ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และคุณภาพการหุง

การวัดสีระบบฮันเตอร์ (Hunter Lab)

เป็นการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Color Quest II Sphere (Chroma meter CR 300 Series, Japan) วัดค่าสีในระบบฮันเตอร์ โดยค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) a เป็นค่าสีแดงและเขียว (Redness/Green) และ b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

L คือค่าความสว่าง	มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
a คือค่าสีแดงและสีเขียว	เมื่อ a มีค่าบวก เป็นสีแดง
	เมื่อ a มีค่าลบ เป็นสีเขียว
b คือค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน	เมื่อ b มีค่าบวก เป็นสีเหลือง
	เมื่อ b มีค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

ก่อนการวัดทุกครั้งต้องปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) โดยการใช้กระบอกสีดำ

แผ่นสีขาวมาตรฐาน	(x=81.17, y=86.12, z=91.78)
แผ่นสีเทามาตรฐาน	(x=48.58, y=51.74, z=54.01)
แผ่นสีเขียวมาตรฐาน	(x=17.73, y=23.35, z=18.91)

การวัดตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างใส่ภาชนะที่เครื่องวัดสีสามารถวัดได้
2. ปรับมาตรฐานเครื่องวัดสี
3. ใช้เครื่องวัดสีวัดค่าสีของตัวอย่าง

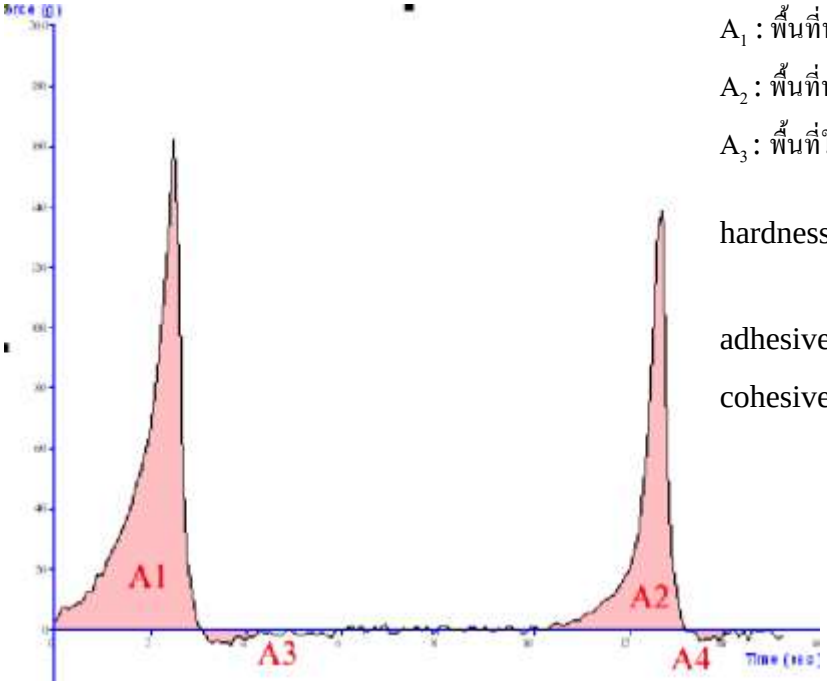
การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของข้าวกล้องด้วยวิธี Texture Profile Analysis (Mohapatra and Bal, 2006)

การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างข้าวกล้องโดยการต้มข้าว 10 กรัม ในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 200 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 100 ± 1 องศาเซลเซียส จนกระทั่งใจกลางสีขาวของข้าวหายไป ซับน้ำที่ติดอยู่กับเมล็ดข้าวออกไป จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสในขณะที่ตัวอย่างยังคงร้อน ด้วยเครื่อง Texture analyzer (TA.XT Plus, Stable Micro Systems Ltd., England) โดยสภาวะที่ใช้ดังต่อไปนี้

Probe : P/6	Pre-test speed : 1 mm/s
Test speed : 0.5 mm/s	Post-test speed : 0.5 mm/s
Target mode : 60% strain	Time : 5 sec
Trigger type : Auto (Force)	Tricker force : 0.04903 N

หมายเหตุ : วัดคุณสมบัติทางลักษณะเนื้อสัมผัสได้แก่ hardness, adhesiveness และ cohesiveness โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างทางเนื้อสัมผัสทั้งหมดทดสอบด้วยการทำซ้ำ 10 ครั้งในแต่ละตัวอย่าง



A_1 : พื้นที่หลังจากเกิดการกดครั้งแรก

A_2 : พื้นที่หลังจากเกิดการกดครั้งที่ 2

A_3 : พื้นที่ใต้กราฟเนื่องจากความเหนียว

hardness : แรงสูงสุดที่เกิดจากการกดครั้งแรก (นิวตัน)

adhesiveness : พื้นที่ A_3 (นิวตัน วินาที)

cohesiveness : พื้นที่ A_2/ A_1 (อัตราส่วน)

ภาพที่ ก-1 ตัวอย่างกราฟ Texture profile analysis

การวิเคราะห์หาระดับการเกิดเจลาติไนเซชันด้วยวิธี Differential Scanning Calorimetry (ศันสนีย์, 2548)

การเตรียมตัวอย่าง

บดตัวอย่างข้าวให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำตัวอย่างข้าวผสมกับน้ำกลั่นให้มีอัตราส่วนแป้งข้าวต่อน้ำ เท่ากับ 30:70 ผสมตัวอย่างให้เข้ากัน จากนั้นนำตัวอย่างแป้งข้าวผสมน้ำที่ได้ปริมาณ 20 มิลลิกรัม ใส่ในถ้วยตัวอย่าง (pan) ขนาด 40 ไมโครลิตร ทิ้งให้อิ่มตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมงหรือมากกว่านั้น จากนั้นนำมาวิเคราะห์การเกิดเจลาติไนเซชันด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DCS) ใช้ถ้วยตัวอย่างเปล่าเป็นตัวอ้างอิง และกำหนดอุณหภูมิในการให้ความร้อนที่ 40 องศาเซลเซียส ถึง 110 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราเร็วในการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 5 องศาเซลเซียส/นาที วิเคราะห์การเกิดเจลาติไนเซชันจากอุณหภูมิเริ่มต้น (onset temperature, To_{gel}) อุณหภูมิสูงสุด (peak temperature, Tp_{gel}) อุณหภูมิสุดท้าย (end temperature, Te_{gel}) และพลังงานเอนทัลปี (enthalpy, /ΔH_{gel})

วิธีการ

1. เปิดแก๊สฮีเลียม
2. เปิด stabilizer
3. เปิดเครื่อง DSC
4. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์---> เปิดโปรแกรม pyris Manager ---> คลิกปุ่ม diamond DSC
5. ตั้งอุณหภูมิเริ่มต้นไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส
6. เปิด window ---> Instrument Viewer ---> View calibrate ---> Open ---> เลือกไฟล์ calibrate ที่จะใช้งาน ---> ปิดหน้าต่าง calibrate
7. ปรับมาตรฐาน (calibrate)โดยใช้ indium เป็นตัวปรับมาตรฐาน โดยตั้งโปรแกรม heat ตั้งแต่ 50 องศาเซลเซียส จนถึง 170 องศาเซลเซียส โดยมี flow rate 10 องศาเซลเซียส/นาที
8. คำนวณพื้นที่ใต้กราฟ โดย indium จะมี ΔH เท่ากับ 28.450 จูล/กรัม และมีอุณหภูมิ 156/6 องศาเซลเซียส ค่าที่คำนวณได้ไม่ควรต่างจากมาตรฐานเกินร้อยละ 1
9. เปิด window ---> Method Editor ใส่ชื่อตัวอย่างลงในช่อง Sample Info
10. Initial State อุณหภูมิเริ่มต้น ใช้ที่ 40 องศาเซลเซียส
11. เข้า Program

a. Hold ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

b. Heat จาก 40 จนถึง 110 องศาเซลเซียส โดยใช้ flow rate 5 องศาเซลเซียส/นาที

12. หา base line โดยใช้สภาวะการทดลองเหมือนกับตัวอย่าง
13. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เตรียมไว้ในขวดแก้วใส่ใน pan ประมาณ 15-20 มิลลิกรัม
14. ใส่ตัวอย่างด้านซ้ายในช่องใส่ตัวอย่าง ด้านขวาใส่ reference pan ---> วิเคราะห์ตัวอย่างตามโปรแกรมอุณหภูมิที่กำหนดไว้โดยกดปุ่ม go to temperature ---> รอจน heat flow นิ่ง แล้วจึงค่อยกดปุ่ม start
15. วิเคราะห์ผลจากกราฟโดยใช้โปรแกรม ของ pyris 1 Data Analysis เพื่อวิเคราะห์อุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชัน

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

หลักการ

เป็นการหาน้ำหนักที่เหลืออยู่หลังจากการระเหยน้ำและสารที่ระเหยได้ออกไปจากผลิตภัณฑ์ ภายใต้อุณหภูมิที่กำหนด

1. อุปกรณ์

1.1 กระป๋องอบความชื้น (Moisture can)

1.2 ที่คีบกระป๋อง (Tong)

1.3 ช้อนตักสาร (Spatula)

1.4 โถดูดความชื้น (Desiccator) ที่มีสารดูดความชื้น เช่น ซิลิกาเจล

2. เครื่องมือ

2.1 เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical balance)

2.2 ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า (Hot air oven)

3. วิธีวิเคราะห์

3.1 อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝา ที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W_1)

3.2 ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (2-3 กรัม) ใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบเรียบร้อยแล้ว และชั่งน้ำหนัก (W_2)

3.3 นำกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาโดยเปิดฝาออกไปอบที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ100±2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

3.4 นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า โดยปิดฝาทันที และปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

3.5 นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักที่คงที่ (น้ำหนักที่คงที่หมายความว่าผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) (W_3)

4. วิธีคำนวณ

ปริมาณความชื้น ร้อยละของน้ำหนัก = $[(W_2 - W_3) \times 100]/(W_2-W_1)$

W_1 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้น เป็น กรัม

W_2 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ เป็น กรัม

W_3 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างหลังอบ เป็น กรัม

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

หลักการ

เป็นการหาปริมาณสารที่เหลือจากการเผาตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 525-550 องศาเซลเซียส ในเตาเผาไฟฟ้า

1. อุปกรณ์

1.1 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Crucible)

1.2 ตะเกียงบุนเซน (Bunsen burner)

1.3 โถดูดความชื้น (Desiccators) ที่มีสารดูดความชื้น เช่น ซิลิกาเจล

2. เครื่องมือ

2.1 เตาไฟฟ้าที่ปรับและควบคุมอุณหภูมิได้ (Heating mantle)

2.2 เตาเผาไฟฟ้า (Muffle furnace)

2.3 ตู้ดูดควัน (Fume hood)

2.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งน้ำหนักได้ละเอียด 0.1 มิลลิกรัม (Analytical balance)

3. วิธีวิเคราะห์

3.1 เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 525-550 องศาเซลเซียส (เท่ากับอุณหภูมิที่ใช้เผาตัวอย่าง) นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_1) และใส่ตัวอย่างในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ชั่งให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2-3 กรัม (W_2)

3.2 นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้าหรือตะเกียงบุนเซน โดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อย จนตัวอย่างไหม้เกรียม และเผาจนหมดควัน ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของเหลวหรือกึ่งแข็งกึ่งเหลวให้นำตัวอย่างไประเหยแห้งบนเครื่องอังน้ำก่อนนำไปเผาบนเตาไฟฟ้า

3.3 นำไปเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 525-550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (ถ้าเถ้าที่ได้ไม่ขาว ให้นำเถ้าออกมาจากเตาเผา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วหยดน้ำเล็กน้อยพอเปียกชุ่ม ระวังอย่าให้เถ้าฟุ้งหรือกระเด็น นำไประเหยให้แห้งบนเครื่องอังน้ำ และทำซ้ำตามข้อ 5.2 จนเถ้าขาวและได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักคงที่ หมายถึง ผลต่างของการชั่งสองครั้งติดกันมีค่าไม่เกิน 2 มิลลิกรัม)) ชั่งน้ำหนักที่ได้ (W_3)

4. วิธีคำนวณ

ปริมาณเถ้าทั้งหมด ร้อยละของน้ำหนัก = $[(W_3-W_1)x100] /W_2-W_1$

W_1 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ เป็น กรัม

W_2 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่าง เป็น กรัม

W_3 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและเถ้า เป็น กรัม

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน โดยวิธีโรส-กอตต์เลียบ (Rose-Gottlieb) (AOAC, 2000)

หลักการ

เป็นการสกัดตัวอย่างที่ละลายในน้ำ โดยทำการย่อย (Hydrolysis) ด้วยสารละลายแอมโมเนียแล้วจึงสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

1. อุปกรณ์

1.1 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.2 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบและชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

1.3 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.4 โถดูดความชื้น (Desiccator) ที่มีสารดูดความชื้น เช่น ซิลิกาเจล

1.5 กรวยแยก ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เครื่องมือ

2.1 เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical balance)

2.2 ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า (Hot air oven)

2.3 ตู้ดูดควัน (Fume hood)

2.4 เครื่องอังไอน้ำ (Water bath)

3. สารเคมี

3.1 ไดเอทิล อีเทอร์ (Diethyl ether) ปราศจากเปอร์ออกไซด์

3.2 ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) จุดเดือด 30-60 องศาเซลเซียส

3.3 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide) ความเข้มข้นร้อยละ 25-30 ใสและไม่มีสี

3.4 เอทิล แอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol; C_2H_5OH) ความเข้มข้นร้อยละ 95

3.5 สารละลายผสมข้อ 5.1 และ 5.2 อัตราส่วน 1:1

4. วิธีวิเคราะห์

4.1 ชั่งตัวอย่างด้วยน้ำหนักที่แน่นอน (0.5-1.0 กรัม) (W_1) ถ่ายตัวอย่างลงในกรวยแยก

4.2 เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างละลาย

4.3 เติมสารละลายแอมโมเนีย 1.23 มิลลิลิตร (ถ้าตัวอย่างมีรสเปรี้ยวให้เพิ่มปริมาณเป็น 2 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากัน

4.4 เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ

4.5 เติมไดเอทิล อีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวัง โดยการค่อยๆเปิด

4.6 เติมปิโตรเลียม อีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวังเหมือนเดิม ล้างจุกด้วยสารละลายผสมจำนวนเล็กน้อย

4.7 ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น (ประมาณ 30 นาที) ถ่ายสารละลายส่วนใสชั้นบนใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบและชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (W_2)

4.8 เติมเอทิลแอลกอฮอล์ อีก 1 มิลลิลิตร ทำการสกัดเหมือนข้อ (6.5) และ (6.7) แต่เปลี่ยนปริมาณ ไดเอทิลอีเทอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นอย่างละ 15 มิลลิลิตร

4.9 นำบีกเกอร์ไปอังที่เครื่องอังน้ำที่อยู่ในตู้ดูดควัน จนปริมาณไดเอทิล อีเทอร์ และปิโตรเลียม อีเทอร์ ระเหยออกจนหมด จึงนำไปอบต่อในตู้ลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_3)

