

3. อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุดิบ

ข้าวเปลือกข้าวหอมมะลิ 105 จากสถานีวิจัยเกษตร เขตชลประทาน จังหวัดเชียงใหม่ ปลูกในช่วงเดือนกรกฎาคม - สิงหาคม 2551 และเก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายน - ธันวาคม 2551 วิเคราะห์ปริมาณความชื้นของข้าวเปลือกด้วยวิธี AOAC (2000)

3.2 สารเคมี

1. เอนไซม์เซลลูเลส ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ *Aspergillus niger*, analytical grade, activity 0.83 U/mg (Sigma, USA)
2. Methanol (CH₃OH) (Labscan, Thailand)
3. Ethanol (C₂H₅OH) (Merck, Germany)
4. Potassium hydroxide (KOH) (Ajax Finechem, Australia)
5. Sodium hydroxide (NaOH) (Labscan, Thailand)
6. Tributyrin (C₁₅H₂₆O₆) (Fluka, USA)
7. Gum arabic powder GD008 (Starlight products, France)
8. Potassium phosphate buffer pH 7.0 (Merck, Germany)
9. Calcium chloride Dihydrate (CaCl₂·2H₂O) (Rankem, India)
10. Hexanes (CH₃(CH₂)₄CH) (Labscan, Thailand)
11. Phenolphthalein (C₂₀H₁₄O₄) (Merck, Germany)
12. Diethyl ether (C₂H₅OC₂H₅) (Panreac, Spain)
13. Petroleum ether จุดเดือด 30-40 องศาเซลเซียส (J.T. Baker, Thailand)
14. Ammonium hydroxide (NH₄OH) (Analar, England)
15. Sulfuric acid (H₂SO₄) (J.T. Baker, Thailand)
16. น้ำกลั่น (โพลสตาร์, ประเทศไทย)

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องกะเทาะเปลือกข้าวขนาดทดลอง (Satake, Japan)
2. เครื่อง Color Quest II Colorimeter (Chroma Meter CR300 Series, Minolta, Japan)
3. เครื่อง Texture Analyzer (TA.XT Plus, Stable Micro Systems Ltd., England)
4. เครื่อง Differential Scanning Calorimetry (Perkin Elmer รุ่น Pyris Diamond DSC, Perkin Elmer inc., USA)
5. เครื่องอ่างไอน้ำ (water bath) (GFL รุ่น 1032, Gessellschaft Fur Labortechnik, Germany)
6. หม้อหุงข้าวไฟฟ้า (Otto Model CR-110, Thailand)
7. ไมโครเวฟ กำลังวัตต์สูงสุด 805 วัตต์ (LG รุ่น Wavedom, LG electronic Co.Ltd, Thailand)
8. ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า (Hot air oven) (Memmert รุ่น ULM500, Memmert, Germany)
9. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) (Hermle, Germany)
10. โถดูดความชื้น (Dessicator) ที่มี silica gel
11. ตู้เย็น (Sanyo, Thailand)
12. เครื่องปั่น (Philips รุ่น Twist, Indonesia)
13. เครื่อง Hot plate and magnetic stirrer (Heidolph รุ่น MR 3001, Germany)
14. Magnetic bar
15. เตาเผาไฟฟ้าควบคุมอุณหภูมิได้ (muffle furnace) (Carbolite รุ่น ELF11/6B, Carbolite, England)
16. ตู้ดูดควัน (hood) (Toplab, Toblab Design & Technology, Thailand)
17. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Precisa, Switzerland)
18. เครื่องปิดผนึกแบบใช้ความร้อน (A master, Num Charoen, Thailand)
19. เครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ (Audion รุ่น Audionvac vm 203, Holland)
20. เครื่องปิดผนึกแบบไนโตรเจน (Berkel Supervac รุ่น Supervac, England)
21. เครื่องแยกของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) (Shimadzu รุ่น Class-vp, Shimadzu Corporation, Japan)
22. เครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrometer (Varian รุ่น SpectrAA 220 FS, Varian Inc., USA)

23. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Combustion (Leco รุ่น FP528, Leco Corporation, USA)

