

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

รำข้าว ปลายข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 จากโรงสีข้าวมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต จ.ปราจีนบุรี

สารเคมี

1. สารละลายเฮกเซน (Hexane) (AR grade)
2. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) (AR grade)
3. กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid) (AR grade)
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) (AR grade)

วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm (Shimadzu, AA-680).
2. เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter)
3. เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย(Buchi B290 Spray Dryer)
4. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
5. ตู้ดูดควัน (Hood)
6. พรอทวัดอุณหภูมิ (Thermometer)
7. เครื่องให้ความร้อนแบบแม่เหล็ก (Magnetic stirrer)
8. เตาเผา (Muffle furnace)
9. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
10. ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Digestion unit / 3020 / Switzerland)
11. ชุดวิเคราะห์ไขมัน (Soxtech Extrction unit / Tecator 2050 / Sweden)
12. ชุดวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (Crude fibertec / Tecator)
13. เครื่องบดอาหาร (Blender standmixer)
14. อุปกรณ์เครื่องแก้วเพื่อใช้ในการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการชีววิทยาประยุกต์ หลักสูตรวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

ห้องปฏิบัติการทางเคมี โปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

วิธีการทดลอง

1. การศึกษาการสกัดโปรตีนรำข้าว

1.1 การสกัดน้ำมันออกจากรำข้าว

การสกัดไขมันออกจากรำข้าว เป็นขั้นตอนแรกในการเตรียมตัวอย่างก่อนสกัดโปรตีน เพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นหืนในระหว่างการเก็บรักษา และเพื่อช่วยส่งเสริมให้การสกัดโปรตีนได้มากยิ่งขึ้น (Chen และHouston, 1970) การสกัดไขมันออกจากรำข้าวทำได้โดยการใช้สารละลายเฮกเซน ในอัตราส่วนรำข้าวต่อเฮกเซน เท่ากับ 1:4 โดยการคนตลอดเวลา 30 นาที และทำการปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง แยกตะกอนออกจากสารละลายเฮกเซน และทำการสกัดซ้ำอีกครั้งตามวิธีข้างต้น แล้วผึ่งให้แห้งในตู้ดูดควัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการบดรำด้วยเครื่องบดอาหารและเก็บใส่ถุงปิดสนิท โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อรอนำรำข้าวที่สกัดไปสกัดโปรตีนและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป สรุปวิธีการสกัดน้ำมัน ดังภาพที่ 3.1

1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ (Proximate composition) ของรำข้าวสด และรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมัน ได้แก่

1.2.1 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl (AOAC, 1999)

1.2.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี Soxhlet extraction (AOAC, 1999)

1.2.3 วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (AOAC, 1999)

1.2.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1999)

1.2.5 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1999)

1.2.6 วิเคราะห์ปริมาณ คาร์โบไฮเดรต

1.3 การสกัดโปรตีนจากรำข้าว

ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากรำข้าว นั้นจะเลือกการสกัดโดยวิธีทางเคมี มีรายละเอียดดังนี้

1.3.1 ชั่งน้ำหนักรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว (จากขั้นตอนที่ 1) 5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ (distilled deionized water) โดยอัตราส่วนของรำข้าวต่อน้ำ คือ 1:5 ทำการสกัดด้วยต่าง โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 N (NaOH 1.0 N) โดยปรับค่า pH เท่ากับ 11 ทำการคนตลอดเวลา และควบคุมค่า ให้คงที่ตลอดเวลา นาน 45 นาที

1.3.2 นำสารละลายไปผ่านเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อแยกตะกอนออกจากส่วนใส นำส่วนใสมาตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กทริกที่ pH 4.5 ด้วยไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 N (HCl 1.0 N)

1.3.3 นำสารละลายที่ผ่านการตกตะกอนไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้องเพื่อแยกเอาเฉพาะส่วนที่เป็นตะกอนล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นที่ pH 7

1.3.4 นำตะกอนที่ได้ไปทำการ Spray dryer ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส แสดงขั้นตอนการสกัดโปรตีนรำข้าวดังภาพที่ 3.2

1.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ (Proximate composition) ของโปรตีนสกัดจากรำข้าว

1.4.1 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl (AOAC, 1999)

1.4.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี Soxhlet extraction (AOAC, 1999)

1.4.3 วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (AOAC, 1999)

