

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของการใช้ความร้อนในกระบวนการผลิตข้าวกล้องงอกต่อปริมาณการเปลี่ยนแปลงกรดแกมมาแอมิโนบิวทีริกและอายุการเก็บรักษาข้าวกล้องงอกพันธุ์หอมมะลิ 105 ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงแบ่งการทดสอบออกเป็น 3 ขั้นตอนหลัก

3.1 ศึกษาคุณสมบัติทั้งทางกายภาพและทางเคมีเบื้องต้นของตัวอย่างข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105

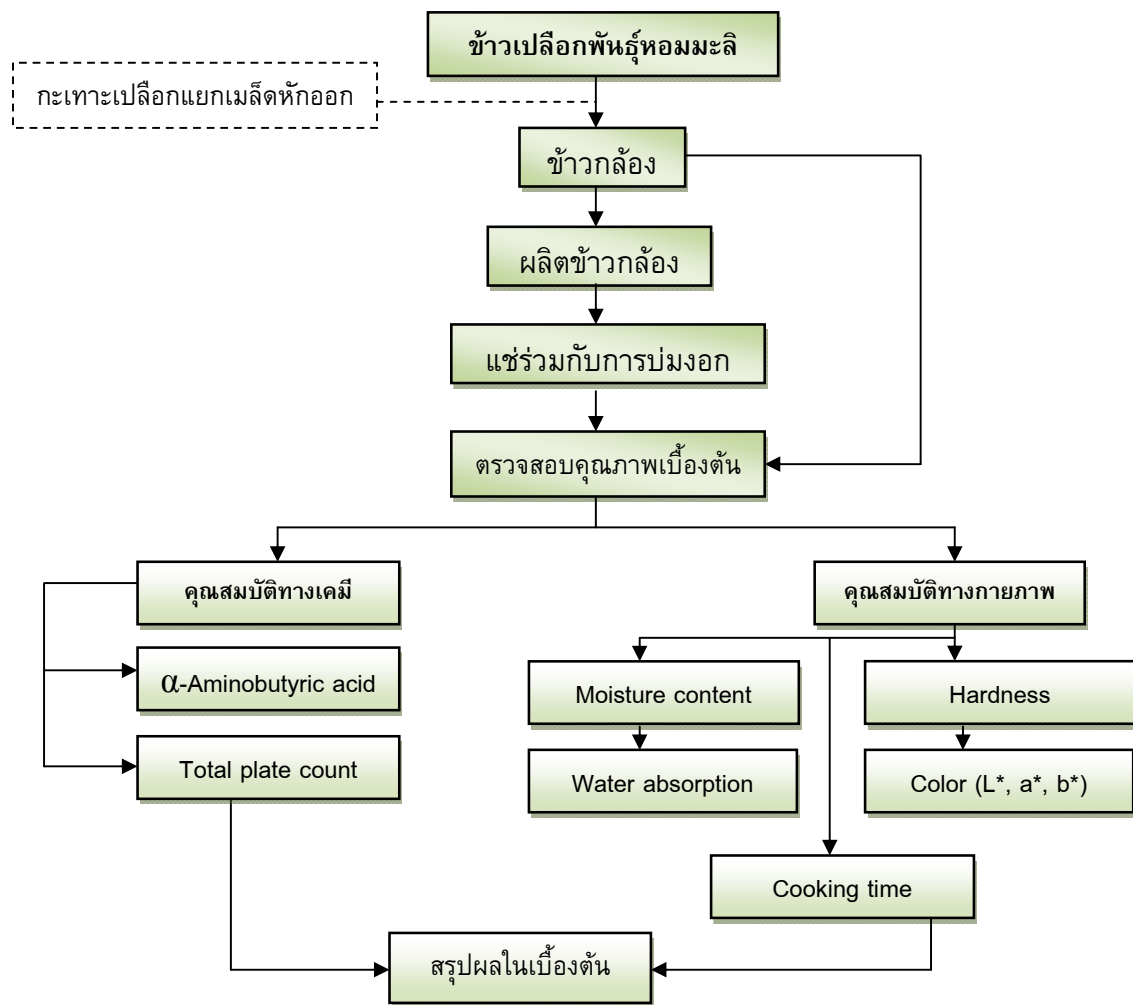
ขั้นตอนการศึกษาคูณสมบัติทั้งทางกายภาพและทางเคมีของข้าวกล้องพันธุ์หอมมะลิ 105 ซึ่งเป็นข้าวที่จะนำมาจากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ดังนั้นจึงเป็นตัวอย่างข้าวที่ผ่านการควบคุมคุณภาพในระหว่างการผลิตมาเป็นอย่างดี นำไปผลิตข้าวกล้องงอก จากกระบวนการแช่และบ่ม ซึ่งการรายงานผลของคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีร่วมด้วย คือ Moisture content, Color (L^* , a^* , b^*), Hardness, Water absorption, Cooking time, GABA content, Free Fatty acid, Total plate count ดังแสดงในรูปที่ 3.2