5. วิธีคำนวณ

ปริมาณไขมัน ร้อยละของน้ำหนัก = $[(W_3-W_2)x100] /W_1$

W_1 = น้ำหนักของตัวอย่าง เป็น กรัม

W_2 = น้ำหนักของบีกเกอร์ เป็น กรัม

W_3 = น้ำหนักของบีกเกอร์ที่มีไขมัน เป็น กรัม

การวิเคราะห์หาปริมาณกาก โดยวิธีการย่อยด้วยกรดและด่าง (AOAC, 2000)

หลักการ

เป็นการย่อยตัวอย่างด้วยสารละลายกรดและด่าง ภายใต้ภาวะที่กำหนด นำส่วนที่เหลือจากการย่อยไปอบและเผา คำนวณหาส่วนที่หายไปหลังจากการเผา

1. อุปกรณ์

1.1 บีกเกอร์ทรงสูงชนิดไม่มีปาก ขนาด 600 มิลลิลิตร

1.2 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.3 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.4 ขวดกลมก้นแบนบรรจุน้ำ

1.5 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

1.6 กรวยบุคเนอร์ (Buchner funnel)

1.7 ขวดสำหรับกรองดูด (Suction flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร พร้อมอุปกร์

1.8 ขวดน้ำกลั่น (Wash bottle) ขนาด 500 มิลลิลิตร

1.9 กระดาษกรอง What man เบอร์ 541

1.10 ถ้วยกระเบื้อง (Porcelain basin)

1.11 กระดาษลิตมัส (Litmus paper)

1.12 โถดูดความชื้น (Desiccator) ที่มีสารดูดความชื้น เช่น ซิลิกาเจล

2. เครื่องมือ

2.1 เตาไฟฟ้า (Hot plate)

2.2 ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า (Hot air oven)

2.3 เตาเผาไฟฟ้าควบคุมอุณหภูมิได้ (Muffle furnace)

2.4 เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical balance)

2.5 เครื่องอังไอน้ำ (Water bath)

3. สารเคมี

3.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (0.255±0.005 M)

3.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์(Sodium hydroxide; NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (0.313±0.005 M)

3.3 เอทิล แอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol; C_2H_5OH) ความเข้มข้นร้อยละ 95

4. วิธีวิเคราะห์

4.1 ชั่งตัวอย่างที่มีไขมันไม่เกิน 1% หรือตัวอย่างที่สกัดไขมันออกและอบเรียบร้อยแล้ว ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 1 กรัม (W_1) ใส่บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร

4.2 ตวงสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 1.25 จำนวน 200 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวง ใส่บีกเกอร์ที่มีตัวอย่างอยู่ นำไปต้มบนเตาไฟฟ้าโดยปิดปากบีกเกอร์ด้วยขวดแก้วกลมขนาด 500 มิลลิลิตร บรรจุน้ำกลั่น เพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที

4.3 กรองทันทีด้วยกรวยบุคเนอร์ที่มีกระดาษกรองเบอร์ 541 (W_2) (ที่ผ่านการอบให้แห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน) โดยใช้แรงสุญญากาศผ่านขวดแก้วสำหรับกรองดูด

4.4 ฉีดล้างสิ่งที่เหลือบนบีกเกอร์ ด้วยน้ำร้อนหลายๆครั้งลงในกรวยบุคเนอร์

4.5 ล้างสิ่งที่ตกค้างบนกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด ทดสอบด้วยสารละลายที่กรองได้ไม่เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากสีน้ำเงินเป็นแดง

4.6 ตวงสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 จำนวน 200 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าจนร้อนแล้วนำไปใส่ขวดน้ำ และฉีดล้างกากบนกระดาษกรองลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร จนหมด

4.7 นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยใช้ขวดก้นกลมปิดปากของบีกเกอร์ให้สนิทเพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที

4.8 กรองทันทีผ่านกรวยบุคเนอร์ซึ่งบุด้วยกระดาษกรองเบอร์ 541 ฉีดน้ำกลั่นให้แนบสนิทกับกรวยบุคเนอร์แล้วฉีดล้างสิ่งที่เหลือบนบีกเกอร์ ด้วยน้ำร้อนหลายๆครั้งลงในกรวยบุคเนอร์

4.9 ล้างสิ่งที่ตกค้างบนกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนจนหมดด่าง ทดสอบด้วยสารละลายที่กรองได้ไม่เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากสีแดงเป็นน้ำเงิน

4.10 นำกระดาษกรองวางบนถ้วยกระเบื้อง (W_3) นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_4)

4.11 เผาถ้วยกระเบื้องพร้อมกระดาษกรองที่อบเรียบร้อยแล้วในเตาเผา อุณหภูมิ 550±25 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_5)

5. วิธีคำนวณ

ใช้ตัวอย่างที่กำจัดความชื้นและไขมันออกแล้ว

ปริมาณกาก ร้อยละของน้ำหนัก = $[(W_4-W_3-W_2)-(W_5-W_3)x100] /W_1$

W_1 = น้ำหนักของตัวอย่าง เป็น กรัม

W_2 = น้ำหนักของกระดาษกรอง เป็น กรัม

W_3 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง เป็น กรัม

W_4 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง+กระดาษกรอง+กากหลังการอบแห้ง เป็น กรัม

W_5 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง+กากหลังจากการเผา

การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต/คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยการคำนวณ (AOAC, 2000)

หลักการ

- เป็นการหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตเป็นร้อยละ โดยการคำนวณจาก สูตร 100 ลบด้วยผลรวมของปริมาณร้อยละของความชื้น (หรือน้ำ) โปรตีน ไขมัน กาก และเถ้า
- การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเป็นร้อยละ โดยการคำนวณจาก สูตร 100 ลบด้วยผลรวมของปริมาณร้อยละของความชื้น (หรือน้ำ) โปรตีน ไขมัน และเถ้า

เอกสารอ้างอิง

2.1 Method of Analysis for Nutrition Labeling, by Darryl M. Sullivan and Donald E. Carpenter, AOAC INTERNATIONAL, p8

2.2 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข 2535

2.3 วิธีวิเคราะห์ความชื้น/ของแข็งทั้งหมด ไขมัน โปรตีน เถ้า กาก

1. วิธีวิเคราะห์

นำผลวิเคราะห์ความชื้น/น้ำและของแข็งทั้งหมด โปรตีน ไขมัน กาก และเถ้า ในตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

2. วิธีคำนวณ

%คาร์โบไฮเดรต = 100 – (%ความชื้น/น้ำ + %ไขมัน + %โปรตีน + %กาก + %เถ้า)

%คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด = 100 – (%ความชื้น/น้ำ + %ไขมัน + %โปรตีน + %เถ้า)

การวิเคราะห์หาค่าพลังงานความร้อนโดยการคำนวณ

หลักการ

เป็นการหาค่าพลังงานความร้อนเป็นกิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม โดยการคำนวณจากผลรวมของ %คาร์โบไฮเดรต x 4 %ไขมัน x 9 และ %โปรตีน x 4

เอกสารอ้างอิง

2.1 Method of Analysis for Nutrition Labeling, by Darryl M. Sullivan and Donald E. Carpenter, AOAC INTERNATIONAL, p8

2.2 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข 2535

2.3 วิธีวิเคราะห์ความชื้น/ของแข็งทั้งหมด ไขมัน โปรตีน เถ้า กาก

1. วิธีวิเคราะห์

นำผลวิเคราะห์โปรตีน ไขมัน และการคำนวณหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต มาคำนวณหาค่าพลังงานความร้อน

2. วิธีคำนวณ

ค่าพลังงานความร้อน = (%คาร์โบไฮเดรต x 4) + (%ไขมัน x 9) + (%โปรตีน x 4)