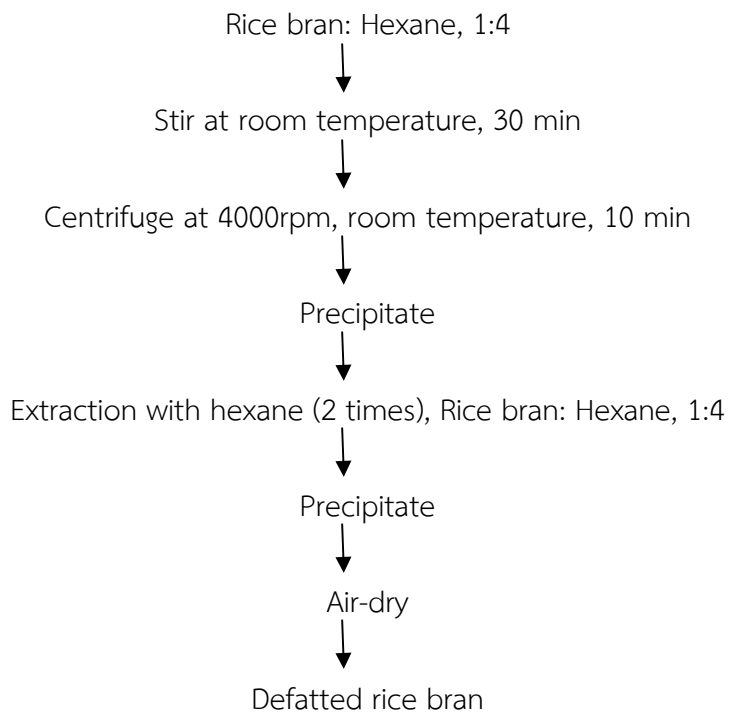
1.4.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1999)

1.4.5 วิเคราะห์ปริมาณ คาร์โบไฮเดรต

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโดยคำนวณจากสูตร

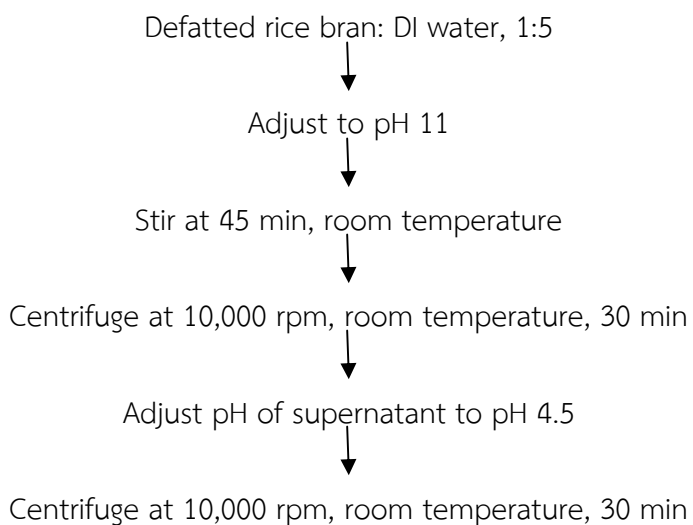
$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักรำข้าวเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนรำข้าว}} \times 100$$

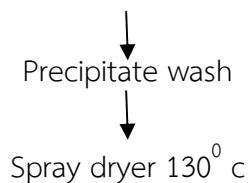
ขั้นตอนการสกัดไขมันออกจากรำข้าว (Sudarat Jiamyangyuen,1999)



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันออกจากรำข้าว

ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากรำข้าวโดยวิธีการทางเคมี





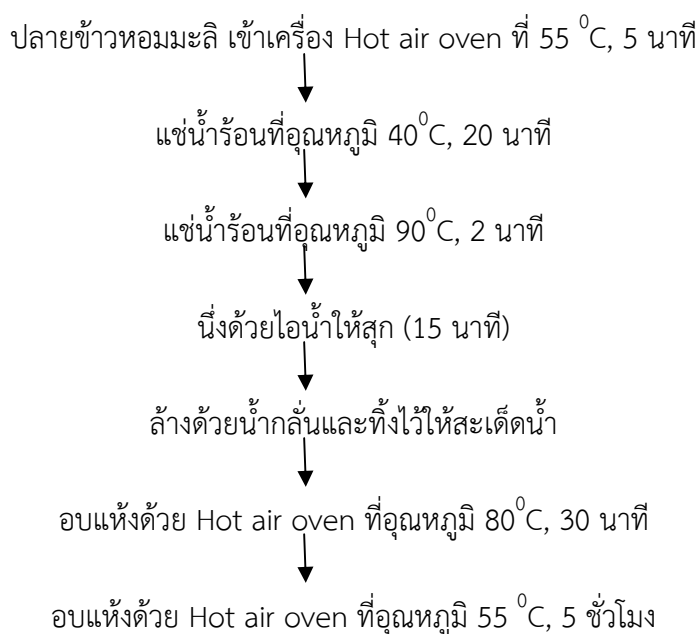
ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากรำข้าวโดยวิธีการทางเคมี

