บทที่ 3

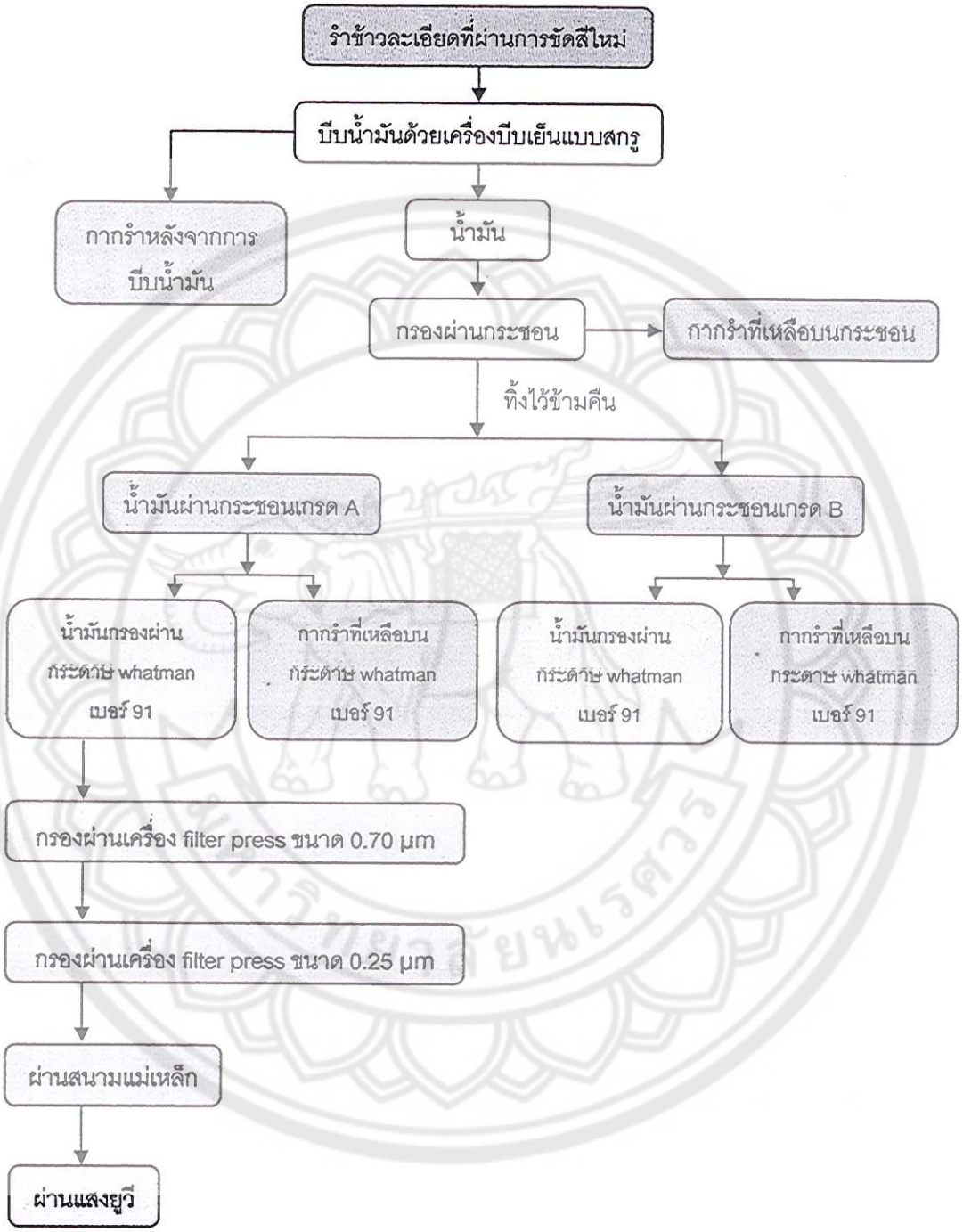
วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้สำหรับงานวิจัยนี้คือ รำละเอียดที่ผ่านการขัดสีใหม่ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี1 ที่เก็บเกี่ยวในปี พ.ศ. 2553 จากนาในอำเภอท่าวุ้ง จังหวัดลพบุรี โดยรีบนำรำละเอียดบรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (polyethylene: PE) 2 ชั้น และบรรจุลงในกล่องโฟม ปิดทับด้วยน้ำแข็งแห้งเพื่อขนส่งมายังมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก จากนั้นนำมาแบ่งบรรจุในถุงที่ผนึกแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส

กระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว

1. นำรำข้าวละเอียดที่ผ่านการขัดสีใหม่มาผ่านเข้าเครื่องบีบเย็นแบบสกรูขนาด 2 แรงม้า เพื่อทำการบีบน้ำมันจะได้น้ำมันรำข้าวดิบออกมา และผ่านกระชอนสำหรับกรองน้ำมันดิบก่อนที่น้ำมันจะไหลผ่านลงภาชนะรองรับ
2. นำน้ำมันรำข้าวดิบที่ได้ไปกรองผ่านกระดาษ whatman เบอร์ 91 (ขนาด 10 ไมครอน)
3. นำน้ำมันรำข้าวดิบไปกรองผ่านเครื่อง filter press ขนาด 0.70 และ 0.25 ไมครอน ตามลำดับ
4. นำน้ำมันรำข้าวไปผ่านสนามแม่เหล็กแบบถาวร เป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง เพื่อจัดเรียงโมเลกุลของกรดไขมันและกำจัดกรดไขมันอิสระ
5. นำน้ำมันรำข้าวดิบไหลผ่านในหลอดแก้วที่มีความยาว 30 เมตร และขดรอบหลอดยูวี ขนาด 50 วัตต์ ประมาณ 5 นาที เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์
6. นำน้ำมันรำข้าวมาบรรจุในภาชนะบรรจุแบบต่างๆ



ภาพ 3 ขั้นตอนการผลิตน้ำมันรำข้าว

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี (Colorimeter: HUNTER LAB, DP 9000)
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (SARTORIUS, ED224S)
3. โถดูดความชื้น (desiccator)
4. ตู้อบลมร้อน (SHEL LAB, 1357 FX)
5. เตาเผา (FISHER, 10-650-126)
6. pH meter (CONSORT, C 830)
7. เครื่องวัดความหนืด (BROOKFIELD, DVIII Reomerter)
8. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (BÜCHI, B-810)
9. เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Digestion unit model: BÜCHI, B-435; Scrubber model: BÜCHI, B-414; Distillation Unit model: BÜCHI, B-323)
10. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (LABCONCO, 266853)
11. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Heraeus Biofuge Stratos)
12. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (HACH, DR/4000U)
13. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC: SHIMADZU)

สารเคมี

1. Petrolium ether 40-60, AR grade, RCI Labscan
2. Sulfuric acid (H_2SO_4), AR grade, RCI Labscan
3. Sodium hydroxide (NaOH), AR grade, Merck
4. Boric acid (H_3BO_3), AR grade, RCI Labscan
5. Methyl red ($C_{15}H_{15}N_3O_2$)
6. Bromocresol green ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$)
7. Potassium hydroxide (KOH), AR grade, Merck
8. Methanol (CH_3OH), HPLC grade, RCI Labscan
9. Acetonitrile (CH_3CN), HPLC grade, RCI Labscan
10. Acetic acid glacial (CH_3COOH) AR grade, RCI Labscan
11. Potassium iodide (KI), AR grade, Merck
12. Sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3$)
13. 1% Starch solution

ป TP
633
.R5
ว3330
2556

i 1259318

สำนักหอสมุด
- 5 มิ.ย. 2556

14. Alcohol (C_2H_5OH)

15. Dichloromethane (CH_2Cl_2), HPLC grade, RCI Labscan

วิธีการทดลอง

การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ตอน โดยตอนที่ 1 ทำการตรวจสอบสมบัติของรำข้าว ตอนที่ 2 ทำการสกัดน้ำมันรำข้าวโดยกระบวนการบีบเย็น ตรวจสอบสมบัติของน้ำมันรำข้าว และวิเคราะห์ปริมาณสารแกมมาโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว และตอนที่ 3 ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติของน้ำมันรำข้าวและปริมาณสารแกมมาโอรีซานอลในระหว่างการเก็บรักษา และคุณภาพของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการบีบเย็น

ตอนที่ 1 การตรวจสอบสมบัติของรำข้าว

นำรำละเอียดของข้าวพันธุ์ปทุมธานี1 ที่ผ่านการขัดสีใหม่มาทำการทดสอบสมบัติดังต่อไปนี้

1. **การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ**

1.1.1 ค่าสี (Colorimeter: HUNTER LAB, DP 9000)

2. **การตรวจสอบสมบัติทางเคมี**

2.1 ค่า pH (pH meter: CONSORT, C 830)

2.2 องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis)

2.2.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC 40.1.04, 1995)

2.2.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธีซอกเลต (soxhlet) (AOAC 40.1.05, 1995)