3.4 วิธีการศึกษา

แผนการทดลองประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก (ภาพที่ 3.1) คือ การศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและระยะเวลาการย่อยเส้นใย การศึกษาผลของระดับพลังงานและเวลาให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ และการศึกษาผลของวิธีการบรรจุที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของข้าวกล้องคัดแปร ซึ่งรายละเอียดการดำเนินการวิจัยในแต่ละขั้นตอน มีดังต่อไปนี้

3.4.1 การศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและระยะเวลาการย่อยเส้นใย ระดับพลังงานและเวลาการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ

1.) การเตรียมตัวอย่างข้าวเปลือกและข้าวกล้อง

เก็บตัวอย่างข้าวเปลือกข้าวหอมมะลิ 105 จากสถานีวิจัยเกษตร เขตชลประทาน จังหวัดเชียงใหม่ เก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2551 วิเคราะห์ปริมาณความชื้นของข้าวเปลือกด้วยวิธี AOAC (2000) นำตัวอย่างข้าวเปลือกไปกะเทาะเปลือกออกด้วยเครื่องกะเทาะเปลือกขนาดทดลอง ได้เป็นข้าวกล้องเริ่มต้น เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีน ปิดสนิทและแช่เย็นทันทีเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสและป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชัน ผลิตข้าวกล้องใหม่สำหรับการทดลองแต่ละตอน

2.) การย่อยเส้นใยข้าวกล้องด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

นำตัวอย่างของข้าวกล้อง (100 กรัม) ไปย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสภายในเวลาไม่เกิน 60 นาทีหลังการกะเทาะเปลือก ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ (1.5, 3.5 และ 5.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ในอัตราส่วนข้าว : สารละลายเอนไซม์ เท่ากับ 1:1.5 (อุณหภูมิและ pH ของน้ำที่ใช้เท่ากับ 26.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส และ 6.59 ตามลำดับ) และระยะเวลาในการย่อย 3 ระดับ (1, 2 และ 3 นาที) (Hammond, 1994) โดยออกแบบการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (Factorial in CRD) ขนาด 3×3 ทดลอง 3 ซ้ำ ใช้ข้าวกล้องเริ่มต้นที่ไม่ผ่านการย่อยเส้นใยด้วยเอนไซม์เป็นตัวอย่างควบคุม

นำตัวอย่างข้าวกล้องที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสไปสะเด็ดน้ำและซับให้แห้งด้วยกระดาษซับน้ำและนำไปผ่านการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟทันที โดยใช้กำลังไมโครเวฟที่ระดับ

850 วัตต์ เป็นเวลา 1.5 นาที ซึ่งจะไม่ทำให้ข้าวเกิดการไหม้หรือสูญเสียความชื้นมาก ปล่อยให้ข้าวกล้องเย็นแล้วบรรจุในถุงพลาสติกปิดสนิท เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงระหว่างการรอวิเคราะห์ต่อไป ใช้ข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการย่อยเส้นใยและให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นตัวอย่างควบคุม วิเคราะห์คุณภาพของตัวอย่างข้าวกล้อง ดังนี้

2.1) การวิเคราะห์ทางกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b โดยใช้เครื่อง Color Quest II Colorimeter (Chroma meter CR 300 Series, Japan)
- ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)
- คุณภาพการหุง ได้แก่ length expansion ratio, volume expansion ratio, water uptake ratio และ optimum cooking time (Mohapatra and Bal, 2006) โดยควบคุมอัตราส่วนข้าว:น้ำ = 5 กรัม/100 มิลลิลิตร
- การเกิดเจลลาติในเซชันด้วยวิธี Differential Scanning Calorimetry (DSC) (สันสนีย์, 2548)
- เนื้อสัมผัสของข้าวกล้องหุงสุกด้วยเครื่อง Texture Analyzer โดยวิเคราะห์ Texture Profile Analysis (Gujral and Kumar, 2003) หุงข้าวกล้องโดยใช้หม้อหุงข้าวไฟฟ้าอัตโนมัติ

2.2) การวิเคราะห์ทางเคมี

- ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Zhao *et al.*, 2007)

