2 กิโลดาลตัน

การประยุกต์ใช้โปรตีนรำข้าว

เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในกระบวนการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตร การเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเศษเหลือที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตหรือการผลิตแบบด้วยหลักการ Zero waste เป็นสิ่งที่ภาคอุตสาหกรรมพยายามนำมาประยุกต์ใช้ เช่นเดียวกันกับการแปรรูปข้าวที่มีเศษเหลือซึ่งเป็นรำข้าวอยู่ในปริมาณสูงถึงกว่าร้อยละ 10 ดังนั้นนักวิจัยจึงได้พยายามศึกษาค้นคว้าวิจัยเพื่อนำวัสดุเศษเหลือดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในรูปแบบต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2.9

จากการวิเคราะห์กรดอะมิโนแสดงให้เห็นว่าในโปรตีนรำข้าวมีกรดอะมิโนจำเป็นที่เหมือนกันกับกรดอะมิโนที่เด็กวัย 2-5 ขวบ ต้องการเช่นเดียวกับ เคซีน และโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น โปรตีนรำข้าวมีศักยภาพสูงในการที่จะใช้เป็นส่วนผสมของอาหารเสริม และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ด้วยความที่เป็นอาหารที่ทำให้เกิดอาการแพ้น้อยจึงเหมาะสมกับการนำไปใช้เป็นส่วนผสมของอาหารทารก และสำหรับเด็กที่แพ้อาหาร อีกทั้งยังมีศักยภาพของโปรตีนอัลบูมินข้าวที่เป็นตัวคีเลต Cu^{2+} (Mawal และคณะ 1987) ทำให้โปรตีนรำข้าวสามารถนำไปประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้านอนุมูลอิสระได้อีกด้วย และมีการรายงานว่าโปรตีนรำข้าวมีคุณสมบัติในการต้านมะเร็ง (Kawamura และ Muramoto, 1993) คล้ายกันกับพืชส่วนใหญ่ และระบบชีวภาพอื่น ๆ ปัจจัยต่อต้านการเปลี่ยนแปลงนั้นได้ถูกพัฒนาขึ้นในข้าว ซึ่งสามารถมีความเป็นไปได้ที่จะชะลอการเติบโตของเนื้องอกหรือเซลล์มะเร็ง (Fabian และ Ju, 2011) นอกจากนี้โปรตีนรำข้าวไฮโดรไลเซตยังถูกใช้เหมือนกับโปรตีน ไฮโดรไลเซตอื่น ๆ ซึ่งถูกใช้ในรูปของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ส่วนผสมของอาหารเสริม

และตัวชูรสในอาหาร ครีมเทียม เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เพื่อการดูแลตัวเองและลูกกวาด และในตัวเพิ่มสารอาหารในเครื่องดื่มและน้ำผลไม้ พวกมันยังถูกใช้ในซุป ซอส น้ำเกรวี่ ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ และสารเพิ่มรสชาติอาหารต่างๆ (Giese, 1994 และ Weir, 1986)

ตารางที่ 2.9 การใช้ประโยชน์จากรำข้าวในผลิตภัณฑ์ต่างๆ

ผลิตภัณฑ์จากรำข้าว	การประยุกต์ใช้รำข้าว	แหล่งอ้างอิง
น้ำมันรำข้าว	เป็นน้ำมันที่ใช้สำหรับบริโภคที่มีคุณภาพดีเนื่องจากมีคอเลสเตอรอลต่ำ	Friedman (2013) Rohman (2014) Kaewboonnum และคณะ (2008)
อาหารเสริม	สาร Gamma-oryzanol, Lecithin และวิตามินอี จากการรำข้าวมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริม	Shih (2003)
ส่วนผสมในอาหารเด็กอ่อนหรือทารก	ใช้รำข้าวแบบละเอียดมาผสมในอาหารเด็กอ่อนเพื่อช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ	Shih (2003)
เครื่องสำอางและครีมบำรุงผิว	น้ำมันรำข้าวมาเป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางและครีมบำรุงผิว หรือโลชั่นต่างๆ เนื่องจากในน้ำมันรำข้าวประกอบด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น Gamma-oryzanol และวิตามินอี ซึ่งช่วยบำรุงผิวพรรณ ให้ความชุ่มชื้น และชะลอความเหี่ยวย่นของผิวได้	Lerma-García และคณะ (2009) Friedman (2013)
ส่วนผสมในขนมปัง	ใช้รำข้าวแบบละเอียดเป็นส่วนผสม	Jiamyangyuen และคณะ (2005)
อาหารเช้าธัญพืช อาหารเสริมโปรตีน เครื่องดื่ม	ใช้รำข้าวแบบละเอียดเป็นส่วนผสม	Shih (2003)
เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เนื้อและไส้กรอก	ใช้รำข้าวแบบละเอียดเป็นส่วนผสม	Prakash (1996)
เครื่องดื่มรำข้าวอินทรีย์ (แต่งกลิ่น และรสชาติ)	ใช้รำข้าวแบบละเอียดในการผลิตเป็นน้ำรำข้าวอินทรีย์แต่งกลิ่นรส	Faccin และคณะ (2009)
ผลิตภัณฑ์นม และอื่นๆ เช่น โยเกิร์ตพร้อมดื่ม	ใช้สารสีที่อยู่ในรำข้าวสีดำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต	Nontasan และคณะ (2012) Gao และคณะ (2008) Li และคณะ (2012)

บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย

วัตถุดิบและสารเคมี

ตัวอย่างรำข้าวหอมมะลิอินทรีย์ 035 (Organic certified by ECOCERT SA F-32600) ที่ผ่านการทำให้คงตัวแล้วจากบริษัท ไบโอเอเชีย จำกัด โดยเก็บรักษาตัวอย่างรำข้าวอินทรีย์ที่ผ่านการทำให้คงตัวแล้วในถุงปิดด้วยระบบสุญญากาศสนิทที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาใช้ศึกษาวิจัย เอนไซม์ไฟเตส (P-1259) และเอนไซม์ไซลาเนส (X-2753) จากบริษัทเอสเอ็มเคมีคอลซัพพลายจำกัด สารเคมีเกรดวิเคราะห์จากตัวแทนจำหน่ายสารเคมีในประเทศไทย

การสกัดโปรตีนรำข้าว

1. การสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ (Ultrasonic assisted extraction)

ผสมรำข้าว 10 กรัม กับน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ คนเป็นเวลา 5 นาทีด้วย Megnetic stirrer แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำส่วนผสมไปผ่านการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ที่ร้อยละ 20 ของพลังงานที่ปล่อยออกมาจากเครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ (750 W) เป็นเวลา 5 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 20,000g เป็นเวลา 20 นาที นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อขูดเอาส่วนไขมันออก (Sirikul และคณะ, 2009) จากนั้นและเก็บเอาส่วนของเหลวไปทำแห้งโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตัวอย่างที่ได้บรรจุในถุงโพลิเอทิลีน และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ

2. การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (Subcritical water extraction)

ผสมรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว 3 กรัม กับน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร ใส่ส่วนผสมลงในขวดแก้วทรงแบน ปิดฝาหลวม ๆ นำขวดแก้วใส่ในเครื่องอบนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 นาที นำไปกรองเพื่อเอาสารละลายโปรตีนออกจากรำข้าว นำส่วนใสไปปั่นหมุนเหวี่ยงที่ 20,000g เป็นเวลา 20 นาที นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อขูดเอาส่วนไขมันออก (Sirikul และคณะ, 2009) จากนั้นนำสารละลายโปรตีนไปทำแห้งโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตัวอย่างที่ได้บรรจุในถุงโพลิเอทิลีน และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ (Hata และคณะ, 2008)

3. การสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์ (Colloid mill and homogenization extraction)

ผสมรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว 400 กรัม กับน้ำกลั่น 3600 มิลลิลิตร (10% น้ำหนักต่อปริมาตร) ทิ้งส่วนผสมไว้นาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องก่อนที่จะนำไปบดด้วยเครื่องบดคอลลอยด์ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้ไปปั่นหมุนเหวี่ยงที่ 20,000g เป็นเวลา 20 นาที นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อขูดเอาส่วนไขมันออก

(Sirikul และคณะ, 2009) จากนั้นนำสารละลายโปรตีนไปทำแห้งโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตัวอย่างที่ได้บรรจุในถุงโพลิเอทิลีน และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ (Anderson และ Guraya, 2001)

4. การสกัดโดยใช้เอนไซม์ (Enzymatic extraction)

ผสมรำข้าว (10 กรัม) กับน้ำปราศจากไอออน (75 มิลลิลิตร) ปรับ pH เป็น 5.0 เติมเอนไซม์ไฟเตส (4000 PU) และเอนไซม์ไซลาเนส (2400 GXU) บ่มส่วนผสมที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเพื่อให้เอนไซม์ทำงานก่อนจะทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยปรับ pH เป็น 10.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 18,000g เป็นเวลา 30 นาที นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อขูดเอาส่วนไขมันออก (Sirikul และคณะ, 2009) จากนั้นนำส่วนของสารละลายโปรตีนไปทำแห้งโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตัวอย่างที่ได้บรรจุในถุงโพลิเอทิลีน และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ (Wang และคณะ, 1990)

5. การสกัดด้วยการใช้สารละลายด่าง (Alkaline extraction)

ผสมรำข้าวกับน้ำกลั่นในสัดส่วนน้ำต่อรำข้าว 1: 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ก่อนที่จะปรับ pH ของส่วนผสมให้เป็น 9.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ หลังจากนั้นผสมด้วยเครื่องกวนแบบใบกวนที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที นำส่วนผสมไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000g เป็นเวลา 10 นาที นำสารสกัดโปรตีนที่ได้ไปตกตะกอนด้วยระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาค

6. การสกัดด้วยวิธีผสมผสาน (Combination technique)

ผสมรำข้าวกับน้ำกลั่นในสัดส่วนน้ำต่อรำข้าว 1: 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) นำส่วนผสมไปสกัดแยกโปรตีนด้วยการใช้ไมโครเวฟ (800 วัตต์ นาน 40 วินาที) ร่วมกับการโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็ว 1400 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำส่วนผสมไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000g เป็นเวลา 10 นาที นำสารสกัดโปรตีนที่ได้ไปตกตะกอนด้วยระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาค

สำหรับการสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับเครื่องบดคอลลอยด์ใช้สภาวะดังนี้คือ คลื่นความถี่ที่กำลัง 160 วัตต์ เป็นเวลา 5 นาทีก่อนที่จะนำไปบดด้วยเครื่องบดคอลลอยด์ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาทีนาน 30 นาที จากนั้นนำส่วนผสมไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000g เป็นเวลา 10 นาที นำสารสกัดโปรตีนที่ได้ไปตกตะกอนด้วยระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาค

การตกตะกอนโปรตีนที่สกัดได้ด้วยระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาค

ตกตะกอนโปรตีนจากสารสกัดรำข้าวอินทรีย์ด้วยระบบสารละลายน้ำ 3 วัฏภาคตามวิธีการของ Gaur และคณะ (2007) นำสารสกัดโปรตีนที่ได้จากวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ ก่อนหน้ามาเติมแอมโมเนียมซัลเฟต ลงไปในสัดส่วนร้อยละ 30 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติมสารละลายบิวทานอลลงไป 30 มิลลิลิตร (สัดส่วนบิวทานอลต่อตัวอย่าง 1: 1) หลักจากนั้นปล่อยระบบให้เกิดการตกตะกอนแยกชั้นด้วย

วิธีการเขย่าเบา ๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ก่อนที่จะนำสารผสมดังกล่าวไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2000g เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้นอย่างสมบูรณ์ แยกชั้นบนซึ่งเป็นชั้นของบิวทานอลออกด้วยพาสเจอร์ปิเปต จากนั้นแยกชั้นล่างซึ่งเป็นชั้นสารละลายเกลือเข้มข้นด้วยวิธีการเดียวกัน ก่อนจะเหลือตะกอนโปรตีนอยู่ในหลอดเซนตริฟิวส์ซึ่งเป็นชั้นกลางของระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาค นำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งก่อนจะนำไปทดสอบสมบัติด้านต่าง ๆ ต่อไป

การคำนวณร้อยละผลผลิตและร้อยละการกลับคืน

คำนวนร้อยละการกลับคืนของโปรตีนเข้มข้นที่สกัดได้ตามวิธีการของ Gu และ Glatz (2007) โดยใช้ร้อยละของปริมาณโปรตีน (คิดจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด) ที่คำนวณได้จากวัตถุดิบเริ่มต้น ต่อร้อยละของปริมาณโปรตีนในตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวที่สกัดได้

$$\text{ร้อยละการกลับคืน (\%)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างที่สกัดได้} \times 100}{\text{ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้น}}$$

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. ความชื้น AOAC (1995)

อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง คำนวณค่าความชื้นจากส่วนต่างของน้ำหนักก่อนและหลังการอบด้วยสูตร

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(a-b) \times 100}{c}$$

โดย a = น้ำหนักตัวอย่างก่อนการอบกับน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม (กรัม)
b = น้ำหนักตัวอย่างหลังการอบกับน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม (กรัม)
c = น้ำหนักตัวอย่างก่อนการอบ (กรัม)

2. เถ้า AOAC (1995)

นำตัวอย่างไปเผาเพื่อไล่ควันออกจนหมด จากนั้นนำเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง คำนวณค่าเถ้าจากส่วนต่างของน้ำหนักก่อนและหลังการเผาด้วยสูตร

$$\text{เถ้า (\%)} = \frac{(W_3-W_2) \times 100}{W_1}$$

โดย W_1 = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)
W_2 = น้ำหนักครูซิเบิล (กรัม)
W_3 = น้ำหนักครูซิเบิลมีเถ้าหลังการเผา (กรัม)

3. โปรตีน (Kjeldahl method) AOAC (2000)

ทำการย่อยตัวอย่างด้วยเตาให้ความร้อนที่ 420 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาทีหลังจากนั้นนำไปเข้าเครื่องกลั่น เมื่อการกลั่นเสร็จสมบูรณ์จึงทำการไตเตรตเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่าง ก่อนที่จะนำค่าดังกล่าวมาใช้ในการคำนวณปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง โดย

ปริมาณโปรตีน (%) = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด x 5.95

4. ไขมัน (Soxhlet extractor)

สกัดไขมันจากตัวอย่างด้วยเครื่อง Soxhlet extractor ตามวิธีการ AOAC (2000) เมื่อเสร็จสิ้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง รอจนกระทั่งตัวอย่างเย็นลง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณไขมันด้วยสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{(W_3 - W_2) \times 100}{W_1}$$

โดย W_1 = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)
W_2 = น้ำหนักถ้วย (กรัม)
W_3 = น้ำหนักตัวอย่างเปียก (กรัม)

5. ใยอาหาร (Crude fiber analyzer) AOAC (2000)

วิเคราะห์ใยอาหารด้วยเครื่อง Crude fiber analyzer โดยนำตัวอย่าง (W1) ใส่เข้าเครื่อง หลังจากนั้นทำการสกัดด้วยกรด และด่าง ตามลำดับ นำตัวอย่างไปสกัดแบบเย็น และนำไปอบเพื่อระเหยสารที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง รอให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก (W2) เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง รอให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก (W3) และคำนวณปริมาณใยอาหารด้วยสูตร

$$\text{ปริมาณใยอาหาร (\%)} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_1}$$

โดย W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)
W_2 = น้ำหนักครูซิเบิลหลังอบ (กรัม)
W_3 = น้ำหนักครูซิเบิลมีเถ้าหลังการเผา (กรัม)

6. คาร์โบไฮเดรต (คำนวณโดยความต่าง)

รายงานปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในตัวอย่างโดยคำนวณผลด้วยสมการ

คาร์โบไฮเดรต (%) = 100 –ความชื้น (%) –เถ้า (%)-ไขมัน (%)-โปรตีน (%)

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

1. เจลอิเลคโตรโฟเรซิศ

แยกโปรตีนในตัวอย่างแต่ละปัจจัยศึกษาด้วย SDS-PAGE โดยใช้ 12% separating gel กับ 4% stacking gel ภายใต้สภาวะ reducing และ non-reducing สำหรับสภาวะ non-reducing ทำโดยผสมตัวอย่างโปรตีนปริมาณ 3 ไมโครกรัมกับ non-reducing buffer 0.5 มิลลิลิตร (ซึ่งประกอบด้วยน้ำปราศจากไอออน 50.5 มิลลิลิตร, Tris-HCl 0.5 M 12.6 มิลลิลิตร (pH 6.8), กลีเซอรอล 10.5 มิลลิลิตร, sodium dodecyl sulfate (SDS) เข้มข้นร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณ 21.1 มิลลิลิตร, และ Bromophenol blue ร้อยละ 1 น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณ 5.3 มิลลิลิตร สำหรับสภาวะ reducing นำตัวอย่างโปรตีน (3 ไมโครกรัม) ผสมกับ non-reducing buffer (0.475 มิลลิลิตร) และ 2-mercaptoethanol (0.025 มิลลิลิตร) หลังจากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำสารละลายโปรตีน reducing และ non-reducing (15 ไมโครลิตร) โหลดลงในช่องของเจล ในสภาวะที่มี electrode buffer (pH 8.3) ซึ่งประกอบไปด้วย ร้อยละ 0.3 น้ำหนักต่อปริมาตรของ Tris-Base ร้อยละ 1.44 น้ำหนักต่อปริมาตรของไกลซีน และร้อยละ 0.1 น้ำหนักต่อปริมาตรของ 0.1 SDS ใช้เวลา 41 นาทีในการแยกตัวอย่าง หลังจากผ่านการแยกด้วยเจลอิเลคโตรโฟเรซิศสิ้นสุด นำแผ่นเจลย้อมสีด้วยสาร Coomassie Brilliant Blue R-250 (Tang และคณะ, 2003)

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่ได้โดยใช้สารละลาย Folin-Ciocalteu ตามวิธีการของ Singleton และคณะ (1999) โดยผสมสาร Folin-Ciocalteu (200 ไมโครลิตร) กับสารละลายตัวอย่างแต่ละปัจจัยศึกษา (400 ไมโครลิตร สัดส่วนระหว่างน้ำกับตัวอย่างโปรตีน 10: 1) ปล่อยสารผสมให้ทำปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเติมด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (400 ไมโครลิตร) ก่อนที่จะเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้มาคำนวณและรายงานผลในรูปของค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรูปของกรดแกลลิก

3. ความสามารถในการจับอนุมูล DPPH

วัดความสามารถในการจับอนุมูลอิสระของโปรตีนเข้มข้นที่สกัดได้ตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) โดยมีการดัดแปลงให้เหมาะสม ละลายตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นที่ได้ด้วยสารละลายเมทานอล (สัดส่วน 1:10) จากนั้นดึงตัวอย่างออกมา 0.5 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับ 0.5 มิลลิโมลาร์ ของสารละลาย DPPH ซึ่งละลายอยู่ในเมทานอล บ่มตัวอย่างสารผสมไว้ในห้องมืดเป็นเวลา 30 นาที ก่อนที่จะนำมาวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร พร้อมคำนวณและรายงานโดย

$$\text{ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ (\%)} = \frac{[Abs_{control} - Abs_{sample}]}{Abs_{control}} \times 100$$