3.1.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างข้าวกล้องงอก

นำตัวอย่างของข้าวกล้องพันธุ์หอมมะลิ 105 ที่ผ่านการทำความสะอาดโดยคัดแยกสิ่งปลอมปนออกเรียบร้อยแล้ว 500 กรัม แช่ในน้ำ 1000 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 ชั่วโมงในกล่องพลาสติก ต่อมานำข้าวกล้องขึ้นจากน้ำแล้วทำการห่อด้วยผ้าขาวบางเปียกให้มิดชิด บรรจุใส่กล่องพลาสติกโดยปิดฝา และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำข้าวกล้องออกมาล้างทุกๆ 4 ชั่วโมง ทำเช่นนี้จนครบ 20 ชั่วโมง เมื่อทำการเพาะข้าวกล้องให้งอกครบ 24 ชั่วโมง พบว่าข้าวกล้องจะงอกประมาณ 1 - 2 มิลลิเมตร และมีค่าความชื้นประมาณ 35-37 %wb. แล้วนำตัวอย่างข้าวกล้องงอกไปใช้ในการทดลองต่อไป



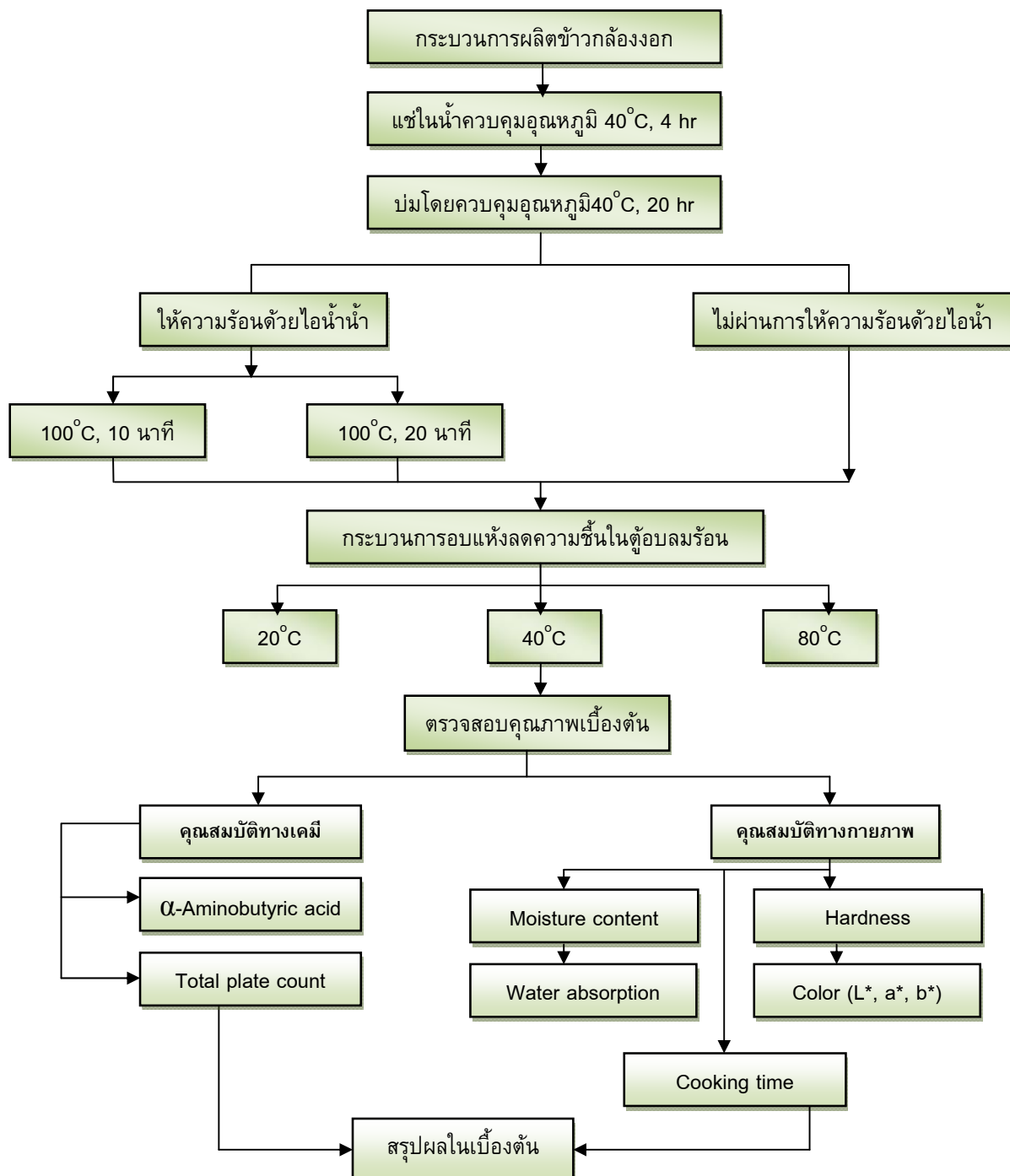
รูปที่ 3.1 ลักษณะข้าวกล้องงอกพันธุ์หอมมะลิ 105