2. ศึกษาการประยุกต์ใช้โปรตีนสกัดจากรำข้าวเข้มข้นที่ผลิตได้ในผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป โดยศึกษาปริมาณที่เหมาะสมในการใช้สารสกัดโปรตีนจากรำข้าวเป็นส่วนผสมในโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

2.1 วิธีการผลิตโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

นำปลายข้าวพันธุ์หอมมะลิมาให้ความร้อนขั้นต้นด้วยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำมาแช่น้ำในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีแล้วนำมาแช่น้ำร้อนอีกครั้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำมานึ่งด้วยไอน้ำให้สุก (15 นาที) นำข้าวที่นึ่งจนสุกมาล้างด้วยน้ำกลั่นให้หมดเมือกแล้วทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ นำข้าวที่สะเด็ดน้ำแล้วมาอบให้แห้งโดยจะอบ 2 ครั้ง ครั้งแรกอบแห้งด้วย Hot air oven ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ครั้งที่ 2 อบแห้งด้วย Hot air oven ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมงจากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดอาหาร จะได้ข้าวกึ่งสำเร็จรูปในลักษณะโจ๊ก แสดงขั้นตอนการผลิตโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปดังภาพที่ 3.3

ขั้นตอนการผลิตโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป



↓
 บดด้วยเครื่องบดอาหารจะได้โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

ภาพที่ 3.3 ขั้นตอนการทำข้าวกึ่งสำเร็จรูป

2.1.1 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป โดยนำโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่ผลิตได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป}}{\text{น้ำหนักของปลายข้าว}} \times 100$$

2.2 การทดสอบคุณสมบัติของโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

2.2.1 วิเคราะห์อัตราการดูดน้ำกลับ (Rehydration ratio) นำโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่ผลิตได้มาหาอัตราการดูดน้ำกลับ (Rehydration ratio) โดยการแช่โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป 100 กรัม ในน้ำร้อนจัด 20 นาที แล้วกรองข้าว รอให้สะเด็ดน้ำแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ตามวิธีขององศาเซลเซียส hampagne และคณะ (1985) และคำนวณหาอัตราการดูดน้ำกลับตามสูตร

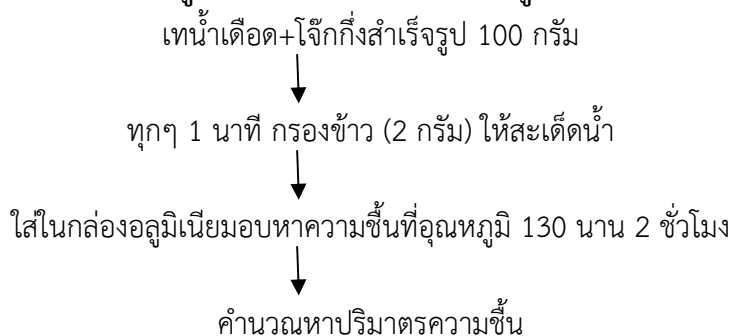
$$\text{อัตราการดูดน้ำกลับ} = \frac{\text{น้ำหนักโจ๊กหลังการดูดน้ำคืนรูป}}{\text{น้ำหนักโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปเริ่มต้น}}$$

2.2.2 วิเคราะห์อัตราการขยายปริมาตร ตามวิธีของ Good man และ Rao. (1984) นำโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่ผลิตได้มาหาอัตราการขยายปริมาตร ใส่โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปใน กระบอกตวง ให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นใส่น้ำร้อนจัดลงไปให้เกินพอ ทิ้งไว้ 20 นาที แล้วอ่านปริมาตรของโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป และคำนวณหาอัตราการขยายปริมาตร ตามสูตร

$$\text{อัตราการขยายปริมาตร} = \frac{\text{ปริมาตรของโจ๊กหลังคืนรูป}}{\text{ปริมาตรโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปเริ่มต้น}}$$

