

การเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบและรำข้าว
ที่สกัดน้ำมันออกแล้ว

นางสาวปัทมา ฤชาฤทธิ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

COMPARISON OF ENZYMATIC REACTIONS OF LIPASES IN RICE BRAN AND
DEFATTED RICE BRAN

Miss Pattama Lucharit

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจาก รำข้าวดิบและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว
โดย	นางสาวบีตมา ฤชาฤทธิ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.ศศิกานต์ กู้พงษ์ศักดิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชิตพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ดร.ศศิกานต์ กู้พงษ์ศักดิ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชิตพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทร์ประภา อิมจงใจรัก)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ นฤมล จีโยโชค)

ปัทมา ฤชาฤทธิ : การเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว. (Comparison of Enzymatic Reactions of Lipases in Rice Bran and Defatted Rice Bran) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ.ดร.ศศิกันต์ กู้พงษ์ศักดิ์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ.ดร.ชิตพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ, 133 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่ามีปริมาณความชื้น เท่ากับ 12.75% โดยน้ำหนักเปียก คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เถ้า และเส้นใยหยาบ เท่ากับ 51.86%, 13.73%, 12.15%, 9.51% และ 6.96% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อศึกษาผลของวิธีการผลิตรำข้าวที่มีต่อปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากวิธีการตำข้าวและสีข้าว และรำข้าวผสมที่ได้จากวิธีการสีข้าว มีค่าเท่ากับ 2.33, 3.48 และ 4.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกมีปริมาณโปรตีนและโปรตีนในสารละลาย เท่ากับ 12.61% โดยน้ำหนักเปียก และ 3.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวไปใช้ในปฏิกิริยาเอสเทอร์ิฟิเคชัน พบว่าเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 รูปกากรำ มีกิจกรรมจำเพาะมากที่สุด เท่ากับ 2.15 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วเพื่อเร่งปฏิกิริยาเอสเทอร์ิฟิเคชัน คือ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากการศึกษาสมบัติน้ำมันรำข้าวที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา พบว่ามีค่า L^* a^* b^* เท่ากับ 40.87, -0.42 และ 17.54 ตามลำดับ ค่าความหนืดและค่าการหักเหของแสง เท่ากับ 64.08 cP และ 1.4698 ปริมาณกรดไขมันอิสระ ค่าความเป็นกรด และค่าไอโอดีน เท่ากับ 2.97 (% รูปกรดโอเลอิก), 5.91 มิลลิกรัมโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัมไขมัน และ 99.80 กรัมต่อ 100 กรัมไขมัน ตามลำดับ ปริมาณแกมมาโอโรซานอล เท่ากับ 174.67 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และปริมาณ SFA : MUFA : PUFA เท่ากับ 19.00 : 42.06 : 38.96 (% กรัมต่อ 100 กรัมกรดไขมัน) เมื่อศึกษาปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวในน้ำมันรำข้าว พบว่าการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 10% และ 20% และรำข้าวดิบ 10% และ 20% บ่มที่อุณหภูมิห้อง 12 วัน มีปริมาณกรดไขมันอิสระ เท่ากับ 6.34, 8.95, 5.70 และ 8.01 (% รูปกรดโอเลอิก) ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์สมบัติของน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วบ่มเป็นเวลา 15 วัน พบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระและค่าความเป็นกรด ค่า a^* และ b^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ค่าการหักเหของแสงและ L^* มีแนวโน้มลดลง แต่ค่าไอโอดีนและความหนืดไม่เปลี่ยนแปลง และพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ในน้ำมันรำข้าวเพื่อให้มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงสุด คือใช้รำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 20% ในน้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนก่อนแล้วบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส จากการเปรียบเทียบสมบัติของน้ำมันรำข้าวและน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว พบว่าน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์มีปริมาณแกมมาโอโรซานอลเพิ่มขึ้น 3.92% มีปริมาณกรดไขมันลิโนลินิกและลิโนซีริกลดลงเท่ากับ 87.18% และ 25.86% แต่มีกรดไขมันมายริสติกเพิ่มขึ้นเท่ากับ 10.34%

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ.....
 สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
 ปีการศึกษา 2554..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5172586823 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS : RICE BRAN / DEFATTED RICE BRAN / LIPASE

PATTAMA LUCARIT : COMPARISON OF ENZYMATIC REACTIONS OF LIPASES IN RICE BRAN AND DEFATTED RICE BRAN. ADVISOR: SASIKAN KUPONGSAK, Ph. D.,
CO-ADVISOR: ASST. PROF. CHIDPHONG PRADISTSUWANA, Ph. D., 133 pp.

The purpose of this research was to study the comparison of enzymatic reactions of lipases in rice bran and defatted rice bran. The chemical composition of the Chainat 1 rice bran was examined. The moisture content was 12.75% wet basis. Carbohydrate, protein, ash, fat and crude fiber contents were 51.86%, 13.73%, 12.15%, 9.51% and 6.96%, dry basis, respectively. The effect of rice bran production on protein was determined. The amounts of soluble proteins in the Chainat 1 rice bran produced by using traditional and conventional milling methods, and the mixed rice bran produced by using conventional milling method were 2.33, 3.48 and 4.21 mg/ml, respectively. The defatted rice bran had 12.61% protein (wet basis) and 3.48 mg/ml soluble protein. Esterification reaction of rice bran lipase was studied and the defatted Chainat 1 rice bran lipase showed the highest specific activity of 2.15 unit/mg protein. The optimum esterification temperature was 40 °C. The properties of rice bran oil were determined. The L*, a*, and b* values of the rice bran oil were 40.87, -0.42, and 17.54, respectively. The viscosity and refractive index values were 68.08 cP and 1.4698. The amount of free fatty, acid value, and iodine value were 2.97 (% as oleic acid), 5.91 mg NaOH/g oil, and 99.80 g/100 g oil, respectively. Gamma oryzanol content in the rice bran oil was 174.67 mg/100g. The SFA : MUFA : PUFA content in rice bran oil was 19.00 : 42.06 : 38.96 (%g/100 g oli). The study of varying amount of rice bran and defatted rice bran in rice bran oil was conducted. The free fatty acid values which were obtained from 10% and 20% defatted rice bran addition, and 10% and 20% rice bran addition in rice bran oil (12-day storage) were 6.34, 8.95, 5.70 and 8.01 (% as oleic acid), respectively. The properties of rice bran oil, which reacted with defatted rice bran lipase for 15 days, were analyzed. The results showed the increases of free fatty acid, acid value, a* and b*, the decreases of reflective index and L* values, while the iodine value and viscosity were constant. In order to obtain the highest free fatty acid value, the optimum condition for applying rice bran lipase in rice bran oil was the using of 20% defatted-rice-bran lipase reacted with pre-unheated rice bran oil at 40°C. This resulted in increase in gamma oryzanol 3.92%, decrease in linolenic and lignoceric fatty acids 87.18% and 25.86%, whereas increase in myristic fatty acid 10.34%.

Department : Food Technology..... Student's Signature

Field of Study : Food Technology..... Advisor's Signature

Academic Year : 2011..... Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ศศิگانต์ กุ้พงษ์ศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชิตพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำชี้แนะและข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนมอบกำลังใจให้แก่ผู้วิจัยจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทร์ประภา อิมจงใจรัก และรองศาสตราจารย์นฤมล จิยโชค ผู้ให้ความกรุณาช่วยเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งมอบคำแนะนำอันเป็นประโยชน์และแนวทางปรับปรุงแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณโครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว.-อุตสาหกรรม Window II ปี 2552 ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์ ที่อนุเคราะห์ให้เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 รวมทั้งจัดหาเครื่องสีข้าว เพื่อให้ได้รำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ใช้ในการทำวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้ทั้งในด้านวิชาการ คุณธรรม และจริยธรรม ซึ่งเป็นรากฐานในการศึกษาค้นคว้างานวิจัยและการดำเนินชีวิต

ขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัย

ขอขอบคุณรุ่นพี่และเพื่อนนิสิตในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณปาริชาติ บำรุง คุณบุณยทริกา วิไลพล คุณรพีพร ประสาท คุณทิชัมพร พิมพ์แก้ว คุณสุภาภรณ์ คล้ายเครือญาติ และคุณวีรพล บวรวงศ์เสถียร ที่เป็นกำลังใจพร้อมทั้งคอยให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือตลอดมาจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วง

ท้ายที่สุดแล้วงานวิจัยฉบับนี้คงไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้หากผู้วิจัยไม่ได้รับการสนับสนุนจากบิดา มารดา พี่สาว และญาติมิตร ที่คอยให้ความช่วยเหลือตลอดมาจนมอบกำลังใจอันมีค่ายิ่งเสมอมา

หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใดผู้วิจัยขออภัยขอรับข้อเสนอแนะและขอภัยมา ณ ที่นี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฐ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฌ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	2
2.1 ข้าว.....	2
2.2 จำข้าว.....	5
2.3 เอนไซม์ไลเปส.....	10
2.4 เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	18
2.5 องค์ประกอบของน้ำมันและกรดไขมัน.....	24
2.6 น้ำมันรำข้าว.....	27
2.7 สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของไขมันและน้ำมัน.....	29
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย.....	36
3.1 ขอบเขตงานวิจัย.....	36
3.2 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการวิจัย.....	37
3.3 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้.....	37
3.4 สารเคมี.....	38
3.5 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	39
3.5.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และน้ำมันรำข้าว.....	39

3.5.2	ศึกษาผลของวิธีการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ไปใช้ในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน.....	43
3.5.3	ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเพสในรูป กากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน.	45
3.5.4	เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่ สกัดน้ำมันออกแล้วที่มีต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว.....	45
บทที่ 4	ผลการทดลองและวิจารณ์.....	49
4.1	ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และ น้ำมันรำข้าว.....	49
4.2	ศึกษาผลของวิธีการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ใน ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน.....	57
4.3	ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเพสในรูปกากรำที่ได้ จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน.....	60
4.4	เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่.....	62
บทที่ 5	สรุปผลการทดลอง.....	83
	รายการอ้างอิง.....	85
	ภาคผนวก.....	93
	ภาคผนวก ก.....	94
	ภาคผนวก ข.....	102
	ภาคผนวก ค.....	104
	ภาคผนวก ง.....	107
	ภาคผนวก จ.....	116
	ภาคผนวก ฉ.....	117
	ภาคผนวก ช.....	124
	ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	133

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	การกระจายตัวของอนุภาคของรำข้าว.....	6
2.2	ความชื้นของรำข้าวในบรรยากาศที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ.....	7
2.3	เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวกับรำจากธัญพืชอื่นๆ ที่ความชื้น 14%.....	8
2.4	องค์ประกอบทางโภชนาการของข้าวส่วนต่างๆ.....	8
2.5	องค์ประกอบของน้ำมันและไขมันชนิดต่างๆ.....	25
2.6	ค่าความหนืดของน้ำมันแต่ละชนิด.....	32
2.7	มาตรฐานของสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันรำสำหรับบริโภค.....	35
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1.....	50
4.2	ปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้และลักษณะทางกายภาพของรำข้าวแต่ละวิธีการผลิต	51
4.3	ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าวแต่ละวิธีการผลิต.....	52
4.4	ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ของรำข้าว ที่สกัดน้ำมันออกและไม่สกัดน้ำมันออก.....	53
4.5	สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าว (ก่อนทำปฏิกิริยา).....	54
4.6	องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าว.....	56
4.7	กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวแต่ละวิธีการนำไปใช้.....	58
4.8	ความสูงของชั้นน้ำมันต่อปริมาณการเติมกากรำในน้ำมันรำข้าว.....	62
4.9	สมการการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่างกัน.....	66
4.10	สมการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระ ที่สภาวะการนำ เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน.....	68
4.11	เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าวก่อนและ หลังทำปฏิกิริยา.....	78
4.12	องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าวก่อนและหลังทำปฏิกิริยา.....	80
4.13	ปริมาณแกมมาโอโรซานอลของน้ำมันรำข้าวก่อนและหลังทำปฏิกิริยา.....	82

ตารางที่	หน้า
ง.1	น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรของเอทิลแอลกอฮอล์ และความเข้มข้นของ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่เหมาะสมกับปริมาณกรดไขมันอิสระ ที่มีอยู่ในตัวอย่าง..... 109
ง.2	น้ำหนักตัวอย่างที่เหมาะสมกับปริมาณไอโอดีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง..... 112
ฉ.1	ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่างกัน เมื่อบ่มอุณหภูมิห้อง นาน 12 วัน..... 117
ฉ.2	ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจาก รำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 118
ฉ.3	ค่าความเป็นกรดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่ สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 119
ฉ.4	ค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัด น้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 120
ฉ.5	ค่าความสว่าง (L^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าว ที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 121
ฉ.6	ค่าสีแดง (a^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัด น้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 121
ฉ.7	ค่าสีเหลือง (b^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่ สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 122
ฉ.8	ค่าความหนืดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัด น้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 122
ฉ.9	ค่าการหักเหของแสงของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าว ที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 123
ช.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้และปริมาณโปรตีน ในสารละลายของวิธีการผลิตรำข้าว 3 ตัวอย่าง..... 124
ช.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และโปรตีนใน สารละลายของรำข้าวที่สกัดและไม่สกัดน้ำมัน..... 125
ช.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ของวิธีการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ 4 ตัวอย่าง..... 126

ตารางที่	หน้า
ช.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ที่อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 5 อุณหภูมิ..... 126
ช.5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงของชั้นน้ำมันที่ปริมาณการเติมกากรำในน้ำมันรำข้าว 5 ตัวอย่าง..... 127
ช.6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่างกัน 5 ตัวอย่าง เมื่อบ่มอุณหภูมิห้องนาน 12 วัน..... 127
ช.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าว เมื่อบ่มอุณหภูมิห้อง เป็นเวลาต่างกัน 5 วัน..... 128
ช.8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 5 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 128
ช.9	วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 5 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 129
ช.10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างๆ เป็นเวลาต่างกัน 6 วัน..... 129
ช.11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 5 ตัวอย่าง ของวันที่ 15..... 130
ช.12	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความสว่าง (L^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน. 130
ช.13	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีแดง (a^*) ของของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน. 131
ช.14	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีเหลือง (b^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อที่บ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 131
ช.15	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน..... 132

ตารางที่

หน้า

ช.16	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการหักเหของแสงของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสไปใช้น้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อปมเป็น เวลา 15 วัน.....	132
------	--	-----

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างของเมล็ดข้าว.....	4
2.2	แผนผังปฏิกิริยาต่างๆ ที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง.....	11
2.3	ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส.....	11
2.4	ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน.....	12
2.5	ปฏิกิริยา alcoholysis	12
2.6	ปฏิกิริยา acidolysis.....	12
2.7	ปฏิกิริยา Interesterification.....	13
2.8	ปฏิกิริยา glycerolysis	13
2.9	แสดงตำแหน่ง sn ของ TAG.....	16
2.10	ปฏิกิริยาการสลาย TAG โดยเอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3.....	17
2.11	ปฏิกิริยาการสลาย TAG โดยเอนไซม์ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบน โมเลกุล TAG.....	17
2.12	โครงสร้างไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG).....	25
2.13	โครงสร้างโมโนเอซิลกลีเซอรอล (MAG).....	26
2.14	โครงสร้างไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG).....	26
4.1	ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าว ที่สกัดน้ำมันออกแล้วในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน.....	61
4.2	ความสูงของชั้นน้ำมันต่อปริมาณการเติมกากรำในน้ำมันรำข้าว.....	63
4.3	ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่างกัน เมื่อบ่มอุณหภูมิห้อง นาน 12 วัน.....	65
4.4	ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำ ข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน.....	67
4.5	ค่าความเป็นกรดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่ สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน.....	69

ภาพที่	หน้า	
4.6	ค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัด น้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน.....	70
4.7	ค่าความสว่าง (L^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าว ที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน.....	71
4.8	ค่าสีแดง (a^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัด น้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน.....	72
4.9	ค่าสีเหลือง (b^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่ สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน.....	73
4.10	ค่าความหนืดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัด น้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน.....	74
4.11	ค่าการหักเหของแสงของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าว ที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน.....	75
ข.1	กราฟมาตรฐานของสารละลาย BSA ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร.....	103
จ.1	เครื่องสีข้าวโรงสีชุมชนข้าวดี.....	116

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

- O = น้ำมันรำข้าว
- HO = น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน ที่ 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง
- HOB = น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน ที่ 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบ
- HODFB = น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน ที่ 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมัน ออกแล้ว
- HODFB T = น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน ที่ 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมัน ออกแล้ว เมื่อป่มที่อุณหภูมิต่างๆ
- ODFB T = น้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมัน ออกแล้ว เมื่อป่มที่อุณหภูมิต่างๆ

บทที่ 1

บทนำ

รำข้าวเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสีข้าว โดยรำข้าวมีอยู่ประมาณ 8-10% ของน้ำหนักข้าวเปลือก คุณภาพของรำข้าวขึ้นอยู่กับวิธีการผลิต ซึ่งการผลิตรำข้าวแบ่งได้เป็น 3 แบบ ได้แก่ วิธีการสีข้าวแบบดั้งเดิม วิธีการสีข้าวแบบทั่วไป และวิธีการสีข้าวแบบทันสมัย แต่ในประเทศไทยที่กำลังพัฒนา หรือในชุมชนท้องถิ่น การสีข้าวมักใช้วิธีการสีข้าวสองแบบแรก ซึ่งวิธีการผลิตที่ต่างกันย่อมส่งผลต่อคุณภาพและองค์ประกอบทั้งทางกายภาพและทางเคมีของรำข้าวต่างกัน นอกจากนี้องค์ประกอบของรำข้าวทั้งทางเคมีและกายภาพยังขึ้นกับ ชนิดหรือสายพันธุ์ของข้าว คุณภาพและการเตรียมข้าว วิธีการสีข้าว ระดับการสีข้าว การแยกผลผลิตระหว่างการสีข้าว และการปนเปื้อนขององค์ประกอบที่ไม่ใช่รำข้าว เป็นต้น รำข้าวที่มีอยู่เป็นปริมาณมากในประเทศเกษตรกรรมอย่างเช่นประเทศไทยถูกนำไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ เช่น เป็นวัตถุดิบสำหรับนำมาสกัดน้ำมันได้เป็นน้ำมันรำข้าวที่จัดเป็นน้ำมันที่มีคุณค่าทางโภชนาการ และยังมีสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ เช่น โทโคฟีรอล วิตามินอี และแกมมาโอไรซานอล

รำข้าวยังเป็นแหล่งของเอนไซม์ไลเปส ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบไขมันหรือน้ำมันได้ โดยเฉพาะปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันกับกลีเซอรอลที่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นอนุพันธ์กลีเซอไรด์ต่างๆ ที่สำคัญ เช่น โมโน ได และไตรเอซิลกลีเซอรอล ซึ่งมีประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร เคมี และเคมีภัณฑ์ รวมทั้งในด้านโภชนาการที่ทำให้น้ำมันมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้น นอกจากนี้เอนไซม์ไลเปสยังสามารถเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล ดังนั้นการนำเอนไซม์ไลเปสจากส่วนที่เหลือใช้ของรำข้าวที่มีปริมาณมากในประเทศไทย ทั้งรำข้าวดิบจากทางเกษตรกรรมและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วจากอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันรำข้าว จึงเป็นอีกทางเลือกของการเพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบรำข้าวได้

จากเหตุผลข้างต้นจึงเป็นมูลเหตุจูงใจให้งานวิจัยนี้มุ่งศึกษา การเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่มีต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว ซึ่งสามารถเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวไปใช้ให้เกิดประโยชน์ และเพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับรำข้าวมากยิ่งขึ้น

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ข้าว

ข้าวตามพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ.2525 ให้ความหมายว่า ชื่อไม้ล้มลุกหลายชนิด หลายสกุล ในวงศ์ *Gramineae* หรือ *Poaceae* โดยเฉพาะ *Oryza sativa* Linn. ที่ใช้เมล็ดเป็นอาหารหลัก ซึ่งมีหลากหลายชนิด เช่น ข้าวเจ้า ข้าวเหนียว (ชาญ มงคล, 2536) โดยข้าวสามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในอากาศร้อนและอบอุ่น และสามารถเจริญได้ในที่ที่อยู่สูงจากระดับน้ำทะเลถึงพื้นดินที่ 2,500 เมตร ครอบคลุมระหว่าง 43 องศา ละติจูดเหนือ ถึง 35 องศา ละติจูดใต้ (Onanong Naivikul and Utai Klinkesorn, 2008) เนื่องจากข้าวมีลักษณะคล้ายหญ้า เช่น ใบ กาบใบ ลำต้น และราก ทางพฤกษศาสตร์จึงจัดอยู่ในตระกูล (Family) เดียวกัน โดยข้าวจัดเป็นพืชตามหลักอนุกรมวิธานดังนี้

Family : *Gramineae*

Subfamily : *Oryzoideae*

Tribe : *Oryzeae*

Genus : *Oryza*

พืชในสกุล (Genus) *Oryza* นี้มีอยู่ประมาณ 25 ชนิด (species) โดย 23 ชนิดเป็นข้าวป่า ในจำนวนนี้มีข้าวอยู่สองชนิดเท่านั้นที่ปลูกทั่วไปเพื่อใช้เป็นอาหาร หรือเรียกว่า ข้าวปลูก สามารถแบ่งตามแหล่งกำเนิดเป็น 2 ชนิดคือ ไอโรซา กลาเบอร์ริมา (*Oryza glaberrima* Steud.) และ ไอโรซา ซาติวา (*Oryza sativa* L.) (ชาญ มงคล, 2536) ซึ่งข้าวปลูกนี้มีมากกว่า 120,000 สายพันธุ์ ที่มีชื่อและสมบัติต่างๆ (Onanong Naivikul and Utai Klinkesorn, 2008) โดยไอโรซา กลาเบอร์ริมา หรือข้าวปลูกแอฟริกา นิยมปลูกในแถบแอฟริกาตะวันตก ส่วนข้าวชนิดไอโรซา ซาติวา หรือข้าวปลูกเอเชีย ปลูกทั่วไปในเขตร้อนและอบอุ่นของโลก โดยเฉพาะในทวีปเอเชีย สามารถแบ่งข้าวปลูกเอเชียตามสภาพทางภูมิศาสตร์ (Ecogeographic Races) ออกเป็น 3 ชนิดย่อย (subspecies) คือ กลุ่ม Indica เมล็ดมีลักษณะเรียวยาว หรือยาวปานกลาง ค่อนข้างแบน มี

อายุการเก็บประมาณ 80-120 วัน มักปลูกในแถบเอเชีย เขตร้อน เช่น อินเดีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม อินโดนีเซีย และไทย กลุ่ม Japonica เมล็ดมีลักษณะกลมมน สั้น รวงแน่น ปลูกได้ดีในเขตอบอุ่น เช่น จีน ญี่ปุ่น และเกาหลี และกลุ่ม Javanica เมล็ดมีลักษณะยาวใหญ่ รวงยาว ปลูกมากในหมู่เกาะชวา ปลูกบ้างเล็กน้อยในฟิลิปปินส์ อินเดีย และศรีลังกา (ชาญ มงคล, 2536)

โครงสร้างของเมล็ดข้าว (จำรัส โปร่งศิริวัฒนา, 2534; กัญยรัตน์ เรียวกลาง, 2545)

โครงสร้างของเมล็ดข้าว (rice grain) ดังรูปที่ 2.1 ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนหุ้มเมล็ดและเนื้อผล ดังนี้

1. ส่วนหุ้มเมล็ดหรือส่วนหุ้มผล คือ แกลบ (hull หรือ husk) มีประมาณ 18-28 % ของน้ำหนักข้าวเปลือก แกลบในข้าวกลุ่ม Indica ประกอบด้วย เปลือกใหญ่ (lemma) เปลือกเล็ก (palea) sterile lemma และ rachilla โดยส่วนหุ้มเมล็ดประกอบด้วยเปลือกใหญ่ (lemma) เป็นเปลือกหุ้มเนื้อผลที่มีขนาดใหญ่ และเปลือกเล็ก (palea) เป็นเปลือกเล็กอยู่ใต้เปลือกใหญ่

2. เนื้อผล (caryopsis) คือ ข้าวกล้อง (brown rice) ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ภายในของส่วนหุ้มเมล็ด ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ เอ็มบริโอหรือเจอร์ม (embryo หรือ germ) หรือจมูกข้าว และเอนโดสเปิร์ม (endosperm) หรือเนื้อข้าว ส่วนประกอบที่สำคัญของเนื้อผลหรือข้าวกล้องมีดังนี้

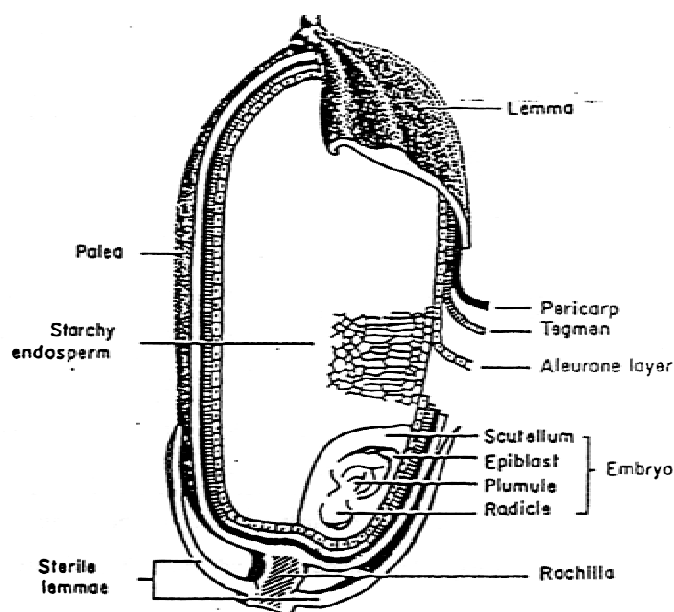
2.1 เยื่อชั้นนอกหรือเยื่อหุ้มผล เพอริคาร์ป (pericarp) มีประมาณ 1-2% ของน้ำหนักข้าวกล้อง เยื่อชั้นนอกนี้ประกอบด้วย โปรตีน เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses) และเซลลูโลส (cellulose) เป็นส่วนสำคัญ โดยมี 3 ชั้นย่อย คือ อีพิการ์ป (epicarp) เป็นเยื่อชั้นนอกสุดของเพอริคาร์ปที่อยู่ติดกับเปลือกหรือแกลบ มีโซคาร์ป (mesocarp) เป็นเยื่อชั้นกลางอยู่ถัดจากอีพิการ์ปเข้ามา และเอนโดคาร์ป (endocarp) เป็นเยื่อชั้นในของเพอริคาร์ปซึ่งอยู่ถัดจากมีโซคาร์ป

2.2 เยื่อชั้นกลาง เทสตา (testa) เทกเมน (tegmen) ซีดโคต (seed coat) เป็นเยื่อชั้นที่อยู่ถัดจากเยื่อชั้นนอกเข้ามาภายในเซลล์ของเยื่อชั้นกลาง ซึ่งมีไขมันอยู่เป็นส่วนใหญ่

2.3 เยื่อชั้นในอลิวโรนเลเยอร์ (aleurone layer) มีประมาณ 4-6% ของน้ำหนักข้าวกล้อง เป็นเยื่อชั้นในสุดอยู่ถัดจากเยื่อชั้นกลางเข้ามา ภายในเซลล์ของชั้นนี้จะมีเม็ดโปรตีนอยู่มาก (protein rich aleurone grain) โดยมีไขมันชั้นบางๆ ห่อหุ้มอยู่ เยื่อชั้นในทำหน้าที่ห่อหุ้มเนื้อเยื่ออีก 2 ชนิด คือ

2.3.1 เอ็มบริโอหรือเจอร์ม (embryo หรือ germ) คือ จมูกข้าว มีประมาณ 2-3 % ของน้ำหนักเนื้อผล ข้าวมีปริมาณค่อนข้างน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับธัญพืชอื่น จมูกข้าวจะอยู่ที่โคนเมล็ดด้านเปลือกใหญ่

2.3.2 เอนโดสเปิร์ม (endosperm) คือ เนื้อข้าว มีแป้งประมาณ 83% ของเนื้อผล ภายในเนื้อข้าวนี้จะมีเม็ดแป้งอัดแน่นอยู่ โดยมี protein body แทรกอยู่ระหว่าง starch compound protein body และมีมากบริเวณรอบนอกของเนื้อข้าวมากกว่าภายในของเนื้อข้าว



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

ที่มา: Hui (1996)

การสีข้าว

การสีข้าวเป็นการสีข้าวเปลือก (rice paddy) ที่เอาส่วนของแกลบและบางส่วนของรำออก ได้ผลผลิตคือ ข้าวกล้อง และข้าวสาร (white rice หรือ rice starchy endosperm) ประมาณ 70% (Onanong Naivikul and Utai Klinkesorn, 2008) มีผลพลอยได้อีก 3 ส่วน คือ แกลบ 20% จมูกข้าว 1-2% รำข้าว 8-9% และอาจมีข้าวหักหรือปลายข้าว (polish) 10-22% (จำรัส ไปร่งศิริวัฒนา, 2534)

วิธีการสีข้าว

ประเทศที่มีการพัฒนาน้อยในแถบเอเชียจะใช้วิธีการสีข้าวแบบดั้งเดิม (traditional) ที่เป็นการตำข้าว ซึ่งเป็นการกะเทาะเปลือกข้าว ได้ผลผลิตคือ ข้าวกล้องและแกลบที่มีรำข้าวปนอยู่

การดำข้าวยังคงมีการใช้เพื่อบริโภคของชาวนาในแถบเอเชีย และแบบทั่วไป (conventional) ซึ่งข้าวสารที่ได้มักเกิดการแตกหักสูง อีกทั้งระบบการสีข้าวส่วนมากไม่มีขั้นตอนการแยกข้าวเปลือก ข้าวหัก และรำข้าว ทำให้ได้รำข้าวที่ไม่สะอาด และมีปริมาณน้อย ในขณะที่ประเทศที่พัฒนาแล้ว จะใช้วิธีการสีแบบทันสมัย โดยใช้เครื่องจักรที่มีระบบอัตโนมัติและมีประสิทธิภาพในการทำงานสูง ซึ่งมีการแยกรำข้าว ปลายข้าวและจมูกข้าว ทำให้รำข้าวที่ได้สะอาดเหมาะสมสำหรับนำไปใช้สกัดน้ำมันเพื่อการค้า นอกจากนี้อาจมีการติดตั้งเครื่องสกัดน้ำมันเพื่อสกัดน้ำมันรำข้าวได้ทันที ทำให้น้ำมันดิบที่ได้ (crude oil) มีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำเหมาะสมสำหรับนำไปทำน้ำมันเพื่อบริโภค (นพมาศ มนัสวรากุล, 2545) นอกจากนี้วิธีการสีข้าวยังแบ่งได้ตามประเภทของเครื่องกะเทาะข้าวเปลือก เช่น แบบไม่หิน และแบบลูกยาง โดยปัจจัยที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสีข้าว ได้แก่ อัตราการสีข้าวหรืออัตราการแปรสภาพข้าวเปลือกเป็นข้าวสาร คุณภาพของข้าวเปลือกที่นำมาสี ขนาดของโรงสีและสภาพของเครื่องสี มาตรฐานของข้าวที่ต้องการ และปัจจัยอื่น ๆ เช่น สภาพแวดล้อมและช่วงเวลาของการสี (รุ่งเรือง กาลศิริศิลป์, ไม่ระบุปี)

2.2 รำข้าว

รำข้าวเป็นผลพลอยได้จากการขัดขาว (whitening) ลักษณะของรำเป็นผงละเอียดสีเหลืองปนน้ำตาล รำข้าวและส่วนที่ได้จากการขัดสีได้มาจากเนื้อเยื่อชั้นนอกของเมล็ดข้าว ที่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อชั้นนอกรวมถึงเยื่อหุ้มเมล็ด (pericarp) เปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) ซึ่งเป็นเยื่อหุ้มของเอนโดสเปิร์ม นิวเซลลัส (nucellus) อลิวโรนเลเยอร์ จมูกข้าว บางส่วนของชั้นอลิวโรนเลเยอร์ (subaleurone layer) และบางส่วนของสตาร์ชีเอนโดสเปิร์ม (Houston, 1972) รำข้าวที่สีตามโรงสียังแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ รำข้าวกล้องหรือรำหยาบ และรำข้าวขาวหรือรำละเอียด ซึ่งมีปริมาณน้ำมันมากกว่ารำหยาบซึ่งเหมาะในการใช้ผลิตน้ำมัน (ธีรวัฒน์ อิทธิไศภณกุล, 2543)

องค์ประกอบของรำข้าว

องค์ประกอบและปริมาณของรำข้าว ขึ้นกับ ชนิดของข้าว/สายพันธุ์ (rice variety) เช่น ข้าวชนิดเมล็ดยาวเรียว รำข้าวที่ได้จะมีปริมาณน้ำมันมากกว่าข้าวชนิดเมล็ดขนาดกลางและสั้น (Mukherjee and Bhattacharya, 1978) คุณภาพและการเตรียมข้าวเปลือกก่อนการสีข้าว เช่น การนึ่งข้าวเปลือกก่อนสีข้าวทำให้ข้าวเกิดแตกหักน้อยลงและรำข้าวที่ได้มีปริมาณแป้งต่ำ ส่วนข้าวเปลือกที่ได้รับการจัดการอย่างถูกต้องทำให้ผลผลิตของรำข้าวสูงขึ้น ชนิดของวิธีการสีข้าว

ระดับการสีข้าว (degree of milling) หรือระดับของการขัดขาว (degree of polishing) และการแยกผลผลิตระหว่างการสี เช่น รำข้าวที่สีด้วยวิธีการทันสมัยจะมีน้ำมันและโปรตีนมากกว่ารำข้าวที่ได้จากการสีแบบทั่วไป เพราะสัดส่วนของสารปนเปื้อนลดลง สำหรับข้าวเปลือกที่ผ่านการหนึ่งเมื่อนำมาสีจะได้รำข้าวที่มีสีเข้มกว่ารำข้าวที่ไม่ผ่านการหนึ่ง และปริมาณรำข้าวที่ได้ต่ำกว่ารำข้าวที่ไม่ได้หนึ่งแต่มีปริมาณโปรตีนและไขมันมากกว่า ซึ่งให้ผลผลิตของน้ำมันจากรำข้าวที่ผ่านการหนึ่งสูงกว่ารำข้าวที่ไม่ผ่านการหนึ่ง โดยน้ำมันเพิ่มขึ้นประมาณ 4-5% (Orthofer, 1996)

สมบัติของรำข้าว

รำข้าวมีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน (ตารางที่ 2.1) ขึ้นกับ กระบวนการสีข้าว รำข้าวที่ได้จากการสีข้าวด้วยเครื่องสีข้าวแบบกด (friction type) จะมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่ารำข้าวที่ได้จากเครื่องสีข้าวแบบลูกแก้ว (abrasive type) และการสีข้าวในระดับสีรำข้าวที่ได้จะมีอนุภาคเล็กลง รำข้าวที่ผ่านการอบด้วยไอน้ำ หรือที่ผ่านการหนึ่งข้าวเปลือกก่อน ทำให้อนุภาคของรำข้าวจับตัวเป็นก้อนและมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนความหนาแน่น (bulk density) ของรำข้าวโดยทั่วไปมีค่าประมาณ 0.2-0.4 กรัมต่อมิลลิเมตร โดยปริมาณความชื้นรำข้าวจะเปลี่ยนแปลงไปตามค่าความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศ (ตารางที่ 2.2) เนื่องจากรำข้าวมีสมบัติการดูดซับและคายความชื้น ซึ่งความชื้นมีผลต่อความเสถียรของรำข้าวในระหว่างการเก็บรักษา (นพมาศ มนัสวรากุล, 2545)

ตารางที่ 2.1 การกระจายตัวของอนุภาคของรำข้าว

ขนาดอนุภาค		รำข้าว (%)
Mesh	µm	
>18	>1000	0
18 - 30	1000 - 595	2-4
30 - 50	595 - 297	30.0
50 - 80	297 - 177	12.2
80 - 100	177 - 149	8.5
<100	<149	46.7

ที่มา: Barber และ Benedito de Barber (1980)

ตารางที่ 2.2 ความชื้นของรำข้าวในบรรยากาศที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ

ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	ความชื้นของรำข้าว (%)
10	5.0
20	6.4
30	8.0
40	9.0
50	10.0
60	11.0
70	12.4
80	14.8
90	18.0

ที่มา: Barber และ Benedito de Barber (1980)

องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว

เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เส้นใย คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ของรำข้าวกับรำจากธัญพืชอื่นๆ พบว่ารำข้าวที่มีจมูกข้าวมีองค์ประกอบทางเคมีต่างจากรำข้าวจากธัญพืชอื่นๆ (Onanong Naivikul and Utai Klinkesorn, 2008) ดังแสดงในตารางที่ 2.3 โดยองค์ประกอบทางเคมีและค่าพลังงานจากส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ข้าวกล้อง ข้าวขาวรำข้าว และแกลบ ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.3 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวกับรำจากธัญพืชอื่นๆ ที่ความชื้น 14%

Constituent	Rice Bran	Wheat Bran	Corn Bran	Barley Bran	Rye Bran
Crude protein (%N x 6.25)	12.0-15.6	14.5-15.7	7.8-11.5	11.5	14.6
Crude fat (%)	15.0-19.7	2.9-4.3	4.4-8.1	2.8	2.6
Crude fiber (%)	7.0-11.4	6.8-10.4	2.6-9.4	9.6	6.6
Available carbohydrates (%)	31.1-52.3	50.7-59.2	58.9-62.6	58.4	58.0
Crude ash (%)	6.6-9.9	4.0-6.5	1.9-3.4	3.6	4.2