4. ความสามารถในการรีดิวซ์ FRAP

วัดความสามารถของโปรตีนเข้มข้นที่สกัดได้ในการรีดิวซ์ FRAP ตามวิธีการของ Benzie และ Strain (1996) โดยมีการดัดแปลงตามความเหมาะสม นำสารละลายของตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้น (300 ไมโครลิตร) ผสมกับสารละลาย FRAP (2700 ไมโครลิตร โดยมีส่วนผสมของโซเดียมอะซีเตท TPTZ และ FeCl ในสัดส่วน 10:10:1) จากนั้นนำสารผสมไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 4 นาที ก่อนจะนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร คำนวณจากกราฟมาตรฐานและรายงานผลในรูปของ Iron (II) sulfate

5. ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation

วัดความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของโปรตีนเข้มข้นที่สกัดได้ตามวิธีการของ Chanput และคณะ (2009) โดยชั่งตัวอย่างโปรตีนรำข้าว 12.5 มิลลิกรัมใส่ในหลอดทดลองแต่ละหลอด จากนั้นเติมด้วยระบบการเกิดออกซิเดชันซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมของ กรดลิโนเลอิก (32.5 ไมโครลิตร) สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 99.5 ปริมาณ 2.5 มิลลิลิตร และ 2.5 มิลลิลิตรของฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ปรับปริมาตรของระบบให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนจะดึงตัวอย่างมา 100 ไมโครลิตรเพื่อนำมาผสมกับสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 75 จำนวน 4.7 มิลลิลิตร และสารละลายแอมโมเนียมไธโอไซยาเนตเข้มข้นร้อยละ 30 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และสารละลายเฟอรัสคอลไรด์เข้มข้น 0.02 โมลาร์ใน 0.4 นอร์มอลกรดไฮโดรคลอริกอย่างละ 100 ไมโครลิตร หลังจากปล่อยให้เกิดปฏิกิริยานาน 3 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร คำนวณค่าการยับยั้ง Lipid peroxidation ตามสูตร

$$\text{Inhibition (\%)} = = \frac{[Abs_{control} - Abs_{sample}]}{Abs_{control}} \times 100$$

6. องค์ประกอบของกรดอะมิโน (amino acid composition)

วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนรำข้าวสกัดเข้มข้นโดยวิธีของ AOAC 982.30 (2000) โดยใส่ตัวอย่าง 100 มิลลิกรัม และ 6M HCl 5 มิลลิลิตร ลงในขวดจุกปิดขนาด 50 มิลลิลิตร และปิดให้สนิท เอาอากาศออกโดยเก็บตัวอย่างในห้องที่เป็นสุญญากาศ นำตัวอย่างที่ปิดสนิทไปอบแห้งเพื่อทำการย่อยที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม 2 mM norleucine internal standard 5 มิลลิลิตร นำสารละลายไปกรองผ่าน 0.2μL Gelman membrane filter ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรอง 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวด borosilicate glass serum ขนาด 50 มิลลิลิตร และทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง นำตัวอย่างที่ได้เติมด้วย 1 มิลลิลิตร sodium diluents buffer (pH 2.2) และถ่ายไปยัง 1.5 mL micro-centrifuge tube สำหรับการวิเคราะห์ด้วย HPLC ฉีดตัวอย่างที่เตรียมไว้ที่ขนาด 2.5 ไมโครลิตรและวิเคราะห์ด้วย HPLC ที่อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ Pickering sodium ion-exchange column และ sodium eluent (pH 3.15 และ 7.40) เติมสาร ninhydrin ด้วยระบบ post-column หลังจากนั้นวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงด้วย UV-Visible detector ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร และนำไปเปรียบเทียบกับผลของกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโน (Tang และคณะ, 2003)

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

1. วิเคราะห์สีด้วยเครื่อง Hand colorimeter

โดยวัดค่า L* a* และ b* ของตัวอย่างโปรตีนรำข้าวสกัดเข้มข้นด้วยเครื่อง ColorQuestXE และคำนวณความแตกต่างของค่าสี (ΔE) เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

2. การวัดความหนาแน่น

ชั่งตัวอย่างผงโปรตีนรำข้าวสกัดเข้มข้น 3 กรัม ใส่ในกระบอกตวง 25 มิลลิลิตร เคาะกระบอกตวงกับแผ่นยาง จนค่าที่อ่านได้คงที่ (Prakash และ Ramanatham, 1995) คำนวณและรายงานผลในรูปของมวลต่อปริมาตร

การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่

1. ความสามารถในการละลาย

ผสมตัวอย่าง 1.0 กรัม กับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 9.5 และ 11.0 กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 30 นาที นำส่วนผสมไปปั่นหมุนเหวี่ยงที่ 5,000g ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นกรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 4 นำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วย Kjeldahl method (AOAC, 2000)

2. ความสามารถในการดูดซึมน้ำ

ผสมตัวอย่าง 0.5 กรัมกับน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร นำส่วนผสมไปปั่นหมุนเหวี่ยงที่ 750g เป็นเวลา 15 นาที นำไปสะเด็ดน้ำเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ได้ และรายงานค่าความสามารถในการดูดซึมน้ำในรูปของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (Chandi และ Sogi, 2007)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลองแต่ละปัจจัยศึกษาจำนวน 3 ซ้ำ นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncans Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

บทที่ 4 ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพของวิธีการสกัดแยกโปรตีนแบบต่าง ๆ จากรำข้าวอินทรีย์

จากการใช้วิธีในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ด้วยกรรมวิธีแบบเกษตรอินทรีย์ กล่าวคือไม่มีการใช้สารเคมีใด ๆ ในระหว่างกระบวนการสกัดโปรตีนจากรำข้าว หรือให้ใช้สารเคมีได้แต่มีรายการอยู่ในประกาศเอกสารแนบท้ายมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ โดยวิธีการที่เลือกใช้ในงานวิจัยดังกล่าวประกอบไปด้วย การสกัดด้วยการใช้คลื่นความถี่ (sonication) การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ (subcritical water) การใช้กระบวนการทางกล (colloid mill and homogenization) และการใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัด (enzymatic) ซึ่งเมื่อผ่านกระบวนการสกัดดังกล่าวแล้ว นำสารสกัดโปรตีนที่ได้ไปแยกตะกอนด้วยการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์ ก่อนที่จะนำส่วนใสที่ได้ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและนำมาวิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ โดยเมื่อคำนวณร้อยละผลผลิตของโปรตีนเข้มข้นแต่ละวิธีที่ได้หลังการทำแห้งแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ร้อยละผลผลิตของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์เข้มข้นที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ

วิธีการสกัด	ร้อยละผลผลิต (คิดเทียบจากน้ำหนักสารสกัด)
คลื่นความถี่ (SN)	14.86 ± 0.61^{d}
น้ำกึ่งวิกฤติ (CW)	26.13 ± 0.43^{b}
เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์ (CMH)	20.09 ± 0.19^{c}
เอนไซม์ (ENZ)	31.87 ± 0.83^{a}

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้วิธีการสกัดต่าง ๆ ข้างต้นร้อยละของผลผลิตโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวมีค่าต่ำมาก โดยมีค่าสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยสกัด (ร้อยละ 31.87) และร้อยละการผลิตต่ำสุดเมื่อสกัดด้วยการใช้คลื่นความถี่ช่วย (ร้อยละ 14.86) ซึ่งหากมองในเชิงประสิทธิภาพของการสกัดแล้วยังไม่เพียงพอต่อการนำไปประยุกต์ใช้จริงในภาคอุตสาหกรรม ซึ่งการที่ผลการทดลองแสดงออกมาในรูปแบบดังกล่าว อาจเป็นไปได้ว่าทำไมปัจจัยการสกัดด้วยการใช้สารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ยังเป็นที่แพร่หลายอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากให้ร้อยละของผลผลิตที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีแบบไม่มีการใช้สารเคมีเข้าไปทำหน้าที่ช่วยให้เกิดการสกัดโปรตีนออกมาจากองค์ประกอบหลักอื่น ๆ ที่ยังเหลืออยู่ในรำข้าว สารละลายด่างที่ใช้ในการสกัดโดยทั่วไปใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายพันธะต่าง ๆ ที่จับยึดกันระหว่างองค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ในรำข้าว โดยเฉพาะพันธะที่ยึดจับระหว่างโปรตีนกับองค์ประกอบในกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตและไขมันเป็นต้น ในขณะที่การใช้เอนไซม์จะมีความจำเพาะสูงในการทำลายเฉพาะพันธะที่สำคัญขององค์ประกอบในรำข้าวที่จับยึดกัน เช่น glycosidic linkages หรือ peptide bonds ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ที่ใส่ลงไปเพื่อช่วยในการสกัด ในขณะที่การใช้เพียงแรงทางกล หรือการใช้ความร้อนเพียงอย่างเดียวในการสกัด ไม่สามารถให้ร้อยละผลผลิตสูงเท่ากับการใช้เอนไซม์หรือการใช้วิธีในการสกัดโปรตีนแบบดั้งเดิมได้ อย่างไรก็ตามการลดขนาดของตัวอย่างรำข้าวให้เล็กลงด้วยกระบวนการทำ colloid ร่วมกับการ

homogenize ก็สามารถช่วยในการสกัดโปรตีนได้ในระดับหนึ่ง เนื่องจากวิธีการดังกล่าวสามารถเปิดโอกาสให้อนุภาคของตัวอย่างสามารถสัมผัสกับตัวทำละลายหรือสารตัวกลางที่ใช้ในการสกัดได้ง่ายยิ่งขึ้น แต่อย่างไรก็ตามหากโปรตีนในรำข้าวซึ่งเป็นองค์ประกอบที่เราต้องการสกัดออกมานั้นจับยึดอยู่กับองค์ประกอบอื่น ๆ ด้วยพันธะทางเคมีที่แข็งแรง การใช้แรงทางกลก็ไม่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้

จากผลการทดลองดังกล่าวทำให้นักวิจัยพยายามหาวิธีที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดให้ได้สูงที่สุด จึงได้ศึกษาเพิ่มเติมถึงการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่มาใช้โดยใช้ร่วมกับวิธีการอย่างอื่นมากกว่าวิธีการเดี่ยว ๆ ในการสกัดโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวเปรียบเทียบกับวิธีการดั้งเดิมคือการใช้สารละลายด่าง โดยเรียกวิธีการเหล่านี้ว่าวิธีการแบบผสมผสาน ซึ่งประกอบไปด้วย การใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยสกัดร่วมกับการโฮโมจีไนซ์ตัวอย่าง และการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ตัวอย่าง โดยประสิทธิภาพของวิธีการสกัดให้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพของการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ด้วยวิธีผสมผสาน

ปัจจัยติดตาม	วิธีการสกัด		
(ร้อยละ)	AKE	MAE-H	UAE-C
ผลผลิต	20.92 ± 0.62^{a}	11.68 ± 2.59^{b}	5.38 ± 2.30^{c}

AKE: สารละลายด่าง MAE-H: ไมโครเวฟ-โฮโมจิไนซ์ UAE-C: คลื่นความถี่-ทำคอลลอยด์
ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

อย่างไรก็ตามเนื่องด้วยผลการทดลองในตารางที่ 4.2 มีวิธีการคิดที่แตกต่างจากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 โดยในตารางที่ 4.2 นี้ร้อยละต่าง ๆ คิดเทียบกลับไปถึงรำข้าวเริ่มต้น ไม่ใช่คิดเทียบจากสารสกัดที่รายงานผลอย่างในตารางที่ 4.1 ทำให้ไม่สามารถเทียบกับผลการทดลองก่อนหน้าได้ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองในตารางดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการใช้สารละลายด่างในการสกัดนั้นจะให้ร้อยละของผลผลิตสูงที่สุด และการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ให้ค่าร้อยละของผลผลิตและโปรตีนต่ำสุด เมื่อพิจารณาจากร้อยละของโปรตีนที่สกัดได้พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจีไนซ์นั้นให้ค่าร้อยละของโปรตีนในปริมาณที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ร้อยละของผลผลิตแตกต่างกันทางสถิติ จากผลดังกล่าวจึงทำให้ความบริสุทธิ์ของโปรตีนที่ได้จากวิธีการดังกล่าวมีค่าสูงที่สุดคือ 7.36 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวเริ่มต้น รวมถึงร้อยละของสารสกัดหยาบที่ได้และร้อยละของโปรตีนด้วย การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟได้รับความสนใจจากนักวิจัยจำนวนมากในการประยุกต์ใช้เทคนิคดังกล่าวในการสกัดสารสำคัญต่าง ๆ จากแหล่งวัตถุดิบต่างชนิด เช่นเดียวกันกับการใช้คลื่นความถี่ อย่างไรก็ตามพบว่ายังมีรายงานไม่มากนักในการนำมาผสมผสานกับวิธีการสกัดวิธีอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด

เมื่อพิจารณาจากตัวเลขร้อยละของโปรตีนที่ได้จากการคำนวณหมายความว่าสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 100 กรัมจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณ 35-76 กรัม (ขึ้นอยู่กับวิธีการสกัด) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวเริ่มต้นจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 8-10 เท่านั้น จึงอาจกล่าวได้ว่าการสกัดโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ด้วยวิธีการผสมผสาน (โดยไม่มีการใช้สารเคมี) ดังกล่าวให้ผลในด้านประสิทธิภาพอยู่ในระดับที่น่าพอใจ อย่างไรก็ตามสมบัติด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะทางด้านเคมีและ

องค์ประกอบทางเคมีเป็นอีกตัวชี้วัดที่จะใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกใช้วิธีการสกัดให้เหมาะสมและสามารถบอกได้ว่าเป็นวิธีการแบบเกษตรอินทรีย์จริง ๆ

องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น

องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวอินทรีย์เริ่มต้นแสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 โดยจะพบว่าค่าโปรตีนในตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้นจะมีค่าต่าง ๆ ดังนี้คือ ความชื้นร้อยละ 4-6 เถ้าร้อยละ 9-13 ไขมันร้อยละ 21-22 โปรตีนร้อยละ 12-13 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 48-50 และไฟเบอร์ร้อยละ 8-9 ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีในเบื้องต้นของตัวอย่างทั้งสองชุดทดลองไม่มีความแตกต่างกัน จากองค์ประกอบต่าง ๆ คาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักที่มีอยู่ในรำข้าว รองลงมาคือไขมัน เนื่องจากรำข้าวที่นำมาใช้ในการทดลองนี้เป็นรำข้าวที่ผ่านการทำให้คงตัวแต่ยังไม่ได้มีการสกัดน้ำมันออก และองค์ประกอบที่สำคัญในลำดับต่อมาคือโปรตีน ซึ่งพบว่ามีปริมาณเป็นไปตามที่งานวิจัยต่าง ๆ ก่อนหน้ากล่าวไว้ คือร้อยละ 8-12

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวและโปรตีนสกัดเข้มข้น

ตัวอย่าง	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)				
	ความชื้น	เถ้า	ไขมัน	โปรตีน	ไฟเบอร์
RB	5.93±0.04^{a}	13.33±0.16^{a}	22.01±0.01^{a}	12.84±0.03^{d}	8.57±0.09^{a}
RBP-SN	1.67±0.03^{b}	4.03±0.12^{d}	3.18±0.02^{e}	15.88±0.89^{b}	0.73±0.04^{d}
RBP-CW	1.15±0.03^{d}	5.55±0.03^{b}	7.38±0.09^{c}	10.02±0.37^{e}	1.57±0.11^{c}
RBP-CMH	1.16±0.04^{d}	5.49±0.07^{b}	12.80±0.12^{b}	14.46±0.31^{c}	0.71±0.07^{d}
RBP-ENZ	1.28±0.02^{c}	4.78±0.04^{c}	6.57±0.01^{d}	19.53±0.35^{a}	3.89±0.19^{b}

RB: rice bran, RBP: rice bran protein

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

อย่างไรก็ตามด้วยวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ พบว่าตัวอย่างโปรตีนสกัดที่ได้นั้นมีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยจากวัตถุดิบเริ่มต้น ตัวอย่างเช่น การสกัดด้วยการใช้เอนไซม์เป็นตัวช่วยพบว่าให้ร้อยละของโปรตีนอยู่ที่ 19.53 ซึ่งมีค่าสูงสุดในขณะที่ค่าโปรตีนต่ำสุดที่สกัดได้มาจากวิธีการสกัดแบบใช้น้ำกึ่งวิกฤติอยู่ที่ร้อยละ 10.02 นั่นหมายความว่าตัวอย่างที่สกัดมาได้ในรูปของเหลวก่อนนำไปตกตะกอนเพื่อเก็บเกี่ยวโปรตีนนั้นไม่สามารถสกัดโปรตีนออกมาได้หรือสกัดออกมาได้น้อยมาก ดังนั้นเมื่อเรานำตัวอย่างสารสกัดส่วนใสหลังการปั่นเหวี่ยงไปทำแห้ง ผงที่ได้หลังการทำแห้งองค์ประกอบหลักในนั้นยังคงเป็นคาร์โบไฮเดรตเช่นเดิม แต่อาจจะมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวเริ่มต้นได้แก่ ความชื้น (จากร้อยละ 5 เหลือร้อยละ 1) เถ้า (จากร้อยละ 13 เหลือร้อยละ 4-5) ไขมัน (จากร้อยละ 22 เหลือร้อยละ 3-12) และไฟเบอร์ (จากร้อยละ 8 เหลือร้อยละ 0.8-4) จากค่าดังกล่าวเหล่านี้โปรตีนสกัดเข้มข้นที่ไม่ผ่านการตกตะกอนแยกเอาเฉพาะโปรตีนออกมาด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยหลักการจุดไอโซอิเล็คทริกทำให้ไม่สามารถแยกโปรตีนออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่สามารถลดองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ในรำข้าวให้มีปริมาณที่น้อยลงอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวและโปรตีนสกัดเข้มข้นด้วยวิธีแบบผสมผสาน

องค์ประกอบ (ร้อยละ)	รำข้าว	โปรตีนสกัดเข้มข้น		
		AKE	MAE-H	UAE-C
ไฟเบอร์	8.14±0.13[a]	0.95±0.95[d]	1.12±0.01[c]	1.56±0.03[b]
ไขมัน	21.48±0.10[a]	2.89±0.12[b]	2.68±0.11[c]	2.49±0.08[c]
โปรตีน	12.75±0.02[d]	93.12±0.29[b]	93.86±0.07[a]	44.88±0.15[c]
ความชื้น	4.21±0.03[a]	1.76±0.03[b]	1.33±0.03[d]	1.66±0.04[c]
เถ้า	9.18±0.10[a]	1.23±0.01[c]	0.98±0.01[d]	5.37±0.03[b]
คาร์โบไฮเดรต	48.44±0.07[a]	1.81±0.20[c]	1.35±0.07[d]	45.69±0.14[b]