หน่วยเป็น กิโลแคลอรี/100 กรัม

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันอิสระ (Zhao et al., 2007)

วิธีการ

1. ผสม ethanol 50 มิลลิลิตร ลงไปในแป้งข้าวกล้องที่ผ่านการบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.2 มิลลิเมตร
2. กวนด้วย magnetic bar ใน magnetic stirrer เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4
3. นำสารละลายส่วนที่กรองได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 50 มิลลิลิตร
4. ไทเทรตด้วย 0.01 M potassium hydroxide (KOH) โดยใช้ phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์
5. ปริมาตรของ KOH ที่ใช้ไทเทรตถูกใช้คำนวณหาปริมาณกรดไขมันอิสระ ดังสมการ

$$\text{ปริมาณกรดไขมันอิสระ (ร้อยละ)} = B \times 282 \times 10^{-3}/A$$

เมื่อ A = น้ำหนักของตัวอย่างข้าวที่ใช้ทดสอบ (กรัม)

B = ปริมาตรสุทธิของ KOH ที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

282 = แฟคเตอร์ในการคำนวณเทียบกับกรดโอเลอิค

การวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (Prabhu *et al*., 1999)

1. การเตรียมตัวอย่าง

สกัดไขมันออกจากรำข้าวโดยใช้ตัวอย่างข้าวกล้อง 10 กรัม แกว่งในสารละลาย n-hexane ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที ทั้งหมด 3 ครั้งโดยเปลี่ยนสารละลายที่ใช้สกัดทุกครั้งหลังการสกัดเสร็จ นำตัวอย่างข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันแล้วผึ่งให้แห้งในอากาศเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้ hexane ที่ติดอยู่กับตัวอย่างข้าวกล้องระเหยตัวออกไปอย่างสมบูรณ์

2. วิธีการ

1. นำตัวอย่างข้าวกล้องที่ผ่านการสกัดไขมันออกมาสกัดเอนไซม์ไลเปสต่อด้วย potassium phosphate buffer (pH 7.0) ความเข้มข้น 50 mM ที่มี calcium chloride 0.5 mM ซึ่งพบว่าเป็นระดับความเข้มข้นที่สามารถสกัดเอนไซม์ไลเปสได้ดีที่สุด

2. สกัดเอนไซม์ในตัวอย่างข้าวกล้องเป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

3. นำสารแขวนลอยที่ได้หลังจากการสกัดมาเหวี่ยง 50 rps เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำซ้ำจำนวน 2 ครั้ง

4. นำสารละลายส่วนใสที่อยู่ด้านบน (supernatants) 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 7.5% gum acacia

5. จากนั้นนำสารละลายผสมที่ได้ 2 มิลลิลิตร ผสมกับ tributyrin 1 มิลลิลิตร คนสารละลายผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาทีเพื่อให้เกิดอิมัลชันที่คงตัว

6. นำสารละลายที่ได้ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ methanol 10 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตด้วยสารละลาย 0.1 N sodium hydroxide โดยใช้ phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์

กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสแสดงเป็น หน่วยของเอนไซม์ไลเปสต่อน้ำหนักเป็นกิโลกรัมของข้าวกล้อง (LU/kg) คำนวณได้จากสมการ

$$LU/kg = K \times N \times 1000/(W \times 0.001 \times R)$$

เมื่อ K = ปริมาตรสุทธิจากการไทเทรต (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของ sodium hydroxide ในหน่วย normality

W= น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

R = reaction time ที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ (นาที)

(National Research Council, 1981)

การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุด้วย Atomic Absorption Spectrophotometric Method (AOAC, 2000)

หลักการ

สารประกอบอินทรีย์ถูกเผาให้เป็นเถ้าด้วยเตาเผาไฟฟ้า นำเถ้าที่เหลือมาละลายด้วยกรดเจือจางและวิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometry

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว – ทำความสะอาดเครื่องแก้วด้วยการแช่ข้ามคืนในสารละลาย 20% HNO_3 (v/v) ล้างเครื่องแก้วด้วยน้ำกลั่น หรือ deionized water
2. จานสำหรับใช้ระเหยสาร (evaporation dish) – ใช้แก้ว vycor ที่ทนความร้อนได้ 600 องศาเซลเซียส ขนาด 100 มิลลิลิตร
3. Atomic absorption spectrophotometer
4. เตาเผา – มี pyrometer ที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิช่วง 250-600 ± 10 องศาเซลเซียส

สารเคมี

1. น้ำ – น้ำกลั่น หรือ deionized water ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายที่ใช้ทดสอบ
2. Standard stock solutions – เตรียมแต่ละตัวอย่างดังนี้

โซเดียม (Na) – อบ NaCl เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นใน desiccator ชั่ง NaCl 2.5421 กรัมใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำ

โพแทสซียม (K) – อบ KCl เป็นเวลา 2 ชั่วโมง อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ทำให้ เย็นใน desiccator ชั่ง KCl 1.9068 กรัมใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำ

แคลเซียม (Ca) – ละลาย $CaCO_3$ 1.249 กรัม ใน 3M HCl ด้วยปริมาตรที่น้อยที่สุด เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร นำสารละลายที่ได้ออกมา 50 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรอีกครั้งให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำ

ทองแดง (Cu) – ละลายโลหะทองแดงบริสุทธิ์ 1.000 กรัม ใน HNO_3 ด้วยปริมาตรที่น้อยที่สุดและเติม HCl 5 มิลลิลิตรลงไป ระเหยสารละลายที่ได้จนกระทั่งแห้งและปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วย 0.1 M HCL

เหล็ก (Fe) – ละลายเหล็กบริสุทธิ์ 1.000 กรัม ใน 6M HCl 30 มิลลิลิตรด้วยการต้ม ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำ

แมกนีเซียม (Mg) – วางโลหะแมกนีเซียมบริสุทธิ์ 1.000 กรัมในน้ำ 50 มิลลิลิตร แล้วค่อย ๆ เติม HCl 10 มิลลิลิตรลงไปอย่างช้า ๆ จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำ

แมงกานีส (Mn) – ละลาย MnO_2 1.582 กรัม ใน 6M HCl ต้มสารละลายดังกล่าวเพื่อกำจัด Cl จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำ

สังกะสี (Zn) – ละลาย โลหะสังกะสีบริสุทธิ์ 1.000 กรัม ใน 6M HCl ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำ

ฟอสฟอรัส (P) – ละลาย $(NH_4)_2HPO_4$ 4.263 กรัมในน้ำ และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

3. Nitric acid
4. Lanthanum oxide – La_2O_3 บริสุทธิ์ 99.99%
5. Lanthanum chloride solution – $LaCl_3$ 1% (w/v), ชั่ง La_2O_3 11.7 กรัม ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติมน้ำปริมาณเพียงพอให้ผงเปียก จากนั้นค่อย ๆ เติม HCl เข้มข้น 50 มิลลิลิตรลงไปช้า ๆ ทิ้งให้ผงละลายแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น โดยสารละลาย $LaCl_3$ ที่ได้จะมีความคงตัวเป็นเวลา 6 เดือนเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง
6. Cesium chloride solution – CsCl 10% (w/v), ชั่ง CsCl 12.7 กรัม (±100 มิลลิกรัม) ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เมื่อเตรียมเสร็จจะมีอายุการใช้งานนาน 6 เดือน
7. Filter pulp – ใช้วิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่หายไป