ที่มา: Orthoefer และ Eastman (2004)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางโภชนาการของข้าวส่วนต่างๆ

Rice fraction	Protein (g)	Fat (g)	Ash (g)	Carbohydrate (g)	Dietary Fiber (g)	Energy Kcal
Whole grain rice	5.8-7.7	1.5-2.3	2.9-5.2	64-73	16.4-19.2	378
Brown rice	7.1-8.3	1.6-2.8	1.0-1.5	73-87	2.9-3.9	3774
Milled rice	6.3-7.1	0.3-0.5	0.3-0.8	77-89	07.-2.3	361
Rice bran	11.3-14.9	1.5-19.7	6.6-9.0	34-62	24-29	438
Husk	2.0-2.8	0.3-0.8	13.2-21.0	22-34	66-74	298

ที่มา: Juliano, 1993

โดยองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในรำข้าว มีดังนี้

1. คาร์โบไฮเดรต ที่มีมากในรำข้าว ได้แก่ สตาร์ช (starch) 16.1% น้ำตาลอิสระ (free-suger) 6.0-6.5% น้ำตาลที่มีมากที่สุดคือ ซูโครส ส่วนกลูโคสและฟรุกโตสมีปริมาณน้อย นอกจากนี้ยังมีโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ ราฟฟิโนส เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพนโทแซน (pentosans) และบางส่วนของลิกนิน (lignin) (นพมาศ มนัสวรากุล, 2545)

2. โปรตีนและกรดอะมิโน โปรตีนในรำข้าวมีประมาณ 13.2-17.3% ซึ่งประกอบด้วย อัลบูมิน (albumin) 5% โกลบูลิน (globulin) 10% โปรลามิน (prolamin) 5% และกลูเตลิน (glutelin) โดยกรดอะมิโนที่พบมากได้แก่ ฟีนิลอลานิน (phenylalanine) และลิวซีน (leucine) (นพมาศ มนัสวรากุล, 2545)

3. ไขมัน ไขมันในรำข้าวได้มาจากส่วนเอมบริโอ ประมาณ 1 ใน 3 ไขมันส่วนใหญ่จะ ออกมากับรำข้าวและปลายข้าวในระหว่างการสีข้าว ปริมาณไขมันของรำข้าวขึ้นกับ สภาพะการ เจริญเติบโตของข้าว ระดับการสี วิธีการสีข้าว และวิธีการสกัดไขมัน ไขมันมีปริมาณมากในชั้นนอก และในจมูกข้าว ส่วนรำข้าวมีไขมันประมาณ 17.0-23.0% ไขมันที่พบส่วนใหญ่เป็นไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) และพบฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ไกลโคลิปิด (glycolipid) และไข (waxes) ในปริมาณน้อย โดยกรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ กรดโอเลอิก (C18:1) กรดลิโนลิก (C18:2) และกรด ปาล์มมิติก (C16:0) โดยรวมประมาณ 75-95% ของกรดไขมันทั้งหมด ส่วนที่พบในปริมาณ เล็กน้อยคือ กรดลิโนลินิก (C18:3) 1-2.7% สเตียริก (C18:0) 1-2% มายริสติก (C14:0) 0.1-1% และกรดอะราคิติก (C20:0) ประมาณ 0-1.0% (ธีรารัตน์ อธิธิโสภณกุล, 2543) ในน้ำมันรำข้าวดิบ มีส่วนของ unsaponifiable matters ซึ่งมีสารประกอบที่ต้านออกซิเดชันอยู่ระดับสูง เช่น tocopherols/tocotrienols และแกมมาโอโรซานอล และมีองค์ประกอบอื่นในส่วน unsaponifiable เป็น สเตอรอล (sterols) ไตรเทอเพน แอลกอฮอล์ (triterpene alcohols) 4-methyl-sterols และ องค์ประกอบที่มีขั้วต่ำ (less polar component) (Cicero and Derosa, 2005; Juliano et al., 2005; Lee et al., 2004)

4. แร่ธาตุ พบมากในชั้นนอกของผลและเอมบริโอ แร่ธาตุทั้งหมดในรำข้าวมีประมาณ 9.0-11.5% แร่ธาตุที่พบมากที่สุด คือ ฟอสฟอรัส ซึ่งมากกว่า 90% อยู่ในรูปของไฟตินฟอสฟอรัส (phytin phosphorus) (นพมาศ มนัสวรากุล, 2545)

5. วิตามิน วิตามินที่สำคัญคือ วิตามินอี แอลฟา-โทโคฟีรอล ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารป้องกันการเหม็นหืนในธรรมชาติ นอกจากนี้รำข้าวยังเป็นแหล่งของวิตามินบี ที่มีอยู่มากในชั้นนอกของผล และในเอมบริโอ (นพมาศ มนัสวรากุล, 2545) แต่มีวิตามินเอและซีน้อย (Orthofer, 1996)

6. เอนไซม์ รำข้าวเป็นแหล่งของเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ ไลเปส (lipase) เลซิทีนเนส (lecithinase) ไลปอกซีจีเนส (lipoxygenase) อะไมเลส (amylase) เอสเทอเรส (esterase) อินเวอร์เทส (invertase) มอลเตส (maltase) เพคตินเนส (pectinase) และเพอออกซิเดส (peroxidase) เป็นต้น (ธีรารัตน์ อธิธิโสภณกุล, 2543) เอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่ได้รับความสนใจมากที่สุด เนื่องจากส่งผลกระทบต่ออายุการเก็บและคุณภาพของรำข้าวในการนำไปใช้

ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม โดยเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวเร่งการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของน้ำมันในรำข้าว ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็น โมโนหรือไดเอซิลกลีเซอรอล หรือกลีเซอรอล และกรดไขมันอิสระ หลังการสีข้าว น้ำมันรำข้าวที่ได้จะมีกรดไขมันอิสระ 2-4% รำข้าวที่มีกรดไขมันอิสระน้อยกว่า 5% จะสามารถนำไปผลิตเป็นน้ำมันรำข้าวได้ เพราะถ้ามีกรดไขมันอิสระสูงทำให้เกิดการสูญเสีย น้ำมันในระหว่างการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์สูง (Orthofer, 1996)

2.3 เอนไซม์ไลเปส (Lipase) (นฤมล จิยโชค, 2537)

เอนไซม์ไลเปสมีชื่อเรียกตาม enzyme nomenclature ว่า glycerol ester hydrolase หรือ acylglycerol hydrolase และมีชื่อเรียกตามคณะกรรมการเอนไซม์นานาชาติว่า E.C. 3.1.1.3 โดยที่

- เลข 3 ตำแหน่งแรก บ่งบอกรูปแบบการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ ในที่นี้คือ hydrolases ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการแยกสลายโดยอาศัยน้ำเข้ามาเกี่ยวข้อง

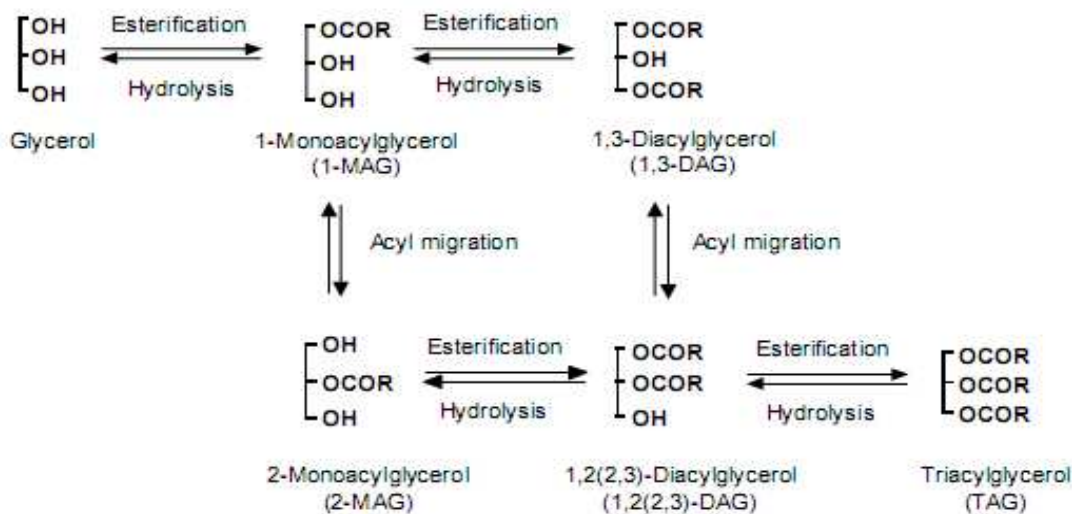
- เลข 1 ตำแหน่งที่สอง เป็นการบอกชนิดของพันธะที่เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยา ซึ่งเลข 1 คือ กลุ่มของพันธะเอสเทอร์

- เลข 1 ตำแหน่งที่สาม เป็นการบอกที่เฉพาะเจาะจงไปอีกว่า ธรรมชาติของพันธะที่ทำปฏิกิริยานั้นเป็นอย่างไร โดยเลข 1 นี้คือ กลุ่มของคาร์บอกซิลิกเอสเทอร์

- เลข 3 ตำแหน่งที่สี่ เป็นการบอกลำดับของเอนไซม์ที่พบในกลุ่มนี้ ในที่นี้คือลำดับที่ 3

สมบัติและการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (ธีรรัตน์ อธิธิโสภณกุล, 2543)

ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ของไตรกลีเซอไรด์ (TAG) ซึ่งมีกรดไขมันสายยาวเป็นส่วนประกอบ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไดกลีเซอไรด์ (DAG) โมโนกลีเซอไรด์ (MAG) กรดไขมันอิสระ และกลีเซอรอล ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นบริเวณผิวสัมผัสระหว่างชั้นของสับสเตรตกับชั้นน้ำ นอกจากนี้ไลเปสยังสามารถเร่งปฏิกิริยาย้อนกลับได้ โดยเร่งการสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างกลีเซอรอลกับกรดไขมันอิสระ ดังรูปที่ 2.2



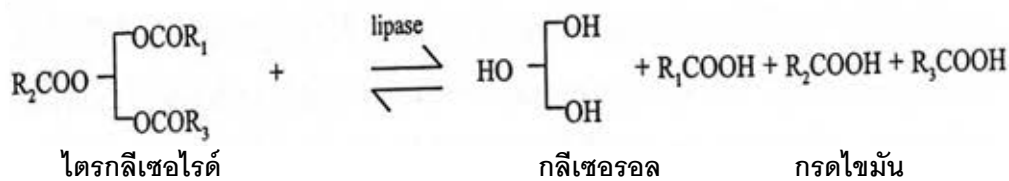
รูปที่ 2.2 แผนผังปฏิกิริยาต่างๆ ที่ใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่ง
ที่มา: Watanabe และคณะ (2005)

การทำงานของเอนไซม์ไลเปส (วรรณิ ประภักร, 2542)

เอนไซม์ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ 3 ชนิดใหญ่ๆ คือ

1. ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

เป็นปฏิกิริยาที่ต้องการน้ำในการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็น กลีเซอรอลและกรดไขมัน (รูปที่ 2.3)

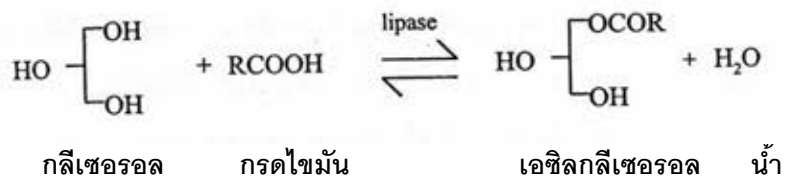


รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ที่มา: วรรณิ ประภักร (2542)

2. ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน (Esterification)

เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ที่เป็นการสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่าง แอลกอฮอล์ (กลีเซอรอล) กับกรดไขมัน ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นไตรกลีเซอไรด์ ปฏิกิริยานี้ต้องการ น้ำปริมาณน้อยมาก (รูปที่ 2.4)



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน

ที่มา: วรณี ประภักร (2542)

3. ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน (Transesterification)

เป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนหมู่จากสารชนิดหนึ่งไปยังสารอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทเดียวกัน เช่น การแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างโมโนเอสเทอร์หรือพอลิเอสเทอร์ และการแลกเปลี่ยนหมู่ของแอลกอฮอล์ในกรดไขมันเอสเทอร์ ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันสามารถแบ่งออกได้อีก 4 ปฏิกิริยา คือ

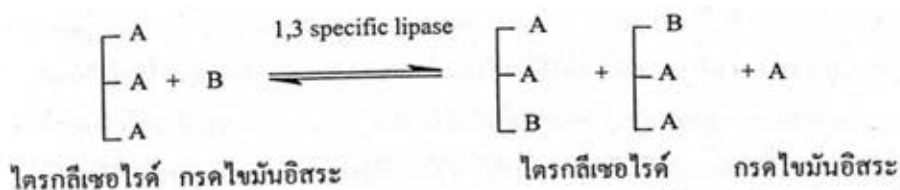
3.1) Alcoholysis เป็นการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่าง ไตรกลีเซอไรด์กับไขมันแอลกอฮอล์ (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยา alcoholysis

ที่มา: วรณี ประภักร (2542)

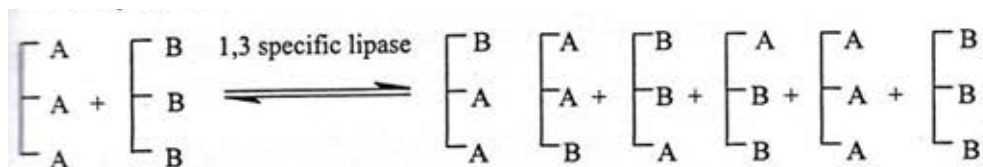
3.2) Acidolysis เป็นการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับกรดไขมันอิสระ (รูปที่ 2.6 โดยที่ A และ B เป็นกรดไขมัน)



รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยา acidolysis

ที่มา: วรณี ประภักร (2542)

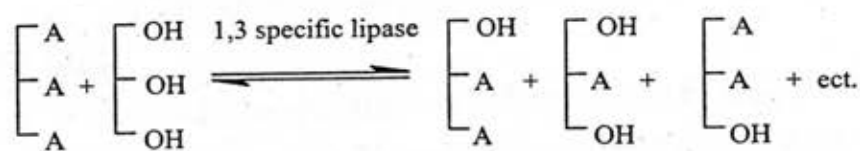
3.3) Ester-ester interchange (Interesterification) เป็นการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับไตรกลีเซอไรด์ (รูปที่ 2.7 โดยที่ A และ B เป็นกรดไขมัน)



รูปที่ 2.7 ปฏิกริยา Interesterification

ที่มา: วรณีย์ ประภังกร (2542)

3.4) Glycerolysis เป็นการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับกลีเซอรอล (รูปที่ 2.8 โดยที่ A เป็นกรดไขมัน)



รูปที่ 2.8 ปฏิกริยา glycerolysis

ที่มา: วรณีย์ ประภังกร (2542)

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ (ธีรารัตน์ อธิธิโสภณกุล, 2543; นิธิยา รัตนาปานนท์, 2549)

เนื่องจากเอนไซม์ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาทางเคมี เพื่อเปลี่ยนสับสเตรตให้เป็นผลิตภัณฑ์ โดยโมเลกุลของเอนไซม์จะรวมตัวกับสับสเตรตเป็นสารประกอบเชิงซ้อนก่อน แล้วจึงเปลี่ยนสับสเตรตให้เป็นผลิตภัณฑ์ โดยที่โมเลกุลของเอนไซม์ไม่ได้เปลี่ยนแปลง หรือสลายตัวไปด้วย จึงทำให้สามารถกลับมาทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาได้อีกอย่างต่อเนื่อง อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์นี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่

1. ความเข้มข้นของสับสเตรต ในปฏิกิริยาที่มีสับสเตรตเพียงชนิดเดียว เมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตเพิ่มขึ้น จะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่มีความเร็วสูงสุด หากเพิ่มความเข้มข้นของสับสเตรตต่อไปอีก อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะคงที่ตาม Michaelis-Menten kinetics และถ้าความเข้มข้นของสับสเตรตสูงเกินไปก็อาจจะยับยั้งอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นให้ช้าลงได้

2. ความเข้มข้นของเอนไซม์ ในภาวะที่ความเข้มข้นของสับสเตรต pH อุณหภูมิ และ บัฟเฟอร์ที่ใช้คงที่ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ให้มากขึ้นจะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น แต่ต้องไม่มีสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ปนอยู่ด้วย ปริมาณเอนไซม์และการเติมสารบางชนิด (additive) การใช้ปริมาณเอนไซม์ที่พอเหมาะเป็นสิ่งสำคัญ ถ้าใช้เอนไซม์ในการตรึงมากเกินไปค่ากิจกรรมอาจลดลงได้เนื่องจากการต้านการแพร่ของสับสเตรตไปยังบริเวณเร่งของเอนไซม์ แต่ถ้าใช้เอนไซม์ในการตรึงน้อยเกินไปเอนไซม์อาจมีกิจกรรมต่ำ

3. ผลของ pH เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีน การเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายโปรตีน มีผลต่อประจุที่เกิดขึ้นบนโมเลกุลของโปรตีน จึงส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ด้วย โดยเฉพาะที่บริเวณเร่ง ซึ่งเป็นตำแหน่งที่สับสเตรตจะต้องเข้ารวมตัวกับเอนไซม์ ดังนั้นเอนไซม์แต่ละชนิดจึงมีค่า pH ที่เหมาะสม สำหรับเร่งปฏิกิริยาให้ได้ความเร็วสูงสุดเสมอ หากค่า pH ของสารละลายสูงหรือต่ำกว่า pH ที่เหมาะสม ทำให้ความเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นช้าลง แต่มีเอนไซม์บางชนิดมีค่า pH ที่เหมาะสมเป็นช่วงกว้าง ส่วนประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในตัว ทำละลายอินทรีย์ขึ้นกับ สิ่งแวดล้อมรอบโมเลกุลของเอนไซม์ โดยหมู่ที่แตกตัวได้ควรอยู่ใน ภาวะการแตกตัว (ionization state) ที่เหมาะสมเช่นเดียวกับ pH ของการเร่งปฏิกิริยาในน้ำ

4. ผลของอุณหภูมิ อุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการทำงานของเอนไซม์ เพราะอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์จะผันแปรตามอุณหภูมิ และอุณหภูมียังมีอิทธิพลต่อความคงตัวของเอนไซม์ด้วย หากอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ และมีผลทำให้ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์สูญเสียไปด้วย เนื่องจากโครงสร้างที่ตำแหน่งบริเวณเร่งเปลี่ยนไป เอนไซม์ส่วนใหญ่จะมีความคงตัวอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 20-35 องศาเซลเซียส และเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยาให้ได้ความเร็วสูงสุด เอนไซม์จะสูญเสียกิจกรรมมากขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นมากกว่าค่าอุณหภูมิที่เหมาะสม

5. Water activity ความเข้มข้นของน้ำ การทำงานของเอนไซม์จะเกิดขึ้นเมื่ออยู่ในภาวะที่เป็นสารละลายในน้ำ ทั้งที่เกิดขึ้นภายในเซลล์และในหลอดทดลอง ดังนั้น A_w จึงเป็นปัจจัยสำคัญต่ออัตราของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น โดยพอสรุปได้ว่าหากมีปริมาณน้ำน้อยกว่า 1-2% จะยับยั้งความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ ซึ่งน้ำจำเป็นสำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาและมีผลต่อความเสถียรของเอนไซม์ การรักษาปริมาณน้ำที่พอเหมาะเป็นสิ่งสำคัญ ถ้ามีน้ำมากเกินไปสมดุลของปฏิกิริยาจะเปลี่ยนไปในทิศทางที่เกิดปฏิกิริยาการสลายด้วยน้ำ แต่ถ้ามีปริมาณน้ำน้อยไปจะทำให้เอนไซม์สูญเสียประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยา ผลของน้ำต่อการทำงานของเอนไซม์สามารถแบ่งได้ 2 ส่วน คือ ส่วนแรก bound water เป็นส่วนของน้ำที่ล้อมรอบ

โมเลกุลของเอนไซม์ น้ำส่วนนี้มีความสำคัญต่อการรักษาโครงสร้างของเอนไซม์ น้ำเหล่านี้มีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมเกี่ยวกับพันธะไฮโดรเจน แรงแม่เหล็กไฟฟ้า และแรงแวนเดอร์วาลส์ที่อยู่ในเอนไซม์โดยที่แรงเหล่านี้จะช่วยให้เอนไซม์คงรูปตามธรรมชาติ และช่วยในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ ถ้าน้ำส่วนนี้ถูกดึงออกไปจะทำให้เอนไซม์ผิดรูป โดยเฉพาะในส่วนที่เป็นบริเวณเร่งเอนไซม์จึงสูญเสียประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยา ส่วนที่สอง bulk water เป็นน้ำส่วนที่ไม่ได้เกาะอยู่กับเอนไซม์ ซึ่งอยู่ถัดจาก bound water สามารถกำจัดออกได้โดยที่เอนไซม์ยังคงความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาได้ ปริมาณน้ำที่พอเหมาะสำหรับแต่ละปฏิกิริยาแตกต่างกันไปขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของเอนไซม์ พาหะตริง ตัวทำละลายอินทรีย์ และสับสเตรต โดยน้ำบางส่วนจับกับเอนไซม์และพาหะตริง และบางส่วนละลายในตัวทำละลายอินทรีย์

6. ตัวทำละลายอินทรีย์ การเลือกตัวทำละลายอินทรีย์มีความสำคัญมากต่อกิจกรรมในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์มีผลต่อแรงปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นภายในระบบและมีส่วนในการคงอยู่ของปริมาณน้ำรอบเอนไซม์ (bound water) ในระบบที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่เหมาะสมจะทำให้แรงเหล่านั้นอ่อนตัวลง โครงรูปเอนไซม์ถูกทำลาย กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงจนสูญเสียสภาพในที่สุด อาจส่งผลกระทบต่อความจำเพาะของเอนไซม์ทั้งในด้าน regioselectivity และ stereoselectivity รวมถึงกิจกรรมของเอนไซม์ด้วย ตัวทำละลายอินทรีย์จำแนกได้ 2 ชนิด คือ ชนิดที่สามารถรวมตัวกับน้ำ (water miscible หรือ hydrophilic) ชอบดึงน้ำที่ล้อมรอบเอนไซม์ทำให้เอนไซม์เกิดการคลายเป็นสายยาว มีผลทำให้กิจกรรมต่ำลง และชนิดที่ไม่รวมตัวกับน้ำ (water immiscible หรือ hydrophobic) ไม่ดึงน้ำออกจากเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์มีกิจกรรมเท่าเดิม ดังนั้นกิจกรรมในการเร่งปฏิกิริยาในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดไม่รวมตัวกับน้ำจึงสูงกว่าชนิดที่สามารถรวมตัวกับน้ำ ตัวแปรสำคัญ คือ ค่า $\log P$ (P คือ partition coefficient) ซึ่งสามารถใช้ในการทำนายแนวโน้มอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ได้

7. พาหะตริงหรือการตรึงเอนไซม์ไว้บนพาหะตริง มีข้อดีคือ ทำให้การกระจายของเอนไซม์ในตัวทำละลายสม่ำเสมอ ทำให้การแพร่ของสับสเตรตในการเข้าไปยังบริเวณภายในและภายนอกของเอนไซม์ได้ดีขึ้น มีผลให้แอกติวิตีสูงขึ้น ป้องกันการทำลายจากตัวทำละลายอินทรีย์ได้ และยังสามารถแยกเอนไซม์ในรูปเอนไซม์ตริงเพื่อนำไปใช้ใหม่ได้ พาหะตริงเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากพาหะตริงแต่ละชนิดมีความสามารถในการดึงน้ำจากตัวทำละลายอินทรีย์แตกต่างกัน ซึ่งค่าเหล่านี้มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์

ความจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส (กรกช ฮามสุโพธิ์, 2540; ธีรารัตน์ อธิธิโสภณกุล, 2543)

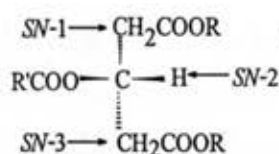
ความจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม คือ

1. ความจำเพาะต่อสับสเตรต (substrate selective lipase)

ในที่นี้สับสเตรตของเอนไซม์ไลเปสคือ เอซิลกลีเซอรอล (acylglycerol) โดยนอกจากเอนไซม์ไลเปสจะเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพันธะเอสเทอร์ของ TAG แล้ว ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาของ DAG, MAG รวมถึงฟอสโฟลิปิดได้ด้วย ดังนั้นความจำเพาะของสับสเตรตจึงหมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ไลเปสในการชอบไฮโดรไลซ์กลีเซอรอลเอสเทอร์ชนิดใดชนิดหนึ่งที่จำเพาะ เช่น เอนไซม์ไลเปสจากสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่ชอบเร่งปฏิกิริยาที่มีสับสเตรตเป็น TAG แต่เร่งปฏิกิริยาที่มีสับสเตรตเป็น MAG ได้น้อยมาก แต่ก็มีเอนไซม์ไลเปสบางชนิดที่สามารถเร่งปฏิกิริยาของ MAG และ DAG ได้เร็วกว่า TAG เอนไซม์ไลเปสแต่ละชนิดย่อมมีความจำเพาะต่อสับสเตรตแตกต่างกัน โดยความจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสจะถูกควบคุมโดยสมบัติของโมเลกุลเอนไซม์ โครงสร้างของสับสเตรต และปัจจัยที่มีผลต่อการจับตัวกันระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรต หรือสิ่งอื่นที่มีอิทธิพลต่อกิจกรรมของเอนไซม์

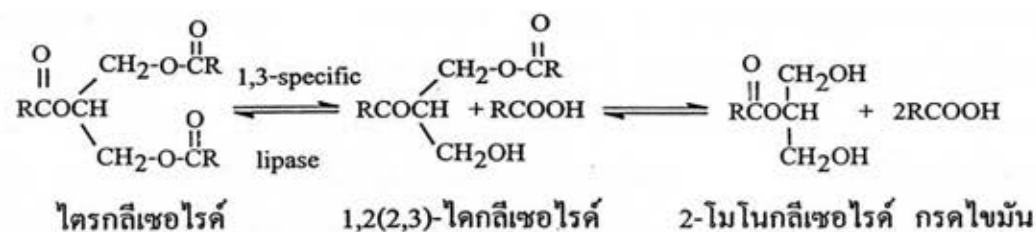
2. ความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกุล TAG (regioselective) ซึ่งสามารถแบ่งเอนไซม์ไลเปสได้อีก 2 ชนิด คือ

2.1 เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 บนโมเลกุล TAG (1,3-specific หรือ 1,3- regioselective lipases) เอนไซม์ไลเปสในกลุ่มนี้จะชอบไฮโดรไลซ์กรดไขมันตำแหน่งที่อยู่ด้านนอกของโมเลกุล TAG ในที่นี้คือ ตำแหน่งที่ 1 (*sn*-1) และ 3 (*sn*-3) มากกว่าตำแหน่งที่ 2 (*sn*-2) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น กรดไขมันอิสระ 1,2 (2,3)-DAG และ 2-MAG แต่โมเลกุลของ 1,2 (2,3)-DAG และ 2-MAG ไม่เสถียร ถ้าปล่อยให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไปเป็นเวลานานจะมีการย้ายกรดไขมัน (acyl migration) จากตำแหน่งที่ 2 ไปตำแหน่งที่ 1 และ 3 ได้เป็น 1,3-DAG และ 1(3)-MAG ซึ่งถูกแยกสลายอย่างสมบูรณ์ได้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ ดังรูปที่ 2.9 แสดงตำแหน่ง *sn* ของ TAG และรูปที่ 2.10 แสดงปฏิกิริยาการสลาย TAG โดยเอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3



รูปที่ 2.9 แสดงตำแหน่ง *sn* ของ TAG

ที่มา: ธีรารัตน์ อธิธิโสภณกุล (2543)



รูปที่ 2.10 ปฏิกริยาการสลาย TAG โดยเอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3
ที่มา: ธีรารัตน์ อธิติโสภณกุล (2543)

2.2 เอนไซม์ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกุล TAG (non-specific lipases) เอนไซม์ไลเปสในกลุ่มนี้สามารถไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ใน TAG ได้ทั้งสามตำแหน่ง โดยไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งกรดไขมันบนโมเลกุล TAG โดยการแยกสลายสมบูรณ์ของ TAG จะได้กรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล แต่อาจจะพบ DAG และ MAG เป็นสารตัวกลางในปฏิกิริยาได้ ดังรูปที่ 2.11 แสดงปฏิกิริยาการสลาย TAG โดยเอนไซม์ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกุล TAG



รูปที่ 2.11 ปฏิกริยาการสลาย TAG โดยเอนไซม์ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบน
โมเลกุล TAG

ที่มา: ธีรารัตน์ อธิติโสภณกุล (2543)

2.3. ความจำเพาะต่อกรดไขมัน (Fatty acid specificity)

เอนไซม์ไลเปสในกลุ่มนี้มีความจำเพาะต่อชนิดของกรดไขมัน โดยบางชนิดมีความจำเพาะต่อกรดไขมันสายสั้น (ต่ำกว่า C_8) บางชนิดมีความจำเพาะต่อกรดไขมันสายกลาง (C_8 - C_{14}) และบางชนิดมีความจำเพาะต่อกรดไขมันสายยาว (ตั้งแต่ C_{14} ขึ้นไป) โดยอัตราการไฮโดรไลซ์กรดไขมันชนิดต่างๆ ของเอนไซม์ไลเปสแต่ละชนิดจะต่างกัน

2.4 ความจำเพาะต่อสเตอริโอไอโซเมอร์ (stereospecific) หมายถึง เอนไซม์ไลเปสที่มีความสามารถในการแยกความแตกต่างระหว่างตำแหน่ง *sn*-1 และ *sn*-3 ของ TAG ได้

2.4 เอนไซม์ไลเปสในรำข้าวและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอนไซม์ไลเปสจากข้าวส่วนใหญ่พบมากในรำข้าว โดยเอนไซม์ไลเปสชนิดนี้สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งต่างจากเอนไซม์ไลเปสจากเมล็ดพืชน้ำมันอื่น โดยเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวมี 2 ชนิด คือ เอนไซม์ไลเปส I ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยแคลเซียมไอออนและมีค่า pH ที่เหมาะสมเป็น 7.5 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 40 kDa สามารถไฮโดรไลซ์ไขมันที่ตำแหน่ง 1 และ 3 ได้ดี ส่วนเอนไซม์ไลเปส II มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 32 kDa มีค่า pI 9.1 และมีค่า pH ที่เหมาะสมเป็น 7.5 และมีความจำเพาะต่อลิพิดที่ประกอบด้วยกรดไขมันสายสั้น (Funatsu et al., 1971; Aizono et al., 1976)

Funatsu และคณะ (1971) ศึกษาการทำให้บริสุทธิ์และศึกษาสมบัติทางกายภาพของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าว *Oryza sativa* สายพันธุ์ Japonica โดยนำรำข้าวมาสกัดน้ำมันออกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ แล้วจึงสกัดเอนไซม์ นำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยกระบวนการต่างๆ พบว่ารำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 1 กิโลกรัม สามารถแยกเอนไซม์บริสุทธิ์ออกมาได้ 6 มิลลิกรัม โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่บริสุทธิ์สูงถึง 480 เท่าของ crude enzyme และมีค่า pI 8.56 สามารถคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตกตะกอนได้เป็น 2.97S และค่าน้ำหนักโมเลกุลโดยวิธีของ Archibald เท่ากับ 40,000 ดาลตัน

Shastri และ Raghavendra (1971) พบว่าในเมล็ดข้าวมีเอนไซม์ไลเปสอยู่ที่บริเวณผิวชั้นนอกมากที่สุด จึงสกัดเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวแล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วยกระบวนการต่างๆ จากนั้นนำเอนไซม์ที่บริสุทธิ์มาศึกษาสมบัติต่างๆ พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์มี 2 ค่า คือ ที่ pH 5.5 เมื่อเอนไซม์อยู่ในอะซิเตทบัฟเฟอร์ และที่ pH 7.4-7.6 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 องศาเซลเซียส เอนไซม์นี้สามารถถูกกระตุ้นด้วยแคลเซียมไอออนที่ความเข้มข้นต่ำ เอนไซม์สูญเสียกิจกรรมอย่างสิ้นเชิงเมื่ออยู่ในแอลกอฮอล์ 20-30% เพียง 2 นาที น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ที่แยกได้จาก Sephadex G-100 มีค่าเท่ากับ 41,000 ดาลตัน

Aizono และคณะ (1973) ได้ทำการศึกษาต่อเนื่องจากการศึกษาสมบัติทางเคมีของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าว *Oryza sativa* สายพันธุ์ Japonica โดยศึกษาถึงลักษณะเฉพาะของเอนไซม์ไลเปส I โดยใช้ไทรบิวทิลีนเป็นสับสเตรต พบว่าเอนไซม์มีค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 7.5-8.0 เอนไซม์มีความเสถียรตลอดช่วง pH 4-9 ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียส สามารถคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเอนไซม์สูญเสียกิจกรรมอย่างสิ้นเชิงเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล (2540) สกัดไลเปสจากรำข้าวหอมไทย (พรวงไขมัน) และเมื่อทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 1.32 เท่า พบว่ามีกิจกรรมจำเพาะ 2.04 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 7.6 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และยังมีความเสถียรในช่วง pH ระหว่าง 4-9 และช่วงอุณหภูมิระหว่าง 20-45 องศาเซลเซียส แต่สูญเสียกิจกรรมอย่างสิ้นเชิงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บไว้นาน 60 นาที

มลฤดี เชาวรัตน์ (2540) ศึกษาปฏิกิริยารีเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระในรำข้าวหอมมะลิ 105 และปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสน้ำมันรำข้าว โดยศึกษาปฏิกิริยารีเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันอิสระในน้ำมันรำข้าวดิบโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก *Candida cylindracea* ที่ตรึงบนซีไลท์ พบว่าสามารถลดปริมาณกรดไขมันอิสระจาก 45.6% เหลือ 7.1% ภายใน 30 ชั่วโมง และสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา คือ ที่ปริมาณน้ำ 30 ไมโครลิตร และใช้อัตราส่วนของเฮกเซนต่อน้ำมันรำข้าวดิบเป็น 79:1 และยังคงศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ไลเปสจากรำข้าวเปลี่ยนน้ำมันรำข้าวให้เป็นกรดไขมันอิสระโดยใช้เอนไซม์ไลเปสภายในรำข้าวในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์บนตัวกลางแบบของแข็ง (solid phase) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของไลเปสมากที่สุดคือน้ำ ถ้าในสภาวะที่มีน้ำมากไลเปสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส แต่ถ้ามีน้ำน้อย ไลเปสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยารีเอสเทอริฟิเคชัน ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การลดความชื้นในรำข้าวด้วยวิธีต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการทำ freeze drying การเป่าลมร้อนที่อุณหภูมิ 37 และ 40 องศาเซลเซียส การอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และการดูดอากาศออก ไม่สามารถเร่งให้เกิดปฏิกิริยารีเอสเทอริฟิเคชันได้ เนื่องจากสมบัติทางกายภาพของรำข้าวที่สามารถดูดความชื้นจากอากาศกลับคืนทำให้ไลเปสยังเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระในรำข้าวยังเพิ่มขึ้น โดยสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในรำข้าวได้ดีที่สุดคือ ความชื้นของรำข้าว 25% (ต่อน้ำหนักแห้ง) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยไม่จำเป็นต้องปรับค่า pH และไม่เติมแคลเซียมคลอไรด์ CaCl_2 โดยกรดไขมันอิสระในรำข้าวเพิ่มจาก 6-8% เป็น 80-90% ภายใน 42 วัน และพบว่าเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวมีความคงตัวต่อความร้อนสูงกว่าเอนไซม์ไลเปสในรูปอิสระและมีความคงตัวลดลงเมื่อรำข้าวมีความชื้นสูง

กรกช ฮามสุโพธิ์ (2540) ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในรำข้าวที่สกัดน้ำมันแล้ว พบว่ากากรำข้าวที่ปรับสภาวะความชื้นเป็น 25% มีอัตราของการไฮโดรไลซีน้ำมันมะกอก (10% 20% 30%) ได้สูงกว่ากากรำข้าวที่มีความชื้น 20% และ 30% แต่เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันมะกอกมีปริมาณสูง (40-50%) กากรำข้าวที่มีความชื้น 30% จะให้อัตราของการไฮโดรไลซิสได้สูงที่สุด เมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตเพิ่มขึ้น (10%, 20%, 30%, 40% และ 50%) พบว่าอัตราของ

การไฮโดรไลซ์ลดลงแต่ปริมาณของการไฮโดรไลซิสทั้งหมดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าไลเปสในกากรำข้าวสามารถไฮโดรไลซ์น้ำมันปาล์มได้รวดเร็วกว่าน้ำมันมะกอกและน้ำมันหมู ไลเปสในกากรำข้าวยังคงมีความคงตัวหลังจากนำกลับมาใช้อีก 5 รอบ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มและน้ำมันหมูส่วนที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันอย่างมากเมื่อเทียบกับองค์ประกอบในน้ำมันเริ่มต้น ซึ่งอธิบายได้ว่าไลเปสในรำข้าวมีความจำเพาะในการตัดกรดไขมันที่ตำแหน่ง 1 และ 3 บนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ (1,3 specific lipase) นอกจากนี้ยังพบว่าไลเปสในกากรำข้าวที่เสียสภาพธรรมชาติแล้วสามารถคืนสภาพธรรมชาติได้ถ้าปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