ตัวเลขในตารางคือค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เพื่อแก้ปัญหาการเก็บเกี่ยวโปรตีนที่สกัดออกมาได้มีประสิทธิภาพต่ำทำให้มีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งเรื่องวิธีการในการสกัดรวมถึงวิธีการในการเก็บเกี่ยวโปรตีนโดยใช้การตกตะกอนโปรตีนด้วยเทคนิคสารละลายน้ำสามวัฏภาคซึ่งให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.4 สิ่งที่แตกต่างและเห็นได้ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในตารางที่ 4.3 คือปริมาณโปรตีนที่มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 45 ถึงร้อยละ 94 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการในการสกัด นอกจากนั้นพบว่าองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ของรำข้าวนั้นเมื่อสกัดโปรตีนและวิเคราะห์องค์ประกอบแล้วมีการปนเปื้อนขององค์ประกอบต่าง ๆ ในปริมาณน้อยมาก ทั้งไฟเบอร์ ไขมัน ความชื้น เถ้า และคาร์โบไฮเดรต จึงกล่าวได้ว่าวิธีการสกัดโปรตีนแบบผสมผสาน ร่วมกับการตกตะกอนโปรตีนที่สกัดออกมาได้ด้วยเทคนิคสารละลายน้ำสามวัฏภาคมีประสิทธิภาพสูง และสามารถผลิตโปรตีนรำข้าวให้เป็นโปรตีนสกัดเข้มข้นได้ เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักสูงถึงกว่าร้อยละ 90 อย่างไรก็ตามพบว่าวิธีแบบผสมผสานระหว่างการใช้ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุดและสูงกว่าวิธีการสกัดแบบวิธีดั้งเดิม ในทางกลับกันการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ตัวอย่างไม่สามารถทำให้ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างที่สกัดได้เข้าเกณฑ์การพิจารณาเป็นโปรตีนสกัดเข้มข้นได้ นอกจากนั้นองค์ประกอบในตัวอย่างดังกล่าวนี้ที่มีปริมาณสูงเทียบเท่ากับโปรตีนคือคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 46) จึงอาจกล่าวได้ว่ารำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยเทคนิคดังกล่าวยังมีการปนเปื้อนของแป้งอยู่ในปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดอื่น ๆ แต่สามารถลดปริมาณของไฟเบอร์ เถ้า ไขมัน ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากผลการทดลององค์ประกอบทางเคมี

ดังนั้นสามารถกล่าวได้ว่าการใช้ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากให้ร้อยละผลผลิตที่สูงสุดและไม่แตกต่างกับวิธีดั้งเดิมนอกจากนั้นยังสามารถสกัดให้ได้โปรตีนได้ออกมาสูงกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมอีกด้วย

สมบัติทางเคมีของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น

ความเป็นกรด-ด่าง และค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในตัวอย่างโปรตีนรำข้าวที่ได้จากสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4.5 โดยพบว่าทั้งสองสมบัตินั้นให้ค่าที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) โดยค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงของ 7.03-7.06 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของโปรตีนรำข้าวอยู่ในช่วงของ 1.08-1.13 ซึ่งสามารถสังเกตได้ว่าการใช้กระบวนการดังกล่าวในการสกัดไม่กระทบต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างโปรตีนที่สกัดได้เนื่องจากยังมีค่าความเป็นกลางของตัวอย่างหลังจากการนำผงโปรตีนที่ทำแห้งแล้วมาละลายและตรวจวัด จากการศึกษาของ Kim และ Han (2012) ได้รายงานว่า pH ของรำข้าวหมักจะมีค่าประมาณ 6.4-6.6 ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการหมักรำข้าวนั่นเอง สำหรับความหนาแน่นจำเพาะของโปรตีนรำข้าวมีค่าประมาณ 0.7 กรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้วิธีการทำแห้งและการบดตัวอย่างส่งผลต่อค่าดังกล่าว

ตารางที่ 4.5 ความเป็นกรด-ด่างและค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

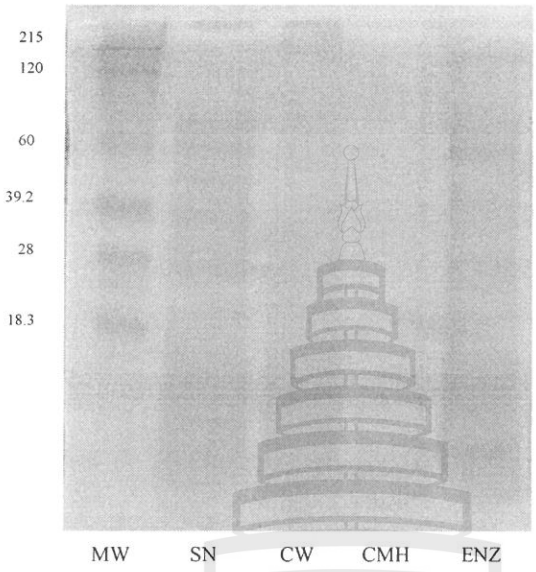
ตัวอย่าง	pH	TSS (^{O}B)
RBP-SN	7.04 ± 0.02^{a}	1.13 ± 0.12^{a}
RBP-CW	7.05 ± 0.05^{a}	1.08 ± 0.14^{a}
RBP-CMH	7.06 ± 0.03^{a}	1.08 ± 0.14^{a}
RBP-ENZ	7.03 ± 0.02^{a}	1.10 ± 0.17^{a}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่คอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

RBP: rice bran protein, SN: sonication, CW: supercritical water, CMH: colloid milled-Homogenization, ENZ: phytase-xylanase enzymes

เมื่อนำตัวอย่างโปรตีนสกัดรำข้าวเข้มข้นที่ได้มาทำการแยกเพื่อศึกษาถึงองค์ประกอบและชนิดของโปรตีนโดยใช้เทคนิคเจลอิเล็คโตรโฟเรซิสแสดงผลดังรูปที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 จำนวนโปรตีนและความเข้มของแถบโปรตีนแสดงถึงประสิทธิภาพของวิธีการสกัดแต่ละวิธี จากผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วยวิธีสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่และการสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์ทำให้เกิดการปลดปล่อยโปรตีนออกมาในปริมาณมากที่สุดและน้อยที่สุดตามลำดับ ในขณะที่การใช้เอนไซม์ช่วยสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ให้ปริมาณและชนิดโปรตีนดีกว่าการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต น้ำหนักโมเลกุลขององค์ประกอบโปรตีนในรำข้าวสกัดเข้มข้นมีค่าอยู่ระหว่าง 60-6.5 กิโลดาลตัน โดยพบว่าชนิดของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในตัวอย่างสกัดแต่ละชนิดนั้นมีรูปแบบที่แตกต่างกันเช่น ชนิดและองค์ประกอบของโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นความถี่จะให้โปรตีนออกมาได้หลากหลายชนิดและส่วนใหญ่จะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 6.5 กิโลดาลตัน ในขณะที่การใช้วิธีการทางกลไม่สามารถปลดปล่อยโปรตีนออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี การสกัดโปรตีนโดยการใช้เอนไซม์ช่วยให้องค์ประกอบของโปรตีนออกมาหลากหลายทั้งน้ำหนักโมเลกุลสูงและน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนจากรูปแบบของโปรตีนในรูปที่ 4.1 นอกจากนั้นการใช้วิธีการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติจะให้โปรตีนองค์ประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และจะไม่สามารถปลดปล่อยโมเลกุลขนาด

ใหญ่ออกมาจากรำข้าวได้ หรืออีกคำอธิบายหนึ่งก็คือการใช้ความร้อนในสภาวะดังกล่าวทำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนและถูกย่อยสลายจากโปรตีนโมเลกุลใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง จึงสังเกตเห็นได้เฉพาะโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 6.5 กิโลดาลตัน

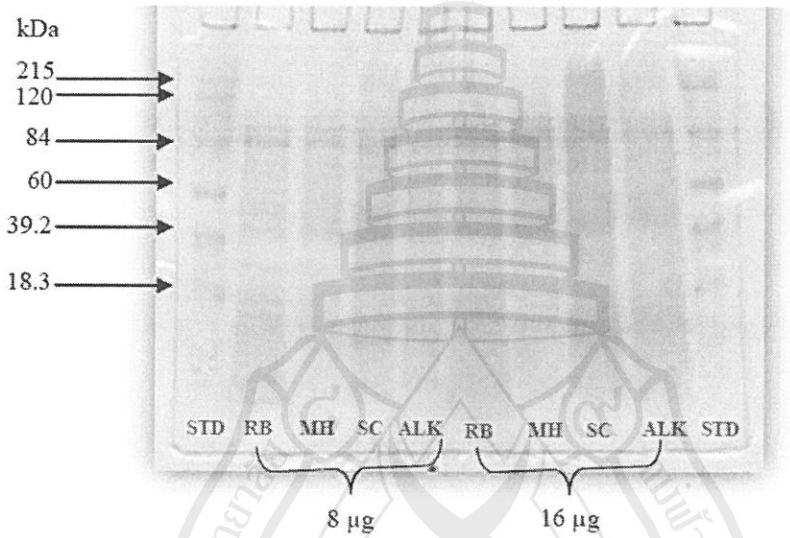


รูปที่ 4.1 รูปแบบของโปรตีนรำข้าวที่สกัดแยกด้วยวิธีการต่าง ๆ

สำหรับรูปแบบของโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีแบบผสมผสานแสดงผลดังรูปที่ 4.2 โดยใช้ปริมาณโปรตีนเพื่อโหลดเจลในสองระดับคือ 8 และ 16 ไมโครกรัมและเตรียมเจลเปรียบเทียบกับชนิดของโปรตีนที่พบในรำข้าวอินทรีย์เริ่มต้น จากผลการทดลองพบว่าในรำข้าวเริ่มต้น (RB) มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลายชนิด และมีทั้งน้ำหนักโมเลกุลสูงถึง 84 กิโลดาลตัน และทั้งชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 18.3 กิโลดาลตัน แต่โปรตีนตัวหลักซึ่งสามารถสังเกตได้จากความเข้มของแถบโปรตีนได้แก่ 60 กิโลดาลตัน 39 กิโลดาลตัน 15 กิโลดาลตัน และอื่น ๆ อีกจำนวนมาก เช่นเดียวกับผลการทดลองก่อนหน้าพบว่าการใช้คลื่นความถี่ในการสกัดร่วมกับการทำคอลลอยด์สามารถปลดปล่อยชนิดของโปรตีนออกมาได้หลากหลายชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบผสมผสานอื่น ๆ รวมถึงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม โดยชนิดขององค์ประกอบโปรตีนมีลักษณะใกล้เคียงกับชนิดของโปรตีนที่พบในรำข้าวเริ่มต้น โดยเฉพาะโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 84 39 และ 15 กิโลดาลตัน สำหรับการสกัดโดยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์พบว่าองค์ประกอบของโปรตีนตัวหลักที่สกัดออกมาได้มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 84 และ 39 กิโลดาลตัน และไม่พบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้คลื่นความถี่ จากผลการทดลองดังกล่าวอาจกล่าวได้ว่าวิธีการดังกล่าวไม่มีผลต่อการทำลายสภาพธรรมชาติของโปรตีนรำข้าว สำหรับการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมพบว่าโปรตีนที่สกัดออกมาได้มีน้ำหนักโมเลกุลที่หลากหลายเช่นเดียวกับในตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้น อย่างไรก็ตามโปรตีนตัวหลักไม่ปรากฏเด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้นหรือวิธีการสกัดอื่น ๆ ซึ่งจากผลงานวิจัยก่อนหน้าพบว่าการใช้ด่างในการสกัดนั้นอาจจะไปทำลายสภาพธรรมชาติของโปรตีนส่งผลให้โปรตีนถูกปลดปล่อยออกมาได้เป็นจำนวนมากทั้งชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนในรูปที่ 4.2 (ALK) อย่างไรก็ตามสามารถเห็นได้ชัดเจนในทุกวิธีการสกัดว่า

โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 84 กิโลดาลตันถูกสกัดออกมาได้เป็นอย่างดีในทุกวิธีการสกัด ทั้งนี้อาจเนื่องจากเป็นชนิดโปรตีนที่มีปริมาณมากในตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้น น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนรำข้าวจากการสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ให้ผลสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Zhang และคณะ (2012) ซึ่งรายงานว่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนรำข้าวมีค่าระหว่าง 6.5-66.2 กิโลดาลตัน

ในรำข้าวมีโปรตีนหลักอยู่ด้วยกัน 4 ชนิดซึ่งจำแนกตามความสามารถในการละลาย ได้แก่ อัลบูมิน (ร้อยละ 35) โกลบูลิน (ร้อยละ 15-26) กลูเตลิน (ร้อยละ 11-27) โปรลามิน (ร้อยละ 4) โดย โปรตีนอัลบูมิน โกลบูลิน โปรลามิน และกลูเตลิน จะละลายได้ในน้ำ สารละลายเกลือ สารละลายแอลกอฮอล์ และสารละลายด่าง ตามลำดับ (Fabian และ Ju, 2011) รายละเอียดของชนิดโปรตีนในรำข้าวแต่ละตัวมีดังนี้



รูปที่ 4.2 รูปแบบของโปรตีนรำข้าวที่สกัดแยกด้วยวิธีการผสมผสานเปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม
STD: standard protein marker, RB: rice bran extract, MH: MAE-H, SC: UAE-C, ALK: AKE

อัลบูมิน (albumin)

ในเมล็ดข้าวส่วนมากจะมีอัลบูมินเป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 2-6 หรือประมาณร้อยละ 34 ในรำข้าว ซึ่งพบมากที่สุดเมื่อเทียบกับโปรตีนชนิดอื่น ๆ โปรตีนชนิดนี้เมื่อได้รับความร้อนจะทำให้เกิดการจับตัวกันและตกตะกอน สามารถละลายในตัวทำละลายที่เป็นน้ำได้ดี มีมวลโมเลกุลอยู่ระหว่าง 10 ถึง 200 กิโลดาลตัน จัดเป็นโปรตีนที่มีค่าทางชีวภาพสูงสุด เนื่องจากร่างกายสามารถดูดซึม และนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที นอกจากนี้ อัลบูมินที่มีโมเลกุลขนาด 16 กิโลดาลตัน ยังมีสมบัติการต้านออกซิเดชัน และป้องกันการออกซิเดชันของไขมันชนิดความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein, LDL) จากไอออนของโลหะ เช่น Cu^{2+} ได้ดีกว่าโปรตีนชนิดอื่น ๆ

โกลบูลิน (globulin)

ในรำข้าวจะมีโปรตีนชนิดนี้ประมาณร้อยละ 15-26 โปรตีนกลุ่มนี้จะไม่พบกรดอะมิโนไลซีนเป็นส่วนประกอบ แต่จะมีกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง ได้แก่ กรดอะมิโนซีสทีน และเมไทโอนีน

ซึ่งล้วนเป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุล สามารถละลายได้ดีในสารละลายเกลือ โปรตีนชนิดนี้ประกอบไปด้วยสายโพลิเปปไทด์ที่มีขนาดต่างกันไปที่จับกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bonds) ขนาดโมเลกุลจะอยู่ระหว่าง 6.7 ถึง 36 กิโลดาลตัน สามารถแสดงสมบัติต้านออกซิเดชันได้เช่นเดียวกับชนิดแรก โดยอาศัยส่วนของ N-terminal ของกรดอะมิโนไทโรซีน

กลูเทลิน (glutelin)

กลูเทลิน เป็นโปรตีนหลัก หรือพบมากที่สุดในเมล็ดข้าวทั่วไป และมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 11-27 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในรำข้าว แต่โปรตีนชนิดนี้มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน มีขนาดโมเลกุลค่อนข้างใหญ่ ประมาณ 45-150 กิโลดาลตัน ไม่สามารถละลายน้ำและยากต่อการสกัดแยกออกมา เนื่องจากสมบัติด้านการรวมตัว หรือจับตัวกัน (aggregation) พันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bonding) และการเกิดไกลโคซิเลชัน (glycosylation) แต่อย่างไรก็ตาม การสกัดโดยใช้สารละลายด่างเข้มข้น แล้ววิเคราะห์ขนาดโมเลกุลของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE พบว่า โปรตีนกลูเทลินจะถูกย่อยให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลงเหลือ 2 กลุ่มหลัก คือ แอลฟา-โพลีเปปไทด์ (α-polypeptide) มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 34-39 กิโลดาลตัน และเบต้า-โพลีเปปไทด์ (β-polypeptide) มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 21-23 กิโลดาลตัน ตามลำดับ

โพรลามิน (prolamin)

โพรลามิน เป็นโปรตีนองค์ประกอบที่น้อยที่สุดในส่วนของรำข้าวโดยมีเพียงร้อยละ 4 เท่านั้น มีขนาดโมเลกุลอยู่ระหว่าง 12-17 กิโลดาลตัน ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด เช่น กลูตามีน อะลานีน ไกลซีน ไลซีน ฮิสทิดีนและอาร์จินีน เป็นต้น โปรตีนชนิดนี้สามารถละลายได้ดีในสารละลายแอลกอฮอล์ โดยเฉพาะเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 60-70 และละลายได้เล็กน้อยจนเกือบไม่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ นอกจากนี้ยังสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่เป็นกรด หรือด่าง ดังนั้น ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวด้วยตัวทำละลาย โพรลามินจึงไม่ค่อยได้รับความสนใจมากนัก เนื่องจาก มีปริมาณน้อย และถูกสกัดออกมาได้เมื่อใช้ตัวทำละลายด่าง

เนื่องด้วยโปรตีนสกัดเข้มข้นที่ได้จากวิธีการสกัดแบบผสมผสานให้ค่าโปรตีนในปริมาณที่สูง ดังนั้นตัวอย่างดังกล่าวจึงถูกนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนโดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับกรดอะมิโนที่ได้จากตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นจากการใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม โดยผลของชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนจากโปรตีนสกัดรำข้าวเข้มข้นแสดงดังตารางที่ 4.6

จากผลการวิเคราะห์พบว่า Lysine และ Histidine มีค่าสูงสุดในตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นจากรำข้าวจากทุกวิธีการสกัด อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อเปรียบเทียบแต่ละวิธีการสกัด การสกัดด้วยการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์จะให้ปริมาณ Lysine สูงที่สุด (4877 มิลลิกรัม/100กรัม) ตามมาด้วยการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม (3210 มิลลิกรัม/100กรัม) และการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (3017 มิลลิกรัม/100กรัม) Histidine เป็นกรดอะมิโนสำคัญอีกตัวที่ให้ปริมาณสูงเป็นลำดับที่สองซึ่งพบในโปรตีนจากรำข้าวสกัดเข้มข้น โดยพบว่าการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ให้ค่ากรดอะมิโนดังกล่าวสูงที่สุด (3535 มิลลิกรัม/100กรัม) Khan และคณะ (2011) รายงานว่าการใช้ไมโครเวฟในการสกัดโปรตีนจากรำข้าวนั้นให้ค่ากรด Histidine และ Lysine เท่ากับ 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน ตามลำดับ ในขณะที่ Parrado และคณะ (2006) รายงานปริมาณ Lysine ที่พบในโปรตีนจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยการใช้เอนไซม์ช่วยว่ามีค่า 3.46

กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง เช่นเดียวกันกับ Tang และคณะ (2003) รายงานค่าปริมาณกรดอะมิโน Lysine และ Histidine ในโปรตีนรำข้าวว่ามีค่า 5.4 และ 3.3 กรัมต่อกรัมโปรตีน ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์พบว่ารำข้าวประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิด โดยเฉพาะบางชนิดที่มีปริมาณน้อยจากวัตถุดิบแหล่งอื่น ๆ มีพบว่ามีปริมาณสูงในโปรตีนจากรำข้าว จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ารำข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเมื่อมองถึงกรดอะมิโนที่จำเป็น

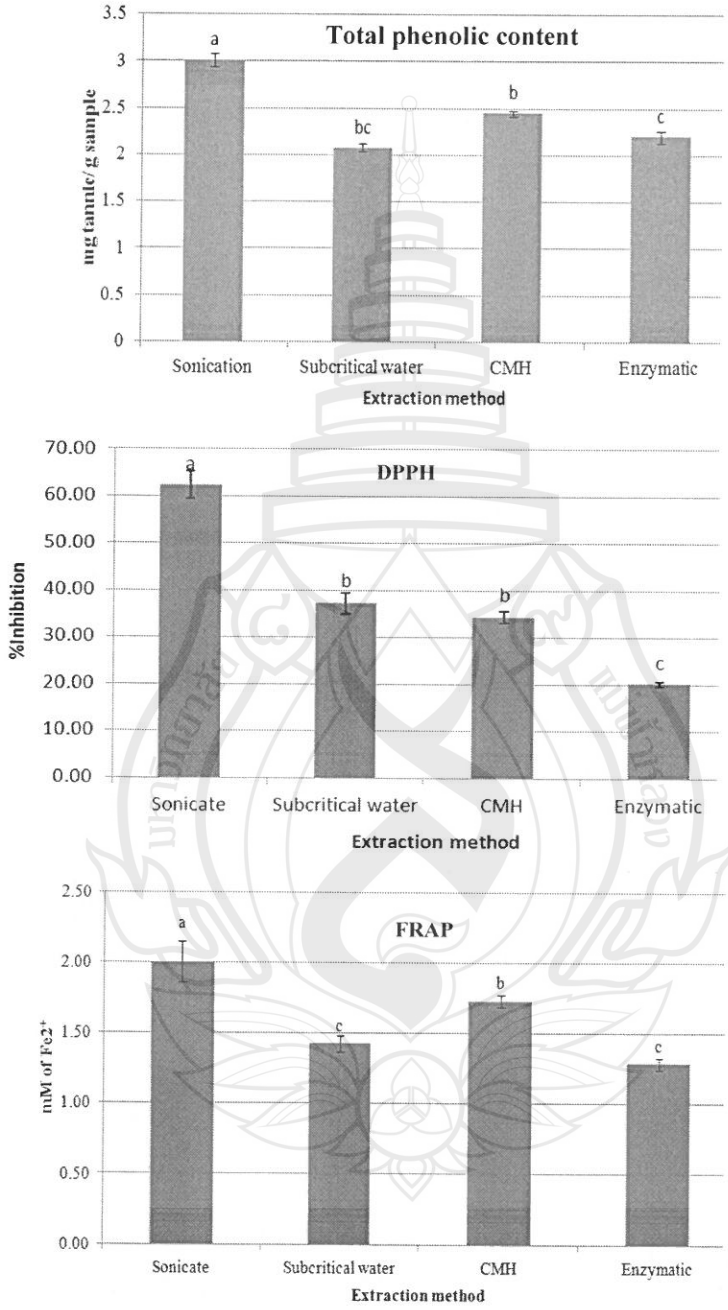
ตารางที่ 4.6 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น

Amino acid	RBPI*		
	AKE	MAE-H	UAE-C
Alanine	346	324	390
Arginine	<5.00	<5.00	<5.00
Aspartic acid	354	350	441
Cystine	366	281	714
Glutamic acid	1091	683	1444
Glycine	309	305	367
Histidine	1864	2024	3535
Hydroxylysine	<5.00	<5.00	<5.00
Hydroxyproline	<5.00	<5.00	<5.00
Isoleucine	1143	921	1117
Leucine	2031	1903	2108
Lysine	3210	3017	4877
Methionine	226	217	300
Phenylalanine	2146	1792	2153
Proline	244	264	299
Serine	82.9	138	167
Threonine	131	167	218
Tryptophan	319	306	402
Tyrosine	2138	1360	2620
Valine	1039	606	1134

**Unit of the number presented was mg/100g sample*

โปรตีนในรำข้าวจัดเป็นโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพสูง มีค่า Protein Efficiency Ratio (PER) หรือความสามารถในการเปลี่ยนโปรตีนในอาหารไปเป็นโปรตีนส่วนประกอบต่าง ๆ ในร่างกายที่สูง มีค่าประมาณ 1.6-1.9 เมื่อเปรียบเทียบกับเคซีนซึ่งเป็นโปรตีนในน้ำนม ซึ่งมีค่า PER เท่ากับ 2.5 (Fabian และคณะ, 2011) อีกทั้งยังเป็นแหล่งของกรดอะมิโนไลซีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (Yeom และคณะ,

2010) นอกจากนี้ โปรตีนดังกล่าวยังมีสมบัติเป็น hypoallergenic protein หรือเป็นโปรตีนชนิดที่มีแนวโน้มต่ำในการเกิดภาวะภูมิแพ้ และยังสามารถต่อต้านการเกิดออกซิเดชัน รวมถึงยับยั้งการก่อตัวของเซลล์มะเร็ง (Chanput และคณะ, 2009)



รูปที่ 4.3 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ แสดงในรูปที่ 4.3 และตารางที่ 4.7 โดยในรูปที่ 4.3 จะแสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของโปรตีนรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ แต่สารสกัดที่ได้ไม่ผ่านการตกตะกอนเอาเฉพาะโปรตีนมาทำแห้ง แต่ใช้สารสกัดที่ได้ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งโดยตรง ในขณะที่ในตารางที่ 4.7 เป็นตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนก่อนนำมาทำแห้งด้วยวิธีการเดียวกัน

จากรูปที่ 4.3 พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดพบได้ในโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ (3.01) รองลงมาตามลำดับคือ การสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์ (2.45) การใช้เอนไซม์ (2.20) และต่ำสุดในตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ (2.08) ตามลำดับ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ให้ผลไปในแนวทางเดียวกันกับการศึกษาวิจัยก่อนหน้าของโปรตีนรำข้าว โดย Kim และ Han (2011) รายงานว่าค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของรำข้าวหมักนั้นมีค่าระหว่าง 225-260 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมโปรตีนรำข้าว และพบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 75-78 ซึ่งร้อยละการยับยั้งที่พบสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง Chanput และคณะ (2009) ได้รายงานถึงความสามารถในการรีดิวซ์ของโปรตีนรำข้าวพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 1.81-6.98 มิลลิโมล

ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (DPPH) และการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของโปรตีนรำข้าวแสดงดังรูปที่ 4.3 ร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของโปรตีนรำข้าวมีค่าระหว่างร้อยละ 20-62 โดยโปรตีนรำข้าวที่มีร้อยละการยับยั้งสูงสุดและต่ำสุดคือการสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ (62.29) และสกัดโดยใช้เอนไซม์ (20.15) ตามลำดับ ซึ่งผลดังกล่าวให้ผลเช่นเดียวกันกับค่าการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของโปรตีนรำข้าวสกัด

สำหรับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างโปรตีนสกัดรำข้าวเข้มข้นที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีแบบผสมผสานเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมแสดงดังตารางที่ 4.7 จากผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสำหรับค่าปริมาณฟีนิลิกทั้งหมดในตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้นและตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นทุกวิธีการสกัด อย่างไรก็ตาม พบว่าการสกัดด้วยการใช้สารละลายด่างให้ค่าปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด (15.89 มิลลิกรัม/กรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ Chanput และคณะ (2009) รายงานว่าการที่ปริมาณสารดังกล่าวมีน้อยอาจเนื่องมากจากการสูญเสียพันธะ disulfide ในโมเลกุลของโปรตีนและเกิดการคลายตัวของสภาพธรรมชาติของโปรตีน อย่างไรก็ตามพบว่ารำข้าวที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างเบื้องต้นโดยผ่านคลื่นไมโครเวฟจะสามารถเพิ่มปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดได้ถึงร้อยละ 38 (Wataniyakul และคณะ, 2012) นอกจากนั้น Lai และคณะ (2009) ยังได้รายงานปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างรำข้าวที่ผ่านการทำให้คงตัวด้วยคลื่นไมโครเวฟจะมีค่าอยู่ในช่วง 15.7 ถึง 19.7 กรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ Tabaraki และ Nateghi (2011) รายงานค่าฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างรำข้าวสกัดด้วยการใช้คลื่นความถี่ว่ามีค่าอยู่ที่ 3-6 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

Antioxidant ability	Rice bran	RBPI		
		AKE	MAE-H	UAE-C
TPC (mg of gallic acid/g)	11.22±0.63[a]	15.89±1.12[a]	12.75±2.30[a]	15.18±0.19[a]
FRAP (mM $FeSO_4$/g)	1.53E±03[b]	6.54E±03[a]	9.81E±02[a]	1.03E±03[a]
DPPH (%)	22.66±0.31[a]	3.38±0.18[d]	8.83±0.34[b]	5.40±0.27[c]
Lipid peroxidation (%)	24.24±1.50[a]	17.08±3.02[c]	11.30±1.32[d]	19.39±2.71[b]

Values (n=3) with different superscript in each row are significantly different ($p<0.05$).

สำหรับความสามารถในการรีดิวซ์ FRAP ของโปรตีนรำข้าวสกัดเข้มข้น พบว่าตัวอย่างโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยไมโครเวฟร่วมกับโฮโมจิไนซ์ให้ค่ากิจกรรมดังกล่าวสูงที่สุด (9.81 x10^2 mM $FeSO_4$/g) ตามมาด้วยตัวอย่างโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม (6.54 x10^2 mM $FeSO_4$/g) และตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ (1.03 x10^2 mM $FeSO_4$/g) Tabaraki และ Nateghi (2011) รายงานค่าในการรีดิวซ์ FRAB ของตัวอย่างรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นความถี่ว่ามีค่า 57 ไมโครโมล Fe^{2+}/g

สำหรับความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ DPPH ของรำข้าวเริ่มต้นมีค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนสกัดเข้มข้นจากวิธีการต่าง ๆ (ร้อยละการยับยั้ง 22.66) อย่างไรก็ตามพบว่าวิธีการสกัดโปรตีนด้วยเทคนิคผสมผสานให้ค่ากิจกรรมการยับยั้ง DPPH ดังนี้คือ 3.38 8.83 และ 5.40 สำหรับตัวอย่างที่สกัดด้วยด่าง ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ และการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ ตามลำดับ Sirikul และคณะ (2008) รายงานว่าโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์มีค่ากิจกรรมการยับยั้งอนุมูล DPPH ที่ร้อยละ 15.6 ในขณะที่ Tabaraki และ Nateghi (2011) ก็รายงานเช่นเดียวกันว่าค่าการยับยั้งอนุมูล DPPH ของรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยการใช้คลื่นความถี่ให้ค่าอยู่ที่ร้อยละ 55

ร้อยละการยับยั้งการเกิด Lipid peroxidation ของโปรตีนสกัดเข้มข้นจากรำข้าวด้วยวิธีการผสมผสานแสดงดังตารางที่ 4.7 โดยพบว่ารำข้าวเริ่มต้นให้ค่าร้อยละการยับยั้งที่สูงกว่า (ร้อยละ 24.24) ในตัวอย่างโปรตีนรำข้าวที่ผ่านการสกัด โดยมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 11.30 ถึง 19.39 เมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดต่าง ๆ พบว่า โปรตีนเข้มข้นที่สกัดด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์จะให้ร้อยละการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ที่ดีกว่าตัวอย่างโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิม และการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับการใช้โฮโมจิไนซ์ซึ่งให้ค่าร้อยละการยับยั้งกิจกรรมดังกล่าวต่ำที่สุด (ร้อยละ 11.30) Loypimai และ Moong-ngarm (2011) รายงานค่า IC_{50} ของการยับยั้ง lipid peroxidation ของรำข้าวที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยไมโครเวฟมีค่า 115.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ Chotimarkorn และคณะ (2008)

รายงานค่า EC_{50} ของรำข้าวสกัดโดยการใช้เอนไซม์ช่วยต่อกิจกรรมการยับยั้ง lipid peroxidation ว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.14-0.57 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งการที่รำข้าวสามารถแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและต้านออกซิเดชันได้นั้น เนื่องจากในรำข้าวประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์สำคัญเช่น oryzanols และ tocols ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งปฏิกิริยาดังกล่าว

สมบัติทางกายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น

ลักษณะองค์ประกอบและความแตกต่างของค่าสีระหว่างตัวอย่างรำข้าวอินทรีย์กับโปรตีนรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการทั้ง 4 แสดงดังตารางที่ 4.8 โปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยวิธีการใช้น้ำกึ่งวิกฤติให้ค่า L^* สูงที่สุด (95.47) ในขณะค่าต่ำสุดพบในตัวอย่างโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ ค่าความเป็นสีแดง (a^*) สูงสุดในตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์ซึ่งสอดคล้องกับความสว่างที่ลดลง ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของตัวอย่างโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์เบื้องต้นมากที่สุดพบในโปรตีนที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (36.74)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่าวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ส่งผลกระทบโดยตรงต่อสมบัติทางเคมีกายภาพโดยเฉพาะสมบัติทางด้านลักษณะปรากฏด้านสีของโปรตีนรำข้าวที่ได้ ลักษณะคุณภาพของสีที่ส่งผลชัดเจนต่อการนำโปรตีนสกัดไปใช้ต่อได้แก่ค่าความสว่างและค่าความเป็นสีแดง ยิ่งตัวอย่างมีค่าความสว่างสูงค่าความเป็นสีแดงต่ำจะทำให้มีโอกาสการนำไปใช้ได้ในหลากหลายผลิตภัณฑ์ Mayou (2003) รายงานค่า L^*, a^* และ b^* ของโปรตีนรำข้าวสกัดดังนี้ 69-70, 2.4-2.6, และ18-20 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น

ตัวอย่าง	L^*	a^*	b^*	ΔE
RB	58.82 ± 5.10^{e}	3.59 ± 0.23^{c}	15.11 ± 1.30^{b}	-
RBP-SN	90.98 ± 1.09^{b}	2.43 ± 0.06^{d}	16.72 ± 0.87^{c}	32.24 ± 1.09^{b}
RBP-CW	95.47 ± 1.05^{a}	2.29 ± 0.08^{d}	13.05 ± 0.57^{e}	36.74 ± 1.05^{a}
RBP-CMH	82.96 ± 0.98^{c}	4.14 ± 0.11^{b}	20.58 ± 0.42^{a}	24.77 ± 0.93^{c}
RBP-ENZ	73.89 ± 1.58^{d}	5.69 ± 0.21^{a}	18.12 ± 0.57^{b}	15.53 ± 1.64^{d}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่คอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

RBP: rice bran protein, SN: sonication, CW: supercritical water, CMH: colloid milled-Homogenization, ENZ: phytase-xylanase enzymes

สำหรับสมบัติทางกายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีผสมผสานเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมแสดงผลดังตารางที่ 4.9 โดยค่าความหนาแน่นของตัวอย่างของรำข้าวเริ่มต้นและของโปรตีนสกัดเข้มข้นมีค่าอยู่ระหว่าง 0.24 -0.46 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นที่ให้ค่าความหนาแน่นสูงสุด (0.46 กรัมต่อมิลลิลิตร) คือตัวอย่างที่ผ่านสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมด้วยการใช้สารละลายด่าง ในขณะที่ค่าความหนาแน่นต่ำสุดได้จากตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์

(0.24 กรัมต่อมิลลิลิตร) จากผลการทดลองตัวอย่างที่มีค่าความหนาแน่นต่ำจะมีความเหมาะสมและได้เปรียบในการบรรจุในภาชนะบรรจุคือสามารถบรรจุได้ในปริมาณมาก ในขณะที่ตัวอย่างที่มีความหนาแน่นสูงก็จะต้องใช้บรรจุภัณฑ์จำนวนมากในการบรรจุต่อหนึ่งหน่วยน้ำหนัก Akubor และ Obiegbuna (1999) กล่าวไว้ว่าสมบัติด้านความหนาแน่นของตัวอย่างจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงความต้องการด้านบรรจุภัณฑ์ที่จะต้องใช้สำหรับการบรรจุผลิตภัณฑ์ชนิดนั้น ๆ ในขณะที่ Khan และคณะ (2011) รายงานค่าความหนาแน่นของตัวอย่างโปรตีนรำข้าวที่ผ่านการเตรียมด้วยไมโครเวฟว่ามีค่าอยู่ที่ 0.3 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

ตารางที่ 4.9 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้นด้วยวิธีการแบบผสมผสาน

Properties	Rice bran	RBPI		
		AKE	MAE-H	UAE-C
Bulk density (g/ml)	0.38±0.00^{c}	0.46±0.00^{a}	0.42±0.00^{b}	0.24±0.00^{d}
Color				
*L**	67.34±0.60^{d}	88.06±0.33^{a}	83.88±0.65^{c}	86.48±0.28^{b}
*a**	5.37±0.14^{a}	-1.41±0.08^{d}	-0.25±0.08^{b}	-1.06±0.07^{c}
*b**	29.09±0.21^{a}	19.00±0.14^{d}	20.53±0.13^{b}	19.74±0.10^{c}
ΔE		24.02±0.36^{a}	19.45±0.48^{b}	22.25±0.31^{c}

Values (n=3) with different superscript in each row are significantly different (p<0.05).

