

## วิธีการทดลอง

### กระบวนการเติมธาตุอาหารลงไปในเมล็ดข้าวในระหว่างกระบวนการนึ่งข้าว

นำข้าวเปลือก 200 กรัม ของพันธุ์ สุพรรณบุรี 1 พิษณุโลก 1 และชัยนาท 1 มาทำความสะอาดด้วยการล้างด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง ก่อนที่จะนำมาล้างด้วยน้ำกรองอีก 3 ครั้ง สำหรับข้าวที่จะนำมาทดสอบการเติมธาตุอาหาร นำมาแช่ในสารละลายธาตุเหล็กและสังกะสีที่ความเข้มข้น 150, 250, 350 และ 450 มก. ธาตุเหล็ก (FeEDTA) ต่อข้าวเปลือก 1 กก. และ 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 มก. ธาตุสังกะสี ( $ZnSO_4$ ) ต่อข้าวเปลือก 1 กก. ตามลำดับ โดยปรับให้สารละลายมีความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในระดับ 3.0-3.5 สำหรับข้าวที่จะทำเป็นชุดควบคุมหรือชุดที่ไม่มีการเติมธาตุอาหารก็นำข้าวเปลือก 200 กรัม มาแช่ในน้ำกลั่นที่ระดับความเป็นกรด-ด่างเดียวกัน โดยแช่ข้าวที่อุณหภูมิสารละลายที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นก็เทสารละลายออกแล้วนำข้าวเปลือกที่ผ่านการแช่แล้วมานึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันต่ำ (0.8 กก.ต่อตารางเซนติเมตร) ที่ระดับอุณหภูมิ 119 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (Megafeta, Model-Supernova, Spain) หลังจากนั้นนำข้าวที่นึ่งแล้วไปตากแดดให้แห้ง โดยให้ความชื้นอยู่ที่ระดับร้อยละ 10-11 ทำการทดลองทวนซ้ำชุดละ 3 ครั้ง

### การขัดสีข้าว

นำข้าวที่ผ่านการลดความชื้นแล้วจนเหลือร้อยละ 10-11 มากระเทาะเปลือกออกเพื่อแยกเป็นข้าวกล้องและเปลือกข้าวด้วยเครื่องกระเทาะเปลือกที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (Ngek Seng Huat, Model P-1, Thailand) หลังจากนั้นนำข้าวกล้องมาขัดสีเป็นข้าวสารขาวโดยนำข้าวกล้องมาทั้งหมด 50 กรัม มาขัดเป็นเวลา 30 วินาที ด้วยเครื่องขัดสีข้าวในห้องปฏิบัติการ (Ngek Seng Huat, Model K-1, Thailand) เครื่องมือขัดสีข้าวที่เป็นส่วนโลหะ ก็นำมาทำความสะอาดก่อนที่จะใช้งานด้วย teflon เพื่อป้องกันการปนเปื้อนด้วยเหล็กและสังกะสี หลังจากนั้นก็นำตัวอย่างข้าวที่ขัดสีแล้วมาอบให้แห้งโดยการอบด้วยความร้อน 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กและสังกะสีด้วยเครื่อง AAS (Hitachi, Model Z-8230, Japan)

## การย้อมสีข้าว

นำเมล็ดข้าวสารขาวของพันธุ์ชัยนาท 1 มาย้อมสีเพื่อตรวจสอบปริมาณธาตุเหล็กและสังกะสี โดยย้อมสีธาตุเหล็กด้วย Perl's Prussian blue (PPB) และย้อมธาตุสังกะสีด้วย Diphenylthiocarbazone (DTZ) อย่างละ 10 เมล็ด สำหรับการย้อมสีด้วยธาตุเหล็กนำตัวอย่างข้าวมาแช่ในสารละลาย PPB (2% Hydrochloric acid ผสมกับ 2% Potassium ferrocyanide) เป็นเวลา 10 นาที (Pintasen, Prom-u-thai, Jamjod, Yimyam & Rerkasem, 2007; Prom-u-thai, Dell, Thomson & Rerkasem, 2003) สำหรับการย้อมสีธาตุสังกะสี นำเมล็ดข้าวมาแช่ในสารละลาย DTZ (1,5-diphenyl thiocarbazon (Merck) (500 mg/l) in methanol (AR grade)) เป็นเวลา 30 นาที (Ozturk et al., 2006) หลังจากนั้นนำเมล็ดมาล้างด้วยน้ำกลั่น และตรวจสอบการติดสีภายใต้กล้อง (Olympus BX61, Australia) การติดสีของการย้อมธาตุเหล็กจะเป็นสีฟ้า ส่วนการติดสีของการย้อมธาตุสังกะสีจะเป็นสีแดง