สมรเมธ เจียรนัยกุล (2540) ศึกษาการพัฒนาวิธีการตรึงเอนไซม์ไลเปสบนซี้ถั่วแกลบในตัวทำละลายอินทรีย์ โดยศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเตรียมซี้ถั่วเพื่อใช้เป็นพาหะในการตรึงเอนไซม์ไลเปส พบว่าการใช้ซี้ถั่วแกลบที่เผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำการปรับสภาพซี้ถั่วด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 10% (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นพาหะในการตรึงเอนไซม์ไลเปสในตัวทำละลายอินทรีย์จะให้กิจกรรมสูงสุด และเมื่อเปรียบเทียบการใช้ตัวกลางในการตรึงเอนไซม์ที่ต่างชนิดกัน โดยตรึงในตัวกลางที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์กับการใช้สารละลายบัฟเฟอร์ พบว่าการตรึงในเฮกเซนจะทำให้เอนไซม์มีกิจกรรมสูงกว่าการใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวกลางในการตรึง

ภาวิณี จารุวรรณ (2540) ศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกัน และปริมาณน้ำที่เหมาะสมในการรักษาโครงรูปของเอนไซม์ ต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida cylindracea* โดยทำการตรึงเอนไซม์ไลเปสในตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้ซี้ถั่วแกลบเป็นพาหะตรึง พบว่าไอโซออกเทนเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดและกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงตามความเป็นขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่สูงขึ้น ปริมาณน้ำที่เหมาะสมในการรักษาโครงรูปของเอนไซม์ พบว่าปริมาณน้ำที่ทำให้เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุดจะเพิ่มขึ้นตามความเป็นขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น

สลักจิตร น้ำจันทร์ (2541) ศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีต่อเอนไซม์ไลเปสจาก *Penicillium roqueforti* ที่ตรึงบนซี้ถั่วแกลบ โดยทำการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีการดูดซับเอนไซม์ให้ติดอยู่บนผิวซี้ถั่วแกลบ ซึ่งเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วปรับสภาพซี้ถั่วด้วยกรดซัลฟูริก และปรับเปลี่ยนปริมาณน้ำที่ใช้ละลายเอนไซม์ไลเปสก่อนทำการตรึง แล้วนำซี้ถั่วแกลบมาใช้เป็นพาหะสำหรับตรึงเอนไซม์และทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสน้ำมันมะกอกในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ พบว่าตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีค่า $\log P$ มากกว่า 3 ให้ค่ากิจกรรม

ไฮโดรไลซิสที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับเอนไซม์อิสระที่ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสน้ำมันมะกอกในสารละลายบัฟเฟอร์ และพบว่าการเพิ่มปริมาณน้ำที่ใช้ละลายเอนไซม์ให้มากขึ้นมีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ตรึงลดลง

ศศมณฑ์ สุภพฤกษ์สกุล (2541) ศึกษาการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ไลเปสจาก *Pseudomonas cepacia* ที่ตรึงบนซีโต้ไกลบในตัวทำละลายอินทรีย์ โดยการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกให้มีความพรุนใช้เครื่องช่วยตรึงเอนไซม์หยุดสารละลายเอนไซม์ด้วยอัตราเร็วที่เหมาะสม โมเลกุลเอนไซม์จะถูกดูดซับบนผิวพาหะตรึง แล้วศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วแตกต่างกันได้แก่ ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนที่มีค่า $\log P$ มากกว่า 3 คือ โนเนน ไอโซออกเทน เฮปเทน และเฮกเซน ตัวทำละลายชนิดอีเทอร์ คือ ไดไอโซโพรพิลอีเทอร์ ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนและคลอรีเนตไฮโดรคาร์บอน และตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ คือ อะซิโตน และเอทานอล เปรียบเทียบกับค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสตรึงและเอนไซม์ไลเปสอิสระและปริมาณน้ำที่รักษาความสามารถของเอนไซม์ให้เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส พบว่าไอโซออกเทนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ดีที่สุด เนื่องจากให้กิจกรรมของเอนไซม์ตรึงสูงสุดเมื่อเทียบกับเอนไซม์ไลเปสอิสระ กล่าวได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงตามค่า $\log P$ ที่สูงขึ้นของตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนความเสถียรของเอนไซม์ในตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่าเอนไซม์ที่ตรึงในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอีเทอร์มีความเสถียรมากกว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน และการศึกษาระดับการเกิดไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ตรึงที่แขวงลอยในไอโซออกเทน พบว่าสามารถไฮโดรไลซ์น้ำมันมะกอกได้ 61.84% เมื่อใช้น้ำมันมะกอกความเข้มข้น 4% (ปริมาตรต่อปริมาตร) ที่เวลาผ่านไป 22 ชั่วโมง

วิภา ชีพัสัญญาณ (2540) ศึกษาการใช้เอนไซม์ไลเปสจากพืชคือ กากมะพร้าว และรำข้าว (เอนไซม์ไลเปสในรำข้าวอยู่ในรูปของเอนไซม์ตรึงอยู่แล้ว) ในการเพิ่มความเข้มข้นของ EPA และ DHA ของน้ำมันปลาทูน่า พบว่าเมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสจากกากมะพร้าวที่ยังไม่ได้ทำให้บริสุทธิ์บางส่วน ซึ่งเป็นแผ่นไขมันละลายในอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.2 และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.8 เมื่อนำไปไฮโดรไลซ์น้ำมันปลาทูน่าได้เปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยที่ EPA และ DHA ไม่เพิ่มขึ้น แสดงว่าไลเปสจากกากมะพร้าวไม่มีความจำเพาะต่อกรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลสั้น เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากกากรำข้าวพบว่า กากรำข้าวที่ปรับความชื้นเป็น 20% และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์กลับคืนสภาพธรรมชาติเมื่อนำมาไฮโดรไลซ์น้ำมันมะกอก เอนไซม์สามารถไฮโดรไลซ์ได้สูงกว่าน้ำมันปลาทูน่าและน้ำมันปลาทูน่าที่ละลายในเฮกเซน และเมื่อนำเอนไซม์ไลเปสจากกากรำข้าวไป

ไฮโดรไลซ์น้ำมันปลา พบว่าเปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้นใน 15 วัน และปริมาณ EPA และ DHA เพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นไลเปสจากกากรำข้าวมีความจำเพาะต่อกรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลสั้น นอกจากนี้มีการศึกษาถึงเอนไซม์จดจำกับสับสเตรตโดยใช้น้ำมันมะกอกเป็นตัวชักนำแล้วนำเอนไซม์ไปไฮโดรไลซ์น้ำมันปลาทูน่า ซึ่งพบว่าเอนไซม์ไม่มีความจดจำกับสับสเตรตแต่เป็นความจำเพาะต่อกรดไขมันที่มีอยู่เดิม

กมลวรรณ พรหมศักดิ์ (2542) ศึกษาการใช้เอนไซม์ไลเปสจากกากรำข้าวในการเพิ่มความเข้มข้นของ EPA และ/หรือ DHA ในน้ำมันปลาทูน่า โดยศึกษาเอนไซม์ไลเปสจากกากรำข้าวเจ้า กากรำข้าวเหนียวขาว และกากรำข้าวเหนียวดำ ที่แปรความชื้น และปริมาณน้ำมัน พบว่าการใช้ไลเปสจากกากรำข้าวเจ้า กากรำข้าวเหนียวขาว และกากรำข้าวเหนียวดำ ที่ความชื้น 25% สามารถไฮโดรไลซ์น้ำมันปลาทูน่า 10% ได้ดีที่สุด เมื่อพิจารณาในแง่ของเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบกรดไขมันอิสระเพียงอย่างเดียวจะเห็นว่าไลเปสจากกากรำข้าวเหล่านี้สามารถเพิ่มความเข้มข้นของ EPA และ/หรือ DHA ได้ดี แต่เมื่อพิจารณาที่ผลผลิตของ EPA และ/หรือ DHA พบว่าลดลงอย่างเห็นได้ชัดไม่ว่าจะใช้กากรำข้าวชนิดใด และสภาวะใดๆ ก็ตาม แสดงว่าไลเปสในกากรำข้าวเหล่านี้สามารถย่อย EPA และ DHA ได้ด้วยแต่ย่อยในอัตราที่ช้ากว่ากรดไขมันสายสั้นๆ กล่าวคือไลเปสจากกากรำข้าว กากรำข้าวเหนียวขาว และกากรำข้าวเหนียวดำ ไม่มีความจำเพาะต่อกรดไขมันบนโมเลกุลไตรเอซิลกลีเซอรอล

วรรณิ ปะภังกร (2542) ศึกษาการผลิตกรดไขมันอิสระโดยใช้เอนไซม์ไลเปสในกากรำข้าว (รำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว) โดยศึกษาความสามารถของเอนไซม์ไลเปสในการไฮโดรไลซ์น้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์มเมื่อใช้น้ำมันบริสุทธิ์ที่ 2.5%, 5% และ 10% (โดยน้ำหนัก) ที่ปริมาณความชื้น 25% (โดยน้ำหนัก) พบว่าเอนไซม์ไลเปสในกากรำข้าวสามารถไฮโดรไลซ์น้ำมันรำข้าวบริสุทธิ์ได้กรดไขมันอิสระได้สูงสุด 90.46% และไฮโดรไลซ์น้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ได้กรดไขมันอิสระสูงสุด 89.17% ภายในเวลา 150 วัน โดยปริมาณความชื้นที่ลดลงระหว่างการไฮโดรไลซ์ไม่มีผลยับยั้งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ขณะที่ผลของกรดไขมันร่วมกับกลีเซอรอลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาให้ผลยับยั้งปฏิกิริยาสูงสุดในน้ำมัน รำข้าวและน้ำมันปาล์ม เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์มที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ พบว่าเอนไซม์ไลเปสในกากรำข้าวไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งของกรดไขมันบนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ และเอนไซม์ไลเปสจากกากรำข้าวสามารถนำมาใช้ผลิตกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลได้ โดยต้องมีการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ก่อนนำมาใช้ว่ามีปริมาณเอนไซม์ที่สามารถทำงานได้เพียงใด

ธีรรัตน์ อธิธิโสภณกุล (2543) ศึกษาความแตกต่างระหว่างเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวไทยสายพันธุ์ต่างๆ โดยวิธีทางจุลนาศาสตร์ในรำข้าว 3 สายพันธุ์ คือ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 รำข้าวเหนียวขาว กข 6 และรำข้าวเหนียวดำ พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเพสในรำข้าวเหนียวขาว กข 6 และรำข้าวเหนียวดำ คือ 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเพสในรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 คือ 60 องศาเซลเซียส ส่วนการศึกษาจุลนาศาสตร์ของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ไลเพสในกากรำข้าวโดยใช้น้ำมันรำข้าว น้ำมันมะกอก น้ำมันมะพร้าว น้ำมันทานตะวัน และน้ำมันปลา เป็นสับสเตรต โดยมีตัวทำละลายอินทรีย์ไอโซออกเทน และทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์ไลเพสในกากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีความชอบในการไฮโดรไลซ์น้ำมันมะกอกมากที่สุด และยังไฮโดรไลซ์น้ำมันทานตะวันได้ดีกว่าน้ำมันปลา น้ำมันรำข้าว และน้ำมันมะพร้าว ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์ไลเพสในกากรำข้าวเหนียวดำมีความชอบในการไฮโดรไลซ์น้ำมันมะกอกมากที่สุด และยังไฮโดรไลซ์น้ำมันทานตะวันได้ดีกว่าน้ำมันรำข้าว น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันปลา ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์ไลเพสในกากรำข้าวเหนียวขาว กข 6 มีความชอบในการไฮโดรไลซ์น้ำมันรำข้าวมากที่สุด และยังไฮโดรไลซ์น้ำมันมะกอกได้ดีกว่าน้ำมันทานตะวัน น้ำมันปลา และน้ำมันมะพร้าว ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเอนไซม์ในรำข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์ต่อการไฮโดรไลซ์น้ำมันแต่ละชนิด พบว่าเอนไซม์ไลเพสจากกากรำข้าวเหนียวขาว กข 6 มีประสิทธิภาพดีที่สุดใน ซึ่งสามารถนำเอนไซม์ไลเพสจากกากรำข้าวเหนียวขาว กข 6 ไปใช้ในการผลิตกรดไขมันอิสระเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมได้

มนตรี วงศ์ติณชาติ (2543) ศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ไลเพสจากเชื้อ *Candida rugosa* ที่ตรึงบนซีเถ้าแอลบในตัวทำละลายอินทรีย์ โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาและความเสถียรต่ออุณหภูมิของเอนไซม์ เพื่อเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันจากกรดไขมันอิสระของน้ำมันมะกอก และบิวทิลแอลกอฮอล์ พบว่าปริมาณสับสเตรตที่เหมาะสมต่อเอนไซม์ 10 มิลลิกรัม ที่ตั้งบนซีเถ้าแอลบ 1 กรัมในตัวทำละลายอินทรีย์ 5 มิลลิตร คืออัตราส่วนจำนวนโมลของบิวทิลแอลกอฮอล์ต่อกรดไขมันอิสระเท่ากับ 0.72 ปริมาณน้ำที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยา คือ 30 ไมโครลิตร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยา คือ 10 องศาเซลเซียส โดยไอโซออกเทนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด ความเสถียรต่ออุณหภูมิของเอนไซม์ที่ 10 องศาเซลเซียสมีค่าครึ่งชีวิตสูงที่สุดซึ่งสูงกว่าที่ 20, 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียสตามลำดับ ปริมาณบิวทิลเอสเทอร์ที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์ที่ 240 นาที มีค่ามากที่สุดซึ่งสูงกว่าที่ 15, 30, 60, 120 และ 180 นาที ตามลำดับ องค์ประกอบของกรดไขมันอิสระในรูป

บิวทิลเอสเทอร์ที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาโดยใช้เอนไซม์ประกอบด้วย C16:0, C18:1, C18:2 และ C20:2 เท่ากับ 7.21%, 73.51%, 15.00% และ 4.29% ตามลำดับ

อนรรฆอร ศรีไสยเพชร (2545) ศึกษาบทบาทของน้ำและอุณหภูมิต่อการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ที่ตรึงบนขี้เถ้ากลับในตัวทำละลายอินทรีย์ (ไอโซออกเทน) โดยใช้อัตราส่วนของกรดไขมันอิสระ (ได้จากน้ำมันมะกอก) และบิวทานอล เป็น 1.15:1 จากการศึกษากิจกรรมของปริมาณน้ำต่อการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันโดยแปรปริมาณน้ำตั้งแต่ 0.6-1.6% พบว่าเอนไซม์ตรึงมีกิจกรรมต่ำเมื่อมีปริมาณน้ำสูง และมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณน้ำลดลง โดยเอนไซม์ตรึงมีกิจกรรมสูงสุดที่ปริมาณน้ำ 0.6% ส่วนการศึกษากิจกรรมของอุณหภูมิต่อการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน พบว่าที่อุณหภูมิต่ำและปริมาณน้ำมากส่งผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ โดยที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำ 0.6%, 0.8% และ 1.0% เอนไซม์ยังคงมีกิจกรรมสูง ส่วนที่อุณหภูมิ (40 และ 50 องศาเซลเซียส) กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ คือ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (สูงกว่า 10 และ 40 องศาเซลเซียส) การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันบิวทิลเอสเทอร์ พบว่าเอนไซม์มีความจำเพาะต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัวสายยาว

2.5 องค์ประกอบของน้ำมันและกรดไขมัน

ไตรเอซิลกลีเซอรอล (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

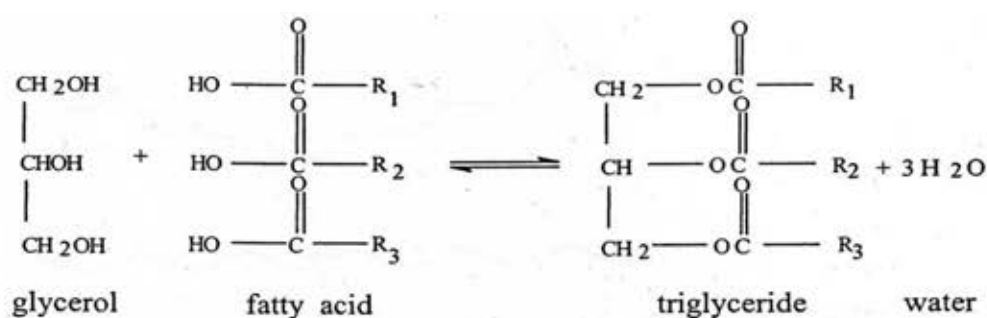
ลิปิดส่วนใหญ่ในธรรมชาติประกอบด้วยไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG) หรือไตรกลีเซอไรด์มากกว่า 90% (ตารางที่ 2.5) ซึ่งถือว่าเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันและไขมัน โดย TAG เป็นไตรเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นจากการรวมตัวระหว่างกลีเซอรอล 1 โมเลกุล กับกรดไขมัน 3 โมเลกุล ดังรูปที่ 2.12 เนื่องจากโมเลกุลของกลีเซอรอลมีตำแหน่งที่กรดไขมันเข้าไปเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันได้ถึง 3 ตำแหน่ง ทำให้ได้ TAG หลายชนิด TAG ที่โมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมันชนิดเดียวกันทั้ง 3 โมเลกุล เรียกว่า simple triacylglycerols หากโมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมันต่างชนิดกัน เรียกว่า mixed triacylglycerols ในธรรมชาติ TAG ที่โมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมันชนิดเดียวกันทั้งหมดมีน้อยมาก ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันต่างชนิดกัน ทำให้ได้น้ำมันและไขมันต่างชนิดกันด้วย ซึ่งน้ำมันและไขมันแต่ละชนิดแตกต่างกัน และผันแปรไปตามชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุล

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของน้ำมันและไขมันชนิดต่างๆ

	MAG	DAG	TAG	Other
Soybean	-	1.0	97.9	1.1
Cotton seed	0.2	9.5	87.0	3.3
Palm	-	5.8	93.1	1.1
Corn	-	2.8	95.8	1.4
Safflower	-	2.1	96.0	1.9
Olive	0.2	5.5	93.3	2.3
Rapeseed	0.1	0.8	96.8	2.3
Lard	-	1.3	97.9	0.8

^a1% weight of total glyceride content.

ที่มา: Flickinger และ Matsuo (2003)

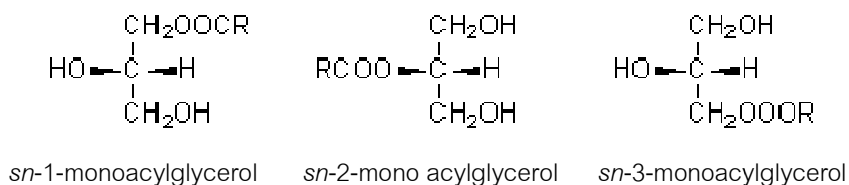


รูปที่ 2.12 โครงสร้างไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG)

ที่มา: วรณีย์ ประภักร (2542)

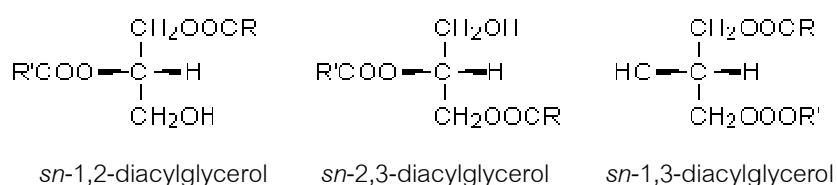
โมโนเอซิลกลีเซอรอลและไดเอซิลกลีเซอรอล (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

โมโนเอซิลกลีเซอรอล (MAG) หรือโมโนกลีเซอไรด์ (monoglycerides) และ ไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG) หรือไดกลีเซอไรด์ (diglycerides) เป็นเอสเทอร์ของกลีเซอรอลกับกรดไขมันเพียง 1 และ 2 โมเลกุล ตามลำดับ และมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ ถ้าเป็น MAG จะมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ 2 หมู่ ถ้าเป็น DAG จะมีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ 1 หมู่ โดยเอซิลกลีเซอรอล (acylglycerol) ทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่พบในน้ำมันและไขมันพืชที่ได้จากธรรมชาติ แต่พบในน้ำมันหรือไขมันที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสอย่างไม่สมบูรณ์ (รูปที่ 2.13 และ 2.14)



รูปที่ 2.13 โครงสร้างโมโนเอซิลกลีเซอรอล (MAG)

ที่มา: Christie (2008)



รูปที่ 2.14 โครงสร้างไดเอซิลกลีเซอรอล (DAG)

ที่มา: Christie (2009)

เนื่องจากโมเลกุลของ MAG และ DAG มีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระเหลืออยู่ ทำให้สามารถละลายได้ในน้ำ (hydrophilic) และมีส่วนไฮโดรคาร์บอนที่ละลายได้ในน้ำมัน (hydrophobic) เป็นผลให้ MAG และ DAG มีส่วนที่ละลายได้ทั้งในน้ำและในน้ำมัน จึงมีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟอิงเอเจนต์ที่ดี ทำหน้าที่ช่วยในกระบวนการย่อยและดูดซึมไขมันและไขมันที่ลำไส้เล็ก และใช้เติมลงในเนยขาว (shortening) และผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการให้เป็นอิมัลชันที่มีความคงตัว

กรดไขมัน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

กรดไขมันเป็นกรดอินทรีย์สายตรงที่มีสูตรโมเลกุลเป็น R-COOH ที่ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) 1 หมู่ และหมู่แอลคิล (R-) พันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของกรดไขมันมีทั้งพันธะเดี่ยวและพันธะคู่ ซึ่งกรดไขมันที่มีพันธะเดี่ยวทั้งหมดเรียกว่า กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) ส่วนกรดไขมันที่มีพันธะคู่ 1 พันธะหรือมากกว่า 1 พันธะ เรียกว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ในธรรมชาติมักพบกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟกลีเซอไรด์เป็นส่วนใหญ่ และพบในรูปกรดไขมันอิสระมีน้อยมาก น้ำมันและไขมันแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันที่ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

กรดไขมันอิ่มตัว

มีสูตรทั่วไปเป็น $C_nH_{2n}O_2$ พันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของกรดไขมันเป็นพันธะเดี่ยวทั้งหมด กรดไขมันอิ่มตัวมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมีน้อยที่สุด และมีจุดหลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่นที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากันที่มีพันธะคู่ ตัวอย่างกรดไขมันอิ่มตัว ได้แก่ butyric acid (C4:0) laurid acid (C12:0) myristic acid (C14:0) palmitic acid (C16:0) stearic acid (C18:0) arachidic acid (C20:0) และ behenic acid (C22:0) เป็นต้น

กรดไขมันไม่อิ่มตัว

กรดไขมันไม่อิ่มตัว เป็นกรดไขมันที่พันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลบางตำแหน่งเป็นพันธะคู่ ทำให้สามารถเติมไฮโดรเจนอะตอมเข้าไปในโมเลกุลของกรดไขมันชนิดนี้ได้อีก ด้วยเหตุนี้กรดไขมันไม่อิ่มตัวจึงมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมีค่อนข้างมาก แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยๆ ตามจำนวนพันธะคู่ ได้ดังนี้

1. กรดไขมันไม่อิ่มตัวหนึ่งตำแหน่ง (Monounsaturated fatty acid) มีสูตรทั่วไปเป็น $C_nH_{2n-1}COOH$ ตัวอย่างกรดไขมันชนิดนี้ได้แก่ palmitoleic acid (C16:1) oleic acid (C18:1) กรดไขมันทั้ง 2 ชนิดนี้พบได้ในไขมันและน้ำมันพืชทั่วไป

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Polyunsaturated fatty acid) กรดไขมันชนิดนี้มีพันธะคู่ในสายโมเลกุลมากกว่า 1 พันธะ ส่วนใหญ่คาร์บอนอะตอมในโมเลกุล 18-22 อะตอม และมีพันธะคู่ 2-6 พันธะ ตัวอย่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง ได้แก่ linoleic acid (C18:2) ซึ่งมีพันธะคู่สองพันธะและ linoleic acid (C18:3) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่สามพันธะในสายโมเลกุล กรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งสองชนิดนี้จัดเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายซึ่งร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ ต้องได้รับจากอาหารที่รับประทาน พบมากในน้ำมันพืชโดยเฉพาะในน้ำมันถั่วเหลือง

2.6 น้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าว (พันธิพา จันทวัฒน์ และคณะ, 2548)

น้ำมันรำข้าวดิบมีองค์ประกอบเป็นกลีเซอไรด์ 85-88% ที่เหลือประมาณ 4% เป็นสารพวกสเตอรอล โทโคฟีรอล ไฮโดรคาร์บอนและอื่น ๆ น้ำมันรำข้าวมีความเสถียรต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงเนื่องจากมีสารต้านการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งได้แก่ โอลิซานอล ไฟโตสเตอรอล สควอลีน โทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอล น้ำมันรำข้าวโดยทั่วไปมีค่าไอโอดีนประมาณ 90-110

มีจุดเกิดควันที่อุณหภูมิประมาณ 213 องศาเซลเซียส และมีกรดไขมันอิสระประมาณ 0.05% (% รูปกรดโอเลอิก)

องค์ประกอบกรดไขมัน

องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าวคล้ายกับน้ำมันถั่วลิสงในส่วนของอัตราส่วนระหว่างกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยมีกรดไขมันอิ่มตัวอยู่ 17-23% ซึ่งเป็นกรดปาล์มมิติก 12-28% และมีกรดโอเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวหนึ่งตำแหน่ง 35-50% กรดลิโนลิก 29-45% และกรดลิโนลินิก ประมาณ 1% น้ำมันรำข้าวมีสัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) : กรดไขมันไม่อิ่มตัวหนึ่งตำแหน่ง (MUFA) : กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (PUFA) เป็น 18 : 42.8 : 39 หรือ 1 : 2 : 2

องค์ประกอบที่ไม่ใช่กลีเซอไรด์

น้ำมันรำข้าวมีองค์ประกอบที่ไม่ใช่กลีเซอไรด์ 14-17% และเฉพาะส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาเป็นสบู่ (nonsaponifiable fraction) มีอยู่ประมาณ 4-5% ซึ่งในจำนวนนี้ส่วนใหญ่เป็นสเตอรอล น้ำมันรำข้าวที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีสเตอรอลที่มีชื่อว่า โอไรซานอล (Oryzanol) ซึ่งมีผลในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากการสำรวจพบว่าโอไรซานอลอยู่ในปริมาณ 115-787 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม นอกจากนั้นน้ำมันรำข้าวยังมีโทโคฟีรอล และโทโคไตรอีนอล ในปริมาณสูง โดยชนิดที่มีมากที่สุดได้แก่ แอลฟา แกมมา และเดลต้า โทโคไตรอีนอลมีผลเป็นสารยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนเช่นเดียวกับโทโคฟีรอลและยังมีหน้าที่ทางสรีรวิทยาด้วย นอกจากนี้ที่กล่าวมาแล้วยังพบไฟโตสเตอรอลในน้ำมันรำข้าวอีกด้วย

คุณค่าทางโภชนาการของน้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าวมีองค์ประกอบกรดไขมันคล้ายน้ำมันถั่วลิสง องค์ประกอบส่วนที่ไม่ใช่กรดไขมันได้แก่ โอไรซานอล ไฟโตสเตอรอล โทโคฟีรอล และโทโคไตรอีนอล องค์ประกอบเหล่านี้ทำให้น้ำมันรำข้าวมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ลดระดับคอเลสเตอรอล ลดอาการเส้นเลือดแดงอุดตันระยะเริ่มต้น ยับยั้งการสะสมของเพปทเลท ลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ และลดอัตราการดูดซึมโคเลสเตอรอล

โอโรซานอล (นพมาศ มนัสวรากุล, 2545)

โอโรซานอลมีลักษณะเป็นผงสีขาว หรือสีขาวปนเหลืองอ่อนๆ สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม รองลงมาเป็นอีเทอร์ ละลายได้เล็กน้อยในเฮกเซน และไม่ละลายในน้ำ มีจุดหลอมเหลวสูงประมาณ 161.2 องศาเซลเซียส มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ 315, 291 และ 231 นาโนเมตร และมีค่าการแตกตัวของหมู่ฟีนอลในสารละลายเมทานอลประมาณ 10.8 ปริมาณโอโรซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมีมากกว่าวิตามินอีประมาณ 20 เท่า ซึ่งโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวมีประมาณ 2% ในขณะที่วิตามินอีมีประมาณ 0.1% เอสเทอร์ของโอโรซานอลประกอบด้วยส่วนมีขั้วของกรดเพอรูลิก เป็นองค์ประกอบหลักที่ไม่เปลี่ยนแปลง และส่วนที่เป็น functional group ที่เป็นแอลกอฮอล์ ได้แก่ สเตอรอล และไตรเทอร์พีนแอลกอฮอล์ ซึ่งโครงสร้างมีลักษณะคล้ายคอเลสเตอรอล โอโรซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมีชื่อเรียกเฉพาะว่าแกมมาโอโรซานอล อนุพันธ์ของแกมมาโอโรซานอลมีทั้งสิ้น 10 อนุพันธ์ มีอนุพันธ์เพียง 3 ชนิด เท่านั้น ที่เป็นองค์ประกอบหลักของแกมมาโอโรซานอลคือ cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartanyl ferulate และ compesteryl ferulate

2.7 สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของไขมันและน้ำมัน

ค่าสี (Color)

สีเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของไขมันและน้ำมันได้ น้ำมันแต่ละชนิดจะมีสีที่แตกต่างกัน ขึ้นกับสารสี (รงควัตถุ) ที่มีปนอยู่ในวัตถุดิบที่นำมาใช้สกัดน้ำมันและวิธีการกำจัดสีโดยการฟอกสีน้ำมัน น้ำมันที่มีสีเหลืองอ่อนจะมีคุณภาพดีกว่าน้ำมันที่มีสีเข้ม (นิธิยา รัตนานนท์, 2548)

ค่าสีของกรดไขมันมีความสำคัญอย่างมากต่อการนำกรดไขมันไปใช้ประโยชน์ทั้งในด้านเครื่องสำอาง อาหาร และการเคลือบ (coating) เป็นต้น โดยเฉพาะค่าความสว่าง ค่าสีสามารถวิเคราะห์หลายวิธี เช่น Lovibond method ปัจจุบันมีกรดไขมันที่มีความบริสุทธิ์สูงมากออกสู่ตลาดจึงวัดค่าสีด้วย platinum-cobalt color method เพื่อใช้สำหรับตัวอย่างที่มีสีจางมาก รวมทั้งการใช้วิธีที่ทันสมัยยิ่งขึ้น เช่น Spectrophotometric method หรือเรียกว่า Photometric Index (SBP board of consultants and engineers, 1979)

ค่าสีของน้ำมันขึ้นกับการมีปริมาณ fat-soluble pigment เช่น แคโรทีนอยด์ที่ให้สีเหลืองถึงแดงเข้ม คลอโรฟิลล์ที่ให้สีเขียวหรือน้ำเงินอ่อน และการมีสารต้านการเกิดออกซิเดชัน เช่น แกมมาโอโรซานอลที่ให้สีเหลือง โทโคฟีรอลที่ให้สีเหลืองใสถึงไม่มีสี รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและพอลิเมโรเซชันของกรดไขมัน และปฏิกิริยาอื่นๆ ที่เกิดจากการ

แลกเปลี่ยนเอสเทอร์ของไขมัน (Kirschenbauer, 1960; Formo et al., 1979; Choe and Min, 2007)

การวัดการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำมันรำข้าว โดยการวัดค่าสีด้วยเครื่อง Colorimeter ซึ่งค่าที่ได้แสดงเป็นค่า L^* a^* b^* ระบบ CIE Lab scale โดยค่า L^* a^* b^* มีความหมายดังนี้ ค่า L^* คือค่าแสดงความเข้มสว่างของสี โดยที่ค่า L^* มีค่าตั้งแต่ 0-100 โดยที่ระดับ L^* เท่ากับ 0 แสดงลักษณะสีดำ และ L^* เท่ากับ 100 แสดงลักษณะสีขาว ค่า a^* คือ ค่าแสดงระดับสีแดง เขียว เมื่อ a^* มีค่าเป็นบวก แสดงลักษณะสีแดง ถ้ามีค่า a^* เป็นลบ แสดงลักษณะสีเขียว เมื่อห่างจากจุด 0 มาก แสดงถึงค่าสีแดงหรือสีเขียวมากขึ้น ซึ่งค่า a^* มีค่าสูงสุดหรือต่ำสุดไม่จำกัด ค่า b^* คือ ค่าแสดงระดับสีเหลือง น้ำเงิน เมื่อ b^* มีค่าเป็นบวก แสดงลักษณะสีเหลือง ถ้ามีค่าเป็นลบ แสดงลักษณะสีน้ำเงิน เมื่อห่างจากจุด 0 มาก แสดงถึงค่าสีเหลืองหรือน้ำเงินมากขึ้น ซึ่งค่า b^* มีค่าสูงสุดหรือต่ำสุดไม่จำกัด (สรวาดิ วงศ์เดชเสรีกุล, 2552)

ค่าการหักเหของแสง (Refractive index)

เป็นการวัดองศาการหักเหของลำแสงที่เกิดขึ้นเมื่อให้แสงผ่านจากตัวกลางหนึ่งไปยังอีกตัวกลางหนึ่ง เช่น การหักเหของแสงจากอากาศผ่านทะเลต้วอย่างน้ำมัน จะเกิดการหักเหของแสงที่วัดเป็นองศาได้ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) หรือเป็นอัตราส่วนของ speed of light ในอากาศ (vacuum) กับในน้ำมัน (Nielsen, 2010) ค่าการหักเหของแสงมีประโยชน์ในการชี้บ่งและตรวจสอบชนิด คุณภาพ และความบริสุทธิ์ของไขมันและน้ำมัน การวัดค่าการหักเหของแสงนิยมวัดที่อุณหภูมิ 20 หรือ 25 องศาเซลเซียส แต่ถ้าไขมันมีจุดหลอมเหลวสูงจะวัดที่อุณหภูมิ 40 หรือ 60 องศาเซลเซียส ส่วนไขหรือแว็กซ์ นิยมวัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ค่าการหักเหของแสงวัดได้โดยเครื่อง Refractometer (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

ค่าการหักเหของแสงของไขมันชนิดต่างๆ จะขึ้นอยู่กับความยาวของสายคาร์บอนในโมเลกุลของกรดไขมัน จำนวนพันธะคู่ และชนิดของไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในไขมันและน้ำมัน ไขมันหรือน้ำมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนเพิ่มขึ้นหรือมีจำนวนพันธะคู่เพิ่มขึ้น จะมีค่าการหักเหของแสงเพิ่มขึ้น ค่าไอโอดีนของน้ำมันที่เป็นตัวชี้บ่งจำนวนพันธะคู่จะมีความสัมพันธ์กับค่าการหักเหของแสง แต่ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าการหักเหของแสงลดลง นอกจากนั้นค่าการหักเหของแสงยังใช้ควบคุมติดตามปฏิกิริยาในกระบวนการเติมไฮโดรเจนว่าปฏิกิริยาเกิดขึ้นมากน้อยเพียงใด ในไขมันและน้ำมันที่ผ่านการไฮโดรจีเนชันแล้ว ค่าการหักเหของ

แสงจะลดลง และน้ำมันจะมีค่าไอโอดีนลดลงด้วย และค่าการหักเหของแสงยังใช้ตรวจสอบชนิดและความบริสุทธิ์ของน้ำมันได้อีกด้วย (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2548)

ค่าการหักเหของแสงเป็นดัชนีชี้บ่งที่ง่ายและรวดเร็วในการวิเคราะห์และชี้บ่งถึงความบริสุทธิ์ ค่าการหักเหของแสงจะเพิ่มเมื่อน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ของกรดไขมันเพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระดับการไม่อิ่มตัว (degree of unsaturation) (จำนวนของพันธะคู่) ในโมเลกุลของกรดไขมัน อุณหภูมิในการวัดค่าการหักเหของแสงขึ้นกับ titre point ของกรดไขมันสัมพันธ์โดยตรงกับค่า saponification value และ gravity แต่ตรงข้ามกับอุณหภูมิ โดยทั่วไปถ้ามีค่าไอโอดีนสูง เช่น มีพันธะคู่มากหรือความไม่อิ่มตัวมาก ค่าการหักเหของแสงก็จะสูง และถ้าจำนวนพันธะคู่เท่ากัน conjugated unsaturation จะมีค่าการหักเหของแสงมากกว่า unconjugated unsaturation ซึ่งใช้ติดตามการ hydrogenation ของกรดไขมัน (SBP board of consultants and engineers, 1979)

ค่าการหักเหของแสงจะลดลงประมาณ 0.0004 เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียส ค่าการหักเหของแสงของ mixed glycerides ใกล้เคียงกับ simple glycerides (Formo et al., 1979) ค่าการหักเหของแสงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความยาวของสายคาร์บอน แต่ไม่ได้เพิ่มเป็นเส้นตรง และไตรกลีเซอไรด์มีค่าการหักเหของแสงมากกว่ากรดไขมันอิสระ (Gunstone, 2008) ค่าการหักเหของแสงยังสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุล กรดไขมัน ความยาว (chain length) ระดับการไม่อิ่มตัว degree of unsaturation และ degree of conjugation โดยอุณหภูมิในการวัดขึ้นกับจุดหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์ ค่าการหักเหของแสงจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น แต่จะเพิ่มเมื่อความยาวของสายคาร์บอนเพิ่มขึ้นและเมื่อเพิ่มจำนวนพันธะคู่ของกรดไขมัน ซึ่งสามารถคำนวณค่าไอโอดีนได้ถ้าทราบค่าการหักเหแสง (O' Brien, 2009) ค่าการหักเหของแสงสัมพันธ์กับจำนวน saturation ใน ลิปิด ค่าการหักเหของแสงลดลงเมื่อค่าไอโอดีนลดลง ค่าการหักเหแสงใช้ชี้บ่งความบริสุทธิ์และความเฉพาะ เนื่องจากสารแต่ละชนิดมีสมบัติการหักเหของแสงเฉพาะตัว อย่างไรก็ตามค่าการหักเหของแสงได้รับอิทธิพลของ ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Nielsen, 2010)

ค่าความหนืด (Viscosity)

ความหนืดของไขมันและน้ำมันเป็นปัจจัยที่สำคัญในการออกแบบระบบการขนถ่ายไขมันและน้ำมัน ความหนืดของไขมันและน้ำมันจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์เพิ่มขึ้น ความหนืดจะลดลงเมื่อจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันเพิ่มขึ้นและเมื่ออุณหภูมิของไขมันและน้ำมันเพิ่มขึ้น (นิธิยา รัตนานพนธ์, 2548)

ค่าความหนืดใช้วัดสำหรับน้ำมันที่มีพฤติกรรมการไหลของของเหลวเป็นแบบ true Newtonian โดยความหนืดของของน้ำมันปาล์ม น้ำมันปาล์มโอเลอิน น้ำมันปาล์มเคอร์เนล (kernel) น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิในช่วง 20-50 องศาเซลเซียส ดังในตาราง 2.6 จะเห็นว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นค่าความหนืดจะลดลง โดยแนะนำว่าการทดสอบความหนืดสามารถใช้ในการคัดเลือกน้ำมันสำหรับทอด โดยการทอดจะเพิ่มค่าความหนืดของน้ำมัน ค่าความหนืดที่ 45 cP ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระดับค่าความหนืดที่ยอมรับได้สูงสุดสำหรับการใช้เป็นน้ำมันสำหรับทอด (Hamilton, 1995)

ความหนืดของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวจะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อกรดไขมันมีน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น เช่น กรดไขมันชนิดอิ่มตัว Capric acid (C:10) มีค่าความหนืดเป็น 2.88 (ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส) ส่วนกรดไขมันชนิดอิ่มตัว Stearic acid (C:18) มีค่าความหนืดเป็น 9.87 (ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส) และกรดไขมันในรูปเมทิลเอสเทอร์ (methyl esters) จะมีค่าความหนืดน้อยกว่าเมื่อมีกรดไขมันที่เหมือนกัน (SBP board of consultants and engineers, 1979) ค่าความหนืดของน้ำมันสำหรับทอดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดการออกซิเดชันและพอลิเมอไรเซชันเพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับ polymer development และแนวโน้มการเกิดโฟม (foaming) (Lawson, 1985) ความหนืดสัมพันธ์กับค่าความหนาแน่น (density) refraction surface tension และสมบัติทางกายภาพอื่นๆ ค่าความหนืดของน้ำมันพืชขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมี เช่น ค่าไอโอดีน ค่าสปอนิฟิเคชัน และอุณหภูมิในการวัด (Gunstone, 2008)

ตารางที่ 2.6 ค่าความหนืดของน้ำมันแต่ละชนิด

Oil	Temperature (°C)						
	20	25	30	35	40	45	50 ^b
Plam	>100 ^a	>100 ^a	>100 ^a	96.3 ^a	40.4	33.3	27.0
Plam olein	85.3	69.2	56.3	43.4	38.6	32.6	26.5
Plam kernel	>100 ^a	>100 ^a	44.0	35.6	30.0	25.4	21.0
Coconut	>100 ^a	48.1	39.8	32.9	27.4	23.3	19.0
Soyabean	63.6	51.6	43.1	36.8	31.7	26.8	22.5

^aTurbulent, non-Newtonian flow occurred.