การเตรียมเถ้า

1.ใส่ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ลงใน evaporation dish ที่ถูกทำความสะอาดแล้ว (ซึ่งอาจจะมี filter pulp 5 กรัม อยู่ในนั้นด้วย) ปริมาณของตัวอย่างที่จะใช้วิเคราะห์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแร่ธาตุในตัวอย่างนั้น (สำหรับตัวอย่างที่เป็นผง ใช้ปริมาณตัวอย่างมากกว่าหรือเท่ากับ 1.5 กรัม) โดยทั่วไปแล้วปริมาณที่พอดีคือ 25 มิลลิลิตร สำหรับแร่ธาตุบางชนิด เช่น Fe, Cu หรือ Mn ถ้าหากมีในตัวอย่างเป็นปริมาณน้อยอาจจะต้องใช้ปริมาณตัวอย่างที่จะวิเคราะห์มากขึ้น (ไม่เกิน 50 มิลลิลิตร)

2. อบตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ในตู้อบ 100 องศาเซลเซียสข้ามคืน เมื่อตัวอย่างแห้ง นำตัวอย่างไปให้ความร้อนบท hot plate จนกระทั่งหมดควัน จากนั้นนำตัวอย่างในจานไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าที่มีสีขาวและปราศจากคาร์บอน โดยทั่วไปแล้วใช้เวลา

ประมาณ 3-5 ชั่วโมง แต่ไม่ควรมากกว่า 8 ชั่วโมง นำจานที่มีตัวอย่างออกจากเตาเผาแล้วทำให้เย็น เถ้าที่ได้ควรจะมีสีขาวและปราศจากคาร์บอน ถ้าหากยังไม่ได้เถ้าสีขาวหรือเหลือส่วนที่ยังเป็นคาร์บอนอยู่ (เช่น เถ้าเป็นสีเทา) ให้นำเถ้าที่ได้มาทำให้ชุ่มน้ำแล้วเติม HNO_3 0.5-3 มิลลิลิตร ทำให้แห้งบน hot plate หรืออังบน water bath แล้วนำจานใส่ตัวอย่างไปเผาที่ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3. ละลายเถ้าที่ได้หลังการเผาใน 1M HNO_3 5 มิลลิลิตร ทำให้อุ่นบน water bath หรือ hot plate 2-3 นาทีเพื่อให้ได้สารละลาย นำสารละลายที่ได้ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย 1M HNO_3

การหาปริมาณแร่ธาตุ

1. เติมสารละลาย $LaCl_3$ ในสารละลายมาตรฐานและสารละลายที่ใช้ทดสอบเพื่อให้ได้ 0.1% (w/v) La เพื่อใช้ในการหาปริมาณของ Ca และ Mg เติมสารละลาย CsCl ในสารละลายมาตรฐานและสารละลายที่ใช้ทดสอบเพื่อให้ได้ 0.5% (w/v) Cs (0.04M) เพื่อใช้ในการหาปริมาณของ Na และ K

2. เตรียม blank และเตรียม calibration curve (concentration vs absorbance) สำหรับแต่ละตัวอย่างเพื่อที่จะใช้หาปริมาณ โดยใช้ความยาวคลื่นและชนิดของไฟที่เหมาะสมตามตารางที่ ก-1

3. ตรวจสอบปริมาณความเข้มข้นของแร่ธาตุแต่ละชนิดจาก calibration curve ของแร่ธาตุนั้น ๆ และคำนวณความเข้มข้นแต่ละตัวอย่างที่ใช้ทดสอบโดยคำนวณเทียบกับปริมาณตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

ตารางที่ ก-1 ความยาวคลื่นและชนิดเปลวไฟที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุด้วยวิธี AAS

ธาตุ	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	การปรับช่วง UV/vis	ชนิดเปลวไฟ
Ca	422.7	211-vis	Reducing air-C_2H_2
Cu	324.7	325-UV	Oxidizing air-C_2H_2
Fe	248.3	248-vis	Oxidizing air-C_2H_2
K	766.5 หรือ 769.9	383-vis	Oxidizing air-C_2H_2
Na	589.0	295-vis	Oxidizing air-C_2H_2
Mg	285.2	285-UV	Oxidizing air-C_2H_2
Mn	279.5	279-UV	Oxidizing air-C_2H_2
P	214.9	215-UV	Oxidizing air-C_2H_2
Zn	213.9	214-UV	Oxidizing air-C_2H_2

การใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ชนิด Flame atomic absorption spectrophotometer (FAAS) รุ่น SpectrAA 220 FS

1. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์แล้วเข้า Software SpectrAA

1.1 เข้าไปที่หน้าจอของโปรแกรม SpectrAA แล้วเลือกไปที่ Worksheet >> เลือก New

1.2 ขึ้นหน้าต่างการตั้ง Worksheet detail

1.3 โปรแกรมจะให้ set เครื่อง โดยเลือกไปที่หน้าต่าง Develop แล้วเลือก Add method

1.4 หน้าจอจะให้เลือก method type ให้คลิกเลือกที่ Flame

1.5 เลือกธาตุโลหะหนักต่างๆ ที่ต้องการทดสอบตามต้องการ แล้วกด OK โปรแกรมจะ Add method ที่เลือกไปเก็บใน Worksheet

1.6 Set Condition ของธาตุโลหะหนัก ที่ได้ Add method ไว้แล้ว โดยเลือกที่ Edit method

1.7 เลือกหน้าต่าง Type/Mode โดยจะมีรายละเอียดให้กรอก ดังนี้

- Element เลือกธาตุโลหะหนัก ที่ปุ่ม Select ตามที่ต้องการ
- Matrix กรอกตัวอย่างที่จะนำมาทดสอบ
- Unit กรอกหน่วยที่ต้องการทดสอบ
- Sampling Mode เลือกเป็นระบบในการทดสอบ
- Flame Type เลือกเชื้อเพลิงในการทดสอบ
- Air Flow เลือกอัตราการไหลของอากาศที่เข้าเครื่อง AAS
- Acetylene Flow เลือกอัตราการไหลของ Acetylene ที่เข้าเครื่อง AAS

1.8 เลือกหน้าต่าง Optical โดยจะมีรายละเอียดให้กรอก ดังนี้

- Lamp Position เลือกตำแหน่งของ Lamp
- Lamp Current เลือกกระแสไฟฟ้าที่ใช้
- Wavelength เลือกความยาวคลื่นที่ใช้ในการทดสอบ

2. การใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชั่นสเปกโทรมิเตอร์ ทดสอบหาปริมาณของธาตุโลหะหนัก

2.1 เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (UPS) เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์, จอภาพ, เครื่องพิมพ์

2.2 ตรวจสอบเครื่องวิเคราะห์โลหะหนัก SpectrAA 220 FS และอุปกรณ์ต่อพ่วงทั้งหมดว่าอยู่ในสภาพพร้อมใช้งาน สายรับส่งสัญญาณติดตั้งเรียบร้อย

2.3 ใส่หัวตะเกียง (burner) ที่มีความยาวของร่องตะเกียง (slot length) 10 เซนติเมตรสำหรับเชื้อเพลิงแบบใช้อากาศ-อะเซทิลีน

2.4 เสียบขาหลอดฮอลโลว์แคโทดของธาตุ เข้ากับเต้าเสียบให้ตรงร่อง กดให้แน่น

2.5 ตรวจสอบชนิดและระดับของเหลวใน Liquid trap เปลี่ยนหรือเติมให้เหมาะสม ตรวจสอบสภาพและระดับของเหลวในภาชนะรองรับของเสีย

2.6 เปิดสวิตช์เครื่องอัดอากาศ (air compressor) ระบายน้ำทิ้งให้หมดโดยเปิดวาล์วระบายน้ำทิ้ง ทดสอบโดยใช้มืออังที่ปลายท่อระบายน้ำทิ้ง ถ้ามีลมแห้งออกแสดงว่าระบายน้ำออกหมดแล้ว ปิดวาล์วท่อระบายน้ำทิ้ง

2.7 เปิดวาล์วท่อส่งแก๊ส (line) ของอากาศ โดยให้คันโยกของวาล์วของท่อส่งแก๊สขนานกับท่อส่งแก๊ส

2.8 เปิดสวิตช์ของเครื่องรักษาระดับแรงดันไฟฟ้า พร้อมทั้งกดปุ่ม RESET (สีแดง)

2.9 เปิดสวิตช์ของเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรมิเตอร์ รอสักครู่ เครื่องจะทำงาน

2.10 อุ่นเครื่องประมาณ 15 นาที

2.11 เปิดสวิตช์พัดลมดูดอากาศ

2.12 ทดสอบการทำงานของระบบระบายอากาศ (Hood) ทดสอบด้วยควันไฟ หรืออาจใช้กระดาษทิชชูเพียงชิ้นเดียว

2.13 เข้าโปรแกรม software SpectrAA ในคอมพิวเตอร์

2.14 เปิดวาล์วหัวถังแก๊สอะเซทิลีน แรงดันขาออกอยู่ระหว่าง 10 – 13 psi.