2.2.3 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเคลดาห์ล (kjeldahl) (AOAC 40.1.05, 1995)

2.2.4 วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (AOAC 40.1.05, 1995)

2.2.5 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC 40.1.05, 1995)

2.2.6 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (คำนวณจาก 100 – (ความชื้น+ไขมัน+โปรตีน+เยื่อใย+เถ้า))

2.3 ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide) (AOAC 965.33, 1990)

2.4 ปริมาณกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) (AOAC 940.28, 1990)

2.5 ปริมาณสารแกมมาโอรีซานอลทั้งหมด (Chen and Bergman, 2005; Iqbal, Bhanger and Anwar, 2005)

3. **การตรวจสอบสมบัติทางจุลชีววิทยา**

3.1 Total plate count (AOAC 990.12, 2005)

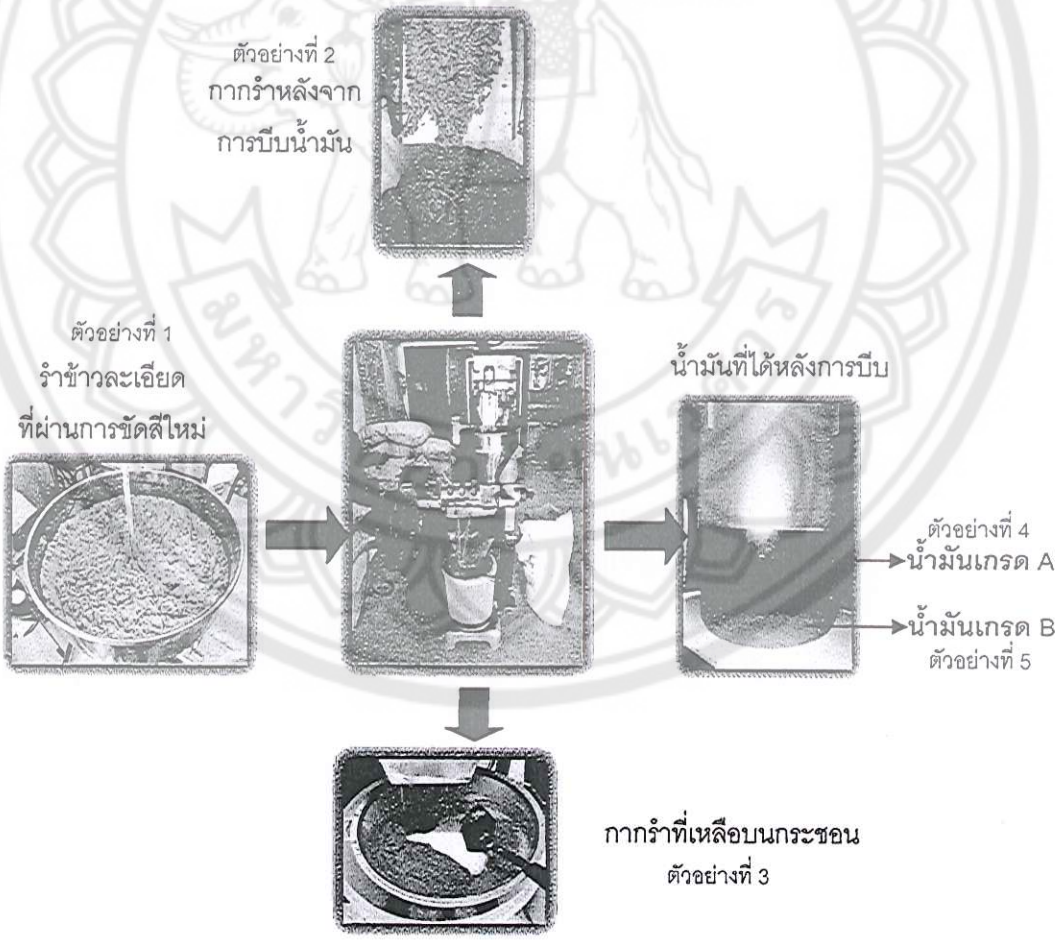
3.2 Yeast and Mould (AOAC 997.02, 2005)

3.3 *Escherichia coli* (AOAC 991.14, 2005)