^bBy extrapolation, log (viscosity) versus temperature

ที่มา: Hamilton (1995)

ค่าไอโอดีน (Iodine value)

Halogenation เป็นปฏิกิริยาการเติมสารพวกฮาโลเจน (halogen) เข้าที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ฮาโลเจนที่นิยมใช้เป็นตัวชี้บ่งปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว คือ ไอโอดีน ค่าที่ได้เรียกว่า Iodine Number หรือ Iodine Value (I.N. หรือ I.V.) ค่าไอโอดีน (Iodine value) คือ จำนวนกรัมของไอโอดีนที่เข้าไปทำปฏิกิริยา (ดูดซึม) (absorb) กับพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไขมันหรือน้ำมัน จำนวน 100 กรัม ค่าไอโอดีน เป็นตัวชี้บ่งว่าไขมันหรือน้ำมันมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมัน) ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่ผสมรวมกันอยู่ในไขมันหรือน้ำมันมากน้อยเพียงใด ถ้าค่าไอโอดีนสูงแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มเป็นองค์ประกอบมาก และจะเกิดการหืนจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative rancidity) ได้ง่าย คือ ไม่มีความคงตัวเมื่อสัมผัสกับอากาศหรือออกซิเจน น้ำมันพืชที่มีค่าไอโอดีนสูงแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอยู่เป็นปริมาณมากนั้น ยังเป็นตัวชี้บ่งคุณค่าทางโภชนาการของไขมันหรือน้ำมันชนิดนั้นๆ ด้วย น้ำมันที่มีค่าไอโอดีนสูง จะมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมาก ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

ค่าไอโอดีนเป็นตัวชี้บ่ง degree of unsaturation ของกรดไขมันได้ ถ้าพันธะคู่ไม่ใช่ conjugated หรือ carbonyl oxygen (Casimir and David, 2008) การเกิดออกซิเดชันของลิปิดจะลด unsaturation ระหว่างการเกิดออกซิเดชันทำให้ค่าไอโอดีนที่คำนวณได้มีแนวโน้มลดลง (Nielsen, 2010)

กรดไขมันอิสระและค่าความเป็นกรด

ค่ากรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) บ่งชี้ถึง free (fat) acidity ของกรดไขมันทั้งหมดที่แสดงในรูปแบบเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันอิสระ โดยทั่วไปบ่งบอกถึงปริมาณกรดไขมันที่ถูกไฮโดรไลซ์จากไตรกลีเซอไรด์ ปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันสามารถบ่งชี้ insufficient processing กิจกรรมของเอนไซม์และผลของ hydrolytic อื่นๆ (SBP board of consultants and engineers, 1979)

ค่าความเป็นกรด (Acid Value หรือ A.V.) คือ จำนวนมิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ในการทำให้กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมันจำนวน 1 กรัม เป็นกลางพอดี (มิลลิกรัม KOH ต่อกรัมไขมัน) ซึ่งนิยมนำมาคำนวณค่าความเป็นกรดโดยคูณค่าแฟคเตอร์กับปริมาณกรดไขมันอิสระในรูปแบบเปอร์เซ็นต์ของกรดต่างๆ เช่น กรดปาล์มิติก คูณด้วย 2.19 (ใช้กับน้ำมันปาล์ม) หรือกรดลอริก คูณด้วย 2.81 (ใช้กับน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันปาล์มเคอร์เนล)

กรดโอเลอิก คุณด้วย 1.99 (ใช้กับน้ำมันพืชทั่วไป) ค่าความเป็นกรดของไขมันและน้ำมัน เป็นตัวชี้บ่งว่าไตรกลีเซอไรด์ที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมันถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปสเป็นกรดไขมันอิสระมากน้อยเพียงใด หรือชี้บ่งระดับการหืนของไขมันและน้ำมัน ถ้าค่าความเป็นกรดสูง แสดงว่าไตรกลีเซอไรด์ถูกไฮโดรไลซ์เป็นกรดไขมันอิสระมาก แสดงว่าเกิดการหืน เนื่องจาก Hydrolytic rancidity มาก ความร้อนและแสงช่วยเร่งให้เกิดการหืนได้เร็วขึ้น วิธีชะลอการเกิดไฮโดรไลซิสของไขมันและน้ำมันทำได้โดยเก็บรักษาไขมันและน้ำมันไว้ในที่อุณหภูมิต่ำหรือในตู้เย็น ทำให้ปราศจากน้ำและจุลินทรีย์ น้ำมันที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระประมาณ 0.5-1.5 เปอร์เซนต์ในรูปกรดโอเลอิก จะเริ่มสังเกตการหืนได้ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำสำหรับบริโภค (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2516)

น้ำมันที่สกัดโดยเฉพาะน้ำมันที่สกัดได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย มักมีสารประกอบชนิดอื่นเจือปนมาด้วยเช่น สารพวกที่มีคุณสมบัติเหมือนไขมัน ได้แก่ ฟอสโฟลิปิด สารประกอบเชิงซ้อนของไขมันและโปรตีน (fat-protein complex) คาร์โบไฮเดรต กรดไขมันอิสระ รงควัตถุต่างๆ แวกซ์ กลีเซอไรด์ ที่มีจุดหลอมเหลวสูงและสารที่ให้กลิ่นต่างๆ เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน และไฮโดรคาร์บอน เป็นต้น สิ่งเหล่านี้จำเป็นต้องกำจัดออกเพื่อทำน้ำมันให้บริสุทธิ์และใช้บริโภคได้ ดังตารางที่ 2.7 แสดงมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำมันรำสำหรับบริโภค (มอก.44-2516)

ตารางที่ 2.7 มาตรฐานของสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันรำสำหรับบริโภค

รายการ	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
1	น้ำและสิ่งที่จะระเหยได้ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ไม่เกิน 0.2
2	สารที่ไม่ละลายในน้ำมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ไม่เกิน 0.05
3	ปริมาณสบู่ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ไม่เกิน 0.05
4	สี ใช้ Lovibond สเกล 1 นิว คิดเป็น Y+5R	ไม่เกิน 20
5	ค่าการหักเหของแสง	1.460-1.470
6	ความถ่วงจำเพาะ	0.910-0.920
7	ค่าสปอนนิฟิเคชัน (มิลลิกรัม KOH/กรัมไขมัน)	180-195
8	สารที่สปอนนิฟายไม่ได้ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ไม่เกิน 3.1
9	ค่าความเป็นกรด (มิลลิกรัม KOH/กรัมไขมัน)	ไม่เกิน 0.6
10	ค่าไอโอดีน	92-115
11	ไต่เตอร์ (องศาเซลเซียส)	26-32
12	ค่าเปอร์ออกไซด์ (มิลลิกรัมสมมูลต่อหนึ่งกิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 10
13	เหล็ก (มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 2.5
14	สารหนู (มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 0.1
15	ทองแดง (มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 0.1
16	ตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมไขมัน)	ไม่เกิน 0.1

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2516)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ขอบเขตงานวิจัย

- 3.1.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และน้ำมันรำข้าว
 - 3.1.1.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1
 - 3.1.1.2 ศึกษาผลของวิธีการผลิตรำข้าวที่มีต่อปริมาณโปรตีน
 - 3.1.1.3 ศึกษาผลของการสกัดน้ำมันและไม่สกัดน้ำมันออกจากรำข้าวต่อองค์ประกอบของรำข้าว
 - 3.1.1.4 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าว
- 3.1.2 ศึกษาผลของวิธีการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน
 - 3.1.2.1 ศึกษาผลของวิธีการใช้สารละลายเอนไซม์ไลเปสที่ได้จากการสกัดเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วด้วยบัฟเฟอร์
 - 3.1.2.2 ศึกษาผลของวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากการสกัดเอาองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ออกด้วยบัฟเฟอร์แล้วเอาส่วนกากรำ
 - 3.1.2.3 ศึกษาผลของวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยไม่ผ่านกระบวนการอื่น
- 3.1.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน
- 3.1.4 เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่มีต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว
 - 3.1.4.1 ศึกษาปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสต่อปริมาณกรดไขมันอิสระ
 - 3.1.4.2 ศึกษาสภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว
 - 3.1.4.3 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

3.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1 รำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ลักษณะเป็นรำหยาบ ได้จากวิธีการตำข้าวด้วยครกมือ โดยได้เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 จากศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าววนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์

3.2.2 รำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ลักษณะเป็นรำละเอียด ได้จากวิธีการสีข้าวด้วยเครื่องสีข้าวโรงสีชุมชนข้าวดี (บริษัทยนต์ผลดี รุ่น ข้าวดี-200, ประเทศไทย) (ภาคผนวก จ.1) โดยได้เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 จากศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าววนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์

3.2.3 รำข้าวผสม ลักษณะเป็นรำละเอียด ได้จากวิธีการสีข้าว (ไม่ทราบแหล่งโรงสี) โดยซื้อจากตลาดสนามหลวง 2 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

3.2.4 น้ำมันรำข้าว ตราคิง ผลิตโดยบริษัท น้ำมันบริโภคไทย จำกัด เมื่อวันที่ 16 ธันวาคม 2552 โดยซื้อจากท็อปซูเปอร์มาร์เก็ต สาขามานูญครอง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

3.3 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้

- กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
- เครื่องกวน (Vortex mixer) (Mixer Uzusio รุ่น VTX-3000L, Japan)
- เครื่องชั่งน้ำหนักศนิยม 3 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น BP 310S, Germany)
- เครื่องชั่งน้ำหนักศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
- เครื่องดูดควัน (Boss Tech, England)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงแยกสารที่อุณหภูมิต่ำ (Hettich รุ่น 5605 Rotanta 460R, Germany)
- เครื่องวัดการดูดกลืนคลื่นแสง (Spectrophotometer) (Thermo Spectronic รุ่น Genesys 10UV, USA)
- เครื่องวัดการหักเหของแสง (Refractometer) (Atago รุ่น NAR-1T, Japan)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Consort รุ่น C860, Belgium)
- เครื่องวัดความหนืด (Viscometer) (Fungilab รุ่น Alpha series L, Spain)
- เครื่องวัดสี (Colormeter) (Minolta Chroma Meter รุ่น CR-400, Japan)
- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ (centrifuge) (Centrifugal Thermo IEC รุ่น IEC Multi-RF, USA)
- เครื่องสีข้าว (Rice Milling) (บริษัททองทวี รุ่น NW 1000 Turbo, ประเทศไทย)
- เครื่องสีข้าว โรงสีชุมชนข้าวดี (บริษัทยนต์ผลดี รุ่น ข้าวดี-200, ประเทศไทย)
- ตะแกรงร่อน ขนาด 40 mesh (425 μ m) (Retsch, Germany)

- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Memmert รุ่น 100-800 Germany)
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 และ -18 องศาเซลเซียส (Mitsubishi รุ่น MR-F56R)
- ตู้อบลมร้อน 110-135 องศาเซลเซียส (Memmert รุ่น 600, Germany)
- นาฬิกาจับเวลา (Alba รุ่น SW01-X008)
- ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) (GAST รุ่น G583X)
- หม้อไฟฟ้าเอนกประสงค์ ขนาด 2 ลิตร (Hanabishi รุ่น Multi-purpose, ประเทศไทย)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaker Water Bath) (GFL รุ่น 1092, Germany)
- Magnetic stirrer (Framo-Geratetechnik รุ่น M21/1, Germany)

3.4 สารเคมี

Acetone	CH_3COCH_3	Anala R	A.R. grade
Bovine serum albumin (98%)		Sigma	A.R. grade
Calcium chloride anhydrous	CaCl_2	Ajax	A.R. grade
Carbon tetrachloride	CCl_4	Sigma	Commercial
Copper (II) Sulphate	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	APS	A.R. grade
Dipotassium hydrogen orthophosphate anhydrous	K_2HPO_4	Ajax	A.R. grade
Ethanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Merck	A.R. grade
Ethanol (95%)	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Sigma	Commercial
Folin-Ciocalteu's reagent 2N		Carlo Erba	A.R. grade
Glycerol	$\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$	Ajax	A.R. grade
Hexane	C_6H_{14}	Mallinckrodt	A.R. grade
Hexane	C_6H_{14}	Sigma	Commercial
Hydrochloric acid	HCl	Mallinckrodt	A.R. grade
Oleic acid	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	Panreac	A.R. grade
Phenolphthalein	$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$	QRec	A.R. grade
Potassium dichromate	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	Ajax	A.R. grade
Potassium dihydrogen orthophosphate	KH_2PO_4	Volchem	A.R. grade

Potassium hydrogen phthalate	$\text{KOOOC.C}_6\text{H}_4\text{COOH}$	Ajax	A.R. grade
Potassium iodide	KI	Ajax	A.R. grade
Potassium sodium tartrate	$\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6.4\text{H}_2\text{O}$	APS	A.R. grade
Sodium carbonate anhydrous	Na_2CO_3	Ajax	A.R. grade
Sodium hydroxide	NaOH	ศึกษาภัณฑ์	A.R. grade
Sodium thiosulphate	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3.5\text{H}_2\text{O}$	Ajax	A.R. grade
Starch soluble		APS	A.R. grade
Wijs' reagent		Panreac	A.R. grade
Wijs' reagent		Carlo Erba	A.R. grade

3.5 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.5.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และน้ำมันรำข้าว

3.5.1.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

ตัวอย่างรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี มีลักษณะเป็นรำละเอียดที่ได้จากวิธีการสีข้าวด้วยเครื่องสีข้าวโรงสีชุมชนข้าวดี (บริษัทยนต์ผลดี รุ่น ข้าวดี-200, ประเทศไทย) จังหวัดนครสวรรค์ บรรจุรำข้าวที่ได้ในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส (Mitsubishi รุ่น MR-F56R) โดยระยะเวลาเก็บรักษารำข้าวตลอดการทดลองประมาณ 1 ปี ตัวอย่างรำข้าวที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นรำข้าวที่ผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาด 40 mesh (425 μm) บรรจุรำข้าวที่ร่อนแล้วในกล่องพลาสติก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวโดยส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดังต่อไปนี้

3.5.1.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ มกอช. 4000-2546 (ภาคผนวก ก.1)

3.5.1.2 ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ มอก. 2255-2 (2548) (ภาคผนวก ก.2.1)

3.5.1.3 ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC 942.05 (2005) (ภาคผนวก ก.3)

3.5.1.4 ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC 922.06 (2000) (ภาคผนวก ก.4)

3.5.1.5 ปริมาณเส้นใยหยาบ ตามวิธีของ AOAC 978.10 (2000) (ภาคผนวก ก.5)

3.4.2.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ Compendium of Methods for Food Analysis (2003) (ภาคผนวก ก.6)

3.5.1.2 ศึกษาผลของวิธีการผลิตรำข้าวที่มีต่อปริมาณโปรตีน

3.5.1.2.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพและปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้ของรำข้าวแต่ละวิธีการผลิต

ตัวอย่างรำข้าวที่ศึกษามี 3 ตัวอย่าง คือ รำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากวิธีการตำข้าว รำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากวิธีการสีข้าว ด้วยเครื่องสีข้าวโรงสีชุมชนข้าวดี (บริษัทยนต์ผลดี รุ่น ข้าวดี-200, ประเทศไทย) (ภาคผนวก จ.1) และรำข้าวผสมที่ได้จากวิธีการสีข้าว (ไม่ทราบแหล่งโรงสี) โดยนำรำข้าว 100 กรัม ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh แล้วคำนวณปริมาณรำข้าวที่ผ่านตะแกรงร่อนได้ (% กรัม/100 กรัม) และสังเกตลักษณะทางกายภาพของรำข้าวที่ร่อนผ่านตะแกรงได้และไม่ได้ รวมถึงสิ่งเจือปนในรำข้าวที่ได้จากวิธีการผลิตต่างๆ

3.5.1.2.2 ศึกษาปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าวแต่ละวิธีการผลิต

3.5.1.2.2.1 เตรียมตัวอย่างรำข้าว โดยนำรำข้าวที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh มาสกัดน้ำมันออกโดยใช้อัตราส่วนรำข้าวต่อเฮกเซน 1:3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วปั่นเหวี่ยง (Hettich รุ่น 5605 Rotanta 460R, Germany) ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ไล่เฮกเซนออกในเครื่องดูดควัน (Boss Tech, England) นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นอบแห้งด้วยตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert รุ่น 100-800 Germany) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ได้รำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วหรือเรียกว่ากากรำ บรรจุรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในกล่องพลาสติก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

3.5.1.2.2.2 สกัดโปรตีนจากรำข้าวในรูปสารละลาย ดัดแปลงวิธีของ นฤมล จิยโชค, วุฒิ ดำรงค์ดี และคณิต กฤษณังกูร (2548) ด้วยสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 5.5 (Consort รุ่น C860, Belgium) ที่มีแคลเซียมคลอไรด์

ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ โดยใช้อัตราส่วนการกำจัดสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แยกกากรำออกโดยกรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำสารละลายที่ได้จากการกรองไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Thermo IEC รุ่น IEC Multi RF, USA) ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำสารละลายของเหลวใสที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บสารละลายส่วนใสเป็นสารละลายที่สกัดได้จากกากรำ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.5.1.2.2.3 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าว ตามวิธีของ Lowry และคณะ (1951) (ภาคผนวก ข) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (Thermo Spectronic รุ่น Genesys 10UV, USA) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร แล้วนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA (bovine serum albumin) เพื่อหาปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัม) แล้วคำนวณปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าว (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT)

3.5.1.3 ศึกษาผลของการสกัดน้ำมันและไม่สกัดน้ำมันออกจากรำข้าวต่อองค์ประกอบของรำข้าว

ตัวอย่างรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นรำข้าวที่ได้จากวิธีการสีข้าวด้วยเครื่องสีข้าวโรงสีชุมชนข้าวดี (บริษัทยนต์ผลดี รุ่น ข้าวดี-200, ประเทศไทย) (ภาคผนวก จ.2) ผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาด 40 mesh บรรจุรำข้าวที่ร่อนแล้วในกล่องพลาสติก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ตัวอย่างรำข้าวที่ศึกษามี 2 ตัวอย่าง คือ รำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว และรำข้าวที่ไม่สกัดน้ำมันออก โดยวิเคราะห์องค์ประกอบของรำข้าวดังนี้

3.5.1.3.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC 934.01 (2006) (ภาคผนวก ก.1)

3.5.1.3.2 ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC 991.20 (2005) (ภาคผนวก ก.2.2)

3.5.1.3.3 ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC 954.02 (2005) (ภาคผนวก ก.4)

3.5.1.3.4 ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าว ตามวิธีของ Lowry และคณะ (1951) (ภาคผนวก ข)

หมายเหตุ ปริมาณโปรตีนและปริมาณไขมัน ส่งวิเคราะห์ที่สถาบันอาหาร (National Food Institute) เขตบางพลัด กรุงเทพมหานคร ทดลอง 2 ซ้ำ

ปริมาณความชื้นและปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าว ทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ 2 ตัวอย่าง โดยใช้วิธี Independent-samples T Test

3.5.1.4 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าว

3.5.1.4.1 วัดสมบัติทางกายภาพ (รายละเอียดในภาคผนวก ค)

3.5.1.4.1.1 วัดค่าสีตามระบบ CIE (L^* a^* b^*) โดยใช้เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter รุ่น CR-400, Japan) (ภาคผนวก ค.1)

3.5.1.4.1.2 วัดค่าความหนืด โดยใช้เครื่องวัดความหนืด (Fungilab รุ่น Alpha series L, Spain) (ภาคผนวก ค.2)

3.5.1.4.1.3 วัดค่าการหักเหของแสง โดยใช้เครื่องวัดการหักเหของแสง (Atago รุ่น NAR-1T, Japan) (ภาคผนวก ค.3)

3.5.1.4.2 วิเคราะห์สมบัติทางเคมี (รายละเอียดในภาคผนวก ง)

3.5.1.4.2.1 วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) โดยวิธี Titration ตามวิธีของ AOCS: Ca 5a-40 (2004) (ภาคผนวก ง.1)

3.5.1.4.2.2 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (Acid Value) โดยการคำนวณจากปริมาณกรดไขมันอิสระ ตามวิธีของ AOCS: Cd 3d-63 (2004) (ภาคผนวก ง.2)

3.5.1.4.2.3 วิเคราะห์ค่าไอโอดีน (Iodine Value) โดยวิธี Titration ตามวิธีของ AOCS: Cd 1-25 (2004) (ภาคผนวก ง.3)

3.5.1.4.2.4 วิเคราะห์หาองค์ประกอบกรดไขมัน โดยใช้เครื่อง Gas Chromatography/ Mass Spectrometry (GC-MS) (Trace GC ultra, Italy/ Polaris Q, USA) ตามวิธีของ Inhouse Method: based on Lepage และ Roy (1986) โดยส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ภาคผนวก ง.4)

3.5.1.4.2.5 วิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอโรซานอล โดยใช้เครื่อง Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) ที่ความยาวคลื่น UV 325 นาโนเมตร ตามวิธีของ Azrina, Maznah และ Azizah (2008) (ภาคผนวก ง.5)

3.5.2 ศึกษาผลของวิธีการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน

วิธีการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวไปใช้ที่รวบรวมได้จากงานวิจัยที่ผ่านมา มี 2 วิธี และดัดแปลงวิธีอีก 1 วิธี ตัวอย่างรำข้าวที่ศึกษาผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาด 40 mesh แล้วสกัดน้ำมันออกตามข้อ 3.5.1.2.2.1 โดยศึกษาผลของวิธีการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ดังนี้

3.5.2.1 ศึกษาผลของวิธีการใช้สารละลายเอนไซม์ไลเปสที่ได้จากการสกัดเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วด้วยบัฟเฟอร์

สกัดเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในรูปสารละลาย (วิธีที่ 1) ดัดแปลงวิธีของ นฤมล จิยโชค และคณะ (2548) ตามวิธีข้อ 3.5.1.2.2.2 ซึ่งเป็นการสกัดโปรตีนจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในรูปสารละลายด้วยสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 5.5 ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ได้เป็นสารละลายเอนไซม์ไลเปส บรรจุในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิทแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.5.2.2 ศึกษาผลของวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากการสกัดเอาองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ออกด้วยบัฟเฟอร์แล้วเอาส่วนกากรำ

สกัดเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในรูปกากรำ (วิธีที่ 2) ดัดแปลงวิธีของ Chong และคณะ (2007) โดยนำรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วมาสกัดเอาองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ออก (soluble protease และ antagonist) ด้วยสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 8 โดยใช้อัตราส่วนกากรำข้าวต่อสารละลายบัฟเฟอร์ 1:3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยง (Hettich รุ่น 5605 Rotanta 460R, Germany) ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เอาส่วนตะกอนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงไปอบแห้งด้วยตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Memmert รุ่น 100-800 Germany) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน เก็บกากรำที่ได้เป็นเอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำ บรรจุในถุงอะลูมิเนียมลามิเนตแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.5.2.3 ศึกษาผลของวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยไม่ผ่านกระบวนการอื่น

ใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว (วิธีที่ 3) ตามข้อ 3.5.1.2.2.1 โดยไม่ผ่านกระบวนการอื่น เก็บกากรำที่ได้เป็นเอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำบรรจุในถุงอะลูมิเนียมลามิเนตแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อไป

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ดัดแปลงวิธีของ Chong และคณะ (2007) โดยเตรียมปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของกรดโอเลอิกต่อกลีเซอรอลอัตราส่วน 2:1 โดยโมล ที่มีเฮกเซนต่อเอนไซม์ไลเปส อัตราส่วน 2:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) โดยซึ่งกรดโอเลอิก 20 กรัม กลีเซอรอล 3.35 กรัม เฮกเซน 40 กรัม เอนไซม์ไลเปสจากวิธีต่างๆ 20 กรัม โดยที่ตัวอย่างควบคุมไม่เติมเอนไซม์ไลเปสแต่เติมสับสเตรตและเฮกเซนเหมือนตัวอย่างทุกประการ จากนั้นเขย่าในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (GFL รุ่น 1092, Germany) ด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่ควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยเติมอะซิโตนต่อเอทานอลอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 60 มิลลิลิตร จากนั้นไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนความเข้มข้น 0.1% เป็นอินดิเคเตอร์ไทเทรตจนถึงจุดยุติ แล้วคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสดังสมการที่ 3.1-3.4 ดังต่อไปนี้

ปริมาณกรดไขมันอิสระที่ถูกเอสเทอร์ไฟด์; EFFA (ไมโครโมล)

$$\text{EFFA } (\mu\text{mol}) = [\text{NaOH}_{\text{ควบคุม}} (\text{ml}) - \text{NaOH}_{\text{ตัวอย่าง}} (\text{ml})] \times \text{molarity NaOH} \times 1000 \quad (3.1)$$

กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส; LEA (หน่วยต่อกรัม)

$$\text{LEA } (\text{U/g}) = \frac{\text{EFFA } (\mu\text{mol})}{\text{น้ำหนักเอนไซม์ (g)} \times 60 (\text{นาที})} \quad (3.2)$$

กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์; SEA (หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน)

$$\text{SEA } (\text{U/mg}) = \frac{\text{LEA } (\text{U})}{\text{ปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ (mg)}} \quad (3.3)$$

ตัวอย่างที่ศึกษามี 4 ตัวอย่าง คือ เอนไซม์ไลเปสที่ได้จากรำข้าวชั้ยนาท 1 ที่สกัดน้ำมันออกแล้วในรูปสารละลาย (วิธีที่ 1) ตามข้อ 3.5.2.1 ในรูปกากรำ (วิธีที่ 2) ตามข้อ 3.5.2.2 ในรูปกากรำ (วิธีที่ 3) ตามข้อ 3.5.2.3 และเอนไซม์ไลเปสที่ได้จากรำข้าวผสมที่สกัดน้ำมันออกแล้วในรูปกากรำ (วิธีที่ 3) วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DNMRT

3.5.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน

ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวพันธุ์ชั้ยนาท 1 ที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในรูปกากรำ (วิธีที่ 3) ตามข้อ 3.5.2.3 ในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน โดยแปรอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเป็น 30, 37, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ที่เวลา 1 ชั่วโมง วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสแล้วคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสตามข้อ 3.5.2

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ DNMRT

3.5.4 เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่มีต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว

3.5.4.1 ศึกษาปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสต่อปริมาณกรดไขมันอิสระ

3.5.4.1.1 ศึกษาปริมาณการเติมกากรำเบื้องต้น

แปรปริมาณการเติมกากรำเป็น 10%, 20%, 30%, 40% และ 50% ของน้ำมันรำข้าว ลงในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำมันรำข้าว ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน (Mixer Uzusio รุ่น VTX-3000L, Japan) 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ สุ่มวัดความสูงชั้นของน้ำมันส่วนใสที่ 10, 20 และ 30 นาที

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ DNMRT

3.5.4.1.2 ศึกษาปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวต่อปริมาณกรดไขมันอิสระ

3.5.4.1.2.1 แปรปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวเป็น 10% และ 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) และแปรชนิดของเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวเป็น รำข้าวดิบ และรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยตัวอย่างที่ศึกษามี 4 ตัวอย่าง ดังนี้

เอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวดิบ ปริมาณ 10% (HOB 10%)

เอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวดิบ ปริมาณ 20% (HOB 20%)

เอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ปริมาณ 10% (HODFB 10%)

เอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ปริมาณ 20% (HODFB 20%)

3.5.4.1.2.2 เตรียมน้ำมันรำข้าวโดยนำน้ำมันรำข้าวมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ด้วยหม้อไฟฟ้ามีฝาแก้วปิด ขนาด 2 ลิตร (Hanabishi รุ่น Multi-purpose, ประเทศไทย) จากนั้นทิ้งน้ำมันให้เย็นจนอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง เติมรำข้าวปริมาณ 10% และ 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) โดยชั่งรำข้าว 6 และ 12 กรัม ตามลำดับ ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำมันรำข้าว 60 กรัม ปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์แล้วรัดด้วยหนังยางให้แน่น จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำมันไว้ในตู้ที่ไม่มีแสงส่องผ่านที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 3 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน

3.5.4.1.2.3 วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว (% รูปกรดโอเลอิก) ในวันที่ 0, 3, 6, 9 และ 12 โดยวิธี Titration รายละเอียดในภาคผนวก ง.1

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DNMR

3.5.4.2 ศึกษาสภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว

3.5.4.2.1 แปรอุณหภูมิในการบ่มเป็น 30 และ 40 องศาเซลเซียส และแปรตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเป็น น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ด้วยหม้อไฟฟ้ามีฝาแก้วปิด ขนาด 2 ลิตร (Hanabishi รุ่น Multi-purpose, ประเทศไทย) และน้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน โดยตัวอย่างที่ศึกษามี 3 ตัวอย่าง ดังนี้

น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (HODFB T 30)
 น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน และบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (HODFB T 40)
 น้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน และบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ODFB T 40)

3.5.4.2.2 เติมน้ำมันรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ปริมาณ 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) โดยชั่งรำข้าวที่สกัดน้ำมันออก 12 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำมันรำข้าว 60 กรัม ปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์แล้วรัดด้วยหนังยางให้แน่น แล้วเขย่าในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (GFL รุ่น 1092, Germany) ที่ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วบ่มต่อในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 30 และ 40 องศาเซลเซียส อีก 5 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บขวดรูปชมพู่ในกล่องลังกระดาษไว้ในที่มืดข้ามคืน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิดังกล่าวทุกวัน วันละ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 15 วัน (รวมเวลาในการบ่มทั้งสิ้น 90 ชั่วโมง)

3.5.4.2.3 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าวตามข้อ 3.5.1.4 (ภาคผนวก ค และ ง) ได้แก่ ค่าสี ค่าความหนืด ค่าการหักเหของแสง ปริมาณกรดไขมันอิสระ ค่าความเป็นกรด ค่าไอโอดีน เก็บตัวอย่างน้ำมันทุกตัวอย่างวิเคราะห์ทุกวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 โดยตัวอย่างน้ำมันรำข้าวผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบางที่มีกระชอนขนาดเล็กรองแล้วปั่นเหวี่ยง (Centrifugal Thermo IEC รุ่น IEC Multi-RF, USA) ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำน้ำมันรำข้าวที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อไป

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DNMRT

3.5.4.3 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

3.5.4.3.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ซึ่งเป็นน้ำมันรำข้าวที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงที่สุดที่ได้จากข้อ 3.5.4.2 คือ ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เติมหากรำ 20% (ของน้ำหนักน้ำมัน) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

3.5.10.2 เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าวและน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ค่าสี ค่าความหนืด ค่าการหักเหของแสง ปริมาณกรดไขมันอิสระ ค่าความเป็นกรด ค่าไอโอดีน วิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน ตามข้อ 3.5.1.4.2.4 (ภาคผนวก ง.4) และปริมาณแกมมาโอโรซานอล ตามข้อ 3.5.1.4.2.5 (ภาคผนวก ง.5)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และน้ำมันรำข้าว

4.1.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 4.1) พบว่ารำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลัก คือ 51.86% (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) โดยน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ โปรตีน ไขมัน เถ้า และเส้นใยหยาบ ซึ่งพบในปริมาณ 13.73%, 12.15%, 9.51% และ 6.96% (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 12.75% (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก ซึ่งปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกับ นพมาศ มนัสวรากุล (2545) ที่ศึกษาปริมาณความชื้นในรำข้าวไทยทั้ง 18 สายพันธุ์ พบว่าปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 7.36-11.60% (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก โดยรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณความชื้น 10.30% (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก ปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อปริมาณความชื้นของรำข้าวคือ ความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศ เพราะรำข้าวมีสมบัติ hygroscopic ที่สามารถดูดซับและคายความชื้นได้ ดังนั้นปริมาณความชื้นของรำข้าวจึงเปลี่ยนแปลงตามค่าความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศ ดังเช่นงานวิจัยของ มลฤดี เชาวรัตน์ (2540) ที่ทดลองอบรำข้าวที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่าปริมาณความชื้นของรำข้าวจะลดลงเหลือ 3.74% และ 2.07% (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก ตามลำดับ แต่เมื่อรำข้าวสัมผัสอากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 70-80% ปริมาณความชื้นของรำข้าวเพิ่มขึ้นเป็น 13-15% ภายใน 1 วัน นอกจากนี้ปริมาณความชื้นของรำข้าวยังขึ้นกับปริมาณความชื้นของข้าวเปลือกก่อนการสี ชนิดของรำข้าว คุณภาพและการเตรียมข้าวเปลือกและสภาวะในการเก็บรักษารำข้าว

ส่วนองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใยหยาบ พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับ Luh, Barber และ Benedito de Barber (1991) ที่เปรียบเทียบองค์ประกอบของรำข้าว ข้าวเปลือก และรำจากธัญพืชอื่นๆ พบว่ารำข้าวมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่ในช่วง 31.1-52.3% โปรตีน (% N x 6.25) อยู่ในช่วง 12.0-15.6% ไขมันอยู่ในช่วง 15.0-19.7% เถ้าอยู่ในช่วง 6.6-9.9% เส้นใยหยาบอยู่ในช่วง 7.0-11.4% นอกจากนี้ นพมาศ มนัสวรากุล (2545) พบว่ารำข้าว

ไทยสายพันธุ์ต่างๆ มีปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 12.61-25.65% โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนรำข้าวพันธุ์ชัชนาท 1 มีปริมาณไขมัน 14.83% โดยน้ำหนักแห้ง และพบว่าปริมาณไขมันในรำข้าวเหนียวจะสูงกว่ารำข้าวเจ้า ทั้งนี้ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดหรือสายพันธุ์ และแหล่งที่ปลูกเป็นปัจจัยหลัก รวมทั้งกระบวนการสีข้าว คุณภาพของการสีข้าวและสิ่งเจือปนในรำข้าว แต่ส่วนของข้าวมีองค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกัน เช่น สตาร์ชและโปรตีนมีมากในเอนโดสเปิร์ม ขณะที่โปรตีนบางส่วนและไขมัน เส้นใย เถ้า รวมทั้งวิตามินบีมีมากในอลิวโรนเลเยอร์ เพอริคาร์ป และจมูกข้าว (Pomeranz and Ory, 1982)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวพันธุ์ชัชนาท 1