## ปริมาณธาตุอาหารคงเหลือหลังการล้างน้ำ

นำตัวอย่างข้าว 1 กรัม ทั้งที่เป็นตัวอย่างที่มีการเติมธาตุอาหารและไม่เติมธาตุอาหารมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 10 มล. เพื่อตรวจสอบว่ามีปริมาณธาตุอาหารคงเหลืออยู่ปริมาณเท่าไร หลังจากมีการล้างน้ำเพื่อนำข้าวไปหุงต้ม ก่อนกระบวนการหุงต้มโดยทั่วไป (Hettiarachchi et al., 2004; Tulyathan, Laokuldilok & Jongkaewwattana, 2007; Tulyathan et al., 2005) หลังจากนั้นนำตัวอย่างข้าวไปอบให้แห้ง เพื่อตรวจสอบหาปริมาณธาตุอาหารคงเหลือตามวิธีการข้างต้น

## ความสามารถในการละลายน้ำ (ความเป็นประโยชน์ทางโภชนาการ)

นำตัวอย่างข้าวทั้งที่เป็นตัวอย่างที่มีการเติมธาตุอาหารและไม่เติมธาตุอาหารมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด ก่อนที่จะนำตัวอย่างบดละเอียดปริมาณ 1 กรัม มาสกัดด้วยสารละลาย Hydrochloric acid ที่ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 10 มล. ที่ระดับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำมาทำการตกตะกอนด้วยการเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3,500 rpm หลังจากนั้นนำสารละลายที่อยู่ชั้นบนมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no. 5 ก่อนที่จะนำสารละลายดังกล่าวไปตรวจสอบปริมาณความเข้มข้นของธาตุอาหาร

### การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ตัวอย่างข้าวที่นำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสแบ่งเป็น 3 ตัวอย่างคือ ข้าวหนึ่งที่ไม่มีการเติมธาตุเหล็ก และข้าวหนึ่งที่เติมธาตุเหล็กในระหว่างกระบวนการนึ่งข้าวที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 450 มก. ธาตุเหล็กต่อข้าวเปลือก 1 กก. การทดสอบทางประสาทสัมผัสได้ทำการทดลอง 2 ที่ คือที่ประเทศไทยและประเทศบังคลาเทศ โดยที่ประเทศไทยทำการทดสอบกับผู้ทดสอบ 32 คน (ชาย 14 คน หญิง 18 คน) หลังจากที่ทำกรอธิบายวิธีการทดสอบทั้งหมด ผู้ทดสอบก็เริ่มทำการทดสอบตัวอย่างข้าวทั้งหมดโดยการให้คะแนนเป็น 9 ระดับ

สำหรับการทดสอบในประเทศบังคลาเทศ ผู้ทดสอบเป็นผู้ที่ผ่านการทดสอบและฝึกการทดสอบมาแล้วเป็นอย่างดีและทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเป็นประจำอยู่แล้ว แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ นักวิทยาศาสตร์ (9 คน) และเกษตรกรทั่วไป (10 คน) หลังที่อธิบายวิธีการทดสอบ ผู้ทดสอบทุกคนจะเริ่มทำการทดสอบตัวอย่างข้าวโดยเปรียบเทียบกับข้าวหนึ่งท้องถิ่นที่บริโภคกันทุกวันในพื้นที่ โดยให้คะแนนในการทดสอบเป็น 5 ระดับอ้างอิงจากข้าวหนึ่งของท้องถิ่น