2.3) การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส

- ให้ผู้ทดสอบชิม ประเมินความชอบที่มีต่อคุณภาพของข้าวกล้องหุงสุกทางด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม โดยวิธี 9-point Hedonic scale test ให้ผู้ทดสอบชิม 50 คน (ไพโรจน์, 2535) วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยหาความแปรปรวนโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (ไพโรจน์, 2535) เลือกข้าวกล้องจากสถานะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ทดลองในขั้นตอนต่อไป โดยพิจารณาจากคุณภาพการหุง เนื้อสัมผัส และคะแนนความชอบที่มีต่อคุณภาพของข้าวกล้องหุงสุกจากการประเมินโดยผู้ทดสอบชิม

3.) การศึกษาผลของระดับการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ

นำตัวอย่างข้าวกล้องที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ในสภาวะที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 2 ไปศึกษาผลของการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่ระดับกำลังไมโครเวฟ 3 ระดับ (850 วัตต์ 680 วัตต์ และ 510 วัตต์) และเวลาให้ความร้อน 3 ระดับ (30, 60 และ 90 วินาที) ออกแบบการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (Factorial in CRD) ขนาด 3×3 ทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากให้ความร้อนแก่ตัวอย่างข้าวกล้องด้วยไมโครเวฟ ปล่อยให้ข้าวกล้องเย็นแล้วบรรจุในถุงพลาสติกปิดสนิท เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงระหว่างการรอวิเคราะห์ต่อไป ใช้ข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการย่อยเส้นใยและให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นตัวอย่างควบคุม วิเคราะห์คุณภาพของตัวอย่างข้าวกล้อง โดยวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและประสาทสัมผัสเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีได้แก่ ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Zhao *et al.*, 2007) และกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (Prabhu *et al.*, 2006)

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยหาความแปรปรวนโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (ไพโรจน์, 2535) เลือกข้าวกล้องจากสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ทดลองในขั้นตอนต่อไป โดยพิจารณาจากคุณภาพการหุง เนื้อสัมผัส ปริมาณกรดไขมันอิสระ กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส และคะแนนความชอบที่มีต่อคุณภาพของข้าวกล้องหุงสุกจากการประเมินโดยผู้ทดสอบชิม