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ % (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)
ความชื้น (% wb)	12.75 ± 0.02
คาร์โบไฮเดรต (% db)	51.86 ± 0.16
โปรตีน (% N x 6.25) (% db)	13.73 ± 0.03
ไขมัน (% db)	12.15 ± 0.09
เถ้า (% db)	9.51 ± 0.01
เส้นใยหยาบ (% db)	6.96 ± 0.15

4.1.2 ศึกษาผลของวิธีการผลิตรำข้าวที่มีต่อปริมาณโปรตีน

4.1.2.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพและปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้ของรำข้าวแต่ละวิธีการผลิต

จากตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณรำข้าวที่ผ่านตะแกรงได้ของรำข้าวชัชนาท 1 ที่ได้จากวิธีการสีข้าวมีปริมาณมากที่สุด คือประมาณ 86% (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) รองลงมาคือรำข้าวผสมที่ได้จากวิธีการสีข้าวและรำข้าวชัชนาท 1 ที่ได้จากวิธีการตำข้าว ซึ่งปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้ประมาณ 59% และ 43% (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง) ตามลำดับ โดยปริมาณรำข้าวที่ผ่านตะแกรงได้อาจบ่งบอกถึงปริมาณรำข้าวที่สีได้ ปริมาณสิ่งเจือปนที่ไม่ใช่รำข้าว ระดับการขัดขาว รวมทั้งการจัดการกระบวนการสีข้าว ซึ่งจะมีผลต่อองค์ประกอบของรำข้าว จากการสังเกตลักษณะรำข้าวจากการสีข้าว พบว่ารำข้าวผสมมีสิ่งเจือปนในรำข้าวมากกว่ารำข้าวชัชนาท 1 โดยสิ่งเจือปนที่ไม่สามารถผ่านตะแกรงได้ที่พบเป็น รำหยาบ ปลายข้าว ข้าวหัก แกลบ ฟาง เศษหิน เป็นต้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธีการตำข้าวกับวิธีการสีของรำข้าวชัชนาท 1 พบว่ารำข้าวจาก

วิธีการดำที่ผ่านตะแกรงได้มีลักษณะต่างจากรำข้าวจากวิธีการสีข้าว แสดงว่าลักษณะทางกายภาพของรำข้าวขึ้นกับวิธีการผลิตรำข้าว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นพมาศ มั่นสุวรากุล (2545) ที่ศึกษาสัดส่วนของเปลือก ข้าวสาร และรำข้าวเมื่อผ่านกระบวนการสีข้าว กล่าวว่าปริมาณรำข้าวที่สีได้ขึ้นกับ การตั้งระยะห่างระหว่างลูกยางในเครื่องขัดขาว คือ ถ้าตั้งชิดเกินไป เมล็ดข้าวที่มีรูปร่างค่อนข้างป้อมจะถูกขัดเอารำข้าวออกมาได้มากกว่าเมล็ดข้าวที่มีรูปร่างเรียวย ระดับการสีถ้าขัดขาวหลายครั้งปริมาณรำข้าวที่ได้ก็เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับ ชนิดเครื่องขัดขาว ถ้าเครื่องขัดขาวมีระบบเป่าลม รำข้าวที่ติดอยู่กับเมล็ดข้าวสารและที่ติดตามส่วนต่างๆ ของเครื่องก็จะถูกเป่าออกมาทำให้ได้ปริมาณรำข้าวเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.2 ปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้และลักษณะทางกายภาพของรำข้าวแต่ละวิธีการผลิต

ตัวอย่าง รำข้าว	ปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้ % (กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)	ลักษณะทางกายภาพของรำข้าว (หลังร่อน)
ชั้นนาท1 ต่ำข้าว	42.96 ^C ± 1.99	หยาบ แข็งกระด้าง ขนาดใหญ่สุด
ชั้นนาท1 สีข้าว	85.85 ^A ± 0.71	ละเอียด เป็นผง ไม่แข็ง ขนาดเล็กสุด
ผสม สีข้าว	58.63 ^B ± 2.30	ละเอียด เป็นผง ไม่แข็ง ขนาดเล็ก

A, B, C ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.1.2.2 ศึกษาปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าวแต่ละวิธีการผลิต

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ (ตารางที่ 4.3) พบว่ารำข้าวผสมที่ได้จากวิธีการสีข้าว มีปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้มากที่สุดคือ 4.21 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ รำข้าวชั้นนาท 1 ที่ได้จากวิธีการสีข้าว และรำข้าวชั้นนาท 1 ที่ได้จากวิธีการต่ำข้าว ซึ่งเท่ากับ 3.48 และ 2.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยพบว่าปริมาณโปรตีนของรำข้าวที่ได้จากวิธีการสีข้าวมีปริมาณมากกว่ารำที่ได้จากวิธีการต่ำข้าว

ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ที่ต่างกันนั้น ขึ้นกับองค์ประกอบโครงสร้างของเมล็ดข้าว โปรตีนจะมีปริมาณมากบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดและเอนโดสเปิร์ม ซึ่งปริมาณของเยื่อหุ้มเมล็ด ขึ้นกับสายพันธุ์ของข้าวและสภาพแวดล้อมของการเพาะปลูก ในการผลิตรำข้าวด้วยวิธีการสีข้าว นั้นข้าวเปลือกจะถูกขัดให้เป็นข้าวสาร ส่วนของเนื้อเยื่อที่ห่อหุ้มเนื้อผลและจมูกข้าวจะถูกขัดออกมาเป็นผงละเอียด ส่วนวิธีการต่ำข้าวเป็นการกะเทาะเปลือกข้าวจะได้ข้าวกล้องและแกลบที่มีรำข้าวปนอยู่น้อย รวมทั้งขนาดของรำข้าวยังส่งผลต่อการสกัดโปรตีน โดยรำข้าวที่ได้จากวิธีสีข้าวมี

ลักษณะละเอียดเป็นผง ซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการสกัดโปรตีนระหว่างรำข้าวกับสารละลายมากกว่ารำข้าวที่ได้วิธีการตำ ดังนั้นเมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีน (เทียบแทนปริมาณเอนไซม์ไลเพส) และความสม่ำเสมอของวัตถุดิบ จึงเลือกรำข้าวที่มาจากวิธีการสีข้าวของรำข้าวชั้นนาท 1 ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้จากรำข้าวแต่ละวิธีการผลิต

ตัวอย่าง	ปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
รำข้าวชั้นนาท1 ตำข้าว	2.33 ^C ± 0.07
รำข้าวชั้นนาท1 สีข้าว	3.48 ^B ± 0.03
รำข้าวผสม สีข้าว	4.21 ^A ± 0.06

A, B, C ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.1.3 ศึกษาผลของการสกัดน้ำมันและไม่สกัดน้ำมันออกจากรำข้าวต่อองค์ประกอบของรำข้าว

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของรำข้าว (ตารางที่ 4.4) พบว่ารำข้าวพันธุ์ชั้นนาท 1 ที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว มีค่าปริมาณความชื้น เท่ากับ 8.26% (กรัมต่อ 100 กรัม ตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก ปริมาณโปรตีน เท่ากับ 12.61% (กรัมต่อ 100 กรัม ตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก และปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ เท่ากับ 3.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่ารำข้าวที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมัน ที่มีค่าปริมาณความชื้น เท่ากับ 8.04% (กรัมต่อ 100 กรัม ตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก ปริมาณโปรตีน เท่ากับ 11.86% (กรัมต่อ 100 กรัม ตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก และปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ เท่ากับ 3.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนปริมาณไขมันของรำข้าวที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมันมีปริมาณมากกว่ารำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 9.71% และ 4.20% (กรัมต่อ 100 กรัม ตัวอย่าง) โดยน้ำหนักเปียก ตามลำดับ

ปริมาณองค์ประกอบของรำข้าวพันธุ์ชั้นนาท 1 ที่ผ่านการสกัดน้ำมัน (กากรำ) มีค่าใกล้เคียงและแตกต่างจากกากรำของงานวิจัยอื่น เช่น กรกช ฮามโพธิ์ (2540) ศึกษาองค์ประกอบของกากรำที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันรำข้าว พบว่ามีปริมาณความชื้น 9-10% และไขมัน 1.4% นอกจากนี้ ธีรรัตน์ อธิธิโสภณกุล (2543) ศึกษาองค์ประกอบของกากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ข้าวเหนียวขาว กข 6 และข้าวเหนียว

ดำพบว่าปริมาณความชื้น 12.00-12.33% ปริมาณไขมัน 1.62-1.95% และปริมาณโปรตีน 5.06-6.65% จากการทดลองนี้จะเห็นว่ารำข้าวชัชนา 1 ที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกยังคงมีปริมาณน้ำมันเหลืออยู่มาก เนื่องจากวิธีการสกัดน้ำมันที่แตกต่างกัน ในที่นี้เป็นการสกัดน้ำมันออกด้วยเฮกเซนเพียงครั้งเดียวจึงอาจเหลือน้ำมันในรำข้าว รวมทั้งปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันออก เช่น ชนิดและปริมาณตัวทำละลาย อุณหภูมิการสกัด ความหนาแน่นของรำข้าว และความชื้นของรำข้าว

ส่วนปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออก เป็นผลจากโครงสร้างของรำข้าวที่มี cellulose hemicellulose ในรูปของ xylose และ arabinose ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ xylose ประกอบด้วย D-xylose โปรตีนในรำข้าวเรียงตัวอยู่รอบๆ phytate anion ทำให้เกิด insoluble protein-phytate complex (Wang et al., 1999) และโปรตีนในรำข้าวบางส่วนจะจับกับไขมันหรือมีชั้นไขมันห่อหุ้มอยู่ ดังนั้นรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้วจึงมีปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มากกว่ารำข้าวที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมัน เนื่องจากไขมันที่จับกับโปรตีนหรือห่อหุ้มอยู่ลดลงทำให้โปรตีนสามารถละลายออกมาในสารละลายบัฟเฟอร์ได้มากขึ้น นอกจากนี้การทำให้เยื่อชั้นนอกหรือเยื่อหุ้มผลแตกออก การลดขนาดอนุภาคของเนื้อเยื่อภายใน หรือการย่อยองค์ประกอบในรำข้าวออก ช่วยทำให้สกัดโปรตีนออกมาได้มากขึ้น (Betschart, Fong and Saunders, 1977)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ของรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกและไม่สกัดน้ำมันออก

ตัวอย่าง	องค์ประกอบรำข้าว			
	ความชื้น	โปรตีน (กรัมต่อ 100 กรัม)	ไขมัน	โปรตีนในสารละลาย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
รำข้าวที่สกัดน้ำมัน	8.26 ^A ± 0.03	12.61 ^A ± 0.03	4.20 ^B ± 0.01	3.48 ^A ± 0.03
รำข้าวที่ไม่สกัดน้ำมัน	8.04 ^B ± 0.06	11.86 ^B ± 0.01	9.71 ^A ± 0.02	3.17 ^B ± 0.14

A, B, C ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.1.4 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าว

จากตารางที่ 4.5 พบว่าน้ำมันรำข้าวมีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 40.87, -0.42 และ 17.54 ตามลำดับ โดยน้ำมันรำข้าวนี้มีลักษณะความสว่างปานกลาง ค่า a^* มีค่าเป็นลบ แสดงว่ามีลักษณะสีเขียวเล็กน้อย และค่า b^* แสดงว่ามีลักษณะสีเหลือง เมื่อมองภาพรวมพบว่าน้ำมันรำข้าวมีลักษณะสีเหลืองออกเขียวและสว่างใส ส่วนค่าความหนืด ค่าการหักเหของแสง ปริมาณกรดไขมันอิสระ ค่าความเป็นกรด และค่าไอโอดีน เท่ากับ 64.08 cP, 1.4698, 2.97 (% ระบุกรดโอเลอิก), 5.91 มิลลิกรัมโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัม น้ำมัน และ 99.80 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำมัน ตามลำดับ โดยค่าการหักเหของแสง ค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าวนี้อยู่ในเกณฑ์ที่มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของน้ำมันรำสำหรับบริโภค (มอก. 44-2516) กำหนด คือค่าการหักเหของแสง อยู่ในช่วง 1.460-1.470 ค่าไอโอดีน อยู่ในช่วง 92-115 แต่ค่าความเป็นกรดของน้ำมันรำข้าวนี้เกินค่ามาตรฐานที่กำหนด (ไม่เกิน 0.6 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัม น้ำมัน) เนื่องจากการทดลองต่อไปที่จะกล่าวในข้อ 4.4 ต้องการให้น้ำมันรำข้าวเริ่มต้นมีปริมาณกรดไขมันอิสระและค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันรำข้าวเริ่มต้นให้มากขึ้น ที่อาจเหมาะต่อการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันที่มีกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเป็นสับสเตรตเริ่มต้น ดังนั้นน้ำมันรำข้าวที่ใช้นี้จึงถูกเก็บไว้นาน (ประมาณ 1 ปี 8 เดือน) ก่อนนำไปทดลอง

ตารางที่ 4.5 สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าว (ก่อนทำปฏิกิริยา)

สมบัติทางกายภาพและทางเคมี	ปริมาณ
ค่าความสว่าง (L^*)	40.87 ± 0.02
ค่าสีแดง (a^*)	-0.42 ± 0.02
ค่าสีเหลือง (b^*)	17.54 ± 0.02
ค่าความหนืด (cP) (25°C)	64.08 ± 0.31
ค่าการหักเหของแสง (25°C)	1.4698 ± 0.0002
ปริมาณกรดไขมันอิสระ (% as oleic acid)	2.97 ± 0.10
ค่าความเป็นกรด (mg NaOH/ g oil)	5.91 ± 0.20
ค่าไอโอดีน Wijs (g/100 g oil)	99.80 ± 0.07
แกมมาไฮโรซานอล (mg/100 g oil)	174.67

จากตารางที่ 4.5 พบว่าน้ำมันรำข้าวมีปริมาณแกมมาโอโรซานอล เท่ากับ 174.67 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมไขมัน ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวขึ้นกับสายพันธุ์ของข้าว ตัวอย่างเช่นงานวิจัยของ นพมาศ มนัสวรากุล (2545) สำนวจปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันดิบที่ได้จากรำข้าวไทยสายพันธุ์ต่างๆ 18 สายพันธุ์ พบว่าปริมาณแกมมาโอโรซานอล อยู่ในช่วง 1,046.90-1,965.97 ไมโครกรัมต่อกรัมรำข้าว และปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันดิบจากรำข้าวชยันนาท 1 มีค่า 1,456.49 ไมโครกรัมต่อกรัมรำข้าว โดยกล่าวว่าปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่แตกต่างกันอาจเกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำในนา หรือลักษณะเฉพาะของข้าวขึ้นน้ำที่อาจมีอิทธิพลต่อการสร้างแกมมาโอโรซานอล นอกจากนี้ยังขึ้นกับ แหล่งเพาะปลูก วิธีการสกัดน้ำมันรำข้าว กระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์สุดท้ายของน้ำมันรำข้าว

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าวดังตารางที่ 4.6 พบว่ากรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดคือ โอลิอิก (C18:1) 41.32% รองลงมาคือ ลิโนลิก (C18:2) 37.68% และ ปาล์มมิติก (C16:0) 15.10% (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ ส่วนกรดไขมันอื่นๆ มีปริมาณน้อย ได้แก่ สเตียริก (C18:0) 1.90% ลิโนลินิก (C18:3) 1.17% อะลาคิติก (C20:0) 0.87% ลิกโนซีริก (C24:0) 0.58% กาโดลีนิก (C20:1) 0.55% มายริสติก (C14:0) 0.29% บีฮินิก (C22:0) 0.26% ปาล์มมิโตลิก (C16:1) 0.19% และ GLA (C18:3 n-6) 0.11% (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด) ซึ่งสอดคล้องกับ นพมาศ มนัสวรากุล (2545) ที่ศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากรำข้าวไทย 18 สายพันธุ์ พบว่าน้ำมันรำข้าวที่ได้จากรำข้าวไทยทั้ง 18 สายพันธุ์ มีกรดไขมันดังนี้ โอลิอิก (C18:1) 38.88-47.68% ลิโนลิก (C18:2) 28.71-36.97% และปาล์มมิติก (C16:0) 18.05-21.66% สเตียริก (C18:0) 1.50-2.43% ลิโนลินิก (C18:3) 1.01-1.86% ไอโคซานอิก (C20:0) 0.59-0.91% กาโดลีนิก (C20:1) 0.36-0.52% มายริสติก (C14:0) 0.24-0.51% ปาล์มมิโตลิก (C16:1) 0.09-0.40% และโดโคซานอิก (C22:0) 0.18-0.38% (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด)

เมื่อพิจารณาสัดส่วน SFA : MUFA : PUFA ของตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่วิเคราะห์ได้ มีค่าเป็น 19.00 : 42.06 : 38.96 (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด) หรือ 1 : 2.2 : 2 โดยมี MUFA มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ นพมาศ มนัสวรากุล (2545) ที่วิเคราะห์สัดส่วน SFA : MUFA : PUFA ในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากรำข้าวทั้ง 18 สายพันธุ์ พบว่ามีปริมาณ MUFA มากกว่า SFA และ PUFA โดยปริมาณ MUFA อยู่ในช่วง 39.58-48.38% (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด)

ตารางที่ 4.6 องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าว

องค์ประกอบกรดไขมัน	ปริมาณ % (g/100 g total fatty acid)
C12:0 Lauric	nd
C14:0 Myristic	0.29
C16:0 Palmitic	15.10
C16:1 Palmitoleic	0.19
C18:0 Stearic	1.90
C18:1 n-9 cis Oleic	41.32
C18:2 n-6 cis Linoleic	37.68
C18:3 n-6 GLA	0.11
C18:3 n-3 Linolenic	1.17
C20:0 Arachidic	0.87
C20:1 n-9 Gadoleic	0.55
C22:0 Behenic	0.26
C24:0 Lignoceric	0.58
Total Saturated, SFA	19.00
Monounsaturated, MUFA	42.06
Polyunsaturated, PUFA	38.96
SFA : MUFA : PUFA	1 : 2.2 : 2

4.2. ศึกษาผลของวิธีการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน

เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ซึ่งเป็นการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ของไตรกลีเซอไรด์ ให้ผลิตภัณฑ์เป็นไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล งานวิจัยส่วนใหญ่จึงมุ่งศึกษาเอนไซม์ไลเปสในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ไม่ว่าจะ เป็นเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ สัตว์ หรือพืช รวมทั้งส่วนที่เหลือใช้จากกระบวนการต่างๆ เช่น รำข้าว แต่เอนไซม์ไลเปสยังสามารถเร่งปฏิกิริยาอื่นๆ ได้อีก ดังนั้นในการทดลองขั้นตอนนี้จึงมุ่งศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเคมีภัณฑ์จากไขมันและน้ำมัน โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันเป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในการสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างกลีเซอรอลกับกรดไขมันอิสระ การทดลองนี้ได้ศึกษาผลของวิธีการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ที่มีกรดโอเลอิกและกลีเซอรอลเป็นสับสเตรตในตัวทำละลายอินทรีย์ (เฮกเซน) โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

จากตารางที่ 4.7 พบว่ากิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยไม่ผ่านกระบวนการอื่น (วิธีที่ 3) มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 2.15 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน รองลงมาคือ วิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากการสกัดเอาองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ออกด้วยบัฟเฟอร์แล้วเอาส่วนกากรำ (วิธีที่ 2) มีค่าเท่ากับ 2.13 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน และวิธีการใช้สารละลายเอนไซม์ไลเปสที่ได้จากการสกัดเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วด้วยบัฟเฟอร์ (วิธีที่ 1) เท่ากับ 0.07 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่าวิธีการใช้สารละลายเอนไซม์ไลเปส (วิธีที่ 1) มีค่ากิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันต่ำกว่าวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำ (วิธีที่ 2 และ 3) สอดคล้องกับ นิคม ชัยศิริ (2513) พบว่าการสกัดรำสดด้วยน้ำกลั่นค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในส่วน supernatant จะมีค่าน้อย เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสจะถูกสกัดออกมาใน supernatant เพียงแค่ 1 ใน 3 ที่เหลือจะอยู่ในส่วนกากรำ นอกจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสยังขึ้นกับปริมาณน้ำที่มีในระบบ โดย Cheong และคณะ (2007) กล่าวว่าปริมาณน้ำที่มากเกินไปทำให้เอนไซม์อยู่ในชั้นของน้ำ เป็นผลให้ลดความสามารถในการจับกันของสับสเตรตกับเอนไซม์ และบริเวณเร่งของเอนไซม์ไม่สามารถเคลื่อนเข้าสู่ oil-water interface ซึ่งการเร่งปฏิกิริยาของ

เอนไซม์ไลเปสจะเกิดขึ้นได้เฉพาะบริเวณผิวสัมผัสระหว่างชั้นของสับสเตรตกับชั้นน้ำ นอกจากนี้ Lo และคณะ (2004) กล่าวว่าปริมาณน้ำมีผลต่อโครงสร้างที่ยืดหยุ่นได้ (structural flexibility) ของเอนไซม์ ปริมาณน้ำเพียงเล็กน้อยมีความจำเป็นต่อกิจกรรมของเอนไซม์ แต่ถ้ามีปริมาณน้ำมากเกินไปมีผลต่อการลดกิจกรรมของเอนไซม์ได้ ปริมาณน้ำที่มากเกินไปในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันมีผลให้เกิดการแข่งขันระหว่างปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้มีกรดไขมันอิสระมากขึ้น

ตารางที่ 4.7 กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวแต่ละวิธีการนำไปใช้

ตัวอย่าง	กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน
รำข้าวชัณนาท 1 รูปสสารละลาย วิธีที่ 1	$0.07^C \pm 0.01$
รำข้าวชัณนาท 1 รูปกากรำ วิธีที่ 2	$2.13^A \pm 0.06$
รำข้าวชัณนาท 1 รูปกากรำ วิธีที่ 3	$2.15^A \pm 0.02$
รำข้าวผสม รูปกากรำ วิธีที่ 3	$1.73^B \pm 0.01$

A, B, C, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

วิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (วิธีที่ 2 และ 3) มีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์มากกว่าวิธีการใช้สารละลายเอนไซม์ไลเปส (วิธีที่ 1) อาจเป็นผลมาจากอนุภาคของรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วทำให้เพิ่มความเสถียรในตัวทำละลายอินทรีย์และความเสถียรต่อกิจกรรมเอสเทอริฟิเคชันที่อุณหภูมิสูงขึ้นได้ เนื่องจากอนุภาคของรำข้าวจะมีรูพรุนเพิ่มขึ้น ซึ่งอนุภาคของรำข้าวที่มีรูพรุนเพิ่มขึ้นนี้จะทำหน้าที่เป็น matrix สำหรับตรึง (immobilization) โมเลกุลเอนไซม์ไลเปส ซึ่งส่งผลต่อความสามารถของเอนไซม์ไลเปสในการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน รวมทั้งเป็นป้องกันการถูกทำลายจากความร้อนได้ (Chong et al., 2007)

จากผลการทดลองพบว่าวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยไม่ผ่านกระบวนการอื่น (วิธีที่ 3) มีค่ากิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันมากกว่าวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากการสกัดเอาองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ออกด้วยบัฟเฟอร์แล้วเอาส่วนกากรำ (วิธีที่ 2) เนื่องจากสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไประหว่างขั้นตอนการแยกหรือการสกัดเอนไซม์จากแหล่งธรรมชาติ และการกำจัดโปรตีนที่ไม่ต้องการออก อาจมีผลต่อโครงสร้างและกิจกรรมของเอนไซม์ได้หลายทาง โดยเฉพาะกรณีการสกัดเอนไซม์ออกจากเยื่อเซลล์

ซึ่งทำให้โมเลกุลของเอนไซม์ที่เคยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความไม่มีชีวิตสูง ต้องเปลี่ยนมาอยู่ในสภาพที่มีชีวิตของสารละลายบัฟเฟอร์ จึงอาจทำให้ conformation ของเอนไซม์เปลี่ยนไปจนไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ (จิตติมา เจริญพานิช, 2553)

จากตารางที่ 4.7 พบว่ากิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวผสมในรูปกากรำ (วิธีที่ 3) มีค่าเท่ากับ 1.73 หน่วยต่อมิลลิกรัม เมื่อพิจารณาระหว่างเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวชัณษาท 1 และรำข้าวผสม ในรูปกากรำ (วิธีที่ 3) พบว่าเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวชัณษาท 1 มีค่ากิจกรรมเอสเทอร์ฟิเคชันมากกว่าเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวผสม ถึงแม้ว่ารำข้าวผสมจะมีปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้มากกว่ารำข้าวชัณษาท 1 (จากผลการทดลองข้อ 4.1.2.2 ตารางที่ 4.3) สามารถกล่าวได้ว่าปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่มีมากในรำข้าวผสมที่วิเคราะห์นี้ มีบางส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนที่มีกิจกรรมจำเพาะในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันนี้ หรือโปรตีนนั้นไม่ใช่เอนไซม์ไลเพส

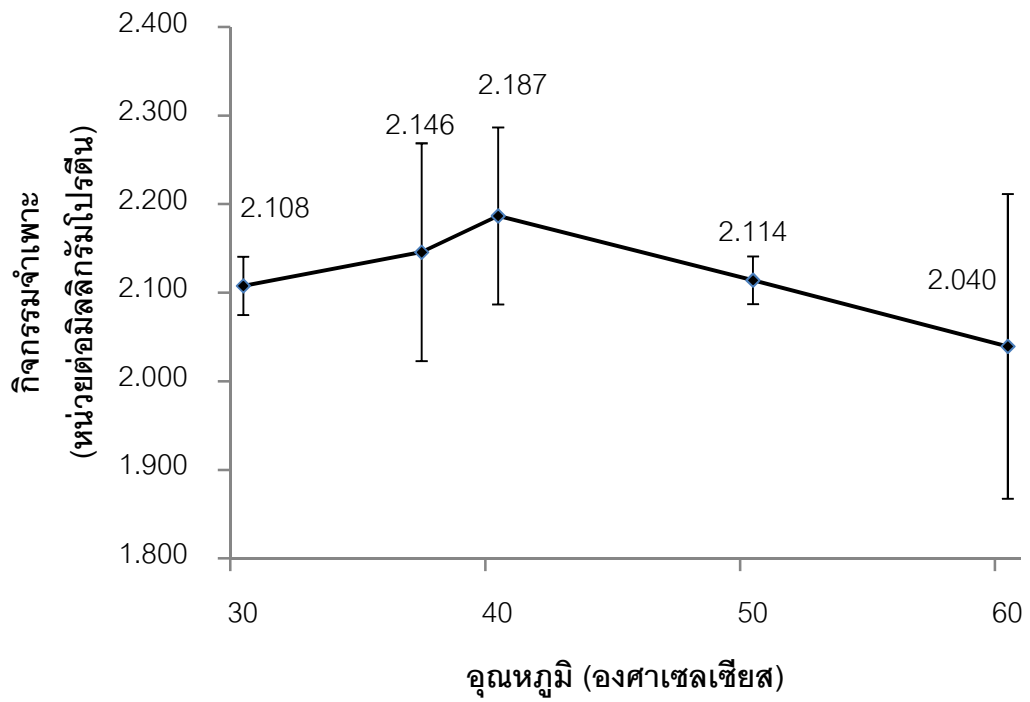
จากผลการทดลองพบว่าวิธีการใช้เอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวพันธุ์ชัณษาท 1 ในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยไม่ผ่านกระบวนการอื่น (วิธีที่ 3) มีค่ากิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันมากที่สุด จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวไปใช้ในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน เนื่องจากวิธีการนี้เป็นการลดการสูญเสียและการเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์ในระหว่างขั้นตอนต่างๆ และยังเป็น การลดขั้นตอนให้ง่ายขึ้น ดังนั้นจึงเลือกวิธีการใช้เอนไซม์ไลเพสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยไม่ผ่านกระบวนการอื่น (วิธีที่ 3) ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเพสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน

จากรูปที่ 4.1 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในรูปกากรำ (วิธีที่ 3) ซึ่งเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้) ในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน เมื่อศึกษาอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เป็น 30, 37, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ไลเพสมีกิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เท่ากับ 2.187 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน รองลงมาคือ ที่อุณหภูมิ 37, 30, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เท่ากับ 2.146, 2.108, 2.114 และ 2.040 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาจาก 30 เป็น 37 และ 40 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไลเพสจะมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นตามลำดับ ทั้งนี้การเพิ่มอุณหภูมิอาจส่งผลต่อการละลายของสับสเตรตได้ดีขึ้น ทำให้อัตราการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพิ่มขึ้น (Cheong et al., 2007) และการเพิ่มอุณหภูมิอาจส่งผลให้ความหนืดของระบบลดลง เป็นผลให้อัตราการทำปฏิกิริยาระหว่างสับสเตรตและเอนไซม์เพิ่มขึ้น (Lo et al., 2004) แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไลเพสจะมีกิจกรรมลดลง และลดลงมากเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 60 องศาเซลเซียส การเพิ่มอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาให้สูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเพส ทำให้เอนไซม์ไลเพสมีกิจกรรมลดลง สอดคล้องกับ Chong และคณะ (2007) ที่ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวมาเลเซียที่สกัดน้ำมันออกแล้วในรูปกากรำ โดยศึกษาที่อุณหภูมิ 45, 55, 65 และ 75 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ไลเพสมีกิจกรรมเอสเทอร์ฟิเคชันสูงสุด ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และกิจกรรมของเอนไซม์ไลเพสจะลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 75 องศาเซลเซียส

ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน คือ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.1 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วในปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน

4.4 เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่มีต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว

4.4.1 ศึกษาปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสต่อปริมาณกรดไขมันอิสระ

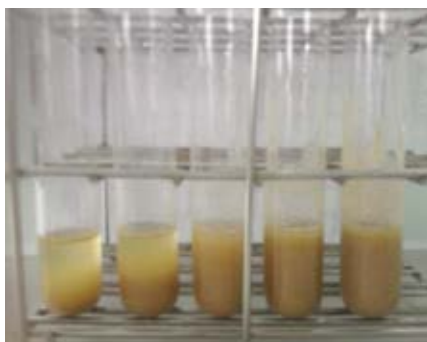
4.4.1.1 ศึกษาปริมาณการเติมกากรำเบื้องต้น

การทดลองในขั้นตอนนี้เป็นศึกษาปริมาณกากรำเบื้องต้นเพื่อนำไปใช้ในน้ำมันรำข้าว โดยแปรปริมาณกากรำเป็น 10%, 20%, 30%, 40% และ 50% ของน้ำหนักน้ำมัน แล้ววัดความสูงของชั้นน้ำมัน จากตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.2 พบว่าความสูงของชั้นน้ำมันมีค่ามากที่สุดเมื่อใส่กากรำ 10% ของน้ำหนักน้ำมัน และความสูงจะลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณกากรำข้าวมากขึ้น โดยเมื่อใส่กากรำข้าว 50% ของน้ำหนักน้ำมัน ความสูงของชั้นน้ำมันจะน้อยที่สุด ทั้งนี้กากรำจะดูดซับน้ำมันรำข้าวเอาไว้เนื่องจากกากรำมีรูพรุนโปร่งและพื้นที่ผิวสัมผัสมาก กากรำจึงดูดซับน้ำมันได้ดี ในการเลือกปริมาณกากรำในเบื้องต้นนี้จะคำนึงถึงปริมาณน้ำมันที่สามารถนำไปวิเคราะห์ต่อโดยเมื่อใส่กากรำที่ 30% ขึ้นไป กากรำจะดูดซับน้ำมันและพองตัวทำให้ยากแก่การบีบน้ำมันออก จึงเลือกปริมาณกากรำข้าว 10% และ 20% ของน้ำหนักน้ำมัน ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.8 ความสูงของชั้นน้ำมันต่อปริมาณการเติมกากรำในน้ำมันรำข้าว

ปริมาณกากรำ (% น้ำมัน)	ความสูงของชั้นน้ำมัน (เซนติเมตร)
10%	1.70 ^A ± 0.06
20%	1.49 ^B ± 0.03
30%	1.19 ^C ± 0.04
40%	0.94 ^D ± 0.06
50%	0.68 ^E ± 0.10

A,B,C,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.2 ความสูงของชั้นน้ำมันต่อปริมาณการเติมกากรำในน้ำมันรำข้าว

หมายเหตุ ปริมาณการเติมกากรำที่ 10%, 20%, 30%, 40% และ 50% ของน้ำหนักน้ำมันจากซ้ายไปขวาตามลำดับ

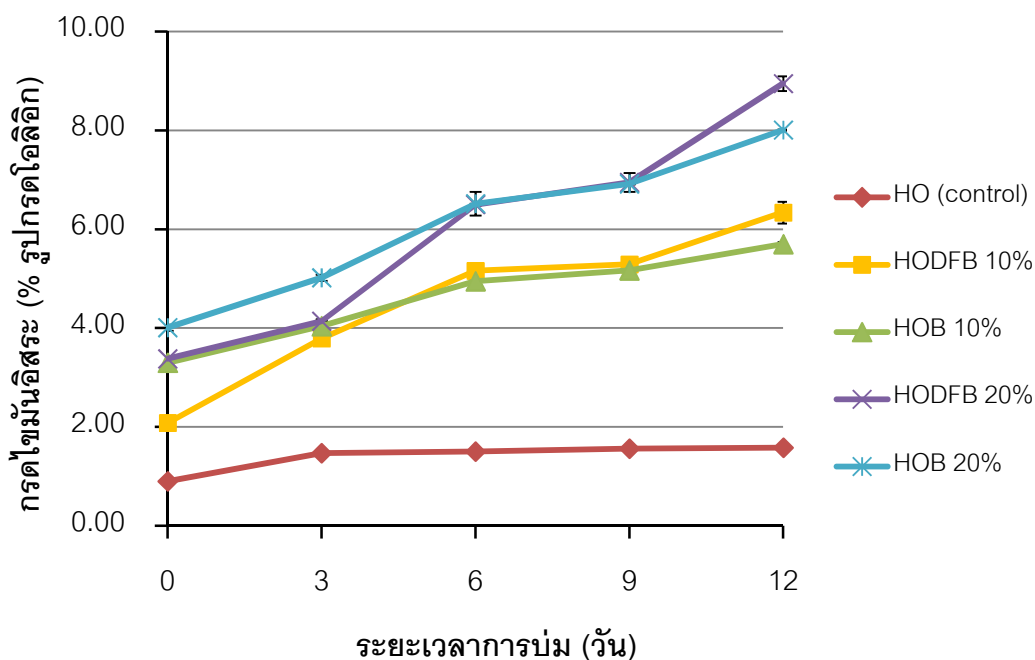
4.4.1.2 ศึกษาปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่อปริมาณกรดไขมันอิสระ

การศึกษาปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวในน้ำมันรำข้าวในขั้นตอนการศึกษานี้ มีการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันรำข้าวเริ่มต้นให้มากขึ้น ที่อาจเหมาะต่อการเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันที่มีกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเป็นสับสเตรตเริ่มต้น เนื่องจากมีสมมติฐานว่าเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวอาจเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันได้ งานวิจัยนี้ไม่ได้ตรวจถึงองค์ประกอบกลีเซอไรด์อนุพันธ์ต่างๆ เช่น ไตรกลีเซอไรด์ ไดและโมโนเอซิลกลีเซอรอล และกลีเซอรอล แต่ติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยใช้การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันรำข้าวเพื่อศึกษาการทำงานของเอนไซม์ การทดลองนี้จึงไม่ได้กล่าวถึงผลิตภัณฑ์ขั้นกลาง และผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าว ซึ่งเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวอาจใช้ไตรกลีเซอรอลจากน้ำมันรำข้าวเป็นสับสเตรตเริ่มต้นของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส หรืออาจใช้กรดไขมันอิสระเป็นสับสเตรตเริ่มต้นของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันก็ได้

จากผลการทดลองโดยแปรปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวเป็น 10% และ 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) และแปรชนิดของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวเป็น รำข้าวดิบ และรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 วัน แล้วติดตามปริมาณกรดไขมันอิสระ จากรูปที่ 4.3 (ตารางผลการทดลองแสดงในภาคผนวก ข.1) พบว่าตัวอย่างน้ำมันที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าว (ทุกตัวอย่างรำข้าว) มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงกว่าตัวอย่างควบคุมทุกวัน (0-12 วัน) และเมื่อพิจารณาตัวอย่างน้ำมันที่เติมรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วและ

รำข้าวดิบ พบว่าในช่วงแรก (วันที่ 0-3) ของน้ำมันที่เติมรำข้าวดิบมีค่าปริมาณกรดไขมันอิสระมากกว่าน้ำมันที่เติมรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เป็นผลมาจากกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในรำข้าวดิบ แต่หลังวันที่ 3 (วันที่ 6-12) ปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันที่เติมรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วมีแนวโน้มสูงกว่าน้ำมันที่เติมรำข้าวดิบ เป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่เร่งปฏิกิริยามากกว่ารำข้าวดิบ สอดคล้องกับ Chong และคณะ 2007 ที่ศึกษาผลของการสกัดน้ำมันออกจากรำข้าวต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส พบว่าเอนไซม์ไลเปสที่ได้จากรำข้าวที่ไม่สกัดน้ำมันมีกิจกรรมเอสเทอร์ฟิเคชันต่ำกว่าเอนไซม์ไลเปสที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว และพบว่าเอนไซม์ไลเปสที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วมีความเสถียรต่ออุณหภูมิสูงมากกว่าเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่ไม่สกัดน้ำมัน