2.2.3 ทหาระยะเวลาในการคืนตัวในน้ำร้อน (Rehydration rate) เทน้ำเดือดลงในปิกเกอร์ที่มีโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปอยู่ 100 กรัม คนให้ข้าวจมอยู่ในน้ำ ใช้ผ้าขาวบางกรองข้าวให้สะเด็ดน้ำใส่ในกล่องเก็บตัวอย่างอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้วปิดฝา ในทุกๆ 1 นาที ชั่งหาน้ำหนักของตัวอย่างและอบหาความชื้นที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงชั่งหาน้ำหนักข้าวแห้งและคำนวณหาปริมาตรความชื้นของข้าวตามวิธีของ A.O.A.C (1984) ระยะเวลาคืนรูป คือ เวลาที่แช่ข้าวและข้าวมีความชื้นสูงสุดและคงที่ แสดงขั้นตอนการหาระยะเวลาการคืนรูปในน้ำร้อนของโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปดังภาพที่ 3.4

ขั้นตอนการหาระยะเวลาการคืนรูปในน้ำร้อนของโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป



ภาพที่ 3.4 ขั้นตอนการหาระยะเวลาการคืนรูปในน้ำร้อนของโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

2.3 การศึกษาการนำโปรตีนรำข้าวผสมในโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

2.3.1 ศึกษาการเติมโปรตีนสกัดจากรำข้าวในระดับที่เหมาะสม โดยปริมาณการเติมโปรตีนสกัดจากรำข้าวลงในโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป ได้แบ่งเป็น 6 ระดับ คือ ร้อยละ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 โดยน้ำหนักข้าว โดยนำโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่ได้ ชั่งน้ำหนักใส่ในถ้วยขนาดเดียวกัน ถ้วยละ 50 กรัม จำนวน 6 ถ้วยแล้วเติมโปรตีนสกัดจากรำข้าวลงในถ้วยที่มีโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปอยู่ 0.5 กรัม, 1 กรัม, 1.5 กรัม, 2 กรัม, 2.5 กรัม และ 3 กรัม ตามลำดับ จากนั้นเติมน้ำร้อนจัดให้เท่ากับอัตราการดูดน้ำกลับแล้วทำการคน ปิดฝาถ้วยรอให้ข้าวคืนตัวเต็มที่

2.3.2 การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านลักษณะปรากฏ สี, กลิ่น, เนื้อสัมผัส และความสะดวกในการปรุง โดย วิธี 9-point hedonic scale เป็นวิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้บุคคลจำนวน 50 คน

2.3.3 คัดเลือกสูตรที่มีการยอมรับมากที่สุด โดยทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลอง ทำได้โดยการใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) การทดสอบใช้ระดับนัยสำคัญที่ 5% ($\alpha = 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 และเลือกตัวอย่างที่มีความชอบโดยรวมมากที่สุดมาทำการพัฒนาเป็นโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปปรุงรสต่อไป

2.4 วิธีการพัฒนาผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปปรุงรส

2.4.1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปปรุงรส นำผลสรุปที่ได้จากการยอมรับหรือมีความชอบมากที่สุด จากข้อ 2.3 มาทำการพัฒนาเป็นข้าวกึ่งสำเร็จรูปปรุงรสด้วยผลิตภัณฑ์ผักอบแห้ง ได้แก่ ฟักทอง 2%, ผักโขม 2%, แครอท 2% เติมน้ำปรุงรส 12%, โดยน้ำหนักข้าว ดัดแปลงมาจากสูตรของ ภัทรชนก ธีรฉัตร (2541)

2.4.2 การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยทางด้าน สี รสชาติ กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบรวม วิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้บุคคลจำนวน 50 คน บุคคลที่ใช้ทดสอบเป็นกลุ่มชอบรับประทานโจ๊กโดยจะทำการทดสอบที่ร้านโจ๊ก การทดสอบเป็นการให้คะแนนความชอบหรือการหาอัตราความชอบระดับคะแนนแบบ 9 คะแนน (9-point hedonic scale)