สำหรับค่าสีและความแตกต่างของค่าสีตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นเมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวเริ่มต้นแสดงดังตารางที่ 4.9 เช่นเดียวกัน พบว่าค่าความสว่างของตัวอย่างโปรตีนสกัดเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวเริ่มต้น โดยค่าความสว่างของโปรตีนตัวอย่างมีค่าระหว่าง 83 ถึง 88 ในขณะที่รำข้าวเริ่มต้นมีค่าความสว่างอยู่ที่ 67 ค่าความเป็นสีแดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน และเช่นเดียวกันกับค่าความเป็นสีเหลืองที่ลดลงเช่นเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าสีพบว่าตัวอย่างที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมให้ความแตกต่างทางค่าสีสูงที่สุด รองลงมาคือ การสกัดด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์และแตกต่างจากตัวอย่างเริ่มต้นต่ำที่สุดคือโปรตีนตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ Chittapalo และ Noomhorm (2009) รายงานว่าโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีแบบดั้งเดิมจะให้ค่าความสว่างที่น้อยกว่าและให้ค่าความเป็นสีแดงสูงกว่าการสกัดด้วยกระบวนการใช้คลื่นความถี่

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น

ความสามารถในการละลายของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4.10 จากผลการทดลองพบว่าโปรตีนรำข้าวการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่มีความสามารถในการละลายสูงสุด (ร้อยละ 48.36) ในขณะที่โปรตีนที่สกัดด้วยวิธีการใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์มีความสามารถในการละลายน้อยที่สุด (ร้อยละ 11.48)

สำหรับความสามารถในการดูดซึมน้ำของโปรตีนรำข้าวที่สกัดจากวิธีต่าง ๆ แสดงผลดังตารางที่ 4.10 เช่นเดียวกัน โดยพบกว่าโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีการใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์มีค่าการดูดซึมน้ำสูงที่สุด (2.36) ในขณะที่โปรตีนที่สกัดจากการใช้น้ำกึ่งวิกฤตให้ค่าต่ำที่สุด (0.29)

ตารางที่ 4.10 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้น

ตัวอย่าง	ความสามารถในการละลาย (ร้อยละ)	ความสามารถในการดูดซับน้ำ (กรัม/กรัม)
RBP-SN	48.36 ± 0.81^{a}	2.22 ± 0.05^{b}
RBP-CW	26.53 ± 0.43^{c}	0.29 ± 0.03^{d}
RBP-CMH	11.48 ± 0.57^{d}	2.36 ± 0.06^{a}
RBP-ENZ	39.42 ± 0.17^{b}	0.46 ± 00.03^{c}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่คอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

RBP: rice bran protein, SN: sonication, CW: supercritical water, CMH: colloid milled-Homogenization, ENZ: phytase-xylanase enzymes

สำหรับสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่ทำการตรวจวัดโดยเฉพาะสมบัติการละลายจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงสมบัติเชิงหน้าที่อื่น ๆ ของโปรตีนรำข้าวที่ได้ โดยส่วนใหญ่พบว่าความสามารถในการละลายและสมบัติเชิงหน้าที่อื่น ๆ ของโปรตีนจะสูญเสียไปเมื่อถูกทำลายสภาพธรรมชาติอย่างรุนแรง Vojdani (1996) กล่าวว่าการลดลงของความสามารถในการละลายของโปรตีนอาจเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างส่วนที่ไม่มีขั้วของไขมันกับส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีน Chandi และ Sogi (2007) รายงานว่าค่าความสามารถในการดูดซึมน้ำของโปรตีนรำข้าวอยู่ในช่วงของ 3.87-5.60 กรัมต่อกรัม อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่ามีค่าต่ำกว่าจากรายงาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำที่เหลือในตัวอย่างหลังการทำแห้ง หรืออาจเกิดจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในกระบวนการสกัดที่รุนแรง

สำหรับสมบัติเชิงหน้าที่ของตัวอย่างโปรตีนรำข้าวสกัดเข้มข้นด้วยวิธีการผสมผสานแสดงดังตารางที่ 4.10 ซึ่งประกอบไปด้วย ความสามารถในการดูดซับน้ำ ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน ความสามารถในการเกิดโฟม ความสามารถและความคงตัวในการเกิดอิมัลชัน และค่าความสามารถในการละลายของไนโตรเจน

ตารางที่ 4.11 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์สกัดเข้มข้นด้วยวิธีการแบบผสมผสาน

สมบัติต่าง ๆ	รำข้าวอินทรีย์	RBPI		
		AKE	MAE-H	UAE-C
WHC (g/g)	3.25±0.05[a]	2.69±0.03[b]	1.72±0.01[c]	1.73±0.02[c]
OHC (g/g)	3.84±0.08[a]	1.85±0.01[d]	2.45±0.03[c]	3.75±0.05[b]
FC (%)	27.50±3.75[c]	57.5±3.31[b]	54.44±3.25[b]	62.50±5.73[a]
ES (min)	9.23±0.68[b]	7.84±0.66[c]	8.11±0.78[c]	10.41±0.58[a]
EA(Abs at 500)	0.037±0.01[a]	0.013±0.00[b]	0.018±0.00[b]	0.014±0.00[b]
NSI (%)	18.04±0.71[d]	73.12±0.27[a]	71.51±0.28[b]	57.84±0.20[c]

Values (n=3) with different superscript in each row are significantly different ($p<0.05$).

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อนำรำข้าวมาสกัดโปรตีนเข้มข้นแล้วจะทำให้สมบัติต่าง ๆ เหล่านี้สูญเสียไปเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้น ได้แก่ ความสามารถในการดูดซับน้ำและน้ำมัน ความคงตัวและความสามารถในการเกิดอิมัลชัน ในขณะที่สมบัติเชิงหน้าที่อื่น ๆ ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าว ได้แก่ ความสามารถในการเกิดโฟม และความสามารถในการละลาย ซึ่งผลดังกล่าวอาจเนื่องมาจากการที่ระหว่างกระบวนการสกัดโปรตีนนั้นสภาวะต่าง ๆ ที่ใช้ในการสกัดไปรบกวนถึงโครงสร้างดั้งเดิมของโปรตีนทำให้สภาพธรรมชาติของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป หรืออีกกรณีหนึ่งสมบัติเชิงหน้าที่บางประการ การที่ตัวอย่างมีองค์ประกอบทางเคมีอย่างอื่นอยู่ในตัวอย่างอาจจะช่วยเสริมหน้าที่ซึ่งกันและกัน ดังนั้นเมื่อองค์ประกอบอื่น ๆ ถูกกำจัดออกไปสมบัติเชิงหน้าที่เหล่านั้นจึงได้รับผลกระทบ และในทางกลับกันโปรตีนเดี่ยว ๆ อาจจะแสดงสมบัติเชิงหน้าที่ได้ดีกว่าการที่มีองค์ประกอบทางเคมีอย่างอื่นปนเปื้อนอยู่ด้วย

ความสามารถในการดูดซับน้ำและน้ำมันของโปรตีนสกัดเข้มข้นจากรำข้าวมีค่าอยู่ระหว่าง 1.72 - 2.69 และ 1.85-3.75 กรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ โดยพบว่าตัวอย่างที่ผ่านการสกัดแบบวิธีดั้งเดิมให้ค่าความสามารถในการดูดซับน้ำสูงสุดในขณะที่ให้ค่าการดูดซับน้ำมันต่ำสุด ซึ่งก็สอดคล้องกับหลักการที่ว่าความสามารถในการอุ้มน้ำจะมีผลที่ตรงกันข้ามกับความสามารถในการดูดซับน้ำมันเนื่องจากใช้หมู่ functional group ที่แตกต่างกันในการจับกับโมเลกุลของน้ำและน้ำมัน ตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ให้ค่าความสามารถในการดูดซับน้ำมันสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นอื่น Chittapalo และ Noomhorm (2009) รายงานถึงค่าความสามารถในการดูดซับน้ำของรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นความถี่เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมว่ามีค่า 2.51 และ 2.14 กรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งการที่ตัวอย่างโปรตีนมีค่าความสามารถในการดูดซับน้ำที่สูงอาจเป็นผลเนื่องมาจากการที่ในโปรตีนตัวอย่างนั้นประกอบไปด้วยองค์ประกอบที่มีสมบัติทางด้านความชอบน้ำอยู่สูงกว่าองค์ประกอบที่ไม่ชอบน้ำ (Akubor และ Badifu, 2004) นอกจากนั้นการที่โปรตีนมีสมบัติดังกล่าวสูงจะช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำได้เป็นอย่างดีเมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ Chandi และ Sogi (2006) รายงานค่าความสามารถในการดูดซับน้ำมันของโปรตีนสกัดจากรำข้าว Basmati 370 ว่ามีค่าอยู่ที่ 3.74 กรัม

ต่อกรัมตัวอย่าง ในขณะที่ Khan และคณะ (2011) ก็รายงานเช่นเดียวกันว่าโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยไมโครเวฟมีค่าความสามารถในการดูดซับไขมันอยู่ที่ 2.5 มิลลิลิตต่อกรัมตัวอย่าง โดยเขาได้กล่าวเพิ่มเติมว่าการที่ตัวอย่างมีองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว เพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของสมบัติความสามารถในการดูดซับน้ำมัน ความสามารถในการดูดซับน้ำมันของตัวอย่างจะมีบทบาทสำคัญในการปรับปรุงเรื่องการรับรู้รสชาติและความคงตัวของสารให้กลิ่นรสในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ (Khan และคณะ, 2011)

ความสามารถในการเกิดโฟมของตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้น โดยพบว่าตัวอย่างโปรตีนที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์จะให้สมบัติด้านดังกล่าวสูงที่สุด ในขณะที่ค่าต่ำสุดจะพบในตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมและการใช้ไมโครเวฟซึ่งให้ค่าที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ Yadav และคณะ (2010) รายงานว่าค่าความสามารถในการเกิดโฟมของตัวอย่างรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยการใช้ด่างมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 11 ซึ่งก็สอดคล้องกับการรายงานของ Chittapalo และ Noomhorm (2009) ซึ่งรายงานว่าค่าดังกล่าวอยู่ที่ร้อยละ 11.56 ความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของโปรตีน ซึ่งเมื่อโปรตีนละลายได้ดีและมีความสามารถในการเคลื่อนตัวไปสัมผัสกับอากาศที่ผิดหน้าของระบบจะทำให้ความสามารถในการเกิดโฟมเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนั้นการที่โปรตีนถูกทำให้เสียสภาพธรรมชาติก็เป็นกลไกหนึ่งที่ทำให้สามารถแสดงสมบัติดังกล่าวได้ดีกว่าโปรตีนที่อยู่ในสถาพธรรมชาติ

สมบัติการเป็นอิมัลชันของโปรตีนสกัดเข้มข้นรายงานในรูปของความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชันแสดงดังตารางที่ 4.11 เช่นเดียวกัน โดยจากผลการทดลองพบว่ารำข้าวเริ่มต้นมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่ดีกว่าเมื่อสกัดออกมาอยู่ในรูปของโปรตีนสกัดเข้มข้น อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างในสมบัติดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบระหว่างโปรตีนที่ผ่านการสกัดแต่ละวิธี สำหรับค่าความคงตัวของการเป็นอิมัลชันพบว่ามีค่าสูงสุดในตัวอย่างที่ผ่านการสกัดด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับการทำคอลลอยด์ และตามมาด้วยการสกัดด้วยไมโครเวฟ และการสกัดด้วยการใช้สารละลายด่างตามวิธีดั้งเดิม ตามลำดับ

ความสามารถในการละลายของไนโตรเจน (NSI) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้น โดยมีการเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 18.04 เป็นร้อยละ 73.12 เมื่อตัวอย่างผ่านการสกัดด้วยวิธีแบบดั้งเดิม และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 71.51 จากตัวอย่างโปรตีนที่มีการใช้ไมโครเวฟช่วยสกัด และร้อยละ 57.84 เมื่อสกัดตัวอย่างโปรตีนด้วยคลื่นความถี่ช่วย ค่าความสามารถในการละลายของไนโตรเจนจากตัวอย่างโปรตีนที่สกัดโดยการใช้ด่างและไมโครเวฟช่วยมีค่าเหมือนกับที่รายงานในตัวอย่าง Basmati 386 วึ่งมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 72.67 และตัวอย่าง HBC19 ซึ่งมีค่าการละลายอยู่ที่ร้อยละ 73.14 ซึ่งตัวอย่างทั้งสองผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมด้วยการใช้สารละลายด่าง (Chandi และ Sogi, 2007) Hamada (2000) ได้รายงานค่าความสามารถในการละลายของไนโตรเจนในตัวอย่างโปรตีนเข้มข้นที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการใช้เอนไซม์ช่วยนั้นมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 61 ถึงร้อยละ 73 ซึ่งการที่ตัวอย่างโปรตีนมีค่าดังกล่าวสูงเป็นที่ต้องการในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่าง ๆ ทั้งเครื่องดื่ม น้ำสลัด กาแฟ วิปปิ้ง ทอปปิ้ง และอาหารว่างอื่น ๆ

การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์

การคำนวณต้นทุนการผลิตคำนวณได้จากต้นทุนพลังงานบวกกับต้นทุนวัสดุสารเคมี ซึ่งต้นทุนโดยรวมของการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์ของแต่ละวิธีมีราคาต้นทุนตามตารางที่ 4.11 เมื่อพิจารณาในแง่การใช้พลังงาน จะเห็นได้ว่าทุกวิธีมีการใช้เครื่องใช้ไฟฟ้าในขบวนการผลิต ซึ่งไม่มีความแตกต่างในการใช้พลังงานไฟฟ้ามากนัก แต่มีเพียงวิธีการสกัดโดยใช้เอนไซม์กลับพบว่าต้นทุนการผลิตสูง สาเหตุที่ต้นทุนดังกล่าวสูงนี้เนื่องมาจากราคาเอนไซม์ที่ใช้มีราคาที่แพง ขณะเดียวกันวิธีการสกัดด้วยการใช้สารละลายด่างมีต้นทุนที่ต่ำกว่าเพราะใช้สารโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งมีราคาถูกและมีการใช้เพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตาม วิธีที่ไม่พึ่งพาสารเคมีอย่างวิธีดั้งเดิมและวิธีการตกตะกอนโปรตีนที่สกัดได้ด้วยระบบสารละลายน้ำสามวัฏภาค หรือ การสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต และการสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่า วิธีที่กล่าวมานี้เป็นวิธีที่ใช้เพียงเครื่องใช้ไฟฟ้าต่าง ๆซึ่งยังไม่ได้มองถึงต้นทุนราคาเครื่อง จากการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต ผลผลิตและสมบัติทางเคมีจะเห็นได้ว่าการใช้วิธีการสกัดแบบผสมผสานเป็นตัวเลือกที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามการใช้คลื่นไมโครเวฟเป็นข้อห้ามในผลิตภัณฑ์เกษตรอินทรีย์ ตัวเลือกอื่นรองมาอย่างวิธีการสกัดด้วยวิธีผสมผสานด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับเครื่องบดคอลลอยด์ วิธีการสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ วิธีการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต และวิธีการสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์ มีความเป็นไปได้สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์เกษตรอินทรีย์

ตารางที่ 4.12 ต้นทุนการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์ต่อกิโลกรัมผลิตภัณฑ์

วิธีการสกัด/ เครื่องมือที่ใช้ (วัตต์ และชั่วโมง)	หน่วย (ยูนิต)	ค่าไฟฟ้า (บาท)	ค่าสารเคมี (บาท)	ต้นทุน(บาท/กก. ผลิตผลิตภัณฑ์
การสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่				
Megnetic stirrer (50 W × 0.08 h)	0.0			
Ultrasonic (750 W × 0.08 h)	0.1			
Centrifuge (500 W × 0.33 h)	0.2	280	-	19,000
Freezer (500 W × 6 h)	3			
Freeze-dryer (5000 W × 24 h)	120			
การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต				
Autoclave (3000 W × 0.25 h)	0.75			
Centrifuge (500 W × 0.33 h)	0.17	282	-	11,000
Freezer (500 W × 6 h)	3			
Freeze-dryer (5000 W × 24 h)	120			

ตารางที่ 4.12 ต้นทุนการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวอินทรีย์ต่อกิโลกรัมผลิตภัณฑ์ (ต่อ)

วิธีการสกัด/ เครื่องมือที่ใช้ (วัตต์ และชั่วโมง)	หน่วย (ยูนิต)	ค่าไฟฟ้า* (บาท)	ค่าสารเคมี (บาท)	ต้นทุน(บาท/กก. ผลิตผลิตภัณฑ์
การสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนซ์				
Colloid mill (2500 W × 0.5 h)	1.25	283	-	14,000
Centrifuge (500 W × 0.33 h)	0.17			
Freezer (500 W × 6 h)	3			
Freeze-dryer (5000 W × 24 h)	120			
การสกัดโดยใช้เอนไซม์		285	2211**	78,000
Colloid mill (1000 W × 2 h)	2			
Centrifuge (500 W × 0.33 h)	0.17			
Freezer (500 W × 6 h)	3			
Freeze-dryer (5000 W × 24 h)	120			
การสกัดด้วยการใช้สารละลายด่าง				
Incubator (1000 W × 1 h)	1	283	15***	14,000
Agitator (300 W × 1 h)	0.3			
Centrifuge (500 W × 0.33 h)	0.17			
Freezer (500 W × 6 h)	3			
Freeze-dryer (5000 W × 24 h)	120			
การสกัดด้วยวิธีผสมผสานด้วยการใช้ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจีไนซ์				
Microwave oven (500 W × 0.08 h)	0.01	280	42****	28,000
Homogenizer (500 W × 0.17 h)	0.08			
Centrifuge (500 W × 0.5 h)	0.25			
Freezer (500 W × 6 h)	3			
Freeze-dryer (5000 W × 24 h)	120			
การสกัดด้วยวิธีผสมผสานด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับเครื่องบดคอลลอยด์				
Ultrasonic (160 W × 0.08 h)	0.01	280	42****	60,000
Homogenizer (500 W × 0.17 h)	0.08			
Centrifuge (500 W × 0.5 h)	0.25			
Freezing (500 W × 6 h)	3			
Freeze-dryer (5000 W × 24 h)	120			

* *ค่าใช้ไฟฟ้าคำนวณจากอัตรา 2.2734 บาทต่อหน่วย*

* *ค่าใช้ไฟฟ้าคำนวณจากอัตรา 2.2734 บาทต่อหน่วย*

** *ค่าเอนไซม์*

*** *ค่าสารโซเดียมไฮดรอกไซด์*

**** *ค่าสารละลายบิวทานอล*

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์มีผลต่อสมบัติด้านต่าง ๆ ของโปรตีนรำข้าวทั้งในเชิงบวกและเชิงลบรวมถึงแนวทางการนำโปรตีนรำข้าวไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยวิธีการสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ให้สมบัติด้านความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ ความสามารถในการละลาย และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบอื่น ๆ อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อพิจารณาจากปริมาณโปรตีนแล้ว วิธีการดังกล่าวยังไม่สามารถให้ปริมาณโปรตีนได้ตามที่ต้องการเพื่อที่จะใช้เป็นโปรตีนเข้มข้นถึงแม้ว่าวิธีการดังกล่าวสามารถบอกได้ว่าเป็นวิธีการแบบเกษตรอินทรีย์ก็ตาม สำหรับการใช้วิธีการแบบผสมผสานสรุปได้ว่าการใช้ไมโครเวฟร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ตัวอย่างจะให้ประสิทธิภาพการสกัดที่สามารถเทียบเคียงได้กับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมซึ่งใช้สารละลายด่างโดยให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นถึงเจ็ดเท่าจากตัวอย่างเริ่มต้น นอกจากนั้นสมบัติทางด้านเคมีก็สามารถเทียบเคียงได้เช่นเดียวกัน ร้อยละของผลผลิตจากวิธีการสกัดดังกล่าวอยู่ที่ 11.68 และตัวอย่างที่ได้มีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 93.68 กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญได้แก่ Lysine และ Histidine อย่างไรก็วิธีนี้ทำให้ไม่สามารถคงความเป็นผลิตภัณฑ์เกษตรอินทรีย์ได้ตามข้อกำหนด แต่ยังมีวิธีแบบผสมผสานโดยการใช้คลื่นความถี่ร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ ที่ทำให้ได้โปรตีนที่ได้ยังมีสมบัติการต้านออกซิเดชันที่ดี รวมถึงมีสมบัติเชิงหน้าที่ดีเช่นเดียวกัน เหมาะแก่การนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร ถึงแม้จะได้ผลผลิตที่น้อยกว่าวิธีดั้งเดิม ดั้งนั้นจึงแนะนำวิธีการสกัดแบบผสมผสานคลื่นความถี่ร่วมกับโฮโมจิไนเซอร์ซึ่งเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในปรับปรุงสมบัติของโปรตีนจากรำข้าวโดยสามารถกล่าวได้ว่าเป็นวิธีการแบบเกษตรอินทรีย์ทางเลือกใหม่