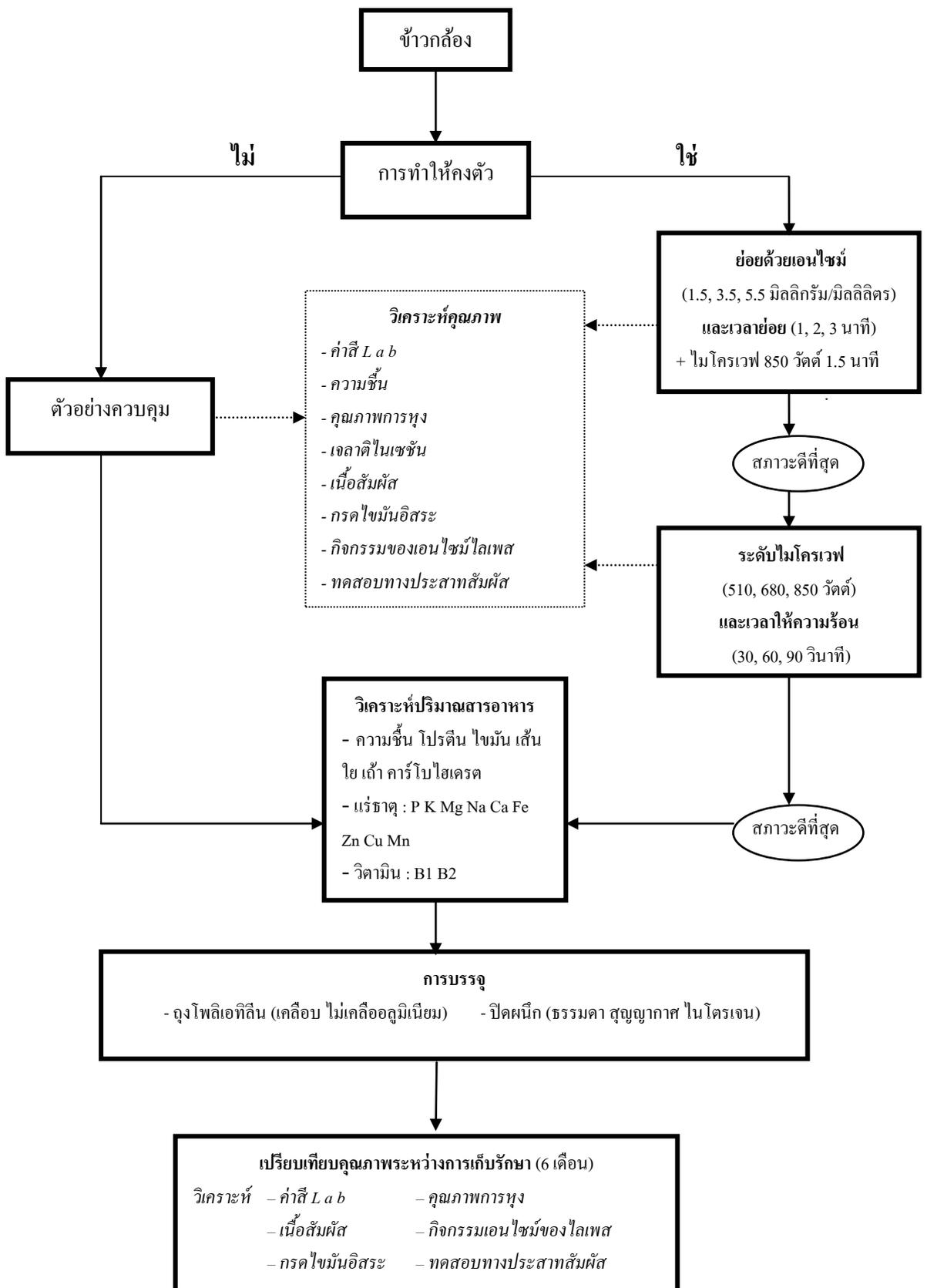
4.) การวิเคราะห์องค์ประกอบของข้าวกล้องที่ผ่านการทำให้คงตัว

ผลิตตัวอย่างข้าวกล้องตามสภาวะการผลิตที่เหมาะสมที่สุดจากขั้นตอนการทดลองที่ 3 และนำตัวอย่างข้าวกล้อง (ตัวอย่างควบคุม) ไปวิเคราะห์ปริมาณสารอาหาร โดยใช้วิธีวิเคราะห์มาตรฐานของ AOAC (1995, 2000) ดังนี้

- ความชื้น
- โปรตีน
- ไขมัน
- คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด
- เส้นใยอาหารทั้งหมด
- เถา
- วิตามิน บี1 และ บี2
- แร่ธาตุ (ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม โซเดียม แคลเซียม เหล็ก สังกะสี ทองแดง และแมงกานีส)

5.) การศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และวิธีการบรรจุต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวกล้อง ตัดแปรเนื้อสัมผัส ระหว่างการเก็บรักษา

นำตัวอย่างข้าวกล้องที่ผลิตโดยใช้สภาวะการผลิตที่เหมาะสมที่สุดในขั้นตอนการทดลองที่ 3 มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา โดยบรรจุข้าวกล้องตัดแปรในถุง โพลีเอทิลีนเคลือบและไม่เคลือบอลูมิเนียม ถุงละ 200 กรัม ปิดผนึกแบบธรรมดา แบบเติมก๊าซ ไนโตรเจน และแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน สุ่มตัวอย่างทุก 1 เดือน วิเคราะห์คุณภาพดังนี้ ค่าสี คุณภาพการหุง เนื้อสัมผัส กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ปริมาณกรดไขมันอิสระ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ชิม ตามวิธีในขั้นตอนที่ 3 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติต่าง ๆ ของข้าวกล้องตัดแปรระหว่างการเก็บรักษา วางแผนการทดลองแบบ 2×3 Factorial in CRD ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 3.1 กระบวนการผลิตข้าวกล้องดัดแปรเนื้อสัมผัสและทำให้คงตัวด้วยไมโครเวฟ