เมื่อพิจารณาติดตามปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวในการเร่งปฏิกิริยา (รูปที่ 4.3) พบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แสดงว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดลองนี้น่าจะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสมากกว่าปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ซึ่งการให้ความร้อนแก่น้ำมันเพื่อเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันรำข้าวเริ่มต้นให้มากขึ้นอาจไม่ได้เป็นการช่วยเพิ่มสปีดเรตของเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ซึ่ง มลฤดี เชาวรัตน์ (2540) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวเปลี่ยนน้ำมันรำข้าวให้เป็นกรดไขมันอิสระโดยใช้เอนไซม์ไลเปสภายใน รำข้าวในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์บนตัวกลางแบบของแข็ง พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสมากที่สุดคือ ปริมาณน้ำ ถ้าในสภาวะที่มีน้ำมากเอนไซม์ไลเปสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส แต่ถ้ามีน้ำน้อยเอนไซม์ไลเปสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ซึ่งผลการศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันปรากฏว่าการลดความชื้นในรำข้าวด้วยวิธีต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการทำ freeze drying การเป่าลมร้อนที่อุณหภูมิ 37 และ 40 องศาเซลเซียส การอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และการดูดอากาศออกไม่สามารถเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันได้ เนื่องจากสมบัติทางกายภาพของรำข้าวที่สามารถดูดความชื้นจากอากาศกลับคืนทำให้เอนไซม์ไลเปสเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระในรำข้าวเพิ่มขึ้น



รูปที่ 4.3 ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่างกัน เมื่อบ่มอุณหภูมิห้อง นาน 12 วัน

จากตารางที่ 4.9 เมื่อพิจารณาค่าความชัน (slope) ของสมการการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระ พบว่าตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่เติมรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 20% มีอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระ (ความชันของสมการ) มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.465 รองลงมา คือ รำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 10% รำข้าวดิบ 20% และรำข้าวดิบ 10% มีค่าเท่ากับ 0.334, 0.330 และ 0.197 ตามลำดับ และเมื่อแทนค่าในสมการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระ พบว่าเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 20% สามารถไฮโดรไลซ์น้ำมันรำข้าวได้กรดไขมันอิสระ 50% (รูปกรดไขมัน) (เมื่อแทนค่า y เท่ากับ 50) ประมาณ 100 วัน

ดังนั้นปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระมากที่สุด คือ การเติมเอนไซม์เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 20% จึงเลือกปริมาณการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.9 สมการการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่างกัน

ตัวอย่างน้ำมัน	สมการทางคณิตศาสตร์ จากการทดลอง	ค่า R ²
HO รำข้าวสกัดน้ำมัน 10%	$y = 0.334x + 2.528$	0.929
HO รำข้าวดิบ 10%	$y = 0.197x + 3.446$	0.961
HO รำข้าวสกัดน้ำมัน 20%	$y = 0.465x + 3.194$	0.964
HO รำข้าวดิบ 20%	$y = 0.330x + 4.116$	0.977

หมายเหตุ เมื่อ X แทน ระยะเวลาการบ่ม (วัน) และ y แทน ปริมาณกรดไขมันอิสระ (% รูปกรดไอลิค)

4.4.2 ศึกษาสถานะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว

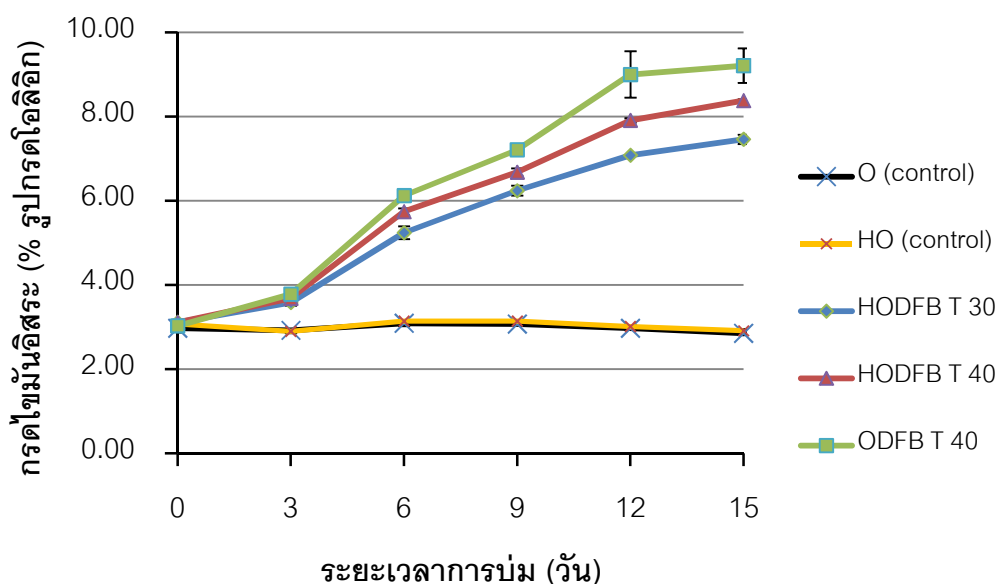
จากการศึกษาสถานะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) โดยแปรตัวอย่างน้ำมันและอุณหภูมิในการบ่มเป็น 3 ตัวอย่าง คือ น้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส และน้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน แล้ววิเคราะห์สมบัติของน้ำมันรำข้าว ดังนี้

4.4.2.1 ปริมาณกรดไขมันอิสระ

จากรูปที่ 4.4 (ตารางผลการทดลองแสดงในภาคผนวก ฉ.2) เมื่อพิจารณาระหว่างตัวอย่างน้ำมันที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว (ทุกตัวอย่าง) กับตัวอย่างควบคุม (ทุกตัวอย่าง) พบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระในตัวอย่างน้ำมันที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วมีแนวโน้มสูงกว่าตัวอย่างควบคุมทุกวัน (0-15 วัน) และเมื่อพิจารณาเฉพาะตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน ระหว่างน้ำมันรำข้าวที่บ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันที่บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มสูงกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แสดงว่าอุณหภูมิที่ดีที่สุดที่ทำให้เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวมีปริมาณกรดไขมันอิสระสูง คือ ที่อุณหภูมิการบ่ม 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจาก 30 เป็น 40 องศาเซลเซียส ทำให้เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วเร่งปฏิกิริยาได้

เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการทำงานของเอนไซม์ เพราะอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์จะผันแปรตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

เมื่อพิจารณาเฉพาะตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระหว่างน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียสและน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน พบว่าปริมาณกรดไขมันอิสระในน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน มีแนวโน้มสูงกว่าน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน แสดงว่าการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ทำให้มีปริมาณกรดไขมันอิสระสูงสุด คือ น้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เนื่องจากปริมาณกรดไขมันอิสระเริ่มต้นที่มากกว่าเล็กน้อยของน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อนสูง ไม่มีผลในการช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ไลเปสให้ได้มากขึ้น รวมทั้งกรดไขมันอิสระที่เป็นผลิตภัณฑ์จากการไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์อาจมีผลในการยับยั้งปฏิกิริยาได้ เช่น วรณี ประภังกร (2542) ศึกษาผลของกรดไขมันอิสระต่อการยับยั้งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในน้ำมัน พบว่าการผลิตกรดไขมันอิสระที่ผลิตจากน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์มเมื่อเติมกรดไขมันอิสระเทียบกับชุดควบคุมให้ผลการผลิตกรดไขมันอิสระลดลง



รูปที่ 4.4 ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

จากตารางที่ 4.10 เมื่อพิจารณาค่าความชัน (slope) ของสมการการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระ พบว่าตัวอย่างน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อปั๊มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระ (ความชันของสมการ) มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.453 รองลงมา คือ น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เมื่อปั๊มที่อุณหภูมิ 40 และ 30 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 0.380 และ 0.316 ตามลำดับ และเมื่อแทนค่าในสมการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระ พบว่าน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อปั๊มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถไฮโดรไลซ์น้ำมันรำข้าวได้กรดไขมันอิสระ 100% (รูปกรดโอเลอิก) (เมื่อแทนค่า y เท่ากับ 100) ประมาณ 214 วัน

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ในน้ำมันรำข้าว ที่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระมากที่สุด คือ น้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) เมื่อปั๊มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.10 สมการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน

ตัวอย่างน้ำมัน	สมการทางคณิตศาสตร์ จากการทดลอง	ค่า R^2	ระยะเวลา (วัน) ที่ทำนาย เมื่อ $y = 100$
HO ปั๊ม 30 °C	$y = 0.316x + 3.076$	0.966	306.72
HO ปั๊ม 40 °C	$y = 0.380x + 3.061$	0.920	255.10
O ปั๊ม 40 °C	$y = 0.453x + 2.988$	0.965	214.15

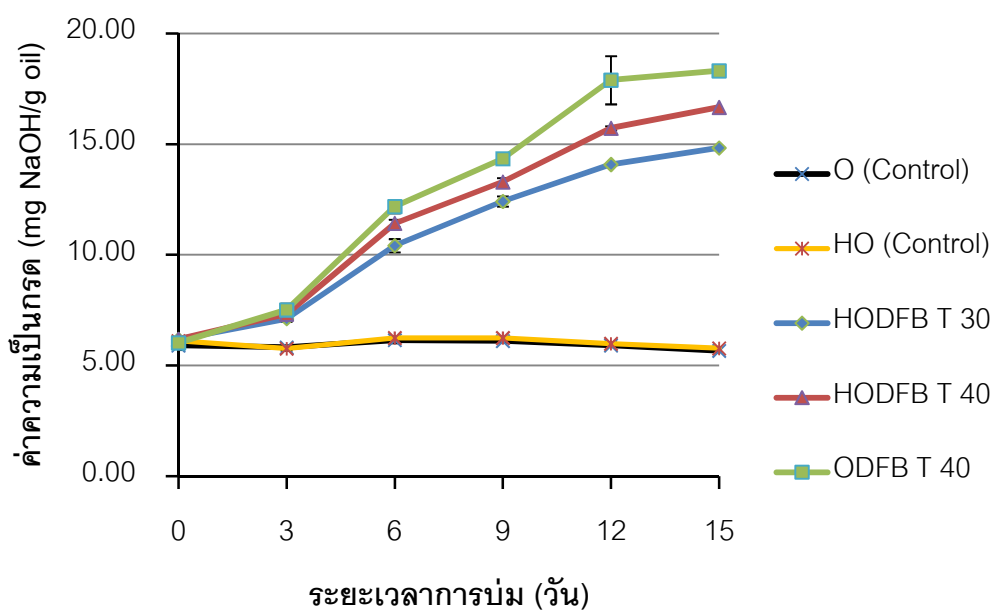
หมายเหตุ เมื่อ X แทน ระยะเวลาการปั๊ม (วัน) และ y แทน ปริมาณกรดไขมันอิสระ (% รูปกรดโอเลอิก)

4.4.2.2 ค่าความเป็นกรด

จากรูปที่ 4.5 (ตารางผลการทดลองแสดงในภาคผนวก ข.3) เมื่อพิจารณาระหว่างตัวอย่างน้ำมันที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าว (ทุกตัวอย่าง) กับตัวอย่างควบคุม (ทุกตัวอย่าง) พบว่าค่าความเป็นกรดในตัวอย่างน้ำมันที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วมีแนวโน้มสูงกว่าตัวอย่างควบคุมทุกวัน (0-15 วัน) เมื่อพิจารณาเฉพาะตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน ระหว่างน้ำมันรำข้าวที่ปั๊มที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าค่าความเป็นกรดของตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ปั๊มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มสูงกว่าที่อุณหภูมิ

30 องศาเซลเซียส แสดงว่าอุณหภูมิที่ดีที่สุดที่ทำให้เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว มีค่าความเป็นกรดสูง คือ ที่อุณหภูมิการบ่ม 40 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาเฉพาะตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระหว่างตัวอย่างน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 200 องศาเซลเซียสและน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน พบว่าค่าความเป็นกรดของน้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน มีแนวโน้มสูงกว่าน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน แสดงว่าการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ทำให้มีค่าความเป็นกรดสูงสุด คือ น้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ไปใช้ในน้ำมันรำข้าว ที่ทำให้มีค่าความเป็นกรดมากที่สุด คือ น้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

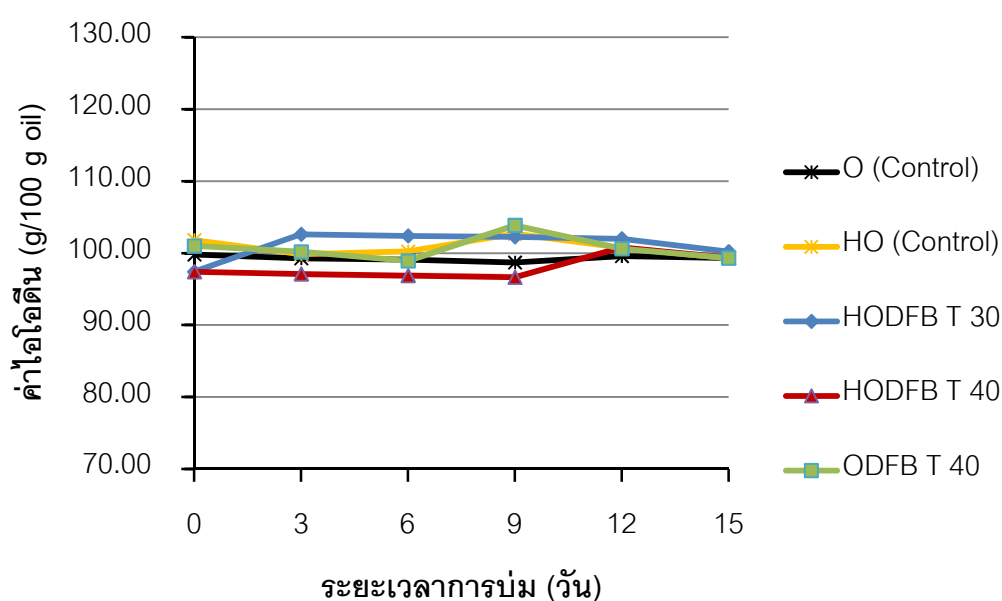


รูปที่ 4.5 ค่าความเป็นกรดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

4.4.2.3 ค่าไอโอดีน

จากรูปที่ 4.6 พบว่าค่าไอโอดีนของตัวอย่างน้ำมันรำข้าวทั้ง 5 ตัวอย่าง ไม่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลง เมื่อบ่มที่เวลา 0-15 วัน โดยค่าไอโอดีนที่วิเคราะห์ได้ (ตารางผลการทดลองแสดงในภาคผนวก ข.4) ของแต่ละตัวอย่างวันที่ 0-15 วัน มีดังนี้ น้ำมันรำข้าว (Control) มีค่าไอโอดีนอยู่ในช่วง 98.69 - 99.80 (กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำมัน) น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้

ความร้อน (Control) มีค่าไอโอดีนอยู่ในช่วง 99.28-102.68 (กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำมัน) น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าไอโอดีนอยู่ในช่วง 97.42-102.62 (กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำมัน) น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าไอโอดีนอยู่ในช่วง 96.64-100.80 (กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำมัน) และน้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าไอโอดีนอยู่ในช่วง 98.91-103.85 (กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำมัน)

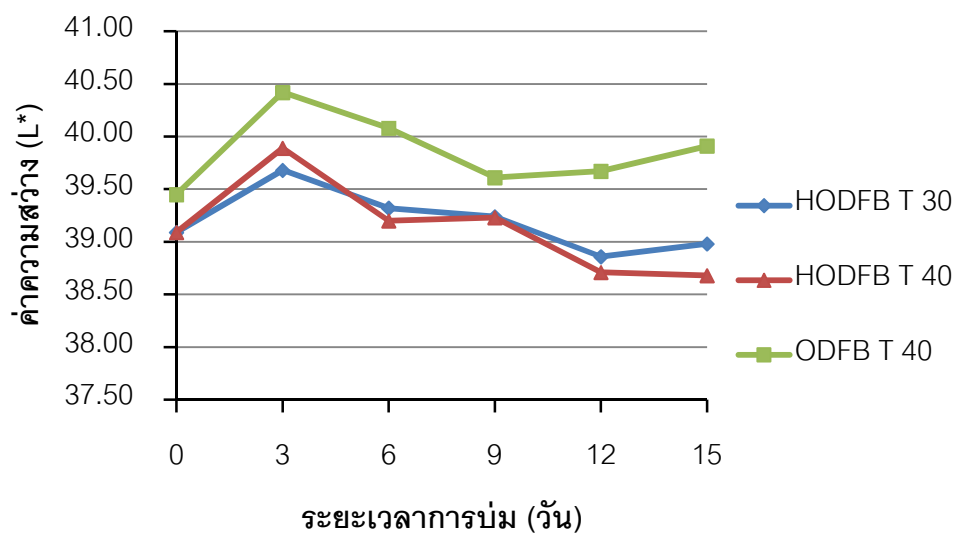


รูปที่ 4.6 ค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

4.4.2.4 ค่าสี : ค่าความสว่าง (L*)

จากรูปที่ 4.7 จากการวิเคราะห์ค่าความสว่าง (L*) ของน้ำมันรำข้าว พบว่าตัวอย่างน้ำมันทั้ง 3 ตัวอย่าง มีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่ม (วันที่ 0-15) โดยน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มค่าความสว่างลดลงมากที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ดังแสดงในภาคผนวกตารางที่ ๑.5) ในที่นี้ น้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อนมีค่าสว่างน้อยกว่าน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เนื่องจากน้ำมันเมื่อได้รับความร้อนสูงเป็นเวลานาน จะ

เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ไฮโดรไลซิสและพอลิเมอไรเซชัน ส่งผลให้น้ำมันมีสีเข้มขึ้น เช่น ค่าความสว่าง (L^*) ลดลง น้ำมันที่เก็บรักษาจะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากปฏิกิริยาเคมีคล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับความร้อนสูง แต่ปฏิกิริยาต่างๆจะเกิดอย่างช้าๆ ซึ่งปฏิกิริยาที่มีความสำคัญในการเก็บรักษาน้ำมัน คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากความร้อนจะทำลายสารต้านออกซิเดชัน เช่น โทโคฟีรอล เบต้าแคโรทีน แกมมาโอโรซานอลสารประกอบฟีนอลิก ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันเมื่อได้รับความร้อน ทำให้น้ำมันเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายขึ้น โดยสารต้านออกซิเดชันจะสลายตัวที่อุณหภูมิสูง (155-195 องศาเซลเซียส) (Choe and Min, 2007) ดังนั้นตัวอย่างน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนยังคงมีสารต้านออกซิเดชันที่ช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ซึ่งมีผลให้ค่าความสว่างสูงกว่าน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

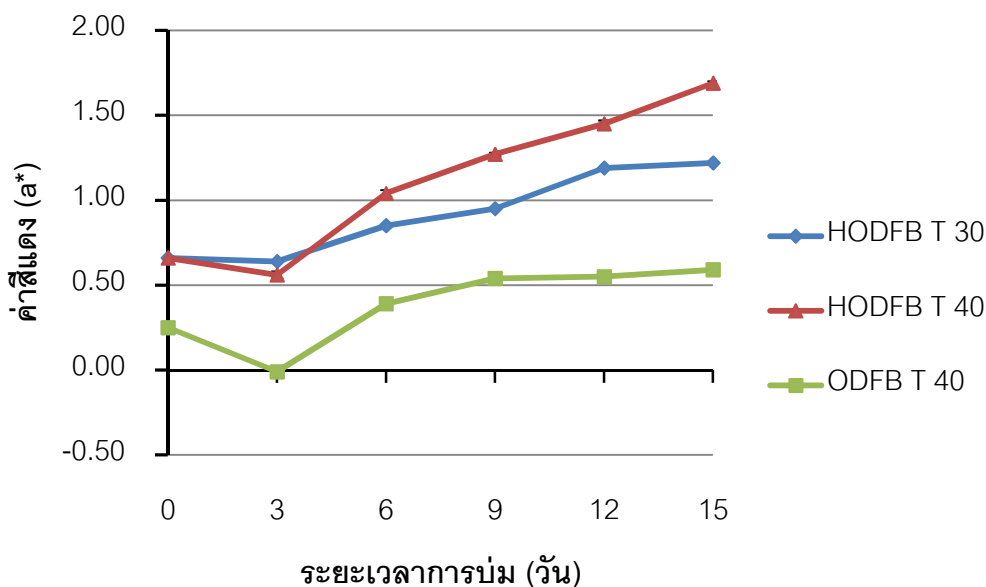


รูปที่ 4.7 ค่าความสว่าง (L^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

4.4.2.5 ค่าสี : ค่าสีแดง (a^*)

จากรูปที่ 4.8 การวิเคราะห์ค่าสีแดง (a^*) ของน้ำมันรำข้าว พบว่าตัวอย่างน้ำมันทั้ง 3 ตัวอย่าง มีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่ม (วันที่ 0-15) โดยน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มค่าสีแดงเพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ

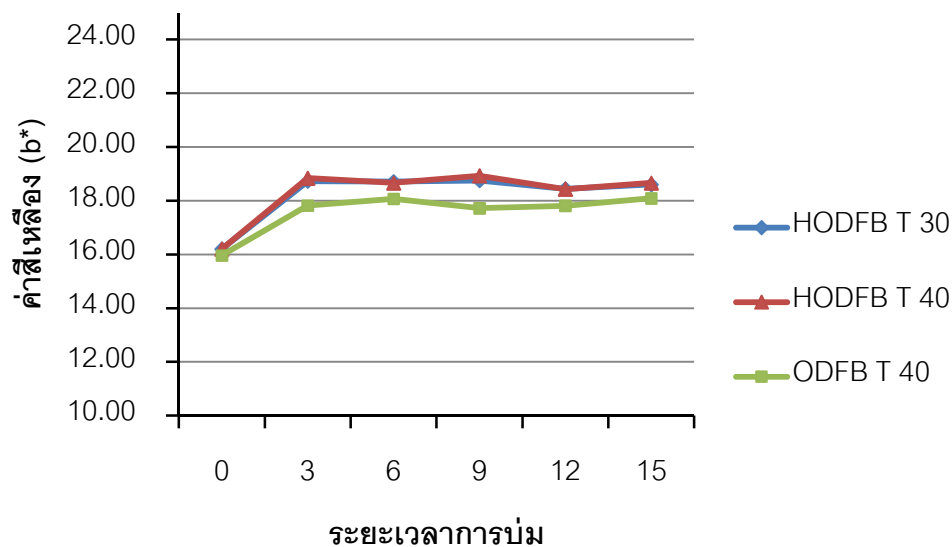
น้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อป้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ดังแสดงในภาคผนวกตารางที่ ๑.6)



รูปที่ 4.8 ค่าสีแดง (a^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อป้อนเป็นเวลา 15 วัน

4.4.2.6 ค่าสี : ค่าสีเหลือง (b^*)

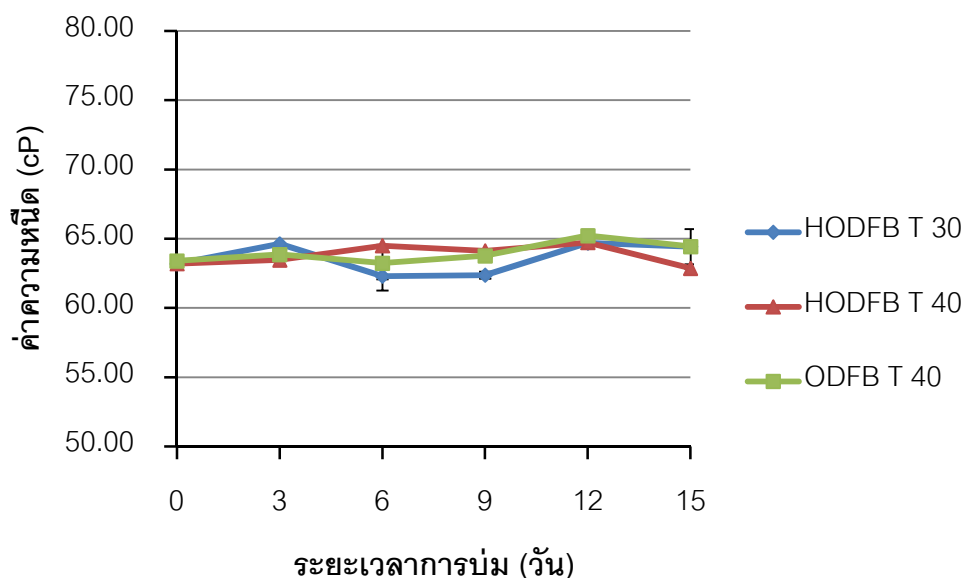
จากรูปที่ 4.9 การวิเคราะห์ค่าสีเหลือง (b^*) ของน้ำมันรำข้าว พบว่าตัวอย่างน้ำมันทั้ง 3 ตัวอย่าง มีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการป้อน (วันที่ 0-15) โดยน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อป้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือ ตัวอย่างน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อป้อนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และตัวอย่างน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อป้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ดังแสดงในภาคผนวกตารางที่ ๑.7)



รูปที่ 4.9 ค่าสีเหลือง (b^*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมัน ออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

4.4.2.7 ค่าความหนืด

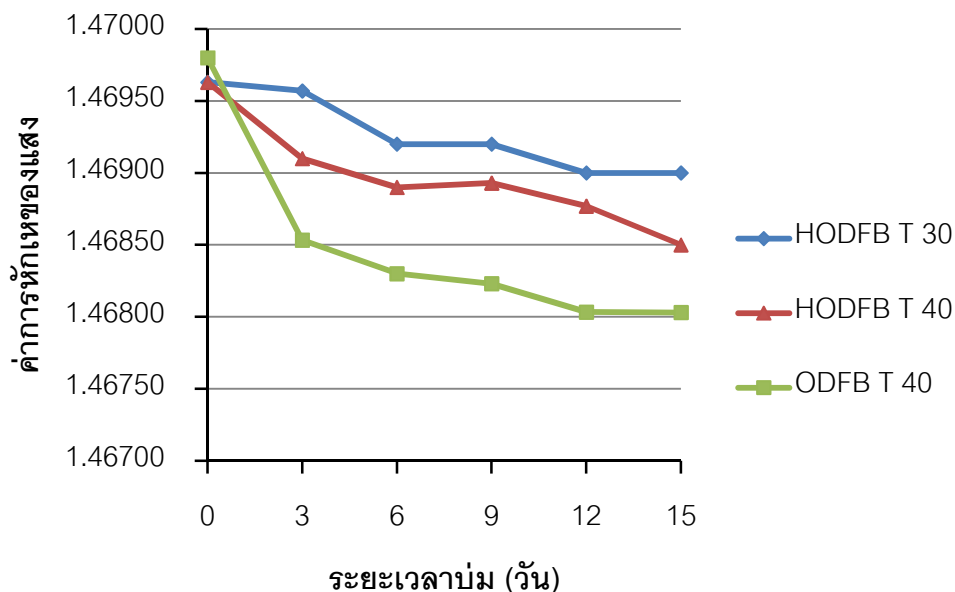
จากรูปที่ 4.10 การวิเคราะห์ค่าความหนืดของน้ำมันรำข้าว พบว่าตัวอย่างน้ำมันทั้ง 3 ตัวอย่าง ไม่มีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด โดยค่าความหนืดที่วิเคราะห์ได้ของแต่ละตัวอย่างวันที่ 0-15 วัน มีค่าดังนี้ น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าความหนืดอยู่ในช่วง 62.30-64.70 cP น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าความหนืดอยู่ในช่วง 62.87-64.73 cP และน้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าความหนืดอยู่ในช่วง 63.24-64.44 cP (ดังแสดงในตารางภาคผนวก จ.8) จะเห็นว่าค่าความหนืดของแต่ละตัวอย่างมีแนวโน้มตลอดการบ่ม 15 วัน ค่อนข้างคงที่



รูปที่ 4.10 ค่าความหนืดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมัน ออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

4.4.2.8 ค่าการหักเหของแสง

จากรูปที่ 4.11 การวิเคราะห์ค่าการหักเหของแสงของน้ำมันรำข้าว พบว่าตัวอย่าง น้ำมันทั้ง 3 ตัวอย่าง มีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงค่าการหักเหของแสงลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่ม (วันที่ 0-15) โดยน้ำมันที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าการเปลี่ยนแปลงของการหักเหของแสงลดลงมากที่สุด เท่ากับ 0.077% รองลงมาคือ น้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และน้ำมันที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ดังแสดงในตารางภาคผนวก จ.9) ค่าการหักเหของแสงที่ลดลงอาจหมายถึงเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วสามารถไฮโดรไลซ์น้ำมันรำข้าวได้ โดยอาจเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันในรำข้าวตามทฤษฎี ดังนี้ ค่าการหักเหของแสงจะลดลงเมื่อน้ำหนักโมเลกุลหรือความยาวสายคาร์บอนของกรดไขมันลดลง และลดลงเมื่อระดับการไม่อิ่มตัวหรือจำนวนของพันธะคู่ลดลง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) ดังนั้นจึงอาจทำนายว่าเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วสามารถไฮโดรไลซ์กรดไขมันในน้ำมันรำข้าวให้มีความยาวสายคาร์บอนของกรดไขมันและพันธะคู่ลดลง ซึ่งต้องพิจารณาองค์ประกอบกรดไขมันร่วมด้วยเพื่อให้ทราบผลที่ทำให้ค่าการหักเหของแสงลดลง



รูปที่ 4.11 ค่าการหักเหของแสงของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

4.4.3 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าวที่เติมเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

4.4.3.1 สมบัติทางกายภาพของน้ำมันรำข้าว

ก. ค่าสี

จากตารางที่ 4.11 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยาและน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา คือ น้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่เติมเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ปริมาณ 20% ของน้ำหนักน้ำมัน เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 วัน พบว่าการเติมเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของน้ำมันเพียงเล็กน้อย โดยค่าความสว่าง (L^*) พบว่าน้ำมันหลังทำปฏิกิริยามีค่าความสว่างลดลงเล็กน้อย ส่วนค่าสีแดง (a^*) พบว่าน้ำมันหลังทำปฏิกิริยามีแนวโน้มเปลี่ยนจากสีเขียวเล็กน้อยในน้ำมันก่อนทำปฏิกิริยา เป็นสีแดงเล็กน้อย และค่าสีเหลือง (b^*) พบว่าน้ำมันหลังทำปฏิกิริยามีแนวโน้มเพิ่มค่าสีเหลืองเล็กน้อย การเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงและสีเหลืองเนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ รวมทั้งสารให้สีทั้งในน้ำมันและในกากรำทำให้น้ำมันมีสีแดงและสีเหลืองเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

ข. ค่าความหนืด

จากตารางที่ 4.11 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยาและน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา พบว่าการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของน้ำมัน โดยการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันตามทฤษฎีมีผลต่อค่าความหนืดคือ จำนวนพันธะคู่ของกรดไขมันที่ลดลงส่งผลให้ค่าความหนืดเพิ่มขึ้น แต่ความยาวสายคาร์บอนของกรดไขมันที่ลดลงส่งผลให้ค่าความหนืดลดลง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) ซึ่งผลจากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสจากกากรำที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันหลังทำปฏิกิริยา (ตารางที่ 4.12) โดยเปลี่ยนกรดไขมันลิโนลินิก (C18:3) ที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่งลดลง 87.18% กรดไขมันลิโนซีริก (C24:0) ที่เป็นกรดไขมันสายยาวลดลง 25.86% แต่กลับเพิ่มกรดไขมันมายริสติก (C14:0) ที่เป็นกรดไขมันสายกลาง 10.34% ซึ่งการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันเหล่านี้ส่งผลให้ค่าความหนืดที่วิเคราะห์ได้ไม่เปลี่ยนแปลง

ค. ค่าการหักเหของแสง

จากตารางที่ 4.11 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยาและน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา พบว่าการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าการหักเหของแสงเล็กน้อย โดยตัวอย่างน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยามีค่าการหักเหของแสงลดลง โดยการเปลี่ยนแปลงค่าการหักเหของแสงในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยามีผลมาจากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสในน้ำมันโดยเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมัน (ตารางที่ 4.12) คือ กรดไขมันลิโนลินิก (C18:3) ที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่งลดลง กรดไขมันลิโนซีริก (C24:0) ที่เป็นกรดไขมันสายยาวลดลง แต่กลับเพิ่มกรดไขมันมายริสติก (C14:0) ที่เป็นกรดไขมันสายกลาง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันตามทฤษฎีมีผลต่อค่าการหักเหของแสงคือ ค่าการหักเหของแสงจะลดลงเมื่อความยาวของสายคาร์บอนในโมเลกุลของกรดไขมันและจำนวนของพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันลดลง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) ดังนั้นในตัวอย่างน้ำมันหลังทำปฏิกิริยาที่มีกรดไขมันที่มีพันธะคู่ลดลงและกรดไขมันสายยาวถูกไฮโดรไลซิสให้สั้นลงและมีกรดไขมันสายสั้นเพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่าการหักเหของแสงลดลงจากน้ำมันก่อนทำปฏิกิริยา

4.4.3.2 สมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าว

ก. ปริมาณกรดไขมันอิสระและค่าความเป็นกรด

จากตารางที่ 4.11 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยาและน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา พบว่าการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิสระและค่าความเป็นกรด โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับน้ำมันก่อนทำปฏิกิริยา เท่ากับ 210.10% และ 209.98% ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีเอนไซม์ไลเปสจากกากรำข้าวในการไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันรำข้าว ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันอิสระที่เพิ่มขึ้น

ข. ค่าไอโอดีน

จากตารางที่ 4.11 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยาและน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา พบว่าการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าไอโอดีนเล็กน้อยมากโดยมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยมาก ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงค่าไอโอดีนภายในระยะเวลาการบ่ม 0-15 วัน อาจยังไม่ชัดเจนในการส่งผลกระทบต่อค่าไอโอดีน เนื่องจากผลจากการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ไลเปสในน้ำมันรำข้าวได้เปลี่ยนแปลงปริมาณและสัดส่วนองค์ประกอบกรดไขมัน โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหนึ่งตำแหน่งเพิ่มขึ้น 0.095% และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่งลดลง 3.23% ส่วนกรดไขมันอิ่มตัวเพิ่มขึ้น 1.11% ซึ่งการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันตามทฤษฎีมีผลต่อค่าไอโอดีน คือค่าไอโอดีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อกรดไขมันชนิดไม่อิ่ม (ทั้งหนึ่งตำแหน่งและหลายตำแหน่ง) เพิ่มขึ้น ดังนั้นในตัวอย่างน้ำมันหลังทำปฏิกิริยาที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวบางชนิดเพิ่มขึ้นและบางชนิดลดลง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548) ทำให้ไม่ส่งผลกระทบต่อค่าไอโอดีนอย่างชัดเจน

ตารางที่ 4.11 เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าวก่อนและหลังทำปฏิกิริยา

สมบัติทางกายภาพและทางเคมี	น้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยา	น้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา
ค่าความสว่าง (L*)	40.87 ± 0.02	39.91 ± 0.00
ค่าสีแดง (a*)	-0.42 ± 0.02	0.59 ± 0.01
ค่าสีเหลือง (b*)	17.54 ± 0.02	18.09 ± 0.00
ค่าความหนืด (cP) (25 °C)	64.08 ± 0.31	64.44 ± 1.27
ค่าการหักเหของแสง (25 °C)	1.4698 ± 0.0002	1.4680 ± 0.0000
ปริมาณกรดไขมันอิสระ (% as oleic acid)	2.97 ± 0.10	9.21 ± 0.41
ค่าความเป็นกรด (mg NaOH/g oil)	5.91 ± 0.20	18.32 ± 0.81
ค่าไอโอดีน Wijs (g/100 g oil)	99.80 ± 0.07	99.33 ± 2.24
SFA : MUFA : PUFA	19.00 : 42.06 : 38.96	19.21 : 42.10 : 37.70
แกมมาโอโรซานอล (mg/100 g)	174.67	181.52

ค. องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าว

จากตารางที่ 4.12 การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา พบว่ากรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดคือ โอลิอิก (C18:1) 41.31% รองลงมาคือ ลิโนลิอิก (C18:2) 37.43% และปาล์มมิติก (C16:0) 15.47% (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ ส่วนกรดไขมันอื่นๆ มีปริมาณน้อย ได้แก่ สเตียริก (C18:0) 1.82% อะราคิติก (C20:0) 0.89% กาโดลิอิก (C20:1) 0.60% ลิกโนซีริก (C24:0) 0.43% มายริสติก (C14:0) 0.32% ปีอีนิก (C14:0) 0.28% ปาล์มมิโตลิอิก (C16:1) 0.19% ลิโนลินิก (C18:3) 0.15% และ GLA (C18:3 n-6) 0.12% (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด) โดยกรดไขมันที่มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือ ลิโนลินิก (C18:3) ลดลง 87.18% รองลงมา คือ ลิกโนซีริก (C24:0) ลดลง 25.86% และ มายริสติก (C14:0) เพิ่มขึ้น 10.34% ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่งน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดลิกโนซีริก (C24:0) ที่เป็นกรดไขมันสายยาว และมายริสติก (C14:0) ที่เป็นกรดไขมันอิ่มตัว น่าจะเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วมากกว่าปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่เกิดจากความร้อน (thermal hydrolysis) เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่เกิดจากความร้อนชอบเกิดในน้ำมันที่มีกรดไขมันสายสั้นและกรดไขมันไม่อิ่มตัว มากกว่าน้ำมันที่มีกรดไขมันสายยาวและกรดไขมันอิ่มตัว เพราะว่ากรดไขมันสายสั้นและกรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถละลายในน้ำได้มากกว่ากรดไขมันสายยาวและกรดไขมันอิ่มตัว (Nawar, 1969)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงกรดลิโนลินิก (C18:3) อาจเป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันมากกว่าการทำงานของเอนไซม์ไลเปส โดยกรดลิโนลินิก (C18:3) มักถูกออกซิไดซ์ก่อนกรดไขมันอื่นๆ เนื่องจากกรดลิโนลินิก (C18:3) มีความแข็งแรง (strength) ของพันธะไฮโดรเจน-คาร์บอนน้อยที่สุด (Choe and Min, 2007)

จากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่งน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยาที่มีผลมาจากการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ไลเปสในน้ำมันรำข้าว พบว่าเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วจากรำข้าวพันธุ์ชยันต 1 มีผลในการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันคือ กรดไขมันลิกโนซีริก (C24:0) ที่เป็นกรดไขมันสายยาวลดลง และเพิ่มปริมาณกรดไขมันมายริสติก (C14:0) ที่เป็นกรดไขมันสายกลางมากขึ้น

ตารางที่ 4.12 องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันรำข้าวก่อนและหลังทำปฏิกิริยา

องค์ประกอบกรดไขมัน	น้ำมันรำข้าว ก่อนทำปฏิกิริยา	น้ำมันรำข้าว หลังทำปฏิกิริยา*	การเปลี่ยนแปลง กรดไขมัน (%)
C12:0 Lauric	-	-	-
C14:0 Myristic	0.29	0.32	10.34**
C16:0 Palmitic	15.10	15.47	2.45
C16:1 Palmitoleic	0.19	0.19	0.00
C18:0 Stearic	1.90	1.82	(-) 4.21
C18:1 n-9 cis Oleic	41.32	41.31	(-) 0.02
C18:2 n-6 cisLinoleic	37.68	37.43	(-) 0.66
C18:3 n-6 GLA	0.11	0.12	9.09
C18:3 n-3 Linolenic	1.17	0.15	(-) 87.18**
C20:0 Arachidic	0.87	0.89	2.30
C20:1n-9	0.55	0.60	9.09
C22:0 Behenic	0.26	0.28	7.69
C24:0 Lignoceric	0.58	0.43	(-) 25.86**
Total Saturated, SFA	19.00	19.21	1.11
Monounsaturated, MUFA	42.06	42.10	0.095
Polyunsaturated, PUFA	38.96	37.70	(-) 3.23
SFA : MUFA : PUFA	1 : 2.2 : 2	1 : 2.2 : 2	-

* น้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา คือ น้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่เดิมเอนไซม์ไลเพสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ปริมาณ 20% ของน้ำหนักน้ำมัน แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 วัน

** มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันของน้ำมันหลังทำปฏิกิริยามากเมื่อเทียบกับน้ำมันก่อนทำปฏิกิริยา

(-) หมายถึงมีการเปลี่ยนแปลงลดลง

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยาและน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา พบว่าการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เมื่อป่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและสัดส่วนองค์ประกอบกรดไขมัน โดยมี SFA เพิ่มขึ้น 1.11% MUFA เพิ่มขึ้น 0.095% และ PUFA ลดลง 3.23% ซึ่งมีปริมาณ SFA, MUFA และ PUFA เท่ากับ 19.21, 42.10 และ 37.70 (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ และมีสัดส่วน SFA : MUFA : PUFA เท่ากับ 1 : 2.2 : 2 ซึ่งเท่ากับสัดส่วนของน้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยา การมีปริมาณ MUFA มากขึ้นนี้ เป็นผลดีต่อสมบัติทางคุณค่าทางโภชนาการ โดยนัยนา บุญทวีวัฒน์ และ เรวดี จงสุวัฒน์ (2545) รายงานว่าปัจจุบันมีการแนะนำให้บริโภคอาหารที่มีสัดส่วนของ MUFA สูงกว่า SFA และ PUFA เนื่องจาก MUFA นอกจากจะลดคอเลสเตอรอลในไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (LDL-C) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่ไม่ดีที่มีส่วนทำให้เกิดการอุดตันในผนังหลอดเลือดแดง และยังเพิ่มหรือคงระดับคอเลสเตอรอลในไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง (HDL-C) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่ดี นอกจากนี้ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยายังมีกรดไขมันที่มีสายคาร์บอนขนาดกลางที่เรียกว่า Medium chain triglyceride (MCT) เพิ่มขึ้นด้วย ในที่นี้คือ กรดไขมันมายริสติก (C14:0) ที่เพิ่มขึ้น 10.34% ซึ่ง MCT มีกระบวนการดูดซึมที่เร็วและร่างกายนำไปใช้ได้ต่างจากกรดไขมันสายยาว ซึ่งสอดคล้องกับ Seetharamaih, Krishnakantha และ Chandrasekhara (1990) ที่กล่าวว่าปัจจุบันมีการแนะนำให้บริโภคอาหารที่มีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียวสูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง ซึ่งสัดส่วนที่แนะนำ คือ SFA : MUFA : PUFA 1 : 1.5 : 1 และน้ำมันที่จัดเป็นน้ำมันเพื่อสุขภาพควรมีกรดไขมันอิ่มตัวต่ำกว่า 20%

ง. ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าว

จากตารางที่ 4.13 พบว่าปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา มีค่าเท่ากับ 181.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งมากกว่าน้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยา ที่มีค่าเท่ากับ 174.67 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม โดยปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่เพิ่มนี้อาจมาจากแกมมาโอโรซานอลที่มีในรำข้าวชัณหา 1 เนื่องจากแกมมาโอโรซานอลมีสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดที่ไม่มีขั้ว ดังนั้นแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวจึงอาจละลายในน้ำมันได้ รวมทั้งสภาวะในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสในน้ำมันรำข้าวานั้นเป็นสภาวะที่ไม่รุนแรงที่ใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำให้แกมมาโอโรซานอลจึงไม่ถูกทำลาย

ตารางที่ 4.13 ปริมาณแกมมาไฮโดรซันออกของน้ำมันรำข้าวก่อนและหลังทำปฏิกิริยา

ตัวอย่างน้ำมันรำข้าว	ปริมาณแกมมาไฮโดรซันออก (มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม)
น้ำมันรำข้าวก่อนทำปฏิกิริยา	174.67
น้ำมันรำข้าวหลังทำปฏิกิริยา	181.52

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของวิธีการผลิตรำข้าวที่มีต่อปริมาณโปรตีน พบว่ารำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ได้จากวิธีการสีข้าวด้วยเครื่องสีข้าว มีปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้มากกว่ารำข้าวที่ได้จากวิธีการตำข้าว และรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกมีปริมาณโปรตีนและโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้มากกว่ารำข้าวที่ไม่สกัดน้ำมันออก โดยมีค่าปริมาณโปรตีนและโปรตีนในสารละลาย เท่ากับ 12.61% โดยน้ำหนักเปียก และ 3.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับวิธีการที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวไปใช้ในการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน พบว่าวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวชัยนาท 1 ในรูปกากรำที่ได้จากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยไม่ผ่านกระบวนการอื่น มีค่ากิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันสูงกว่าวิธีการใช้สารละลายเอนไซม์ไลเปสที่ได้จากการสกัดเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วด้วยบัฟเฟอร์ และวิธีการใช้เอนไซม์ไลเปสที่อยู่ในกากรำที่ได้ผ่านการสกัดเอาองค์ประกอบที่ละลายน้ำได้ออกด้วยบัฟเฟอร์ นอกจากนี้เอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีกิจกรรมจำเพาะสูงกว่ารำข้าวผสม ถึงแม้รำข้าวผสมจะมีปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้มากกว่า จากการศึกษาค่าผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่อยู่ในกากรำที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว พบว่าเอนไซม์ไลเปสมีกิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันสูงสุด ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ในการศึกษาปริมาณและสภาวะที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้กับน้ำมันรำข้าว ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และไม่ได้ให้ความร้อน พบว่าภาวะที่ให้อัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมันอิสระมากที่สุด คือ ใช้ น้ำมันรำข้าวที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้วในปริมาณ 20% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของน้ำมัน) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากการศึกษาค่าผลของการเติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกที่มีผลต่อสมบัติของน้ำมันรำข้าว พบว่าค่าปริมาณกรดไขมันอิสระและค่าความเป็นกรด ค่าสีแดงและเหลืองสูงขึ้น ส่วนค่าการหักเหของแสงและค่าความสว่างมีค่าลดลง สำหรับค่าไอโอดีนและค่าความหนืดไม่เปลี่ยนแปลง โดยน้ำมันรำข้าวที่ได้หลังทำปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่เหมาะสมข้างต้น มี

องค์ประกอบกรดไขมัน SFA : MUFA : PUFA เป็น 19.21 : 42.10 : 37.70 (กรัมต่อ 100 กรัมของกรดไขมันทั้งหมด) โดยมีกรดลิโนลินิก (C18:3) ลดลง 87.18% ลิกโนซีริก (C24:0) ลดลง 25.86% มายริสติก (C14:0) เพิ่มขึ้น 10.34% และมีปริมาณแกมมาโอโรซานอลเพิ่มขึ้นเป็น 181.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมไขมัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการวิเคราะห์และติดตามอนุพันธ์เอซิลกลีเซอรอลที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวในน้ำมันรำข้าว โดยอนุพันธ์เอซิลกลีเซอรอลที่ควรติดตามวิเคราะห์ ได้แก่ ไตรเอซิลกลีเซอรอล ไดเอซิลกลีเซอรอล และโมโนเอซิลกลีเซอรอล เพื่อให้ทราบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสว่าเป็นปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส หรือปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน หรือเป็นปฏิกิริยาพร้อมกัน

2. ควรมีการศึกษาต่อยอดการประยุกต์ใช้กรดไขมันอิสระในน้ำมันรำข้าวที่เพิ่มขึ้นจากการทดลองนี้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เคมี และเคมีภัณฑ์ เป็นต้น โดยเฉพาะการเพิ่มศักยภาพของกรดไขมันอิสระที่ได้จากน้ำมันรำข้าวซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการ เช่น การนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นสารเพิ่มความคงตัว สารลดแรงตึงผิว สารเพิ่มการกระจายตัวให้กับอาหาร เป็นต้น

3. ปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันต้องการกรดไขมันอิสระเริ่มต้นสูง ดังนั้น Fatty acid distillate (FAD) ซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้จากโรงงานสกัดน้ำมันที่มีกรดไขมันอิสระอยู่ในปริมาณมาก จึงควรที่จะได้รับการศึกษาการนำไปใช้เป็นสับสเตรตของปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันโดยเอนไซม์ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลพลอยได้จากโรงงานสกัดน้ำมันให้สูงขึ้น ทั้งนี้ควรที่จะมีการศึกษาผลของปัจจัยที่กระทบต่อการเกิดปฏิกิริยาควบคู่ไปด้วย เช่น อุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยา ปริมาณเอนไซม์ อัตราส่วนการใช้สับสเตรต (molar ratio ของกรดไขมันและกลีเซอรอล) ปริมาณน้ำ และ molecular sieves เป็นต้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กมลวรรณ พรหมศักดิ์. 2542. การใช้เอนไซม์ไลเปสจากกากรำข้าวในการเพิ่มความเข้มข้นของ EPA และ/หรือ DHA ในน้ำมันปลาทูน่า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- กรกช ฮามโพธิ์. 2540. การทำงานของเอนไซม์ไลเปสในกากรำข้าวที่สกัดน้ำมันแล้ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- กันยารัตน์ เรียวกลาง. 2545. การสกัดโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากรำข้าวเจ้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- จำรัส โป่งศิริวัฒนา. 2534. ความรู้เรื่องข้าว. กรุงเทพมหานคร: สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 267 หน้า
- จิตติมา เจริญพานิช. 2553. เอนไซม์วิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โอ.เอส.พรีนติ้งเฮ้าส์. 378 หน้า.
- ชาญ มงคล. 2536. ข้าว. กรุงเทพมหานคร: กรมการฝึกหัดครู. 149 หน้า.
- ธีรารัตน์ อธิธิโสภณกุล. 2543. การศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไขมันชนิดต่างๆ ที่ถูกเร่งด้วยเอนไซม์ไลเปสในกากรำข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- นพมาศ มนัสวรากุล. 2545. การสำรวจปริมาณแกมมา-โอโรซานอลและวิตามินอีในข้าวไทยสายพันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- นฤมล จีโยโชค. 2537. เทคโนโลยีชีวภาพของไขมัน. ใน การประชุมปฏิบัติการภาคฤดูร้อน สาขาชีวเคมี ครั้งที่ 19, หน้า 58-68. 2-4 พฤษภาคม 2537 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

- นฤมล จีโยโชค, วุฒิ ดำรงค์ศักดิ์ และ คณิต กฤษณังกูร. 2548. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ไลเปสจากกากรำข้าวที่สกัดน้ำมันแล้ว. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 31, หน้า 72-73. 18-20 ตุลาคม 2548 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา.
- นัยนา บุญทวีวัฒน์ และ เรวดี จงสุวัฒน์. 2545. น้ำมันรำข้าว ทางเลือกเพื่อสุขภาพของคนไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์. 64 หน้า.
- นิคม ชัยศิริ. 2513. การศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ไลเปสในรำข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นิตยา รัตนานนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 256 หน้า.
- นิตยา รัตนานนท์. 2549. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 504 หน้า.
- พันธิพา จันทวัฒน์, สุเมธ ตันตระเธียร, ศศิกานต์ กุ้พงษ์ศักดิ์ และ อินทาวุธ สรรพวรสถิตย์. 2548. การศึกษาข้อมูลด้านสมบัติทางกายภาพ เคมี และคุณค่าทางโภชนาการของน้ำมันบริโภค. กรุงเทพมหานคร: ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 500 หน้า.
- ภาวินี จารุวรรณ. 2540. ผลของตัวทำละลายอินทรีย์และปริมาณน้ำต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจาก *Candida cylindracea*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- มนตรี วงศ์ตินชาติ. 2543. การศึกษาปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ที่ตรึงบนซีเมนต์ในตัวทำละลายอินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- มลฤดี เขาวรัตน์. 2540. รีเอสเทอริฟิเคชันกรดไขมันอิสระในรำข้าวและไฮโดรไลซิสในน้ำมันรำข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- รุ่งเรือง กาลศิริศิลป์. กรรมวิธีการสีข้าว [ออนไลน์]. ไม่ระบุปี. แหล่งที่มา: <http://203.158.184.2/elearning/AgriculMachine2/content.htm> [2554, มกราคม 5]

- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2546. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ข้าวหอมมะลิไทย: มกอช. 4000-2546. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร. 27 หน้า.
- อนรรฆอร ศรีไสยเพชร. 2545. บทบาทของน้ำและอุณหภูมิต่อการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* ที่ตรึงบนซีเถ้าแกรบในตัวทำละลายอินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาวิชาเทคโนโลยีเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ภาษาอังกฤษ

- Aizono, Y., Funatsu, M., Sugano, M., Hayashi, K., and Fujiki, Y. 1973. Enzymatic properties of rice bran lipase. Agricultural and Biological Chemistry 37 (9): 2031-2036.
- Aizono, Y., Funatsu, M., Fujiki, Y., and Watanabe, M. 1976. Purification and characterization of rice bran lipase II. Agricultural and Biological Chemistry 40 (2): 317-324.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 17th ed. Washington, D.C.: Association of Official Analysis Chemists.
- AOAC. 2006. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists International.
- AOCS. 2004. Official Method and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 5th ed. Illinois: American oil Chemists' Society.
- Azrina, A., Maznah, I., and Azizah, A. H. 2008. Extraction and determination of oryzanol in rice bran of mixed Herbarium UKMB; AZ 6807: MR 185, AZ 6808: MR 211, AZ6809: MR 29. ASEAN Food Journal 15 (1): 89-96.

- Barber, S., and Benedito de Barber, C. 1980. Rice: Production and utilization. In B.S. Luh (ed.), Rice bran: Chemistry and technology, pp. 790-862. Connecticut: AVI.
- Betschart, A.A., Fong, R.Y., and Saunders, R.M. 1977. Rice by-products: Comparative extraction and precipitation of nitrogen from U.S. and Spanish bran and germ. Journal of Food Science 42 (4): 1088-1093.
- Casimir, C.A., and David, B.M. 2008. Food lipids: Chemistry, nutrition, biotechnology. 3rd ed. Boca Raton: CRC. 914 pp.
- Cheong, L.Z., Tan, C.P., Long, K., Yusoff, S.A., Arifin, N., Lo, S.K., and Lai, O.M. 2007. Production of a diacylglycerol-enriched palm olein using lipase-catalyzed partial hydrolysis: Optimization using response surface methodology. Food Chemistry 105 (4): 1614-1622.
- Choe, E., and Min, D.B. 2007. Chemistry of deep-fat frying oils. Journal of Food Science 72 (5): 77-86.
- Chong, F.C., et al. 2007. Rice bran lipase catalyze esterification of palm oil fatty acid distillate and glycerol in organic solvent. Biotechnology and Bioprocess Engineering 12 (3): 250-256.
- Christie, W.W. Monoacylglycerols [Online]. 2008. Available from: <http://www.lipidlibrary.co.uk/Lipids/mg/index.htm> [2009, June 12]
- Christie, W.W. Diacylglycerols [Online]. 2009. Available from: <http://www.lipidlibrary.co.uk/Lipids/dg/index.htm> [2009, June 12]
- Cicero, A.F.G., and Derosa, G. 2005. Rice bran and its main components: Potential role in the management of coronary risk factors. Current Topics in Nutraceutical Research 3 (11): 29-46.
- Compendium of Methods for Food Analysis. 2003. 1st ed. Chapter 2, Carbohydrate. Department of Medical Sciences (DMSc), National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS). pp 2-9.
- Flickinger, B.D., and Matsuo, N. 2003. Nutritional characteristics of DAG oil. Lipids 38: 129-132.

- Formo, M.W., Jungermann, E., Norris, F.A. and Sonntag, N.O.V. 1979. Bailey's industrial oil and fat products. vol. 1. 4th ed. In D. Swern (ed.). New York: A Wiley-Interscience. 841 pp.
- Funatsu, M., Aizono, Y., Hayashi, K., Watanabe, M., and Eto, M. 1971. Biochemical studies on rice bran lipase: Part I. purification and physical properties. Agricultural and Biological Chemistry 35 (5): 734-742.
- Gunstone, F.D. 2008. Oils and fats in the food industry. United Kingdom: Wiley-blackwell. 146 pp.
- Hamilton, R.J. 1995. Developments in oils and fats. London: Chapman and Hall. 169 pp.
- Houston, D.F. 1972. Rice Bran and Polish. In D.F. Houston (ed.), Bran: Chemistry and Technology. pp. 272-300. Minnesota: American Association of Cereal Chemistry.
- Hui, Y.H. 1996. Rice bran oil. In Y.H. Hui (ed.), Bailey's industrial oil and fat products. vol. 2. 5th ed. pp. 393-409. New York: John-Wiley & Sons.
- Juliano, B.O. 1993. Rice in human nutrition. In FAO Food and Nutrition Series, No. 26. pp. 35-84. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M.C., and Piu, L. 2005. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. International Journal of Pharmaceutics 299: 146-154.
- Kirschenbauer, H.G. 1960. Fats and oils: An outline of their chemistry and technology. 2nd ed. New York: Reinhold. 240 pp.
- Lee, J.W., Lee, S.W., Kim, M.W., Rhee, C., Kim, I.H., and Lee, K.W. 2004. Beneficial effect of the unsaponifiable matter from rice bran and oxidative stress in vitro compared with alpha-tocopherol. Journal of the Science of Food and Agriculture 85 (3): 493-498.
- Lepage, G., and Roy, C.C. 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in a one step reaction. Journal of Lipid Research 27: 114-120.
- Lo, S.K., Baharin, B.S., Tan, C.P., and Lai, O.M. 2004. Diacylglycerols from palm oil deodoriser distillate. Part 1-synthesis by lipase-catalysed esterification. Food Science and Technology International 10: 149-156.

- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193 (1): 265-275.
- Luh, B.S., Barber, S., and Benedito de Barber, C. 1991. Rice bran: Chemistry and technology. In B.S. Luh (ed.), Rice production and utilization. vol. 2. pp. 313-357. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Mukherjee, R.K. and Bhattacharya, M. 1978. Distribution of oil in the bran layers of slened, medium and short grain varieties of rice, and effect of parboiling. Journal of the American Oils Chemists' Society 55 (5): 463-464.
- Nawar, W.W. 1969. Thermal degradation of lipids: A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry 17: 18-21.
- Nielsen, S.S. 2010. Food analysis. 4th ed. New York: Springer. 602 pp.
- O' Brien, R.D. 2009. Fats and oils: Formulating and Processing for applications. 3rd ed. Boca Raton: CRC. 680 pp.
- Onanong Naivikul and Utai Klinkesorn. 2008. Rice bran oil: Technical information. 1st ed. In Innovative programme on bio-business initiatives. Thai Edible Oil Co., Ltd. and National Innovation Agency (NIA). 23 pp.
- Orthoefer, F.T. 1996. Rice bran oil: Healthy lipid source. Food Technology 50 (12): 62-64.
- Orthoefer, F.T., and Eastman, J. 2004. Bran and rice oil. In E.T. Champagne (ed.), Rice: Chemistry and technology. 2nd ed. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
- Pomeranz, T., and Ory, R.L. 1982. Rice processing and utilization. In I.A. Wolff (ed.), Handbook of processing in agriculture: Part 1. plant products. vol. 2. pp. 139-150. Boca Raton, Florida: CRC.
- SBP board of consultants and engineers. 1979. Fatty acids and products: Formerly titled as fatty acids and their industrial applications. In SBP chemical engineering series No. 65. Delhi: Small business. 184 pp.

- Seetharamaiah, G.S., Krishnakantha, T.P., and Chandrasekhara, N. 1990. Influence of oryzanol on platelet aggregation in Rats. Journal of Nutrition Science and Vitaminology 36: 291-297.
- Shastry, B.S, and Raghavendra RAO, M.R. 1971. Studies on rice bran lipase. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics 8: 327-332.
- Watanabe, T., Sugiura, M., Sato, M., Tamada, N., and Nakanishi, K. 2005. Diacylglycerol production in a packed bed bioreactor. Process Biochemistry 40 (2): 637-643.
- Wang, M., Hettiarachchy, N.S., Qi, M., Burks, W., and Siebenmorgen, T. 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47 (2): 411-416.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธี มกอช. 4000-2546 และ AOAC 934.01 (2006)

อุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อน
2. ถ้วยอะลูมิเนียม
3. เครื่องชั่งละเอียดตศนิยม 4 ตำแหน่ง
4. โถดูดความชื้น (Desiccator)

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 2-5 กรัม ใส่ในถ้วยอะลูมิเนียม ซึ่งอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. นำตัวอย่างเข้าอบแห้งในตู้อบโดยเปิดฝากล้วยอะลูมิเนียมไว้ โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 135 ± 3 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
3. ปิดฝากล้วยอะลูมิเนียมในขณะที่ยังอยู่ในตู้อบ จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
4. คำนวณปริมาณความชื้นตามสมการที่ ก.1

ปริมาณความชื้น (% กรัม/100 กรัม)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)}} \quad (\text{ก.1})$$

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ก.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธี ISO 5983-2 (2005)

อุปกรณ์

1. Digestion unit
2. Scrubber
3. เครื่องกลั่นหาปริมาณไนโตรเจน
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.5-1.0 กรัม ลงในหลอดวิเคราะห์โปรตีน
2. เติม Kjeltabs 2 เม็ด
3. เติมกรดซัลฟิวริก ปริมาตร 12 มิลลิลิตร
4. เติม Antifoaming agent 2-3 หยด เขย่าให้กรดสัมผัสให้ทั่วกับตัวอย่าง
5. นำหลอดวิเคราะห์โปรตีนใส่เครื่อง Digest โดยปิดฝาเป็นระบบปิดทั้งระบบ และใส่ช่องของจำนวนหลอดด้วยหลอดเปล่าให้ครบ
6. เปิดเครื่อง Digest ที่ใช้ในการย่อย อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส
7. เปิด Scrubber เครื่องดูดกรด และ น้ำ
8. รออุณหภูมิขึ้นจนถึง 420 องศาเซลเซียส จึงจับเวลา 1 ชั่วโมง
9. ปิด Scrubber และเครื่อง Digest
10. ยกออกตั้งทิ้งให้เย็น โดยไม่ต้องยกฝาออก
11. นำมากลั่นต่อด้วยเครื่องกลั่นโปรตีน โดยก่อนใช้เครื่องล้างระบบด้วย Program 2
12. กลั่นโปรตีนโดยใช้ Program 3
13. นำสารละลายที่ได้มาไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ (ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนแล้วโดยไทเทรตกับโซเดียมคาร์บอเนต)
14. ไทเทรตจนถึงจุดยุติเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาณกรดไฮโดรคลอริก

ก.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธี AOAC 991.20 (2005)

อุปกรณ์

1. Digestion unit
2. Scrubber
3. เครื่องกลั่นหาปริมาณไนโตรเจน
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
2. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์
3. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
4. สารละลายกรดบอริก ความเข้มข้น 4% (น้ำหนักต่อปริมาตร)
5. สารเร่งปฏิกิริยา (selenium reagent mixture)
6. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 45% (น้ำหนักต่อปริมาตร)
7. สารละลายอินดิเคเตอร์ เตรียมโดยละลายเมทิลเรด 1 กรัม ในเมทานอล 100 มิลลิลิตร

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 0.25-1.00 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ใส่ใน Kjeldahl flask
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยาประมาณ 5 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร
3. ย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง Digestion Unit โดยใช้ความร้อนเบอร์ 8 แล้วปิดฝาแก้ว Kjeldahl flask ที่ต่อเข้ากับเครื่องดูดไอน้ำ (Scrubber) ย่อยตัวอย่างจนส่วนผสมกลายเป็นสีน้ำตาลใส และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. เติมสารละลายกรดบอริก 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วหยดอินดิเคเตอร์สารละลายเมทิลเรด 2-3 หยด
5. นำ Kjeldahl flask ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยต่อเข้ากับปลาย Condenser ของเครื่องกลั่น (Distillation unit) แล้วนำสายยางสีดำของเครื่องกลั่นจุ่มในภาชนะที่บรรจุน้ำกลั่น ส่วนสายยางสีขาวจุ่มในภาชนะที่บรรจุสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และตั้งโปรแกรม Distillation

6. ในระหว่างการกลั่นจะเกิดแอมโมเนีย แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะถูกจับไว้ด้วยสารละลายกรดบอริกที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ และเมื่อกลั่นครบตามกำหนดเวลาจะได้สารละลายสีเขียว

7. นำสารละลายที่กลั่นได้ในขวดรูปชมพู่ทั้งหมดมาไทเทรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จนถึงจุดยุติ ที่สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

8. เตรียม blank โดยเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง แล้วทำตามขั้นตอนที่ 2-7

9. คำนวณปริมาณโปรตีนตามสมการที่ ก.2 และ ก.3

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(V_a - V_b) \times N \times 1.4}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \quad (\text{ก.2})$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\% กรัม/100 กรัม)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} \times 6.25 \quad (\text{ก.3})$$

เมื่อ V_a คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง

V_b คือ ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรต blank

N คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธี AOAC 942.05 (2005)

อุปกรณ์

1. เตาเผา
2. ครุชีเบิล (Crusible)
3. Hot plate
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. โถดูดความชื้น

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 2 กรัม ใส่ในครุชีเบิลที่เผาและทราบน้ำหนักที่แน่นอน

2. นำตัวอย่างไปเผาบน hot plate ในตู้ดูดควัน จนกระทั่งตัวอย่างหมดควัน

3. นำตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือจนน้ำหนักคงที่
4. ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้
6. คำนวณปริมาณเถ้าตามสมการที่ ก.4

$$\text{ปริมาณเถ้า (\% กรัม/100 กรัม)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \quad (\text{ก.4})$$

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธี AOAC 922.06 (2000) และ 954.02 (2005)

อุปกรณ์

1. Soxhlet
2. เครื่อง Evaporator
3. ทิมเบิล (Thimble)
4. ปีโตรเลียมอีเทอร์

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ลงใน Mojonnier tube
2. เติมเอทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร
3. เติมกรดไฮโดรคลอริกต่อน้ำอัตราส่วน 25:11 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
4. ปิดปากหลอด นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30-40 นาที เขย่าหลอดเป็นระยะ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
5. เติมเอทานอลจนระดับของเหลวถึงคอขวดของ Mojonnier tube
6. เติมไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดฝา (โดยทำความสะอาดฝาด้วยเอทานอล) เขย่าเป็นเวลา 1 นาที
7. ล้างไขมันที่ติดตามฝาด้วยปีโตรเลียมอีเทอร์ในปริมาณเล็กน้อย
8. เติมปีโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดฝา เขย่าเป็นเวลา 1 นาที
9. ทิ้งไว้จนสารละลายแยกชั้นชัดเจน

10. เทชั่นของ ether-far ลงในบีกเกอร์ที่ผ่านการอบและชั่งน้ำหนักแล้ว
11. กลั้วปากหลอด Mojonnier tube ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์เล็กน้อย
12. สกัคน้ำมันซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยเติมไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ตามลำดับ เทชั่นของ ether-far ลงในบีกเกอร์เดิม
13. ระเหยสารละลายจนแห้ง
14. นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที
15. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น 30-45 นาที
16. ชั่งน้ำหนักที่ได้
17. อบซ้ำ จนน้ำหนักคงที่
18. คำนวณปริมาณไขมันตามสมการที่ ก.5

$$\text{ปริมาณไขมัน (\% กรัม/100 กรัม)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \quad (\text{ก.5})$$

ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ ตามวิธี AOAC 978.10 (2000)

อุปกรณ์

1. Hot Extraction Unit
2. Cold Extraction Unit
3. Cyclotec sample mill
3. ตู้อบลมร้อน
4. เตาเผา Muffle Furnance
5. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. ครูชีเบล ขนาดของ filter ประมาณ 40-90 ไมครอน

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 1.25% (ปริมาตรต่อปริมาตร)
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.25% (น้ำหนักต่อปริมาตร)
3. ออกทานอล
4. อะซีโตน

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในครุชีเบิล แล้วชั่ง Celite 545 ประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในครุชีเบิล โดยให้ Celite อยู่บนตัวอย่าง
2. นำครุชีเบิลใส่เข้าไปในเครื่อง Hot Extraction Unit
3. เติมกรดซัลฟิวริกที่อุ่นๆ ความเข้มข้น 1.25% ปริมาตร 150 มิลลิลิตร
4. เติมออกทานอล ปริมาณ 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง ให้ความร้อนจนเดือด
5. ลดความร้อนลงและต้มเป็นเวลา 30 นาที
6. กรองด้วยสุญญากาศ อาจใช้ความดันช่วย
7. ล้างด้วยน้ำร้อนประมาณ 3 ครั้ง ปริมาตรครั้งละ 30 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง
8. เติมไซเตียมไฮดรอกไซด์ที่อุ่นๆ ความเข้มข้น 1.25% ปริมาตร 150 มิลลิลิตร
9. เติมออกทานอล ปริมาตร 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง ให้ความร้อนจนเดือด
10. ลดความร้อนลงและต้มเป็นเวลา 30 นาที
11. กรองด้วยสุญญากาศ ล้างด้วยน้ำร้อนประมาณ 3 ครั้ง
12. นำครุชีเบิลออกจาก Hot Extraction Unit มาวางไว้ที่ Cold Extraction Unit โดยใช้ Crucible holder
13. ล้างด้วยอะซิโตน 3 ครั้ง ปริมาตรครั้งละ 25 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง
14. นำครุชีเบิลมาไว้ที่ Crucible stand
15. อบครุชีเบิลที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาดำรงคั้น หรือที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
16. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา
18. เผาตัวอย่างในครุชีเบิลที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง
18. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงอย่างช้าๆ จนถึงอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิห้อง
19. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหลังเผา
20. คำนวณปริมาณเส้นใยหยาบตามสมการที่ ก.6

ปริมาณเส้นใยหยาบ (%)

$$= \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100 \quad (\text{ก.6})$$

ก.6 คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ Compendium of Methods for Food Analysis 2-9 (2000)

วิธีการคำนวณ

$$\begin{aligned} & \text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (\% กรัม/100 กรัม)} \\ & = 100 - (\% \text{ ความชื้น} + \% \text{ โปรตีน} + \% \text{ ไขมัน} + \% \text{ ใยอาหาร}) \end{aligned} \quad (\text{ก.7})$$

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ Lowry และคณะ (1951)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดการดูดกลืนคลื่นแสง (Thermo Spectronic รุ่น Genesys 10UV, USA)
2. เครื่องกวน (Mixer Uzusio รุ่น VTX-3000L, Japan)

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu's reagent (A.R. grade) (Carlo Erba, Italy)
2. สารละลาย A เตรียมโดยละลายโซเดียมคาร์บอเนต 2 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
3. สารละลาย B เตรียมโดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 0.25 กรัม และละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 0.5 กรัม แล้วผสมกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร
4. สารละลาย C เตรียมโดยผสมสารละลาย A 50 มิลลิลิตร กับสารละลาย B 1 มิลลิลิตร
5. สารละลาย D เตรียมโดยทำการเจือจาง Folin-Ciocalteu's reagent ด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยปริมาตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
หมายเหตุ สารละลาย C และ D ต้องเตรียมในวันที่ทดลองเท่านั้น
6. สารละลาย BSA (bovine serum albumin)

วิธีทดลอง

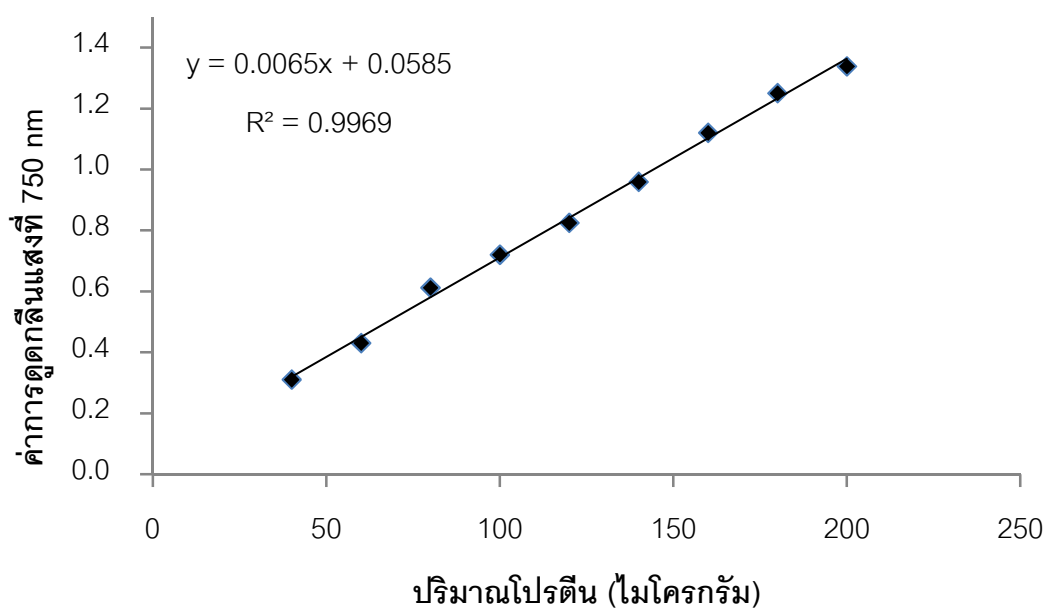
1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน BSA (Stock solution) ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
2. สร้างกราฟมาตรฐานสารละลาย BSA โดยเตรียมสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้น 0, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลายจากข้อ 1 ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย C ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที
4. ปิเปต Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที

5. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร
6. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 ได้กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นและสมการเชิงเส้นตามสมการที่ ข

$$y = 0.006x + 0.058 \quad \text{โดยที่ } R^2 = 0.996 \quad (\text{ข})$$

7. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่าง โดยเจือจางตัวอย่างสารละลายเอนไซม์ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 0.5 มิลลิลิตรต่อ 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 5%) ใส่ในหลอดทดลอง ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ทดลองตามวิธีในข้อ 3-5

8. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง นำค่าที่ได้ไปอ่านค่าจากกราฟมาตรฐานแล้วคำนวณปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังแสดงในภาพที่ ข.1 (ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร)



รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย BSA ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำมันรำข้าว

ค.1 การวัดค่าสี (L^* , a^* , b^*) โดยใช้เครื่อง Minolta Chroma Meter

อุปกรณ์

เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter รุ่น CR-400, Japan)

วิธีทดลอง

1. ต่ออุปกรณ์หัววัดและเครื่องประมวลผล แล้วเลื่อนสวิตช์ Power ไปที่ตำแหน่ง ON
2. กดปุ่ม Index Set

ปรับเลือกแหล่งแสง ILLUMINANT D65 แล้วกดปุ่ม Measure Enter

ปรับเลือก AUTO AVERAGE เป็น 3 แล้วกดปุ่ม Measure Enter

3. กดปุ่ม Calibrate ตรวจสอบค่า Y_x และ y ให้ตรงตามแผ่น Calibrate และแหล่งแสงที่เลือกไว้ดังนี้

$$Y = 93.8$$

$$x = 0.3158$$

$$y = 0.3328$$

4. นำหัววัดวางบนแผ่น Calibrate สีขาว กดปุ่ม Measure Enter รอจนเกิดการ reflect แสง กดปุ่ม 3 ครั้ง

5. เมื่อ Calibrate เสร็จแล้ว กดปุ่ม Color Space เพื่อเลือกระบบสีที่ต้องการใช้งาน คือระบบ CIE L^* (ความสว่าง) a^* (ค่าสีแดง) b^* (ค่าสีเหลือง)