ข้อเสนอแนะ

1. หากต้องการนำผลการทดลองดังกล่าวไปใช้จริง การศึกษาในระดับโรงงานต้นแบบยังมีความจำเป็นรวมถึงการประเมินจุดคุ้มทุนและร้อยละของผลผลิตที่ได้จากกระบวนการสกัดด้วย
2. พยายามหาวิธีการสกัดที่ปราศจาการใช้สารเคมีในทุกขั้นตอน และเครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้สามารถขยายขนาดไปสู่การผลิตจริงได้ในระดับอุตสาหกรรม
3. การใช้วิธีการสกัดแบบผสมผสานด้วยคลื่นความถี่ร่วมกับการโฮโมจิไนซ์ให้ผลร้อยละการกลับคืนของโปรตีนจากรำข้าวที่ต่ำกว่าการใช้วิธีดั่งเดิม แต่ถือว่าเป็นแนวทางของการผลิตสินค้าเกษตรอินทรีย์ และการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมอาจจะเกิดความยุ่งยากมากขึ้นและควรศึกษาการเพิ่มการกลับคืนของผลผลิตให้มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2555. สถานการณ์การผลิตและการตลาดข้าวของโลก ปีการผลิต 2555/2556 (ออนไลน์) ค้นคืนวันที่ 15 พฤศจิกายน 2557 จาก www.ricethailand.go.th/home/images/rice_situation/Sep 12.pdf

ยุวดี มาอยู่. 2546. การผลิตสารให้ความขุ่นจากโปรตีนรำ ข้าวเข้มข้นเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์การอาหารบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมพร อิศวิลานนท์และ ปรุฬห์ สันติธรรมรักษ์. 2555 รายงานสถานการณ์การผลิตและการค้าข้าวของโลก และ ของไทยปี 2554 และแนวโน้ม เอกสารเผยแพร่ชุดโครงการการเสริมสร้างความเข้มแข็งงานวิจัย เชิง นโยบายเกษตร กรุงเทพมหานคร สถาบันคลังสมองของชาติและสานักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 5-8

ศิริวัฒน์ มงคลกาญจนสิริ. 2545. การผลิตโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์การอาหารบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มาตรฐานเกษตรอินทรีย์ 2555. สำนักงานมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ (มกท) (ออนไลน์) ค้นคืนวันที่ 5 กันยายน 2557 จาก www.actorganic-cert.or.th/download/ACT%20Standards%202012.pdf

หลักการผลิตข้าวอินทรีย์ 2555. ชมรมเกษตรอินทรีย์แห่งประเทศไทย (ออนไลน์) ค้นคืนวันที่ 13 กันยายน 2557 จาก http://www.oatthailand.org/index.php/ rice

Akubor P. I. and Obiegbuna J. E. 1999. Certain chemical and functional properties of ungerminated and germinated millet flour. Journal of Food Science and Technology, 36: 241-243.

Akubor P. I. and Badifu G. I. O. 2004. Chemical composition, functional properties and baking potential of African bread fruit kernel and wheat flour blends. International Journal of Food Science and Technology, 39: 223-229.

American Association of Cereal Chemists: St. Paul, M. N. Laemmli U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.

Anderson A. K. and Guraya H. S. 2001. Extractability of protein in physically processed rice bran. Journal of the American Oil Chemists' Society, 78(9): 969-972.

A.O.A.C. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 2 vols. 15th ed. Washington, DC.

A.O.A.C. 2000. Official Method of Analysis 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arligton, Virginia.

Ansharullah Hourigan, J. A. and Chesterman C. F. 1997. Application of carbohydrases in extracting protein from rice bran. Journal of the Science of Food and Agriculture, 74: 141-146.

Bandyopadhyay, K., Charaboty, C. and A. K. Barman. 2012. Effect of microwave and enzymatic treatment on the recovery of protein from Indian defatted rice bran meal. Oleo Science. 61: 525-529.

Benzie F. F. I. and Strain J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239: 70-76.

Bera, B. M. and Mukherjee K. R. 1989. Solubility, emulsifying, and foaming properties of rice bran protein concentrates. Journal of Food Science, 54(1): 142-145.

Biller, P., Friedman, C. and Ross, A. B. 2013. Hydrothermal microwave processing of microalgae as a pre-treatment and extraction technique for bio-fuels and bio-products. Bioresource Technology, 136: 188-195.

Brand-Williams, W., Cuvelier. M. E. and Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technology, 28: 25-30.

Chandi, K. G. and Sogi, D. S. 2007. Functional properties of rice bran protein concentrates. Journal of Food Engineer, 79(2): 592-597.

Chanput, W., Theerakulkait, C. and Nakai, S., 2009. Antioxidative properties of partially purified barley hordein, rice bran protein fractions and their hydrolysates. Journal Cereal Science. 49:422-428.

Chittapalo, T. and Noomhorm. A. 2009. Ultrasonic assisted alkali extraction of protein from defatted rice bran and properties of the protein concentrates. Food Science and Technology International. 44: 1843-1849.

Chotimarkorn, C., Benjakul, S. and Silalai, N. 2008. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. Food Chemistry, 111: 636-641.

Connor, M. A., Saunders, R. M. and Kohler, G. O. 1976. Rice bran protein concentrates obtained by wet alkaline extraction, Cereal Chemistry, 53(4): 488.

Dasgupta, N. and De, B. 2004. antioxidant activity of piper beetle L. Leaf extract *in vitro*. Food Chemistry, 88: 291-224.

Fabian, C. and Ju, Y. H. 2011. A review on rice bran protein: its properties and extraction methods. Critical Review in Food Science Nutrition, 51: 816-827.

Faccin, G. L., Vieira, L. N., Miotto, L. A. Barreto, P. L. M. and Amante, E. R. 2009. Chemical sensorial and rheological properties of a new organic rice bran beverage. Rice Science, 16(3): 226-234.

FAOSTAT. 2012. (available at: www.faostat.fao.org/).

Friedman, M. 2013. Rice brans, rice bran oils, and rice hulls: Composition, food and industrial uses, and bioactivities in humans, animals, and cells. Journal of Agricultureal and Food Chemistry, 61: 10626-10641.

Gao, M. T., Kaneko, M., Hirata, M., Toorisaka, E. and Hano, T. 2008. Utilization of rice bran as nutrient source for fermentative lactic acid production. Bioresource Technology, 99: 3659-3664.

Gaur, R., Sharma, A., Khare, S. K. and Gupta, M. N. 2007. A novel process for extraction of edible oils enzyme assisted three phase partitioning (EATPP). Bioresource Technology, 98: 696-699.

Giese, J. 1994. Proteins as ingredients: Types, functions, applications. Food Technology, 48: 50-60.

Gu, Z. and Glatz, E. C. 2007. Aqueous two-phase extraction for protein recovery from corn extracts. Journal of Chromatography B, 845(1): 38-50.

Hamada, S. J. 2000. Characterization and Functional Properties of Rice Bran Proteins Modified by Commercial Exoproteases and Endoproteases. Journal of Food Science, 65: 305--310.

Hata S., Wiboonsirikul J., Maedab A., Kimura Y., and Adachi S. 2008. Extraction of defatted rice bran by subcritical water treatment. Biochemical Engineering Journal, 40(1): 45.

Jiamyangyuen, S. Srijesdaruk, V. and Harper, J. W. 2005. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 27(1): 55-62.

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

Juliano, B. O. 1985. Rice bran. In: Rice Chemistry and Technology, 647-680. Juliano, B. O., Ed., American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.

Kaewboonnum, W., Wachararuji, K. and Shotipruk, A. 2008. Value added products from by-products of rice bran oil processing. Chiang Mai Journal Science. 2008; 35(1): 116-122

Kawamura, Y. and Muramoto, M. 1993. Anti-tumorigenic and immunoactive protein and peptide factors in food stuff. 2. Antitumorigenic factors in rice bran. In: Food and Cancer Prevention Chemical and Biological Aspects, pp. 331-401. Waldron K.W., Johnson I.T., and Fenwick L.R., Eds., The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Khan, H. S., Butt S. M., Sharif, K. M., Sameen, A., Mumtaz, S. and Sultan, T. M. 2011. Functional Properties of Protein Isolates Extracted from Stabilized Rice Bran by Microwave, Dry Heat, and Parboiling. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(6): 2416-2420.

Khuwijitjaru, P. Nualchan, P. and Adachi, S. 2007. Foaming and emulsifying properties of rice bran extracts obtained by subcritical water treatment. Silpakorn University Science and Technology Journal, 1(1): 7-12.

Kim, D. and Han, G. D. 2012. Ameliorating effects of fermented rice bran extract on oxidative stress induced by high glucose and hydrogen peroxide in 3T3-L1 adipocytes. Plant Foods for Human Nutrition, 66: 285-290.

Lerma-Garcia, M. J., Herrero-Martinez, J. M., Simo-Alfonso, E., F., Mendonca, C. R. B. and Ramis-Ramos, G. 2009. Composition, industrial processing and applications of ricw bran γ-orzanol. Food Chemistry, 115: 389-404.

Li, S. C., Chou, T. C. and Shih, C. K. 2011. Effects of brown rice, rice bran, and polished rice on colon carcinogenesis in rats. Food Research International, 44(1): 209-216.

Mawal, Y. R., Mawal, M. R. and Ranjekar, P. K. 1987. Biochemical and immunological characterization of rice albumin. Bioscience Republish, 7: 1-9.

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26(2): 211-219.

Nontasan, S., Moongngarm, A. and Deeseenthum, S. 2012. Application of functional colorant prepared from black rice bran in yogurt. APCBEE Procedia, 2: 62-67.

Phetcharat, P. and Duangpaeng, A. 2012. Screening of Endophytic Bacteria from Organic Rice Tissuefor Indole Acetic Acid Production. Procedia Engineering, 32: 177-178.

Parrado, J., Miramontes, E., Jover, M., Gutierrez, J. F., de Teran, L. C. and Bautista, J. 2006. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. Food Chemistry, 98: 742-748.

Pourali, O. Asghari, S. F. and Yoshida, H. 2009. Sub-critical water treatment of rice bran to produce valuable materials. Food chemistry,115(1): 2.

Prakash, J. 1991. Studies on Rice Bran Proteins and Their Use in Food Formulations, Ph.D. dissertation, University of Mysore, Mysore, India.

Prakash, J. and Ramanathan, G. 1994. Effect of stabilization of rice bran on the extractability and recovery of proteins. Nahrung, 38: 87-95.

Prakash, J. and Ramanatham, G. 1995. Effect of stabilization treatment of rice bran on functional properties of protein concentrates. Journal of the Science of Food and Agriculture, 67(2): 181-187.

Prakash, J. 1996. Rice bran proteins: properties and food uses. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 36(6): 537-552.

Rohman, A., Helmiyati, S., Hapsari, M. and Setyaningrum, D. L. 2014. Rice in health and nutrition. International Food Research Journal, 21(1): 13-24.

Ryan, P. E. 2011. Bioactive food components and health properties of rice bran. Journal of the American Veterinary Medical Association, 238(5): 593-600.

Saunders, R. M. 1990. The properties of rice bran as a food stuff. Cereal Food World. 35(7): 632-662.

Sereewatthanawut, I., Prapintip, S., Watchiraruji, K., Goto, M., Sasaki, M. and Shotipruk, A. 2008. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. Bioresour Technology, 99(3): 555-561.

Shah, S., Sharma, A. and Gupta, M. N. 2004. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by enzyme assisted three phase partitioning. Industrial Crops and Products. 20: 275-279.

Sharma, A., Khare, S. K. and Gupta, M. N. 2002. Three phase partitioning for extraction of oil form soybean. Bioresource Technology, 85: 327-329.

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymolecular 299, 152-178.

Shih, F. F. 2003. An update on the processing of high-protein rice product. Nahrung, 47(6): 420-424.

Sirikul, A., Moongngarm, A. and Khaengkhan, P. 2009. Comparison of proximate composition, bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran and defatted rice bran from organic rice and conventional rice. Asian Journal of Food and Agro-Industry, 2(4): 731-743.

Tabaraki, R. and Nateghi, A. 2011. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology, Ultrasonics Sonochemistry, 18: 1279-1286.

Tang, S., Hettiarachchy, S. N. and Shellhammer, H. T. 2002. Protein Extraction from Heat-Stabilized Defatted Rice Bran. 1. Physical Processing and Enzyme Treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(25): 7445.

Tang, S., Hettiarachchy, N. S. Horax, R. and Eswaranandam, S. 2003. Physicochemistry properties and functionality of rice bran protein hydrolysate prepared from heat-stabilized defatted rice bran with the aid of enzymes. Journal of Food Science, 68: 152-157.

Tand, S., Hettiarachchy, S. N., Horax, R. and Eswarnandam, S. 2003. Physicochemical Properties and Functionality of Rice Bran Protein Hydrolyzate Prepared from Heat-stabilized Defatted Rice Bran with the Aid of Enzymes. Journal of Food Chemistry and Toxicology, 68(1): 152-157.

USDA. 2012. (available at: www.agcensus.usda.gov/Publications/2012/).

Vojdani, F. 1996. Solubility. In: Methods of Testing Protein Functionality, cap. 2, p. 11-60, London: Blackie Academic & Professional.

London: Blackie Academic & Professional, 1996. Cap.1, p. 11-60.Wang, M., Hettiarachchy, S. N., Qi, M., Burks, W. and Siebenmogen, T. 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(2): 411-416.

Wataniyakul, P., Pavasant, P., Goto, M. and Shotipruk, A. 2012. Microwave pretreatment of defatted rice bran for enhanced recovery of total phenolic compounds extracted by subcritical water. Bioresource Technology. 124: 18-22.

Weir, G. S. D. 1986. Protein hydrolysates as flavorings in development. In: Food Protein, pp. 175-217. Hudson, B.J.F., Ed., Elsevier, London.

Wiboonsirikul, J., Kimra, Y., Kanaya, Y., Tsuno, T. and Adachi, S. 2008. Production and Characterization of Functional Substances from a By-Product of Rice Bran Oil and Protein Production by a Compressed Hot Water Treatment. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 72(2): 384-392.

Yadav, B. R., Yadav, S. B. and Chaudhry, D. 2011. Extrction, characterization and utilization of rice bran protein concentrate for biscuit making. British food Journal, 113: 1173-1182.

Yeom, H. J., Lee, E. H. Ha, M. S., Ha, S. D. and Bae, D. H. 2010. Production and physicochemical properties of rice bran protein Isolates prepared with autoclaving and enzymatic hydrolysis. Journal of the Korean Socity for Applied Biological Chemistry. 53(1): 62-70.

Youssef, A. M., El-Fouly, M. M. and El-Baz, F. K. 1974. Isolation and chemical composition of protein concentrates from soy bean, rice bran and protelan, Plant Food Hum. Nutrue, 27: 71.

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

ADDRESS
Mae Fah Luang University
333 Moo 1, Thasud,
Muang, Chiang Rai
57100 Thailand

TELEPHONE
(+66) 053-91-6752
(+66) 081-599-5960

FACSIMILE
(+66) 053-91-6739

E-MAIL
saroat@mfu.ac.th

DATE OF BIRTH
March 8, 1975

MARITAL STATUS
Single

NATIONALITIY
THAI-3920100570514

POSITION
Lecturer
Assistant Professor

INTERESTs
- Biochemistry of Food Protein & Enzymes
- Technology of Meat, Poultry & Fish Products
- Agricultural by-Products Utilization

CURRICULUM VITAE SAROAT RAWDKUEN

EDUCATION

2001-2005 Prince of Songkla University THAILAND
Doctor of Philosophy in Food Technology (emphasis in Food Chemistry and Biochemistry)
GPA. 3.95

1995-1999 Prince of Songkla University THAILAND
Bachelor of Science in Agro-Industry (First Class Hons.) (emphasis in Food Science and Technology)
GPA. 3.51

PROFESSIONAL EXPERIENCE

Oct 2008- **Assistant Professor**
School of Agro-Industry, Mae Fah Luang University, Chiang Rai. Thailand

Mar 2006- Oct 2008 **Lecturer**
School of Agro-Industry, Mae Fah Luang University, Chiang Rai. Thailand

Aug 2004- Dec 2004 **Research Supervisor**
Thai Foods and Drinks Development Project (OTOP & SMEs for Southern Part) Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand

Jul 2000- Mar 2001 **Assistant Quality Control Manager**
Pan Asia (1981) Co., Ltd. Suratthani, Thailand

Apr 1999- Jun 2000 **Production Supervisor**
Pan Asia (1981) Co., Ltd. Suratthani, Thailand

Mar- Apr 1997 **Trainee**
South East Asian Packaging and Canning Co., Ltd. Pattani, Thailand

SUPPORTING EXPERIENCE/TRAINING

Apr 2013 **Application of Hydrocolloids in Foods**
National Food Institute, IMPACT, Bangkok, Thailand

May 2012 **Techniques in the Analysis of Free Radicals, Antioxidants, and Oxidative Stress Markers**
Society for free radical research Thai and School of medical science, University of Phayao, Phayao, Thailand

Apr 2011 **Meat Products Processing Workshop**
Research and Development of Meat Products, Department of Livestock, Chiang Mai, Thailand

Oct 2010	**Improved Utilization of Fishery by Products as Potential Nutraceuticals and Functional Foods** Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, Thailand
Aug 2009	**Thai Qualifications Framework for Higher Education (TQF: HEd)** Office of the Higher Education Commission, Ayudhya, Thailand
Apr 2009	**Research Project Management** National Research Council of Thailand, Bangkok, Thailand

TEACHING EXPERIENCE

Undergraduate (BSc.)	Food Chemistry Food Analysis Process Operation Food Processing Dairy Products Technology Technology of Meat, Poultry and Egg Products Food Quality Assurance Quality Characteristics of Agricultural Materials Quality System and Management in Agro-Industry Research Project in Food Technology
Graduate (MSc. & Ph.D)	Advanced Food Chemistry Advanced Food Processing Advanced Food Enzyme Technology Functional Properties of Food Selected Topics in Food Chemistry Quality Control Design in Agro-Industry Research Methodology for Agro-Industry

AD HOC REVIEWER FOR

ACS Publisher	Journal of Agricultural and Food Chemistry
Elsevier Publisher	Biochemical Engineering Journal Bioresource Technology Food Chemistry Journal of Plant Physiology LWT-Food Science and Technology Process Biochemistry Separation and Purification Technology
SpringerLink	Food and Bioprocess Technology International Aquatic Research
Wiley Online Library	Aquaculture Research Journal of Food Biochemistry International Journal of Food Science and Technology
Taylor & Francis Online	Journal of Aquatic Food Product Technology Separation Science and Technology

THAI Publishers	Asian Journal of Food & Agro-Industry Chiang Mai Journal of Science Songklanakarin Journal of Science and Technology
Others-Open Access	International Journal of Fisheries and Aquaculture International Journal of Nutrition and Metabolism ISABB Journal of Food and Agricultural Sciences Journal of Agricultural Science and Technology Journal of De La Soiete Chimique De Tunisie Journal of Food Science and Engineering Journal of Scientific Research and Reports Scientific Research and Essays The Natural Product Journal

LIST OF PUBLICATION

Ketnawa, S., Benjakul, S., Ling T.C., Martinez-Alvarez, O., and Rawdkuen, S. 2013. Enhanced recovery of alkaline protease from giant catfish viscera by phase partitioning and its application. Chem. Centrl. J. *Accepted.*

Rawdkuen, S., Thitipramote, N., and Benjakul, S. 2013. Preparation and functional characterization of fish skin gelatins and comparison with commercial gelatin. Int. J. Food Sci. Technol.48: 1093-1102.