2.15 Optimize system ที่ software คลิกเลือก worksheet เลือก new form แล้วตั้งชื่อ file ของ Worksheet แล้วกด OK

2.16 ไปที่ Label Page แก้ไขชื่อของตัวอย่างที่ต้องการเปลี่ยน โดยดับเบิ้ลคลิกลงในช่อง Sample Labels

2.17 ไปที่ Instrument Page เลือกตัวอย่างที่จะวิเคราะห์

2.18 คลิกที่ปุ่ม Select ตัวชี้จะเปลี่ยนเป็นรูปปากกา ให้นำไปคลิกลงในช่องที่ต้องการวิเคราะห์ ช่องที่ถูกเลือกจะเปลี่ยนเป็นสีแดงอิฐ ยกเลิกการเลือกโดยการคลิกซ้ำ

2.19 กดปุ่ม Optimize แล้วคลิกเลือกธาตุโลหะหนักที่ต้องการ แล้วกด OK ตรวจสอบอุปกรณ์และตำแหน่งการติดตั้งให้ถูกต้องตาม Analysis Checklist ที่ เตือน แล้วกด OK รอจนได้สัญญาณ HC Lamp Emission เป็นแถบสีเขียว

2.20 Align HC Lamp หมุนปุ่มสีดำที่ใต้ฐานหลอดทั้ง 2 ปุ่ม โดยเลือกหมุนปรับที่ปุ่มใดก่อนก็ได้ ในขณะที่หมุนให้สังเกตค่า emission (แถบสีเขียว) ที่ monitor ให้หมุนไปอยู่ใน ตำแหน่งที่ให้ค่าสูงสุด แล้วเปลี่ยนไปหมุนอีกปุ่มจนได้ค่าสูงสุด และให้กลับมาหมุนปุ่มแรก อีกครั้ง ถ้าในระหว่างการปรับค่า emission สูงเกิน 1.3 ให้กด Rescale

2.21 Align Burner เพื่อให้แนวเปลวไฟที่เผาตัวอย่างอยู่ในแนวเดียวกันกับลำแสงของ HC Lamp อะตอมที่เกิดขึ้นจะได้ดูดกลืนแสงได้เต็มที่ ผลการทดสอบจะมีความถูกต้องมากขึ้น ใช้ Varian Burner Cleaning and Alignment Card เป็นอุปกรณ์ช่วยในการปรับ โดยให้วาง เส้นตั้งอยู่บนกลาง Burner Slot ที่เปลวไฟจะออกมาดังรูป ใช้ปุ่ม Adjust Burner ปรับจน แสงเข้าอยู่ภายในเป้าวงกลม จากนั้นให้เลื่อน Card ไปที่ต้นหรือท้าย Slot แล้วใช้ด้ามจับ ของตัวหมุน Burner ดันไปในทิศทางที่ทำให้แสงเข้าเป้า ตอนนี้แสงจะผ่านตลอดในแนว Slot

2.22 จุดเปลวไฟ ในขณะที่เรากดปุ่ม lignite (ปุ่มสีดำ) เครื่องจะตรวจสอบความปลอดภัยทุกจุด ค่าแรงดันและชนิดของก๊าซว่ามีเพียงพอที่จะใช้งาน จากนั้นจึงกดปุ่มไฟค้างไว้ ใช้เวลาประมาณ 5 – 10 วินาที จึงปล่อย ถ้าไฟไม่ติดจะมีการแจ้งสาเหตุให้ทราบ

2.23 กดปุ่มหน้าจอคอมพิวเตอร์อยู่ที่ Optimize Windows เป็นการ aspirate standard solution แล้วปรับประสิทธิภาพในการทำให้เกิดอะตอม ปรับตำแหน่งในการจัด Burner เพื่อให้ได้ค่าที่ดีที่สุด แล้วเปรียบเทียบกับค่า Sensitivity Check ตอนนี้ที่บนหน้าจอภาพ เราจะอยู่ที่ Optimize windows

2.24 คลิกที่ปุ่ม Optimize signal

2.25 Aspirate 1% HNO3 ปรับ Flow rate ที่ Nebulizer ให้ได้ 7– 10 มิลลิลิตร/นาที

2.26 คลิกที่ปุ่ม Inst Zero เพื่อเซ็ตให้เป็น 0.000 Abs.

2.27 Aspirate Standard Solution สารละลายมาตรฐานของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 1 mg/L

2.28 อ่านค่า Abs (แถบสีฟ้า) ที่แสดงออกมา ให้ค่าที่ได้อยู่ในช่วงยอมรับ ถ้าไม่ได้ให้ทดลองปรับ Flow rate ที่ Nebulizer ตาม ด้วยปรับระยะ impact Bead ตามด้วยปรับความสูงของ Burner, ปรับแนวราบเข้า-ออก, ปรับมุมหมุนซ้าย-ขวา, ปรับค่า Flow rate ของ อะเซทิลีน

2.29 ถ้าได้ค่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับ กดปุ่ม OK และจดบันทึกค่า Absorbance ไว้ จากนั้นกดปุ่ม Cancel ออกจากหน้าจอ Optimize

2.30 เครื่อง FAAS พร้อมที่จะวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.31 เตรียมสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างให้พร้อม แล้วกด Start

2.32 นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมตามขั้นตอนมาตรวจวิเคราะห์หาค่า Absorbance เครื่อง FAAS จะคำนวณค่าออกมา เป็นค่าความเข้มข้นของธาตุ (mg/L) ในตัวอย่าง

2.33 เมื่อสิ้นสุดการตรวจวิเคราะห์ให้ Aspirate DI water อย่างน้อย 10 นาที

2.34 กด F3 เพื่อเรียก report สั่งพิมพ์รายงาน

3. การปิดเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชั่นสเปกโทรมิเตอร์ (FAAS)

3.1 ดึงท่อพลาสติกที่ต่อกับเนบูไลเซอร์ออกจากภาชนะที่บรรจุน้ำปราศจากไอออน รอให้แห้งประมาณ 1-2 วินาที

3.2 กด EXTINGUISH

3.3 ปิดวาล์วที่ถังแก๊สโดยให้คันโยกของวาล์วตั้งฉากกับท่อส่งแก๊ส

3.4 ปิดเครื่องอัดอากาศและระบายน้ำทิ้งของเครื่องอัดอากาศ

3.5 ปิดสวิตช์เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรมิเตอร์

3.6 ปิดสวิตช์เครื่องรักษาระดับแรงดันไฟฟ้า

3.7 ปิดสวิตช์พัดลมดูดอากาศ

3.8 ปิดคอมพิวเตอร์ หน้าจอ และเครื่องพิมพ์

3.9 ปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (UPS) ของเครื่องคอมพิวเตอร์

การวิเคราะห์ปริมาณวิตามิน บี1 และวิตามิน บี2 ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Finglasa and Faulksa, 1994)

สารเคมี (HPLC grade)

1. Deionized water
2. สารละลายบัฟเฟอร์ที่ประกอบด้วย hexane sulphonic acid sodium salt, deionized water และ glacial acetic acid จะใช้ในการเตรียมตัวอย่างและแยกวิตามินออกมา
   - วิธีการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ : ชั่งน้ำหนัก hexane sulphonic acid sodium salt 1.8822 กรัม ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 2 ลิตร แล้วละลายด้วย deionized water จำนวนเล็กน้อย แล้วเติม deionized water ลงไปอีก 1500 มิลลิลิตร เติม glacial acetic acid ลงไป 20 มิลลิลิตร เพื่อรักษาสภาวะกรดปานกลาง สุดท้ายเติม deionized water ให้ครบ 2 ลิตร เพื่อช่วยในการละลายวิตามิน
3. mobile phase ประกอบด้วย methanol และสารละลายบัฟเฟอร์จากข้อ 2.