6. ต่ออุปกรณ์แทนวางตัวอย่างกับหัววัด แล้วเติมน้ำมันลงไปในคิวเวต (Sample cell) ประมาณ 50 มิลลิลิตร หรือจนถึงขีดบอกระดับ แล้ววางในช่องวางตัวอย่าง จากนั้นกดปุ่ม Measure Enter

7. บันทึกค่า L^* , a^* และ b^*

ค.2 การวัดความหนืด โดยใช้เครื่อง Fungilab Viscometer

อุปกรณ์

เครื่องวัดความหนืด (Fungilab รุ่น Alpha series L, Spain)

วิธีทดลอง

1. ปรับลูกน้ำด้านหลังเครื่องให้อยู่ตรงกลางเสมอ กดสวิทช์เปิดเครื่องที่ด้านหลัง
2. กดปุ่ม ENTER รอเครื่อง TESTING
3. เลือก Instrument เพื่อเลือกหน่วยที่ต้องการวัด ดังนี้

เลือก Unit กดปุ่ม ENTER

เลือกหน่วย cP/P (CGS) (Centipoise) กดปุ่ม ENTER เสร็จแล้วกดปุ่ม QUIT

4. เลือก Measurement เพื่อเลือกขนาดของ spindle และความเร็วรอบในการหมุนที่ต้องการให้เหมาะสมกับตัวอย่างที่จะนำมาวัด ในการทดลองนี้ใช้หัว spindle เบอร์ L1 ความเร็วรอบในการหมุน 50 rpm โดยกดปุ่มดังนี้

เลือก SP = L1 กด TAB และ RPM = 50 เสร็จแล้วกดปุ่ม ON (motor stop)

5. ต่อหัว spindle เข้ากับแกนของเครื่องวัด จากนั้นจุ่มลงในตัวอย่างน้ำมัน (อุณหภูมิห้อง) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่ใส่ในขวดแก้วทรงกระบอกขนาด 100 มิลลิลิตร โดยให้ร่องของ Spindle อยู่ระดับเดียวกับผิวหน้าของตัวอย่างน้ำมัน

6. กดปุ่ม ON เพื่อวัดค่าความหนืด จับเวลา โดยบันทึกค่าความหนืดที่ 30 60 และ 90 วินาที หรือจนกว่าค่าความหนืดจะคงที่

ค.3 การวัดค่าการหักเหแสง โดยใช้เครื่อง Atago Refractometer

อุปกรณ์

เครื่องวัดการหักเหของแสง (Atago รุ่น NAR-1T, Japan)

วิธีทดลอง

1. กดสวิทช์เปิดเครื่องที่ด้านหลัง
2. ทำการ Calibrate เครื่อง โดยหยดน้ำกลั่น 1 หยด บนสไลด์ แล้วส่องกล้องหมุนปรับภาพให้ชัดดังนี้

ปุ่มหมุนภาพหยาบอยู่ข้างล่าง เพื่อเลื่อนให้เส้นแนวขวางตัดกับเส้นกากบาท
ปุ่มหมุนภาพละเอียดอยู่ข้างบน เพื่อปรับภาพให้คมชัดขึ้น

3. อ่านค่า RI ของน้ำกลั่นได้เท่ากับ 1.333 ค่า %Brix ได้เท่ากับ 0 และบันทึกอุณหภูมิโดยควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 3 องศาเซลเซียส จากนั้นเช็ดสไลด์ด้วยกระดาษเช็ดเลนส์
4. หยดตัวอย่างน้ำมัน 1 หยด บนสไลด์ แล้วส่องกล้องหมุนปรับภาพตามข้อ 2
5. บันทึกค่า RI %Brix และอุณหภูมิ

ภาคผนวก ง

วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของน้ำมันรำข้าว

ง.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) ตามวิธีของ AOCS: Ca 5a-40 (2004)

อุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อน (Mettert รุ่น 600, Germany)
2. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
3. โถดูดความชื้น

สารเคมี

1. เอทิลแอลกอฮอล์ 95%
2. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1% ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95%
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
4. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

การไทเทรตหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

1. อบแห้งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตที่แน่นอน อยู่ระหว่าง 2.0-2.4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร
3. บรรจूसารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในบิวเรต บันทึกระดับของสารละลายบนสเกล
4. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน
5. นำสารละลายจากข้อ 4 ไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนเกิดสีชมพูอ่อนที่เสถียร ทำการไทเทรตซ้ำอีกครั้ง โดยปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้จะต้องไม่แตกต่างกันเกินกว่า 0.1 มิลลิลิตร ถ้าเกินต้องทำการไทเทรตซ้ำอีกครั้ง
6. คำนวณความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน สมการที่ ง.2

$$\begin{aligned} & \text{ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต} \\ & = \frac{\text{น้ำหนักของ KHP (กรัม)}}{\text{ปริมาตร KHP (มิลลิลิตร) \times \text{น้ำหนักโมเลกุล (กรัม)}}} \end{aligned} \quad (\text{ง.1})$$

$$\begin{aligned} & \text{ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์} \\ & = \frac{\text{ปริมาตร KHP (มิลลิลิตร) \times \text{ความเข้มข้นของ KHP}}}{\text{ปริมาตรของ NaOH (มิลลิลิตร)}} \end{aligned} \quad (\text{ง.2})$$

วิธีทดลอง

1. ผสมตัวอย่างน้ำมันให้เข้ากันอย่างดี โดยตัวอย่างน้ำมันต้องเป็นของเหลวก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก แต่ห้ามให้ความร้อนมากกว่า 10 องศาเซลเซียส ของจุดหลอมเหลวของน้ำมัน
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างน้ำมัน 56.4 กรัม (ตามตารางที่ ง.1) ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ที่ร้อน ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ตามตารางที่ ง.1)
4. เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2 มิลลิลิตร
5. ไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนกระทั่งปรากฏเป็นสีชมพูอ่อนที่เสถียรอยู่นานกว่า 30 วินาที
6. คำนวณปริมาณกรดไขมันอิสระจากสมการที่ ง.3

$$\begin{aligned} & \text{ปริมาณกรดไขมันอิสระ (\% รูปกรดไอเลอิก)} \\ & = \frac{\text{ปริมาตรของ NaOH (มิลลิลิตร) \times N \times 28.2}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}} \end{aligned} \quad (\text{ง.3})$$

เมื่อ $N =$ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ตารางที่ ง.1 น้ำหนักตัวอย่าง ปริมาตรของเอทิลแอลกอฮอล์ และความเข้มข้นของสารละลายไฮเดียมไฮดรอกไซด์ ที่เหมาะสมกับปริมาณกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่าง

ปริมาณกรดไขมันอิสระ(%)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาตรเอทิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของสารละลายไฮเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล)
0.0-0.2	56.4 ± 0.20	50	0.1
0.2-1.0	28.2 ± 0.20	50	0.1
1.0-30.0	7.05 ± 0.05	75	0.25
30.0-50.0	7.05 ± 0.05	100	0.25 หรือ 0.1
50.0-100.0	3.525 ± 0.001	100	0.1

ง.2 การคำนวณค่าความเป็นกรด (Acid value) ตามวิธีของ AOCS: Cd 3d-63 (2004)

ค่าความเป็นกรดสามารถคำนวณได้โดยคูณค่า factor ของกรดต่างๆ กับปริมาณกรดไขมันอิสระ เช่น กรดลอริก กรดโอเลอิก หรือกรดปาล์มิติก ดังนั้นค่าความเป็นกรด (รูปกรดโอเลอิก) คำนวณตามสมการที่ ง.4

ค่าความเป็นกรด (รูปกรดโอเลอิก)

$$= \text{กรดไขมันอิสระ (รูปกรดโอเลอิก)} \times 1.99 \quad (\text{ง.4})$$

ง.3 การวิเคราะห์ค่าไอโอดีน (Iodine value) ตามวิธี AOCS: Cd 1-25 (2004)

อุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น 600, Germany)
2. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Denver Instrument รุ่น SI-234, Germany)
3. โถดูดความชื้น

สารเคมี

1. Wijs' solution
2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 10% เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ 100 กรัม ละลายในน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
3. คาร์บอนเตตระคลอไรด์
4. สารละลายน้ำแป้ง 1% เตรียมโดยชั่งแป้ง (soluble starch) 1 กรัม ผสมน้ำกลั่นที่เย็นเล็กน้อย คนให้ละลาย แล้วเติมน้ำกลั่นที่ต้มกำลังเดือด 100 มิลลิลิตร โดยคนให้อยู่ตลอด เมื่อได้อินดิเคเตอร์สารละลายน้ำแป้ง ควรเก็บที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส สามารถใช้ได้ประมาณ 2-3 สัปดาห์
5. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟต 24.9 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
6. สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต

การไทเทรตหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต

1. อบแห้งโพแทสเซียมไดโครเมตในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักโพแทสเซียมไดโครเมตที่แน่นอน อยู่ระหว่าง 0.16-0.22 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร
3. ละลายด้วยน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
5. ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต เขย่าอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งเปลี่ยนจากสีน้ำตาลดำเป็นสีเขียว

6. เติมสารละลายน้ำแป้ง 2 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตต่อด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต อย่างช้าๆ จนกระทั่งเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเขียว อยู่ยาวนานกว่า 30 วินาที

7. คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ตามสมการที่ ง.5

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

$$= \frac{20.934 \times \text{น้ำหนักของโพแทสเซียมไดโครเมต (กรัม)}}{\text{ปริมาตรของโซเดียมไทโอซัลเฟต (มิลลิลิตร)}} \quad (\text{ง.5})$$

วิธีทดลอง

1. ตัวอย่างน้ำมันควรเป็นของเหลวและมีอุณหภูมิประมาณ 68-71 องศาเซลเซียส โดยนำตัวอย่างเข้าตู้บ่มอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างน้ำมันที่แน่นอน อยู่ระหว่าง 0.3173-0.2538 (ตามตารางที่ ง.2) ลงในขวด glass-stoppered ขนาด 250 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็ว

3. เติมคาร์บอนเตตระคลอไรด์ 15 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายเข้ากัน

4. บีบเปิด Wijs' solution 25 มิลลิลิตร ปิดจุก แล้วเขย่าให้เข้ากัน

5. ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 ± 5 องศาเซลเซียส เพื่อให้ทำปฏิกิริยา

6. เมื่อครบเวลานำออกมาจากที่มืด เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

7. ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต เขย่าต่อเนื่อง จนกระทั่งเปลี่ยนจากสีน้ำตาลดำเป็นสีส้มเหลืองจาง

8. เติมสารละลายน้ำแป้ง 2 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตต่อด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต อย่างช้าๆ จนกระทั่งเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเหลืองจางหรือไม่มีสี อยู่ยาวนานกว่า 30 วินาที

9. เตรียม blank เป็นน้ำกลั่นแทนตัวอย่างน้ำมัน แล้วทดลองเหมือนข้อ 2-8 ทุกประการ

10. คำนวณไอโอดีนตามสมการที่ ง.6

ค่าไอโอดีน

$$= \frac{(B - S) \times N \times 12.69}{\text{น้ำหนักตัวอย่างน้ำมัน (กรัม)}} \quad (\text{ง.6})$$

เมื่อ B = ปริมาตรโซเดียมไทโอซัลเฟตของ blank (มิลลิลิตร)

S = ปริมาตรโซเดียมไทโอซัลเฟตของตัวอย่างน้ำมัน (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

ตารางที่ ง.2 น้ำหนักตัวอย่างที่เหมาะสมกับปริมาณไอโอดีนที่มีอยู่ในตัวอย่าง

Iodine value	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)		Weighing accuracy (กรัม)
	100% excess	150% excess	
<3	10	10	± 0.001
3	10.576	8.4613	0.005
5	6.346	5.0770	0.0005
10	3.1730	2.5384	0.0002
20	1.5865	1.2720	0.0002
40	0.7935	0.6346	0.0002
60	0.5288	0.4231	0.0002
80	0.3966	0.3173	0.0001
100	0.3173	0.2538	0.0001
120	0.2644	0.2115	0.0001
140	0.2266	0.1813	0.0001
160	0.1983	0.1587	0.0001
180	0.1762	0.1410	0.0001
200	0.1586	0.1269	0.0001

ง.4 การวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบกรดไขมันในน้ำมัน ตามวิธีของ Inhouse Method: based on Lepage และ Roy (1986) โดยใช้เครื่อง GC-MS

อุปกรณ์

Gas Chromatography/ Mass Spectrometry (GC-MS) (Traco GC ultra, Italy/Polaris Q, USA)

สภาวะของ Injector

Temperature	:	250 °C
Mode	:	Split
Split ratio	:	20
Split flow	:	10 ml/min

สภาวะของ Capillary column

TR-FAME size	:	30 m x 0.25 mm ID
Film thickness	:	0.25 µm
Initial temperature	:	50 °C hold 2 min
Ramp 1	:	rate 10 °C/min up to 180 °C hold 15 min
Ramp 2	:	rate 4 °C/min final 230 °C hold 1 min

สภาวะของDetector

Mass Spectrometry detector (MS)		
Ion source	:	200 °C
MS Transfer line	:	250 °C
Mode	:	Full Scan

สภาวะ Carrier gas

Type	:	Helium
Flow rate	:	0.5 ml/min

วิธีทดลอง

1. ทำเมทิลเลชันโดยดูดตัวอย่างน้ำมัน 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองฝาเกลียว
2. เติม Methanol:Hexane (4:1) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และค่อย ๆ หยด Acetyl chloride 200 ไมโครลิตร โดยเขย่าระหว่างหยด
3. ปิดฝาให้แน่น และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. ทิ้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง
5. เติม 6% K_2CO_3 5 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่นและเขย่าให้เข้ากัน
6. ปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เกิดการแยกชั้น ด้วยความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
7. ดูดส่วนบนซึ่งเป็นชั้นของกรดไขมันที่ละลายใน Hexane เก็บไว้ในหลอดแก้วเก็บสาร
8. ฉีดตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ เพื่อทดสอบหาสัดส่วนของกรดไขมันในตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างทำการทดสอบ 2 ซ้ำ
9. คำนวณสัดส่วนของกรดไขมัน (% ปริมาณกรดไขมันทั้งหมด)

$$= \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของกรดไขมันชนิดที่ต้องการหา} \times 100}{\text{พื้นที่ใต้กราฟทั้งหมด}} \quad (\text{ง.7})$$

ง.5 การวิเคราะห์แกมมาไฮโรซานอล ตามวิธีของ Azrina, Maznah, และ Azizah (2008) โดยใช้เครื่อง (RP-HPLC)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)
2. Photodiode Array Detector (PDA) ที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร
3. คอลัมน์ C18 Hypersil silica
4. mobile phase : acetonitrile : methanol: isopropanol (50: 45: 5 โดยปริมาตร)

วิธีทดลอง

1. สร้างกราฟมาตรฐานสารละลายแกมมาไฮโรซานอล โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอล (Stock solution) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของ mobile phase
2. เจือจางสารละลายแกมมาไฮโรซานอลที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 500, 1,000 และ 2,000 ppm จาก Stock solution กับ mobile phase
3. เจือจางความเข้มข้นตัวอย่างใน mobile phase ที่ความเข้มข้น 20%
4. เขย่า 5 นาที ด้วยเครื่องกวน (Vortex) แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที
5. กรองตัวอย่างด้วย PTFE membrane pore size 0.2 ไมโครเมตร
6. ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง RP-HPLC
7. อ่านค่าที่ได้จากพื้นที่ใต้กราฟ คำนวณปริมาณแกมมาไฮโรซานอลเทียบกับสมการกราฟมาตรฐาน

ภาคผนวก จ

เครื่องสีข้าวโรงสีชุมชนข้าวดี (บริษัทยนต์ผลดี รุ่น ข้าวดี-200, ประเทศไทย)

เป็นเครื่องสีข้าวสำหรับกองทุนหมู่บ้าน SML มีกำลังการผลิต 200 กิโลกรัมข้าวเปลือกต่อชั่วโมง สามารถแยกข้าวตัน ข้าวท่อนข้าวปลาย แกลบ รำละเอียด-หยาบ และสิ่งเจือปนออกจากกันได้ในครั้งเดียว



รูปที่ จ.1 เครื่องสีข้าวโรงสีชุมชนข้าวดี

ส่วนประกอบเครื่องสีข้าว

- | | |
|--|-----------|
| 1. ตันกะป้อประกอบเสร็จพร้อมหัวและฐานใช้ลูกตัก 3 นิ้ว | 2 ตัน |
| 2. หินขัดข้าวกล้อง ขนาด 10x18 นิ้ว ยาง 3 เส้น | 1 ลูก |
| 3. หินขัดข้าวขาว ขนาด 10x18 นิ้ว ยาง 3 เส้น | 1 ลูก |
| 4. ตู้อีกแซกข้าวกล้อง 2 ทางออก | 1 ตู้อีก |
| 5. ตู้อีกแซกข้าวขาว 3 ทางออก | 1 ตู้อีก |
| 6. พัดลมดูดแกลบ ขนาด 18x12 นิ้ว พร้อมท่อส่งแกลบ | 1 โครง |
| 7. ตะแกรงทำความสะอาดข้าวเปลือก ขนาด 18x36 นิ้ว | 1 เครื่อง |
| 8. ตะแกรงกระแทะข้าวกล้อง 2 ทางออก | 1 ตัว |
| 9. ตะแกรงกระแทะข้าวสาร 3 ทางออก | 1 ตัว |
| 10. รันสี เหล็กฉาก พร้อมบันได | 1 ชุด |
| 11. ติดตั้งมอเตอร์ 10 HP 3 สาย พร้อมตู้ควบคุมมอเตอร์ | 1 ชุด |

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการทดลอง

ตารางที่ ข.1 ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่างกัน เมื่อไม่อุณหภูมิห้อง นาน 12 วัน

ตัวอย่างน้ำมัน	ปริมาณกรดไขมันอิสระ (% รูปกรดโพลีอิก)						การเปลี่ยนแปลง กรดไขมันอิสระ %Δ
	0	3	6	9	12		
น้ำมัน HO (control)	0.90 ^{Dc} ± 0.01	1.47 ^{Db} ± 0.03	1.50 ^{Cb} ± 0.01	1.56 ^{Da} ± 0.01	1.58 ^{Ea} ± 0.03	nc	
HO รำสกัดน้ำมัน 10%	2.08 ^{Cd} ± 0.03	3.79 ^{Cc} ± 0.03	5.17 ^{Bb} ± 0.09	5.30 ^{Bb} ± 0.08	6.34 ^{Ca} ± 0.22	204.81	
HO รำข้าวดิบ 10%	3.31 ^{Bd} ± 0.12	4.04 ^{Bc} ± 0.14	4.95 ^{Bb} ± 0.03	5.17 ^{Cb} ± 0.11	5.70 ^{Da} ± 0.04	72.21	
HO รำสกัดน้ำมัน 20%	3.38 ^{Be} ± 0.05	4.14 ^{Bd} ± 0.01	6.50 ^{Ac} ± 0.02	6.95 ^{Ab} ± 0.19	8.95 ^{Aa} ± 0.15	164.79	
HO รำข้าวดิบ 20%	4.01 ^{Ae} ± 0.06	5.02 ^{Ad} ± 0.06	6.53 ^{Ac} ± 0.24	6.92 ^{Ab} ± 0.01	8.01 ^{Ba} ± 0.01	99.75	

A, B, C, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแถวบนเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

nc หมายถึง ไม่มีการคำนวณค่าการเปลี่ยนแปลงในตัวอย่างควบคุม

ตารางที่ ๑.2 ปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอาไขมันใหม่ได้หลังจากการที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อเป็นเป็นเวลา 15 วัน

เวลา (วัน)	ปริมาณกรดไขมันอิสระ (% ฐานกรดไขมันอิสระ)					การเปลี่ยนแปลง กรดไขมันอิสระ %Δ	
	0 ^{ns}	3	6	9	12		15
ตัวอย่างน้ำมัน น้ำมัน O (control)	2.97 ± 0.10	2.92 ^C ± 0.02	3.09 ^D ± 0.07	3.07 ^D ± 0.01	2.97 ^D ± 0.03	2.85 ^D ± 0.04	nc
น้ำมัน HO (control)	3.07 ± 0.04	2.90 ^C ± 0.05	3.14 ^D ± 0.01	3.14 ^D ± 0.01	3.01 ^D ± 0.03	2.91 ^D ± 0.04	nc
HO 30 °C (HODFB T 30)	3.11 ± 0.04	3.58 ^B ± 0.07	5.24 ^C ± 0.15	6.24 ^C ± 0.12	7.08 ^C ± 0.01	7.46 ^C ± 0.11	139.87
HO 40 °C (HODFB T 40)	3.11 ± 0.04	3.68 ^{AB} ± 0.09	5.74 ^B ± 0.08	6.68 ^B ± 0.09	7.91 ^B ± 0.05	8.38 ^B ± 0.03	169.45
O 40 °C (ODFB T 40)	3.03 ± 0.03	3.78 ^A ± 0.14	6.12 ^A ± 0.15	7.21 ^A ± 0.06	9.00 ^A ± 0.55	9.21 ^A ± 0.41	203.96

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p > 0.05)

A, B, C, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแนวตั้งเดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

nc หมายถึง ไม่มีการคำนวณค่าการเปลี่ยนแปลงในตัวอย่างควบคุม

ตารางที่ ๓.3 ค่าความเป็นกรดของน้ำมันรำข้าว ที่ผลการการนำเอาน้ำมันรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อเป็นเป็นเวลา 15 วัน

เวลา (วัน)	ค่าความเป็นกรด (mg NaOH/g oil)						การเปลี่ยนแปลง ค่าความเป็นกรด %Δ
	0 ^{ns}	3	6	9	12	15	
น้ำมัน O (control)	5.91 ± 0.20	5.82 ^C ± 0.03	6.15 ^D ± 0.14	6.11 ^D ± 0.01	5.91 ^D ± 0.05	5.67 ^D ± 0.08	nc
น้ำมัน HO (control)	6.11 ± 0.08	5.77 ^C ± 0.09	6.25 ^D ± 0.02	6.25 ^D ± 0.02	5.99 ^D ± 0.07	5.78 ^D ± 0.08	nc
HO30 (HODFB T 30)	6.19 ± 0.08	7.12 ^B ± 0.14	10.42 ^C ± 0.30	12.42 ^C ± 0.23	14.09 ^C ± 0.02	14.84 ^C ± 0.21	139.74
HO40 (HODFB T 40)	6.19 ± 0.08	7.33 ^{AB} ± 0.19	11.43 ^B ± 0.17	13.30 ^B ± 0.17	15.73 ^B ± 0.09	16.67 ^B ± 0.06	169.31
O 40 (ODFB T 40)	6.03 ± 0.05	7.52 ^A ± 0.28	12.19 ^A ± 0.30	14.35 ^A ± 0.12	17.90 ^A ± 1.09	18.32 ^A ± 0.81	203.81

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p > 0.05)

A, B, C.... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแนวตั้งเดียวกัน แต่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

nc หมายถึง ไม่มีการคำนวณค่าการเปลี่ยนแปลงในตัวอยางควบคุม

ตารางที่ ๑.4 ค่าไอโอดี้น้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอาเนื้อใหม่ใส่เพื่อสภาวะการรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อเป็นเป็นเวลา 15 วัน

ตัวอย่างน้ำมัน	ค่าไอโอดี้น (g/100 g oil)						
	เวลา (วัน)	0	3	6	9	12	15 ^{ns}
น้ำมัน O (control) ^{ns}		99.80 ± 0.07	99.27 ± 1.64	99.11 ± 0.85	98.69 ± 1.39	99.58 ± 3.20	99.29 ± 0.66
น้ำมัน HO (control) ^{ns}		101.81 ± 1.72	99.86 ± 1.48	100.03 ± 4.36	102.68 ± 2.31	100.73 ± 3.11	99.28 ± 1.98
HO30 °C (HODFB T 30) ^{ns}		97.42 ± 0.58	102.62 ± 1.23	102.40 ± 1.11	102.26 ± 2.87	101.98 ± 4.91	100.19 ± 3.97
HO40 °C (HODFB T 40) ^{ns}		97.42 ± 0.58	97.10 ± 0.55	96.88 ± 1.01	96.64 ± 2.03	100.80 ± 2.20	99.37 ± 5.04
O 40 °C (ODFB T 40) ^{ns}		100.99 ± 1.82	100.18 ± 2.16	98.91 ± 0.87	103.85 ± 2.00	100.62 ± 2.89	99.33 ± 2.24

ns หมายถึง ตัวเลขที่อยู่ในแนวตั้งและแนวนอน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

ตารางที่ ๑.5 ค่าความสว่าง (L*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอาน้ำมันดิบที่เหลือจากการำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อป่มเป็นเวลา 15 วัน

ตัวอย่งน้ำมัน	ค่าความสว่าง (L*)						การเปลี่ยนแปลง ค่าความสว่าง (L*) %Δ
	เวลา (วัน) 0	3	6	9	12	15	
HO ป่ม 30 °C	39.09 ^B ± 0.01	39.68 ^C ± 0.00	39.32 ^B ± 0.00	39.24 ^B ± 0.00	38.86 ^B ± 0.01	38.98 ^B ± 0.00	0.28
HO ป่ม 40 °C	39.09 ^B ± 0.01	39.89 ^B ± 0.00	39.20 ^C ± 0.01	39.23 ^C ± 0.01	38.71 ^C ± 0.00	38.68 ^C ± 0.01	1.04
O ป่ม 40 °C	39.45 ^A ± 0.01	40.42 ^A ± 0.01	40.08 ^A ± 0.01	39.61 ^A ± 0.01	39.67 ^A ± 0.01	39.91 ^A ± 0.00	1.17

A, B, C, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

ตารางที่ ๑.6 ค่าสีแดง (a*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอาน้ำมันดิบที่เหลือจากการำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อป่มเป็นเวลา 15 วัน

ตัวอย่งน้ำมัน	ค่าสีแดง (a*)						การเปลี่ยนแปลง ค่าสีแดง %Δ
	เวลา (วัน) 0	3	6	9	12	15	
HO ป่ม 30 °C	0.66 ^A ± 0.01	0.64 ^A ± 0.03	0.85 ^B ± 0.02	0.95 ^B ± 0.02	1.19 ^B ± 0.01	1.22 ^B ± 0.03	84.85
HO ป่ม 40 °C	0.66 ^A ± 0.01	0.56 ^B ± 0.02	1.04 ^A ± 0.02	1.27 ^A ± 0.01	1.45 ^A ± 0.02	1.69 ^A ± 0.01	156.06
O ป่ม 40 °C	0.25 ^B ± 0.17	-0.01 ^C ± 0.02	0.39 ^C ± 0.02	0.54 ^C ± 0.02	0.55 ^C ± 0.01	0.59 ^C ± 0.01	136

A, B, C, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

ตารางที่ ๑.7 ค่าสีเหลือง (b*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอาใหม่ได้หลังจากการนำเอาที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อเป็นระยะเวลา 15 วัน

ตัวอย่งน้ำมัน	ค่าสีเหลือง (b*)						การเปลี่ยนแปลง ค่าสีเหลือง %Δ
	เวลา (วัน) 0	3	6	9	12	15	
HO ป่ม 30 °C	16.20 ^A ± 0.06	18.73 ^B ± 0.01	18.71 ^A ± 0.01	18.75 ^B ± 0.00	18.44 ^A ± 0.01	18.60 ^B ± 0.00	14.81
HO ป่ม 40 °C	16.20 ^A ± 0.06	18.84 ^A ± 0.00	18.66 ^B ± 0.02	18.93 ^A ± 0.01	18.43 ^A ± 0.01	18.66 ^A ± 0.01	15.19
O ป่ม 40 °C	15.96 ^B ± 0.02	17.82 ^C ± 0.01	18.07 ^C ± 0.01	17.72 ^C ± 0.01	17.81 ^B ± 0.01	18.09 ^C ± 0.00	13.35

A, B, C, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

ตารางที่ ๑.8 ค่าความหนืดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอาใหม่ได้หลังจากการนำเอาที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อเป็นระยะเวลา 15 วัน

ตัวอย่งน้ำมัน	ค่าความหนืด (cP)					
	เวลา (วัน) 0 ^{ns}	3	6	9	12	15
HO ป่ม 30 °C	63.20 ± 0.20	64.63 ^A ± 0.06	62.30 ^B ± 1.04	62.37 ^B ± 0.25	64.70 ^B ± 0.00	64.43 ^A ± 0.06
HO ป่ม 40 °C	63.20 ± 0.20	63.47 ^B ± 0.06	64.50 ^A ± 0.00	64.13 ^A ± 0.32	64.73 ^B ± 0.06	62.87 ^B ± 0.06
O ป่ม 40 °C ^{ns}	63.40 ± 0.10	63.86 ^B ± 0.36	63.24 ^{AB} ± 1.16	63.77 ^A ± 0.18	65.23 ^A ± 0.42	64.44 ^A ± 1.27

A, B, C, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

ตารางที่ ๑.9 ค่าการหักเหของแสงของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอาไขมันที่มีเลขพหุคูณที่สกัดน้ำมันออกแล้วไปใช้ต่างกัน เมื่อต้มเป็นเวลา 15 วัน

เวลา (วัน)	ค่าการหักเหของแสง						%Δ
	3	6	9	12	15	การเปลี่ยนแปลง	
ตัวอย่าง	0 ^{ns}						
HO นุ่ม 30 °C	1.46963 ± .0001	1.46957 ^A ± .0002	1.46920 ^A ± .0001	1.46920 ^A ± .0001	1.46900 ^A ± .0001	1.46900 ^A ± .0001	0.043
HO นุ่ม 40 °C	1.46963 ± .0001	1.46910 ^B ± .0001	1.46890 ^B ± .0001	1.46893 ^B ± .0000	1.46877 ^B ± .0000	1.46850 ^B ± .0001	0.077
O นุ่ม 40 °C	1.46980 ± .0001	1.46853 ^C ± .0000	1.46830 ^C ± .0001	1.46823 ^C ± .0000	1.46803 ^C ± .0000	1.46803 ^C ± .0000	0.120

A, B, C, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแสดงตั้งเดียวกัน แต่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

ภาคผนวก ช

การวิเคราะห์ความแปรปรวน

ตารางที่ ช.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้และปริมาณโปรตีนในสารละลายของวิธีการผลิตรำข้าว 3 ตัวอย่าง

SOV	df	MS	
		ปริมาณที่ผ่านตะแกรงได้ (%)	ปริมาณโปรตีนในสารละลาย (mg/ml)
วิธีการผลิต	2	1413.444*	2.688*
error	6	3.244	0.003
F		435.707	860.808
Sig		0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ๗.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และโปรตีนใน
สารละลายของรำข้าวที่สกัดและไม่สกัดน้ำมัน

Independent Samples Test						
		Levene's Test of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig	t	df	Sig (2-tailed)
ความชื้น	$\sigma_1^2 = \sigma_2^2$	1.596	0.275	5.724	4	0.005
	$\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$			5.724	3.066	0.010
โปรตีน	$\sigma_1^2 = \sigma_2^2$			33.541	2	0.001
	$\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$			33.541	1.471	0.004
ไขมัน	$\sigma_1^2 = \sigma_2^2$			-305.362	2	0.000
	$\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$			-305.362	1.742	0.000
โปรตีน ในสารละลาย	$\sigma_1^2 = \sigma_2^2$	9.643	0.036	4.047	4	0.016
	$\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$			4.047	2.143	0.050

ตารางที่ ข.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมจำเพาะของปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของวิธีการนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ 4 ตัวอย่าง

SOV	df	MS
		กิจกรรมจำเพาะ (U/mg)
วิธีการนำไปใช้	3	1.940*
error	4	0.001
F		1477.851
Sig		0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างกันในการทำปฏิกิริยา 5 อุณหภูมิ

SOV	df	MS
		กิจกรรมจำเพาะ (U/mg)
อุณหภูมิ	4	0.006 ^{ns}
error	5	0.011
F		0.523
Sig		0.725

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงของชั้นน้ำมันที่ปริมาณการเติมกากรำในน้ำมันรำข้าว 5 ตัวอย่าง

SOV	df	MS
		ความสูงของชั้นน้ำมัน (cm)
ปริมาณกากรำ	4	0.337*
error	5	0.004
F		88.342
Sig		0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่เติมเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวต่างกัน 5 ตัวอย่าง เมื่อป้อนคุณหมูหึ่ง นาน วัน 12

SOV	df	MS				
		ปริมาณกรดไขมันอิสระ (รูปกรดโอเลอิก %)				
		วันที่ 0	3	6	9	12
การเติมเอนไซม์	4	3.081*	3.521*	8.415*	9.640*	16.193*
error	5	0.004	0.005	0.014	0.111	0.015
F		706.649	674.449	595.100	870.005	1110.657
Sig		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่เติม เอมไซม์ไลเปสจากรำข้าว เมื่อบ่มอุณหภูมิห้อง เป็นเวลาต่างกัน 5 วัน

SOV	df	MS				
		ปริมาณกรดไขมันอิสระ (รูปกรดโพลีอิก %)				
		น้ำมัน HO	HODFB10%	HOB10%	HODFB20%	HOB20%
เวลา	4	0.163*	5.398*	1.821*	10.082*	5.030*
error	5	0.000	0.013	0.010	0.012	0.014
F		378.686	420.753	182.677	824.386	361.315
Sig		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะ การนำเอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 5 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

SOV	df	MS					
		ปริมาณกรดไขมันอิสระ (รูปกรดโพลีอิก %)					
		วันที่ 0	3	6	9	12	15
ตัวอย่าง	4	0.010 ^{ns}	0.547*	6.309*	12.058*	23.897*	28.091*
error	10	0.003	0.007	0.011	0.005	0.061	0.035
F		3.148	73.131	552.134	2224.705	389.538	795.170
Sig		0.064	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.9 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำ เอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 5 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

SOV	df	MS					
		ค่าความเป็นกรด (mg NaOH /g oil)					
		วันที่ 0	3	6	9	12	15
ตัวอย่าง	4	0.041 ^{ns}	2.170*	25.005*	47.743*	94.711*	111.243*
error	10	0.013	0.028	0.045	0.020	0.241	0.143
F		3.273	76.963	549.966	2395.957	393.177	777.811
Sig		0.058	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำ เอนไซม์ไลเปสไปใช้ในน้ำมันต่างๆ เป็นเวลาต่างกัน 6 วัน

SOV	df	MS				
		ค่าไอโอดีน (g/100 g oil)				
		น้ำมัน O	HO	HO 30	HO 40	O 40
เวลา	5	0.441 ^{ns}	4.981 ^{ns}	12.289 ^{ns}	8.386 ^{ns}	9.222 ^{ns}
error	12	2.671	7.790	8.528	6.001	4.335
F		0.165	0.693	1.441	1.397	2.127
Sig		0.971	0.639	0.279	0.293	0.132

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าไอโอดีนของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำ เอนไซม์ไลเพสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 5 ตัวอย่าง ของวันที่ 15

SOV	df	MS
		ไอโอดีน (g/100 g oil)
เวลา	4	0.465 ^{ns}
error	10	10.116
F		0.046
Sig		0.995

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความสว่าง (L*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะ การนำเอนไซม์ไลเพสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

SOV	df	MS					
		ค่าความสว่าง (L*)					
		วันที่ 0	3	6	9	12	15
ตัวอย่าง	2	0.130*	0.441*	0.685*	0.145*	0.808*	1.243*
error	6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F		1296.000	39649.000	30840.500	6504.000	36370.500	37017.000
Sig		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีแดง (a*) ของของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

SOV	df	MS					
		ค่าสีแดง (a*)					
		วันที่ 0	3	6	9	12	15
ตัวอย่าง	2	0.165*	0.382*	0.338*	0.409*	0.649*	0.920*
error	6	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F		16.338	881.103	821.946	1532.792	5307.909	2670.032
Sig		0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าสีเหลือง (b*) ของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำเอนไซม์ไลเพสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อที่บ่มเป็นเวลา 15 วัน

SOV	df	MS					
		ค่าสีเหลือง (b*)					
		วันที่ 0	3	6	9	12	15
ตัวอย่าง	2	0.543*	0.944*	0.382*	1.271*	0.397*	0.294*
error	6	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F		230.382	16993.400	2151.062	28603.000	4466.625	8829.000
Sig		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ข.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความหนืดของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะการนำ เอนไซม์ไลเพสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

SOV	df	MS					
		ค่าความหนืด (cP)					
		วันที่ 0	3	6	9	12	15
ตัวอย่าง	2	0.040 ^{ns}	1.054*	3.670 ^{ns}	2.608*	0.268 ^{ns}	2.454 ^{ns}
error	6	0.030	0.043	0.807	0.063	0.056	0.523
F		1.333	24.333	4.550	41.175	4.820	4.690
Sig		0.332	0.001	0.063	0.000	0.056	0.059

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ข.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการหักเหของแสงของน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะ การนำเอนไซม์ไลเพสไปใช้ในน้ำมันต่างกัน 3 ตัวอย่าง เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน

SOV	df	MS					
		ค่าการหักเหของแสง					
		วันที่ 0	3	6	9	12	15
ตัวอย่าง	2	0.000 ^{ns}	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
error	6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F		1.471	31.435	37.800	134.600	137.400	90.143
Sig		0.302	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปัทมา ฤชาฤทธิ เกิดวันที่ 16 กันยายน พ.ศ. 2529 ที่กรุงเทพมหานคร ภูมิลำเนา อยู่ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชา โภชนาวิทยา สาขาอาหารและโภชนาการ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปี การศึกษา 2550 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทาง อาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2551

ผลงานวิจัย

เสนอผลงานวิจัยแบบบรรยายเรื่อง สภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในการประชุมวิชาการ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 3 ระหว่างวันที่ 14-15 มีนาคม 2554 ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จังหวัดพิษณุโลก