Ketnawa, S., and Rawdkuen, S., 2013. Purification and characterization of ACE inhibitory peptide from aquatic resources: a review. Int. J. Plant, Animal, Environ. 3: 220-233.

Ketnawa, S., and Rawdkuen, S. 2013. Enzymatic method for ACE inhibitory peptide derived from aquatic resources: a review. Int. J. Biol. Pharm. All. Sci. 2:469-494.

Rawdkuen, S., Jaimakreu, M., and Benjakul, S. 2013. Physicochemical properties and tenderness of meat samples using proteolytic extract from *Calotropis procera* latex. Food Chem. 136: 909-916.

Rawdkuen, S., Suthiluk, P., Kamhangwong, D., and Benjakul, S. 2012. Mechanical, physic-chemical and antimicrobial properties of gelatin-based film incorporated with catechin-lysozyme. Chem Centrl J. 6: 131

Ketnawa, S., and Rawdkuen, S. 2012. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from aquatic and their processing by-products: a review. Int. J. Sci. Innov. Discov. 2: 185-199.

Rawdkuen, S., Vanabun, A., and Benjakul, S. 2012. Recovery of proteases from viscera of farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*) by three-phase partitioning. Process. Biochem. 47: 2566-2569.

Rawdkuen, S., and Benjakul, S. 2012. Biochemical and microstructural characteristics of meat samples treated with different plant proteases. Afr. J. Biotechnol. 11(76): 14088-14095.

Rawdkuen, S., Suthiluk, P., Kamhangwong, D., and Benjakul, S. 2012. Antimicrobial activity of some potential active compounds against food spoilage microorganisms. Afr. J. Biotechnol. 11(74): 13914-13921.

Ketnawa, S., Chaiwut, P., and Rawdkuen, S. 2012. Pineapple wastes: a potential source for bromelain extraction. Food Bioprod. Process. 90: 385-391.

Sai-Ut, S., Jongjareonrak, A., and Rawdkuen, S. 2012. Re-extraction, recovery and characteristics of skin gelatin from farmed giant catfish. Food Bioproc. Technol. 5: 1197-1205.

Thitipramote, N., and Rawdkuen, S. 2011. Histological structure and chemical composition of the farmed giant catfish's skin. J. Microscop. Soc. Thailand 4(2): 89-93.

Wongwien, W., Srichan, N., Rawdkuen, S., and Thitipramote, N. 2011. Extraction and characterization of acid-soluble collagen from skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). Thai J. Agric. Sci. 44(5): 369-373. (Spcl. Iss.)

Sroimori, T., Srisunton, S., Rawdkuen, S., Pintathong, P. and Chaiwut, P. 2011. Extraction of phenolic antioxidants from peels and seeds of the Royal project's fruits. Thai J. Agric. Sci. 44(5): 113-117. (Spcl. Iss.)

Bandasak, C., Rawdkuen, S., Pintathong, P., and Chaiwut, P. 2011. Bioactivities of *Carica papaya* latex extract. Thai J. Agric. Sci. 44(5): 106-112. (Spcl. Iss.)

Rawdkuen, S., Pintathong, P., Chaiwut, P., and Benjakul, S. 2011. The partitioning of protease from *Calotropis procera* latex by aqueous two-phase systems and its hydrolytic pattern on muscle proteins. Food Bioprod. Process. 89: 73-80.

Ketnawa, S., Chaiwut, P., and Rawdkuen, S. 2011. Aqueous two phase extraction of bromelain from pineapple peels (*Phu Lae* cultv.) and its biochemical properties. Food Sci. Biotechnol. 20(5): 1219-1226.

Ketnawa, S., Chaiwut, P., and Rawdkuen, S. 2011. Extraction of bromelain from pineapple peels. Food Sci. Technol. Int. 17(4): 395-402.

Ketnawa, S., and Rawdkuen, S. 2011. Application of bromelain extract for muscle foods tenderization. Food Nutrition Sci. 2: 393-401.

Suksomboon, K., and Rawdkuen, S. 2010. Effect of microbial transglutaminase on physicochemical properties of ostrich meat ball. As. J. Food & Ag-Ind. 3 (05): 505-515.

Ketnawa, S., Rawdkuen, S., and Chaiwut, P. 2010. Two phase partitioning and collagen hydrolysis of bromelain from pineapple peel *Nang Lae* cultivar. Biochem. Eng. J. 52: 205-211.

Rawdkuen, S., Sai-UT, S., and Benjakul. S. 2010. Properties of gelatin films from farmed giant catfish skin and bovine bone: a comparative study. Euro. Food Res. Technol. 231: 907-916.

Khadpoon, N., Pintathong, P., Chaiwut, P., and Rawdkuen, S. 2010. Aqueous two phase partitioning of protease from *Calotropis procera* latex. As. J. Food & Ag-Ind. 3 (01): 82-92.

Rawdkuen, S., Chaiwut, P., Pintathong, P., and Benjakul, S. 2010. Three-phase partitioning of protease from *Calotropis procera* latex. Biochem. Eng. J. 50: 145-149.

Chaiwut, P., Rawdkuen, S., and Benjakul, S. 2010. Extraction of protease from *Calotropis procera* latex by polyethyleneglycol-salts biphasic system. Process Biochem. 45: 1148-1155.

Chaiwut, P., Pintathong, P., and Rawdkuen, S. 2010. Extraction and three-phase partitioning behavior of proteases from papaya peels. Process Biochem. 45: 1172-1175.

Rawdkuen, S., Jongjareonrak, A., Phatcharat, S., and Benjakul, S. 2010. Assessment of protein changes in farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*) muscles during refrigerated storage. Int. J. Food Sci & Technol. 45:985-994.

Wati, R. K., Theppakorn, T., and Rawdkuen, S. 2010. Trypsin inhibitor from three legume seeds: fractionation and autolysis inhibition study. J. Food Sci. 75: 223-228.

Chaijan, M., Jongjareonrak, A., Phatcharat, S., Benjakul, S., and Rawdkuen, S. 2010. Chemical compositions and characteristics of farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas)* muscle. LWT-Food Sci. Tech. 43:452-457.

Jongjareonrak, A., Rawdkuen, S., Chaijan, M., Benjakul, S., Osako, K., and Tanaka, M. 2010. Chemical compositions and characterisation of skin gelatin from farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*). LWT-Food Sci.Tech. 43: 161-165.

Sai-Ut, S., Ketnawa, S., Chaiwut, P., and Rawdkuen. S. 2009. Biochemical and functional properties of legume proteins from the Royal Project Foundation. As. J. Food & Ag-Ind. 2 (4), 493-504.

Ketnawa, S., Sai-Ut, S., Theppakorn, T., Chaiwut, P., and Rawdkuen, S. 2009. Partitioning of bromelain from pineapple peel (*Nang Lae cultv.*) by aqueous two phase system. As. J. Food & Ag-Ind. 2 (4), 457-468.

Wati, R.K., Theppakorn, T., Benjakul, S., and Rawdkuen, S. 2009. Three phase partitioning of trypsin inhibitor from legume seeds. Process Biochem. 44 (12), 1307-1314.

Wati, R.K., Theppakorn, T., and Rawdkuen, S. 2009. Extraction of trypsin inhibitor from three legume seeds of the Rayal Project Foundation. As. J. Food & Ag-Ind. 2 (3): 245-254.

Rawdkuen, S., Sai-Ut, S., Khamsorn, S., Chaijan, M. and Benjakul, S. 2009. Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using acid-alkaline process. Food Chem. 112, 112-119.

Rawdkuen, S., Jongjareonrak, A., Benjakul, S. and Chaijan, M. 2008. Discoloration and lipid deterioration of farmed giant catfish (*Pangasianodon gigase*) muscle during refrigerated storage. J. Food Sci. 73: 179-184.

Rawdkuen, S. and Benjakul, S. 2008. Whey protein concentrate: autolysis inhibition and effect on gel properties of surimi from some tropical fish. Food Chem. 106: 1077-1084.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2008. Rheological and textural properties of Pacific whiting surimi gels as influenced by chicken plasma. Int. J. Food Properties. 11 (4): 820-832.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2007. Effect of chicken plasma protein on proteolysis and gel-forming ability of sardine (*Sardinella gibbosa*) surimi. J. Food Process & Preserv. 31(4): 492-516.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2007. Effect of cysteine proteinase inhibitor containing fraction from chicken plasma on autolysis and gelation of Pacific whiting surimi. Food Hydrocolloid. 21(7): 1209-1216.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2007. Cysteine proteinase inhibitor from chicken plasma: fractionation, characterization and autolysis inhibition of fish myofibrillar proteins. Food Chem. 101(4): 1647-1657.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2006. Partial purification and characterization of cysteine proteinase inhibitor from chicken plasma. Comp. Biochem. Physiol. Part B. 114: 544-552.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2005. Fractionation and characterization of cysteine proteinase inhibitor from chicken plasma protein. J. Food Biochem. 29: 486-503.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2005. Combination effects of chicken plasma protein and setting phenomenon on gel properties and cross-linking of bigeye snapper muscle proteins. Lebensm.-Wiss. u. Technol. 38: 353-362.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2004. Chicken plasma protein: proteinase inhibitory activity and its effect of surimi gel properties. Food Res. Int. 37: 156-165.

Rawdkuen, S., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Lanier, T. C. 2004. Chicken plasma protein affects gelation of surimi from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). Food Hydrocolloid. 18: 259-270.

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

ภาคผนวก

รายงานการเผยแพร่

1. กิตติมา ไตรรัตนศิริชัย และ สาโรจน์ รอดดีน (2555) สมบัติทางเคมี-กายภาพ ชีววิทยา และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ รายงานการประชุมฉบับเต็ม การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2 ระหว่างวันที่ 21-23 ธันวาคม 2555 โรงแรม Swissotel Le Concord กรุงเทพฯ
2. Sirapat Patsanguan, Nattanun Hisaranusorn, Suphat Phongthai, and Saroat Rawdkuen (2013). Enhancement protein recovery from organic rice bran by using combination extraction techniques. Proceeding of the 25th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference. October 16-19, 2013. The Emerald Hotel, Bangkok.
3. Sirapat Patsanguan, Nattanun Hisaranusorn, Suphat Phongthai and Saroat Rawdkuen (2014). Rice bran protein isolates: preparation and their physico-chemical and functional properties. Proceeding of the 2nd International Conference on Food And Applied Bioscience. February 6-7, 2014. The Empress Hotel, Chiang Mai.
4. Suphat Phongthai and Saroat Rawdkuen (2014). Preparation of rice bran rrotein isolates using three-phase partitioning and its properties. Proceeding of the 2nd International Conference on Food And Applied Bioscience. February 6-7, 2014. The Empress Hotel, Chiang Mai.
5. Nattanun Hisaranusorn and Saroat Rawdkuen (2014). Recovery and properties of rice bran protein using different precipitation techniques. Proceeding of the 1st Joint ACS AGFD-ACS ICSCT Symposium on Agricultural and Food Chemistry. March 4-5, 2014. Montien Riverside Hotel Bangkok.

บทคัดย่อ
การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2
มิติใหม่วิจัยข้าวไทย
พร้อมรับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ
และการเปิดตลาดเสรีอาเซียน
วันที่ 21-23 ธันวาคม 2555
โรงแรม Swissotel Le Concorde กรุงเทพมหานคร
จัดโดย
สวก. ARDA
สวทช NSTDA
สนับสนุนโดย
ptt
ข้าวตราฉัตร

641

P 6-6

สมบัติทางเคมี-กายภาพ ชีววิทยา และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์

Physico-chemical, Biological and Functional Properties of Proteins from Organic Rice bran

กิตติมา ไตรรัตนศิริชัย และ สาโรจน์ รอดคืน
สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย
E-mail: saroat@mfu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี-กายภาพ ชีววิทยา และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดมาจากรำข้าวอินทรีย์ด้วยกระบวนการต่าง ๆ โปรตีนรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยเอนไซม์ไฟเตสและไซลาเนสมีค่าความแตกต่างในค่าของสีน้อยที่สุด ($P<0.05$) ความหนาแน่นจำเพาะของโปรตีนรำข้าวมีค่าระหว่าง 0.71-0.73 กรัมต่อมิลลิลิตร ($P>0.05$) น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนรำข้าวที่ได้จากทุกวิธีการสกัดมีค่าระหว่าง 12.5-83.6 กิโลดาลตัน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้และความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโปรตีนรำข้าวที่สกัดได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โปรตีนรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ให้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (3.01 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมโปรตีนรำข้าว) ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (ร้อยละ 62.29) และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP 2.00 มิลลิโมล) สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ในขณะที่ความสามารถในการละลาย (ร้อยละ 48.36) และดูดซึมน้ำ (2.36 กรัมต่อกรัมตัวอย่าง) สูงสุดพบในโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีบดคอลลอยด์ร่วมกับโซโนจีไนเซอร์และการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ ตามลำดับ

คำสำคัญ: การสกัด โปรตีนรำข้าว รำข้าวอินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สมบัติเชิงหน้าที่

Abstract

Physico-chemical, biological and functional properties of proteins extracted from organic rice bran with different methods were determined. Rice bran protein (RBP) obtained from enzymatic (phytase-xylanase) extraction showed the lowest color difference (ΔE, $P<0.05$). Bulk density of RBP was ranged between 0.71-0.73 g/ml ($P>0.05$). Total soluble solid and pH of RBP obtained from different extraction methods were not significantly different ($P>0.05$). Sonication method provided the extract with the highest total phenolic content (3.01 mg tannic acid/g RBP), DPPH radical scavenging activity (62.29%), and ferric reducing activity power (FRAP 2.00 mM). The highest protein solubility (48.36%) and water absorption capacity (2.36 g/g sample) was found in the RBP extracted with the combination of colloid mill-homogenization and sonication method, respectively.

Key word: extraction, rice bran protein, organic rice bran, antioxidant, functional properties

คำนำ

รำข้าวเป็นผลิตผลพลอยได้จากกระบวนการขัดสีข้าวโดยมีปริมาณสูงถึงกว่า 60-68 ล้านเมตริกตันในแต่ละปีการผลิต หลายปีที่ผ่านมาประเทศไทยผลิตข้าวโดยเฉลี่ยปีละประมาณ 26 ล้านตัน (FAOSTAT, 2012) ซึ่งทำให้มีรำข้าวเกิดขึ้นกว่าปีละ 2.6 ล้านตัน ในการเพิ่มมูลค่าให้กับรำข้าวโดยทั่วไปจะถูกใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการสกัดน้ำมันรำข้าว อย่างไรก็ตามหลังกระบวนการสกัดน้ำมันแล้วกากรำข้าวยังมีสารประกอบที่สำคัญหลงเหลืออยู่โดยเฉพาะโปรตีน จากรายงานวิจัยพบว่าปริมาณโปรตีนในรำข้าวมีค่าประมาณร้อยละ 10-16 (Saunders 1990) มีงานวิจัยจำนวนมาก

ศึกษาวิธีการสกัดโปรตีนจากกากรำข้าวด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น การสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ การบดคอลลอยด์ การใช้น้ำกึ่งวิกฤต และการใช้เอนไซม์ (Fabian และ Ju, 2011, Tang และคณะ, 2002) ซึ่งจะทำให้ได้โปรตีนรำข้าวที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น (จากรำข้าวราคากิโลกรัมละ 8 บาทเป็น 1700 บาทเมื่อผลิตเป็นโปรตีนรำข้าวเข้มข้น) โดยปกติสมบัติด้านต่าง ๆ ของโปรตีนสกัดขึ้นอยู่กับวิธีการและสภาวะในระหว่างการสกัด บางวิธีรบกวนสมบัติธรรมชาติของโปรตีนอย่างรุนแรงทำให้ส่งผลต่อการนำโปรตีนสกัดไปใช้ประโยชน์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติของโปรตีนรำข้าวทางด้านเคมี-กายภาพ ชีววิทยา และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดได้จากรำข้าวอินทรีย์

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบและสารเคมี

ตัวอย่างรำข้าวหอมมะลิอินทรีย์ 035 ที่ผ่านการทำให้คงตัวแล้วจากบริษัท ไบโอเอเชีย จำกัด ไฟเตส (P-1259) และไซลาเนส (X-2753) จากบริษัทเอสเอ็มเคมีคอลซัพพลายจำกัด สารเคมีเกรดวิเคราะห์จากตัวแทนจำหน่ายสารเคมีในประเทศไทย

การสกัดโปรตีนรำข้าว

สกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ด้วยวิธีการต่าง ๆ 4 วิธีดังนี้ 1) การสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ (SN) ดัดแปลงจากวิธีการของ Tang และคณะ (2002) 2) การสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (CW) ดัดแปลงจากวิธีการสกัดของ Hata และคณะ (2008) 3) การสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโซโมจีไนเซอร์ (CMH) ดัดแปลงจากวิธีการสกัดของ Anderson และ Guraya (2001) และ 4) การสกัดโดยใช้เอนไซม์ไฟเตสร่วมกับไซลาเนส (ENZ) ดัดแปลงจากวิธีการสกัดของ Wang และคณะ (1999) นำสารละลายโปรตีนที่ได้จากแต่ละวิธีการสกัดไปทำแห้งด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

การวิเคราะห์สมบัติของโปรตีนรำข้าว

ตรวจวิเคราะห์สมบัติของรำข้าวทางด้านเคมี-กายภาพ (สี ความหนาแน่นจำเพาะ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ความเป็นกรด-ด่าง รูปแบบโปรตีน) ชีววิทยา (ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก) และสมบัติเชิงหน้าที่ (ความสามารถในการละลายและความสามารถในการดูดน้ำ) ตามวิธีการที่อ้างไว้ในการศึกษาของ Tang และคณะ (2002) Hata และคณะ (2008) และ Wang และคณะ (1999)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลองแต่ละปัจจัยศึกษาจำนวน 3 ซ้ำ นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

ผลการวิจัย

สมบัติทางเคมี-กายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

ลักษณะองค์ประกอบและความแตกต่างของค่าสีระหว่างตัวอย่างรำข้าวอินทรีย์กับโปรตีนรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการทั้ง 4 แสดงดังตารางที่ 1 โปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยวิธีการใช้น้ำกึ่งวิกฤติให้ค่า L^* สูงที่สุด (95.47) ในขณะค่าต่ำสุดพบในตัวอย่างโปรตีนที่สกัดด้วยเอนไซม์ ค่าความเป็นสีแดง (a^*) สูงสุดในตัวอย่างที่สกัดด้วยเอนไซม์ซึ่งสอดคล้องกับความสว่างที่ลดลง ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของตัวอย่างโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์เบื้องต้นมากที่สุดพบในโปรตีนที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต (36.74)