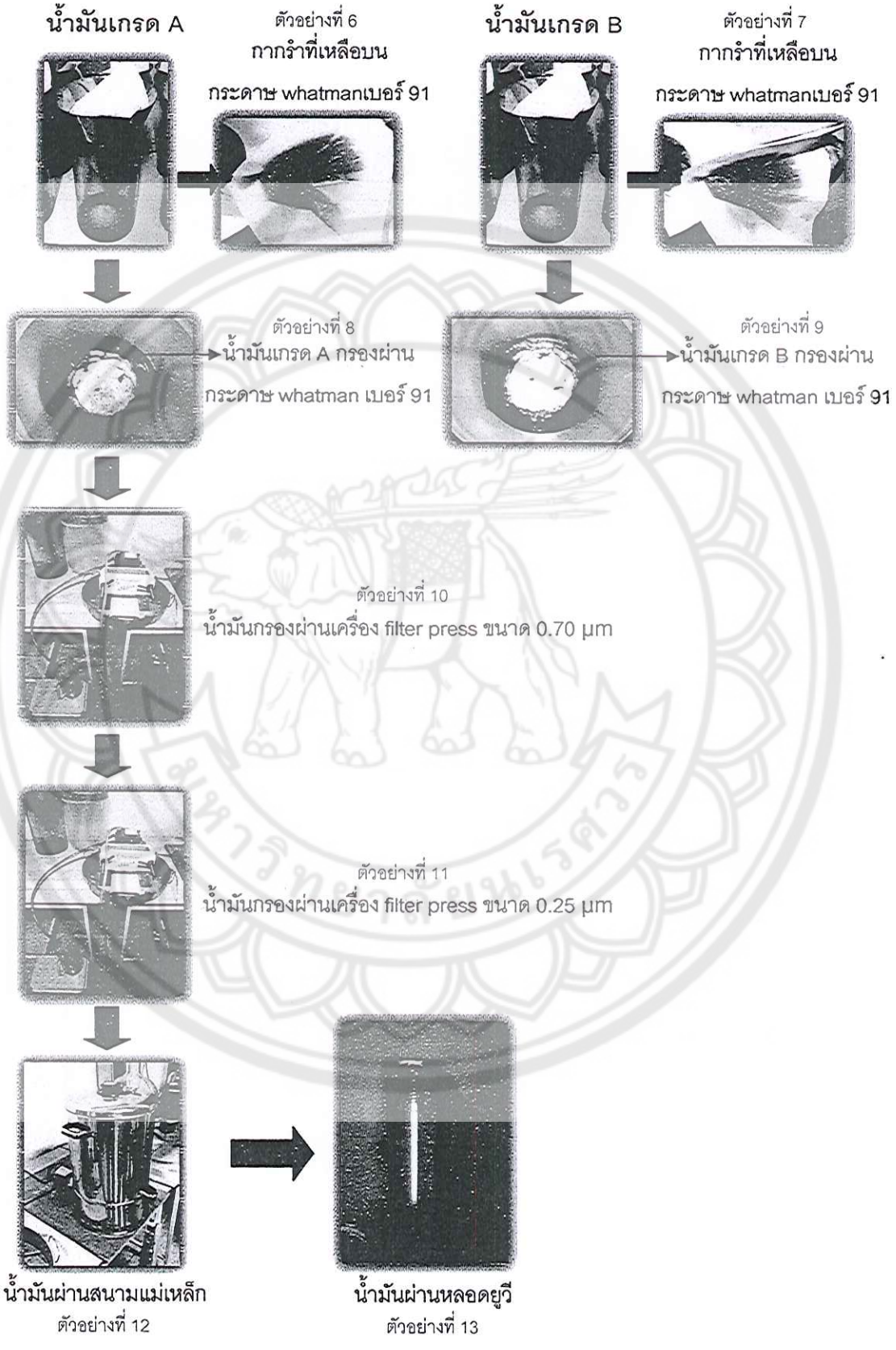
3.4 *Coliform* (AOAC 991.14, 2005)

ตอนที่ 2 การสกัดน้ำมันรำข้าวโดยกระบวนการบีบเย็นและการตรวจสอบสมบัติของน้ำมันรำข้าว

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำมันรำข้าวในแต่ละขั้นตอนของการผลิต (ภาพ 4) ใส่ในขวดสีชา โดยให้มีช่องว่างเหนือสารตัวอย่าง (headspace) น้อยที่สุด ส่วนตัวอย่างกากรำนั้นทำการบรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน 2 ชั้น แล้วบรรจุลงในกล่องโฟม ปิดทับด้วยน้ำแข็งแห้งเพื่อขนส่งมายังมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก จากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส



ภาพ 4 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างในแต่ละขั้นตอนการผลิตน้ำมันรำข้าวบีบเย็น