สภาวะที่ใช้แยกสาร

ใช้ reverse- phase C_{18} (250 × 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร) column (น้ำ) ในการแยกและวิเคราะห์วิตามินที่อุณหภูมิห้อง สัดส่วนของ mobile phase ที่ใช้คือ สารละลายบัฟเฟอร์ 70% และ methanol 30% การวิเคราะห์ถูกทดสอบโดยใช้ isocratic mode ที่มีอัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที และวัดที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ใช้ Riboflavin (วิตามิน บี2) และ thiamine (วิตามิน บี1) บริสุทธิ์เป็น external standards ในการวิเคราะห์ ใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารมาตรฐานในการหาช่วงของจุดที่เหมาะสมในการทำ calibration curve ชั่งน้ำหนักสารที่ใช้ปรับมาตรฐานอย่างระมัดระวังโดยใช้เครื่องชั่งดิจิตอล ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 5 มิลลิลิตรลงไปใน volumetric flask เหวี่ยง volumetric flask เพื่อทำให้แน่ใจว่าสารที่เตรียมลงไปละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นจึงกรอง สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันนี้จะถูกนำไปวิเคราะห์ในสภาวะการแยกที่เหมือนกัน

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เป็นของแข็ง 50 กรัมลงใน volumetric flask แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1000 มิลลิลิตรลงไป เหวี่ยง volumetric flask เพื่อให้สารผสมละลายเข้าด้วยกันที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมบัฟเฟอร์ลงไปอีก 1000 มิลลิลิตร กรองตัวอย่างด้วย millipore filter (0.22 ไมโครเมตร) ก่อนที่จะฉีดตัวอย่าง เพื่อเป็นการกำจัดอนุภาคที่ไม่ละลาย สำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลวเตรียมด้วยการปิเปต 25 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์จนครบ 1000 มิลลิลิตร ก่อนฉีดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ให้กรองด้วย millipore filter (0.22 ไมโครเมตร) ด้วยเช่นกัน

การใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

หลักการ

ใช้วิเคราะห์สารที่เป็นของเหลวที่ไม่ระเหย หรือระเหยยากกว่า Mobile phase จุดเดือดสูงกว่า100 องศาเซลเซียส เช่น วิตามิน ยา น้ำตาล โปรตีน พอลิเมอร์ อาหาร เป็นต้น

1. การเปิดเครื่อง

1.1 เปิด UPS

1.2 เปิด Gas Nitrogen (N_2 99.99%)

1.3 เปิด Detector (ELSD) ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที

1.4 ตรวจดูว่าท่อต่อกับ detector ที่ตำแหน่ง gas inlet แน่นหรือไม่ (ไม่ควรใช้ gas จนหมดถัง เพราะจะทำให้ impurities ต่างๆ ที่ก้นถังเข้าสู่เครื่อง detector)

1.5 ตรวจเช็คท่อ waste ให้ต่อกับ flask ที่มีน้ำกลั่นให้สนิท

1.6 ตรวจเช็คท่อ Drain (ท่อนี้จะมีประโยชน์ในกรณีที่ทำงานใน mode Impact on ซึ่งจะเป็นทางออกของตัวอย่างส่วนที่ไม่ได้เข้าสู่เครื่อง)

1.7 ต่อ Flush solution (Methanol : Water 20 : 80) เข้าที่ pump head จะช่วยในการทำความสะอาด pump head

1.8 ต่อ mobile Phase เข้ากับ degasser แล้วจึงต่อเข้าที่ pump

1.9 เปิด degases รอจนไฟเขียว ready

1.10 เปิด pump

กด MODE เพื่อดูค่าของแต่ละค่า

- Flow rate (ของ mobile phase) = 1.00 L/min

- Pressure (ที่อ่านได้จริง)
- Hi Pressure = 2,500 (column ปกติ อยู่ในช่วง 3,500-4,000)
- Lo Pressure = 0

1.11 ตั้ง flow rate ของ mobile phase โดยการกด MODE ให้อยู่ที่ flow rate แล้วตั้งค่า โดยกดลูกศรขึ้น-ลง โดยการตั้ง flow rate ให้เริ่มต้นที่ค่าต่ำๆ ก่อน เช่น กรณีที่ต้องการใช้ prevail amino 5u column ที่ flow rate 1.0 mL/min ให้เริ่มที่ 0.2 mL/min ก่อน แล้วจึงเพิ่มทีละ 0.2 mL/min จนครบ 1.0 mL/min (รอให้ pressure คงที่ก่อนแล้วจึงทำการเพิ่ม flow rate)

1.12 ตั้ง Condition detector ในการวิเคราะห์สารตัวอย่าง

- ตั้ง flow rate (1.5 – 2.0 L/min) : 2
- ตั้ง Temp: 75
- ตั้ง Gain (การขยายสัญญาณ) : 1
- ตั้ง Impactor:

Impactor: On → เป็นโหมดที่ตัวอย่างเข้าได้น้อย
→ ไม่ทำลายสารตัวอย่างให้เสียสภาพเมื่อถูกความร้อนสูงๆ
→ Temp, Flow rate ไม่ต้องตั้งสูง (40 องศาเซลเซียสขึ้นไป)
→ ใช้วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำตาล, ไบโอดีเซล

2. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.1 เปิด computer เปิดไอคอน Peak Simple

2.2 ตั้งเวลาในการ RUN ตัวอย่าง

Edit → Channels

2.3 ตั้ง Folder สำหรับบันทึก file อัตโนมัติหลังจากฉีดสารเสร็จ

File → Save as → สร้าง Folder ที่ต้องการบันทึกข้อมูลการฉีดสารไว้

Edit → Channels → Post run → เลือก Auto-increment เพื่อทำการบันทึกอัตโนมัติหลัง Run เสร็จ

2.4 Save Control File

File → Save control file → บันทึกไว้ที่ Folder ที่สร้างไว้

2.5 ใส่รายละเอียดในการวิเคราะห์

คลิกตรง RUN ที่หน้าจอแสดงผล → ใส่ข้อมูล Header format, Comments

Header format

- ✓ Lab Name : BIOTECH
- ✓ Client ID : N2024
- ✓ Method : Syringe Injection
- ✓ Description : ELSD 2000
- ✓ Colunm : Previal NH_2 250x4.6 mm 5u
- ✓ Carrier : CAN:H_2O 75:25 1ml/min
- ✓ Sample : Sucrose 100 ppm