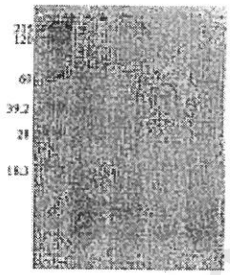
ความเป็นกรด-ด่าง และค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในตัวอย่างโปรตีนรำข้าวที่ได้จากสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ให้ค่าที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) โดยค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงของ 7.03-7.06 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของโปรตีนรำข้าวอยู่ในช่วงของ 1.08-1.13

ความหนาแน่นจำเพาะของโปรตีนรำข้าวที่สกัดได้มีค่า 0.73 0.72 0.73 และ 0.71 กรัมต่อมิลลิลิตร (P>0.05) จากการสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ การใช้น้ำกึ่งวิกฤต การสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโซโมจีไนเซอร์ และการใช้เอนไซม์ ตามลำดับ

ตารางที่ 1 สมบัติทางเคมี-กายภาพของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

ตัวอย่าง	L*	a*	b*	ΔE	pH	TSS (°B)
รำข้าว	58.82 ± 5.10^{b}	3.59 ± 0.23^{c}	15.11 ± 1.30^{b}	-	-	-
RBP-SN	90.98 ± 1.09^{a}	2.43 ± 0.06^{d}	16.72 ± 0.87^{c}	32.24 ± 1.09^{b}	7.04 ± 0.02^{a}	1.13 ± 0.12^{a}
RBP-CW	95.47 ± 1.05^{a}	2.29 ± 0.08^{d}	13.05 ± 0.57^{e}	36.74 ± 1.05^{a}	7.05 ± 0.05^{a}	1.08 ± 0.14^{a}
RBP-CMH	82.96 ± 0.98^{c}	4.14 ± 0.11^{b}	20.58 ± 0.42^{a}	24.77 ± 0.93^{c}	7.06 ± 0.03^{a}	1.08 ± 0.14^{a}
RBP-ENZ	73.89 ± 1.58^{d}	5.69 ± 0.21^{a}	18.12 ± 0.57^{b}	15.53 ± 1.64^{d}	7.03 ± 0.02^{a}	1.10 ± 0.17^{a}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัย (P<0.05) RBP: rice bran protein, SN: sonication, CW: supercritical water, CMH: colloid milled-Homogenization, ENZ: glylase-xylanase enzymes

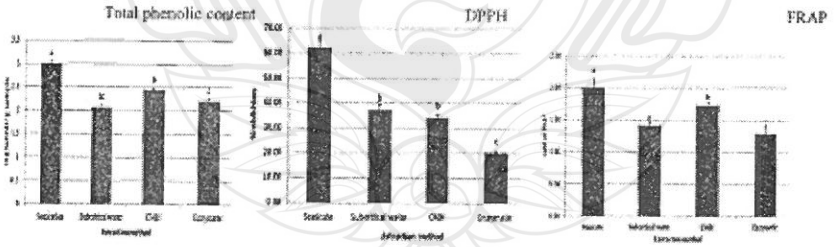


รูปที่ 1 รูปแบบของโปรตีนรำข้าวที่สกัดแยกด้วยวิธีการต่าง ๆ

รูปแบบโปรตีนรำข้าวที่ได้จากวิธีการสกัดแสดงดังรูปที่ 1 จำนวนโปรตีนและความเข้มของแบบโปรตีนแสดงถึงประสิทธิภาพของวิธีการสกัดแต่ละวิธี จากผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วยวิธีสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่และการสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโซโมจีไนเซอร์ทำให้เกิดการปลอดปล่อยโปรตีนออกมาในปริมาณมากที่สุดและน้อยที่สุดตามลำดับ ในขณะที่การใช้เอนไซม์ช่วยสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ให้ปริมาณและขนิดโปรตีนดีกว่าการสกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤต น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนรำข้าวอยู่ระหว่าง 60-6.5 กิโลดาลตัน

สมบัติทางชีววิทยาของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

สมบัติทางชีววิทยาของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการต่างๆ แสดงในรูปที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดพบในโปรตีนรำข้าวที่สกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ (3.01) รองลงมาตามลำดับ คือ การสกัดโดยใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโซโมจีไนเซอร์ (2.45) การใช้เอนไซม์ (2.20) และต่ำสุดในตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำกึ่งวิกฤติ (2.08) ตามลำดับ



รูปที่ 2 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ (DPPH) และการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) ของโปรตีนรำข้าวแสดงดังรูปที่ 2 ร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของโปรตีนรำข้าวมีค่าระหว่างร้อยละ 20-62 โดยโปรตีนรำข้าวที่มีร้อยละการยับยั้งสูงสุดและต่ำสุดคือการสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ (62.29) และสกัดโดยใช้เอนไซม์ (20.15) ตามลำดับ ซึ่งผลดังกล่าวให้ผลเช่นเดียวกันกับค่าการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) ของโปรตีนรำข้าวสกัด

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

ความสามารถในการละลายของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2 จากผลการทดลองพบว่าโปรตีนรำข้าวการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่มีความสามารถในการละลายสูงสุด (ร้อยละ 48.36) ในขณะที่โปรตีนที่สกัดด้วยวิธีการใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์มีความสามารถในการละลายน้อยที่สุด (ร้อยละ 11.48) สำหรับความสามารถในการดูดซึมน้ำของโปรตีนรำข้าวที่สกัดจากวิธีต่างๆ แสดงผลดังตารางที่ 2 เช่นเดียวกัน โดยพบว่าโปรตีนที่สกัดด้วยวิธีการใช้เครื่องบดคอลลอยด์ร่วมกับโฮโมจีไนเซอร์มีค่าการดูดซึมน้ำสูงที่สุด (2.36) ในขณะที่โปรตีนที่สกัดจากการใช้น้ำกึ่งวิกฤตให้ค่าต่ำที่สุด (0.29)

ตารางที่ 2 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์

ตัวอย่าง	ความสามารถในการละลาย (ร้อยละ)	ความสามารถในการดูดซึมน้ำ (กรัม/กรัม)
RBP-SN	48.36 ± 0.81^{a}	2.22 ± 0.05^{b}
RBP-CW	26.53 ± 0.43^{c}	0.29 ± 0.03^{d}
RBP-CMH	11.48 ± 0.57^{d}	2.36 ± 0.06^{a}
RBP-ENZ	39.42 ± 0.17^{b}	0.46 ± 00.03^{c}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละสัมน์หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

RBP: rice bran protein, SN: sonication, CW: supercritical water, CMH: colloid milled-Homogenization, ENZ: phytase-xylanase enzymes

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่าวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ส่งผลกระทบโดยตรงต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพโดยเฉพาะสมบัติทางด้านลักษณะปรากฏด้านสีของโปรตีนรำข้าวที่ได้ ลักษณะคุณภาพของสีที่ส่งผลชัดเจนต่อการนำโปรตีนสกัดไปใช้ต่อ ได้แก่ค่าความสว่างและค่าความเป็นสีแดง ยิ่งตัวอย่างมีค่าความสว่างสูง ค่าความเป็นสีแดงต่ำจะทำให้มีโอกาสการนำไปใช้ได้ในหลากหลายผลิตภัณฑ์ Mayou (2003) รายงานค่า L^*, a^* และ b^* ของโปรตีนรำข้าวสกัดดังนี้ 69-70, 2.4-2.6, และ18-20 ตามลำดับ สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของโปรตีนรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการต่างๆ กันนั้นไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ โดยค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วงประมาณ 7 แต่จากการศึกษาของ Kim และ Han (2012) ได้รายงานว่า pH ของรำข้าวหมักจะมีค่าประมาณ 6.4-6.6 ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการหมักรำข้าวนั่นเอง สำหรับความหนาแน่นจำเพาะของโปรตีนรำข้าวมีค่าประมาณ 0.7 กรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้วิธีการทำแห้งและการบดตัวอย่างส่งผลต่อค่าดังกล่าว น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนรำข้าวจากการสกัดด้วยวิธีการต่างๆ ให้ผลสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Zhang และคณะ (2012) ซึ่งรายงานว่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนรำข้าวมีค่าระหว่าง 6.5-66.2 กิโลดาลตัน สมบัติทางชีววิทยาของโปรตีนรำข้าวอินทรีย์ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ให้ผลไปในแนวทางเดียวกันกับการศึกษาวิจัยก่อนหน้าของโปรตีนรำข้าว โดย Kim และ Han (2012) รายงานว่าค่า TPC ของรำข้าวหมักนั้นมีค่าระหว่าง 225-260 มิลลิกรัมกรดแกลนิกต่อกรัมโปรตีนรำข้าว และพบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 75-78 ซึ่งร้อยละการยับยั้งที่พบสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง Chanput และคณะ (2009) ได้รายงานถึงความสามารถในการรีดิวซ์ของโปรตีนรำข้าวพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 1.81-6.98 มิลลิโมล สำหรับสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนรำข้าวที่ทำการตรวจวัดโดยเฉพาะสมบัติการละลายจะ

เป็นตัวบ่งชี้ถึงสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ ของโปรตีนรำข้าวที่ได้ โดยส่วนใหญ่พบว่าความสามารถในการละลายและสมบัติเชิงหน้าที่อื่นๆ ของโปรตีนจะสูญเสียไปเมื่อถูกทำลายสภาพธรรมชาติอย่างรุนแรง Vojdani (1996) กล่าวว่าการลดลงของความสามารถในการละลายของโปรตีนอาจเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างส่วนที่ไม่มีขั้วของไขมันกับส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีน Chandi และ Sogi (2007) รายงานว่าค่าความสามารถในการดูดซึมน้ำของโปรตีนรำข้าวอยู่ในช่วงของ 3.87-5.60 กรัมต่อกรัม อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่ามีค่าต่ำกว่าจากรายงาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำที่เหลือในตัวอย่างหลังการทำแห้ง หรืออาจเกิดจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนในกระบวนการสกัดที่รุนแรง

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าวิธีการสกัดโปรตีนจากรำข้าวอินทรีย์ส่งผลกระทบต่อสมบัติด้านต่างๆ ของโปรตีนรำข้าวทั้งในเชิงบวกและเชิงลบ รวมถึงแนวทางการนำโปรตีนรำข้าวไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยวิธีการสกัดด้วยการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นความถี่ให้สมบัติด้านความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ ความสามารถในการละลายและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบอื่นๆ ดังนั้นหากต้องการนำผลการทดลองดังกล่าวไปใช้จริงการศึกษาในระดับโรงงานต้นแบบยังมีความจำเป็นรวมถึงการประเมินจุดคุ้มทุนและร้อยละของผลผลิตที่ได้จากกระบวนการสกัดด้วย

เอกสารอ้างอิง

Anderson AK & Guraya HS. 2001. Extractability of protein in physically processed rice bran. Journal of the American Oil Chemists Society 78, 969–972.

Chandi GK & Sogi DS. 2007. Functional properties of rice bran protein concentrates. Journal of Food Engineering 79(2):592-597.

Chanput W, Theerakulkait C & Nakai S. 2009. Antioxidative properties of partially purified barley hordein, rice bran protein fractions and their hydrolysates. Journal of Cereal Science 49(3): 422-428.

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(9):816-827.

FAOSTAT. 2012. Production: crops. Weblink: http://faostat.fao.org/

Hata S, Wiboonsirikul J, Maeda A, Kimura Y & Adachi S. 2008. Extraction of defatted rice bran by subcritical water treatment. Biochemical Engineering Journal 40(1): 44-53.

Kim D & Han GD. 2012. High hydrostatic pressure treatment combined with enzymes increases the extractability and bioactivity of fermented rice bran. Innovative Food Science & Emerging Technologies (0).

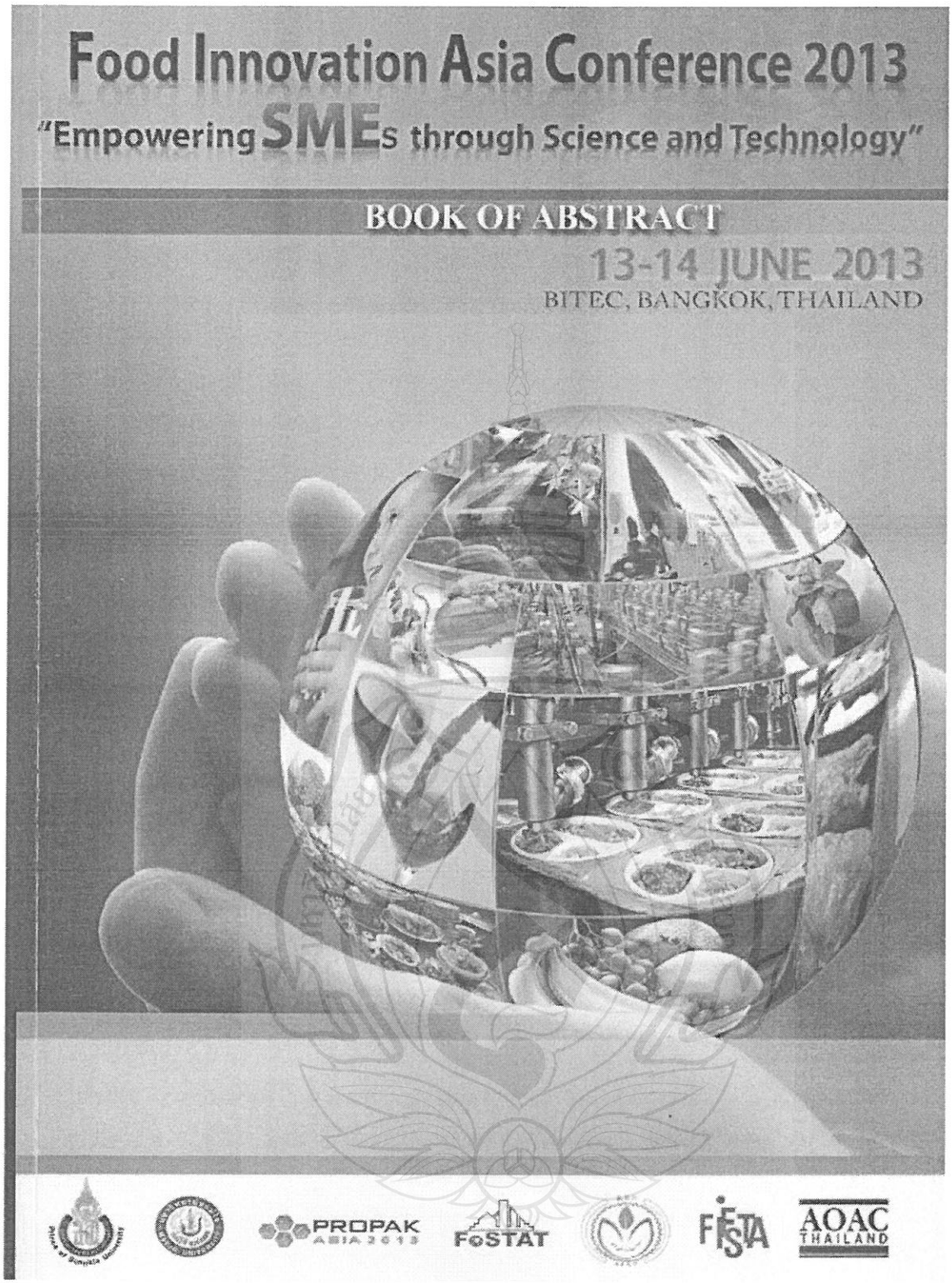
Saunders RM. 1990. The properties of rice bran as a foodstuff. Cereal foods world. 35(7):632-635.

Tang S, Hettiarachchy NS & Shellhammer TH. 2002. Protein Extraction from Heat-Stabilized Defatted Rice Bran. 1. Physical Processing and Enzyme Treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50(25):7444-7448.

Vojdani F. 1996. Solubility. In Methods of Testing Protein Functionality, 1st edition, Bury St.Edmunds Press : St Edmundsbury: 11–60.

Wang M, Hettiarachchy NS, Qi M, Burks W & Siebenmorgen T. 1999. Preparation and Functional Properties of Rice Bran Protein Isolate. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47(2):411-416.

Zhang HJ, Zhnag H, Wang L & Guo XN. 2012. Preparation and functional properties of rice bran proteins from heat-stabilized defattated rice bran. Food Research International 47(2): 359-363.


Food Innovation Asia Conference 2013
"Empowering SMEs through Science and Technology"
BOOK OF ABSTRACT
13-14 JUNE 2013
BITEC, BANGKOK, THAILAND
PROPAK ASIA 2013
FoSTAT
FESTA
AOAC THAILAND

The 15th FOOD INNOVATION ASIA CONFERENCE 2013
13th -14th June 2013
BITEC Bangna, Bangkok, Thailand

PA-43

Effect of extraction techniques on recovery and properties of protein from organic rice bran

*Panumas Motasirisub and Saroat Rawdkuen**
Food Technology Program, School of Agro-Industry, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand
* Corresponding author: saroat@mfu.ac.th

Abstract

Rice bran is an underutilized milling by-product of rough rice and has high nutritional value with 12-15% protein content, higher than any other portion of the rice kernel. It is also considered as a source of hypoallergenic protein and dietary fiber. Rice bran protein has been found to be of high quality and of importance for food and pharmaceutical applications. There were already reports on the extraction of rice bran protein several decades ago. Recently, too many novel techniques have been applied for rice bran protein extraction. Comparison between conventional and innovation extraction techniques need to be investigated. So, this experiment aimed to isolate and characterize protein from organic rice bran by using differnt extraction techniques: alkaline extraction (AKE: pH 9.5), ultrasonic-assisted extraction (UAE:160/640W, 20 min at 65°C), and the alkaline pre-treatment before ultrasonic extracion (APUE). Extraction efficiency (recovery and protein yield), physical (color attributes, pH, and total soluble solid; TSS), chemical (protein and total phenolic content) and biological properties (DPPH radical scavenging activity and Ferric reducing activity power; FRAP) of rice bran protein isolate (RBPI) were monitored. The highest recovery of RBPI was obtained by using APUE (12.73%) followed by AKE (9.22%) and UAE (5.82%). Protein yield of 86.40, 58.78, and 39.21% was found using APUE, AKE, and UAE, respectively. The highest lightness value (74.84) was observed in RBPI obtained by UAE, while the lowest was found in RBPI from AKE (70.99). pH and TSS of RBPI was in range between 7.14-7.85, and 21.67-24%, respectively. The highest protein (87.12%) and total phenolic content (1,084.53 mg gallic acid/ g sample) was found in RBPI extracted with APUE. The main protein components of RBPI was ranged of 14-60 kDa indicated by SDS-PAGE. The highest DPPH radical scavenging activity (14.25%), and FRAP reducing power (14.56 mM Fe(II)/g sample) was found in RBPI obtained from UAE. These results suggest that UAE could be an effective technique for selective extraction rice bran protein with potential as a nutraceutical ingredient in food applications.

Keywords: Antioxidant, Protein isolate, Rice bran, Ultrasonic-assisted extraction