น้ำมันเกรด A
ตัวอย่างที่ 6
กากรำที่เหลือบน
กระดาษ whatmanเบอร์ 91
น้ำมันเกรด B
ตัวอย่างที่ 7
กากรำที่เหลือบน
กระดาษ whatmanเบอร์ 91
ตัวอย่างที่ 8
น้ำมันเกรด A กรองผ่าน
กระดาษ whatman เบอร์ 91
ตัวอย่างที่ 9
น้ำมันเกรด B กรองผ่าน
กระดาษ whatman เบอร์ 91
ตัวอย่างที่ 10
น้ำมันกรองผ่านเครื่อง filter press ขนาด 0.70 µm
ตัวอย่างที่ 11
น้ำมันกรองผ่านเครื่อง filter press ขนาด 0.25 µm
น้ำมันผ่านสนามแม่เหล็ก
ตัวอย่างที่ 12
น้ำมันผ่านหลอดยูวี
ตัวอย่างที่ 13

ภาพ 4 (ต่อ)

นำตัวอย่างน้ำมันรำข้าวและกากรำที่ได้ในแต่ละกระบวนการผลิตตามภาพ 4 มาตรวจสอบสมบัติดังต่อไปนี้

1. **การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ**

1.1 ค่าสี (Colorimeter: HUNTER LAB, DP 9000)

1.2 ความหนืด (Brookfield viscometer)

2. **การตรวจสอบสมบัติทางเคมี**

2.1 ค่า pH (pH meter: CONSORT, C 830)

2.2 ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide) (AOAC 965.33, 1990)

2.3 ปริมาณกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) (AOAC 940.28, 1990)

2.4 ปริมาณสารแกมมาโอรีซานอลทั้งหมด (Chen and Bergman, 2005; Iqbal, Bhanger and Anwar, 2005)

3. **การตรวจสอบสมบัติทางจุลชีววิทยา**

3.1 Total plate count (AOAC 990.12, 2005)

3.2 Yeast and Mould (AOAC 997.02, 2005)

3.3 *Escherichia coli* (AOAC 991.14, 2005)

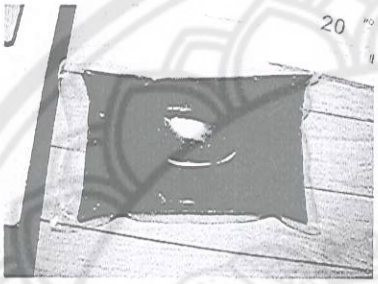
3.4 *Coliform* (AOAC 991.14, 2005)

ตอนที่ 3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาและคุณภาพของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการบีบเย็น

นำน้ำมันรำข้าวที่ผ่านกระบวนการบีบเย็นมาบรรจุใส่ในภาชนะบรรจุที่มีจำหน่ายทางการค้าซึ่งประกอบด้วย 1) แคปซูลแบบนิ่ม (soft capsule) บรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ที่ปิดสนิท 2) แคปซูลแบบแข็ง (hard capsule) บรรจุในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ที่ปิดสนิท 3) ถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (Low Density Polyethylene: LDPE) และ 4) ขวดพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต (polyethylene terephthalate: PET) ดังภาพ 5 แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน ทำการทดสอบสมบัติของน้ำมันรำข้าวทุกๆ 1 เดือน โดยทำการทดสอบดังต่อไปนี้

แคปซูลแบบนิ่ม

แคปซูลแบบแข็ง



ถุงพลาสติกชนิด LDPE

ขวด PET

ภาพ 5 ภาชนะบรรจุน้ำมันรำข้าวที่มีจำหน่ายทางการค้า

1. **การทดสอบทางกายภาพ**
   - 1.1 ค่าสี (Colorimeter: HUNTER LAB, DP 9000)
   - 1.2 ความหนืด (Brookfield viscometer)
2. **การตรวจสอบสมบัติทางเคมี**
   - 2.1 ค่า pH (pH meter: CONSORT, C 830)
   - 2.2 ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide) (AOAC 965.33, 1990)
   - 2.3 ปริมาณกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) (AOAC 940.28, 1990)
   - 2.4 ค่ากรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid; TBA) (AOAC, 2000)
   - 2.5 ปริมาณสารแกมมาโอรีซานอลทั้งหมด (Chen and Bergman, 2005; Iqbal, Bhanger and Anwar, 2005)
3. **การตรวจสอบสมบัติทางจุลชีววิทยา**
   - 3.1 Total plate count (AOAC 990.12, 2005)
   - 3.2 Yeast and Mould (AOAC 997.02, 2005)
   - 3.3 *Escherichia coli* (AOAC 991.14, 2005)
   - 3.4 *Coliform* (AOAC 991.14, 2005)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