Comments

ELSD 2000

Temp = 75C, N_2 = 2.0 L/min, Gain = 1, Impactor = On

2.6 Open Control File

File → Open control file → เพื่อบันทึกไฟล์ไว้ที่ Folder ที่สร้างไว้

2.7 Switch อยู่ที่ Load ฉีดสารตัวอย่างด้วย syringe ที่มีตัวอย่างมากกว่า 20 μl (อย่าให้มีฟองอากาศ) ให้เลื่อน Switch ไปที่ตำแหน่ง Inject เพื่อให้ตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ รอไปเขียวขึ้นที่หน้าจอคอมพิวเตอร์ หรือนับในใจ 10 วินาที จึง Switch ไปที่ Load

2.8 เมื่อวิเคราะห์เสร็จ เครื่องจะทำการบันทึกอัตโนมัติ

2.9 เมื่อต้องการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อไป ต้องกด double click ที่ ชื่อตัวอย่างก่อนหน้าเพื่อเปลี่ยนชื่อ

2.10 ทำการฉีดตัวอย่างต่อไป เช่นเดียวกับข้อ 2.3

3. การปิดเครื่อง

3.1 เอาคอลัมน์ออกจาก ELSD

3.2 รอ 10 นาที (เพื่อไล่ gas ออกจากคอลัมน์) แล้วกด standby ที่เครื่อง ELSD, ปิดเครื่อง ELSD, ปิด gas

3.3 รอ 30 นาที ค่อยๆ ลดความดันที่ pump ลงทีละ 0.20 L/min จนถึง 0.20 L/min จึงปิด pump, ปิด degases

3.4 ปิด UPS

ข้อควรระวัง

1. อย่าให้แก๊สหมดโดยเด็ดขาด (น้อยกว่า 20 bar ต้องเปลี่ยน)
2. ใช้ buffer ไม่ได้
3. mobile phase ต้องระเหยง่าย ไม่เป็น buffer
4. Methanol : H_2O 20 : 80 ใช้ล้างหัวฉีด ต้องเปลี่ยนทุกสัปดาห์
5. ขวดน้ำดักไอสารต้องเปลี่ยนทุกวันก่อนใช้งาน (อย่าให้มีระดับน้ำเกินครึ่ง)

การวิเคราะห์หาค่า Optimum cooking time (Mohapatra and Bal, 2006)

วิธีการ

1. ต้มข้าว 5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
2. จับเวลาทันทีที่น้ำเดือด หลังจากนั้น 10 นาทีและทุก ๆ 1 นาทีหลังจากนั้น นำเม็ดข้าวในน้ำเดือดออกมา 10 เม็ด กดลงบนแก้วใสที่สะอาด cooking time หรือเวลาต้มสุกจะถูกบันทึกเมื่อตัวอย่างข้าวอย่างน้อย 90% ไม่มีใจกลางสีขาว (ไต) อีกต่อไป
3. เมื่อได้เวลาที่ต้มสุกแล้วปล่อยให้ตัวอย่างข้าวเดือดในน้ำเดือดต่อไปอีก 2 นาที เพื่อให้ทำให้แน่ใจว่าเมล็ดข้าวเกิดเจลาติไนเซชัน ดังนั้น optimum cooking time คือเวลาที่บวกเพิ่มไปอีก 2 นาทีหลังจากบันทึก cooking time แล้ว

การวิเคราะห์หาค่า Length expansion ratio (ดัดแปลงจาก Mohapatra and Bal, 2006)

วิธีการ

1. วัดความยาวของข้าวเมล็ดตรงและยาวจำนวน 10 เมล็ดด้วยเวอร์เนีย คาลิปเปอร์
2. จากนั้นนำตัวอย่างข้าวไปต้มในน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร จนกระทั่งถึง optimum cooking time ของข้าวตัวอย่างนั้น
3. วัดความยาวข้าวกล้องที่หุงสุก โดย length expansion ratio คืออัตราส่วนความยาวของข้าวหุงสุกต่อความยาวของข้าวก่อนหุง คำนวณได้จากสมการ

Length expansion ratio = ความยาวเฉลี่ยของข้าวหุงสุก/ความยาวเฉลี่ยของข้าวก่อนหุง

การวิเคราะห์หา ค่า Volume expansion ratio (ดัดแปลงจาก สุรศักดิ์, 2550)

วิธีการ

1. นำตัวอย่างข้าว 2.5 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
2. วัดความสูงของข้าวที่ใส่ลงไปในหลอดทดลองด้วยแล้วเติมน้ำกลั่นลงไป 5 มิลลิลิตร ปิดหลอดทดลองด้วยลูกแก้ว นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลานานเท่า optimum cooking time ของตัวอย่างข้าว
3. เทน้ำออกจากหลอดทดลอง วัดความสูงของข้าวในหลอดทดลอง โดย volume expansion ratio คืออัตราส่วนการขยายตัวเชิงปริมาตรของข้าวหุงสุกต่อการขยายตัวเชิงปริมาตรของข้าวก่อนหุง

Volume expansion ratio = ความสูงเฉลี่ยของข้าวหุงสุก/ความสูงเฉลี่ยของข้าวก่อนหุง

การวิเคราะห์หา Water uptake ratio (ดัดแปลงจาก Mohapatra and Bal, 2006)

วิธีการ

1. นำตัวอย่างข้าวจำนวน 10 เมล็ด ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกเป็นน้ำหนักของข้าวกล้องก่อนหุง
2. จากนั้นนำตัวอย่างข้าวกล้องทั้ง 10 เมล็ดต้มในน้ำเดือด 100 มิลลิลิตร ด้วยเวลาที่เป็น optimum cooking time ของตัวอย่างข้าว water uptake ratio คืออัตราส่วนน้ำหนักของเมล็ดข้าวหลังหุงสุกต่อน้ำหนักของเมล็ดข้าวก่อนหุง คำนวณได้จาก

Water uptake ratio = น้ำหนักของข้าวหลังหุงสุก/น้ำหนักของเมล็ดข้าวก่อนหุง

ภาคผนวก ข
แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องดัดแปรเนื้อสัมผัส

ชื่อ.....วันที่.....ชุดที่.....

คำชี้แจง กรุณาชิมตัวอย่าง และให้คะแนนความชอบตรงกับระดับความความชอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ และกรุณาบ้วนปากก่อนทดสอบตัวอย่างต่อไปทุกครั้ง

คำอธิบายระดับความชอบ

9 = ชอบมากที่สุด 8 = ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง 6 = ชอบน้อย

5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 3 = ไม่ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบ 1 = ไม่ชอบที่สุด

คุณลักษณะ	**ตัวอย่าง**		
สี			
กลิ่นรส			
ความนุ่ม			
ความเหนียว			
เนื้อสัมผัส			
ความชอบรวม			

ข้อเสนอแนะ

. .....

.....

.....

ภาคผนวก ค
รูปภาพ

ภาพที่ ค-1 ข้าวกล้องหลังการกะเทาะเปลือก

ภาพที่ ค-2 การย่อยข้าวกล้องด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

ภาพที่ ค-3 การทำให้ข้าวกล้องดัดแปรเนื้อสัมผัสคงตัวด้วยไมโครเวฟ

ภาพที่ ค-4 ข้าวกล้องดัดแปรเนื้อสัมผัสและผ่านการทำให้คงตัวด้วยไมโครเวฟ

ภาพที่ ค-5 ข้าวกล้องดัดแปรเนื้อสัมผัส บรรจุในถุงโพลิเอทีลีนไม่เคลือบอลูมิเนียม บรรจุ 3 แบบ : 1. ธรรมดา 2. สุญญากาศ 3.ไนโตรเจน

ภาพที่ ค-6 ข้าวกล้องดัดแปรเนื้อสัมผัส บรรจุในถุงโพลิเอทีลีนไม่เคลือบอลูมิเนียม บรรจุ 3 แบบ : 1. ธรรมดา 2. สุญญากาศ 3.ไนโตรเจน