รูปที่ 3.2 ศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานทางกายภาพและทางเคมีของข้าวและข้าวกล้องงอกพันธุ์หอมมะลิ 105

3.2 ศึกษาผลของการใช้ความร้อนในกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ ร่วมกับการอบลดความชื้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ ต่อปริมาณกรดแอมมาเอมิโนบิวทริกในผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอก

ในขั้นตอนนี้นำตัวอย่างข้าวกล้องที่ผ่านกระบวนการงอกเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว จำนวน 500 กรัม สำหรับหนึ่งตัวอย่าง ห่อด้วยผ้าขาวบางแล้วมัดให้แน่น หลังจากนั้นใส่ในตะกร้าสแตนเลส ก่อนนำไปให้ความร้อนด้วยไอน้ำโดยใส่ข้าวในหม้อหนึ่งความดัน (Autoclave) และปรับตั้งอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 และ 20 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ และไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนด้วยไอน้ำ ไปอบแห้งลดความชื้นในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 20, 40 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากนั้นนำไปบรรจุใส่ถุงพลาสติกปิดสนิททิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 7 วัน แล้วนำไปตรวจสอบหาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของข้าวกล้องงอก ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 ศึกษาผลการของใช้ความร้อน (Steaming and drying treatment) ในกระบวนการผลิตข้าวกล้องงอกต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

3.3 ศึกษาผลของกระบวนการเก็บรักษาข้าวกล้องงอกที่อุณหภูมิ 4°C และ 37°C เป็นเวลา 8 เดือน ต่อปริมาณการเปลี่ยนแปลงกรดแกมมาแอมิโนบิวทริกในผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอกพันธุ์

เตรียมตัวอย่างข้าวกล้องงอกที่ผลิตได้จากขั้นตอนที่สองและให้ผลการทดสอบดีที่สุดทั้งในแง่ของคุณสมบัติทั้งทางกายภาพและทางเคมี โดยเฉพาะอย่างยิ่งให้ปริมาณกรดแกมมาแอมิโนบิวทริกในผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอกสูงที่สุด และควบคุมความชื้นเริ่มต้นก่อนการเก็บรักษาที่ $12 \pm 1\% \text{w.b.}$ สำหรับตัวอย่างควบคุม (Control) หรือข้าวกล้องที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก ทำการกะเทาะเปลือกออกและทำความสะอาดก่อนที่จะบรรจุ

ขั้นตอนการเก็บรักษาดังแสดงในรูปที่ 3.6 โดยจะแบ่งข้าวกล้องทั้งสองแบบบรรจุใส่ถุงซิปล็อคจำนวน 13 ถุง ถุงละ 300 กรัม โดยมีวิธีการเก็บรักษาดังนี้

1) **การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ** โดยนำข้าวกล้องทั้งสองแบบ จำนวนอย่างละ 6 ถุง นำมาใส่กล่องพลาสติกพร้อมปิดฝา ใส่เข้าเก็บรักษาภายในตู้เย็น โดยกำหนดอุณหภูมิของตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส โดยเมื่อครบกำหนดทุกๆ 2 เดือน จะนำตัวอย่างออกมาทำการทดสอบทางกายภาพและทางเคมี

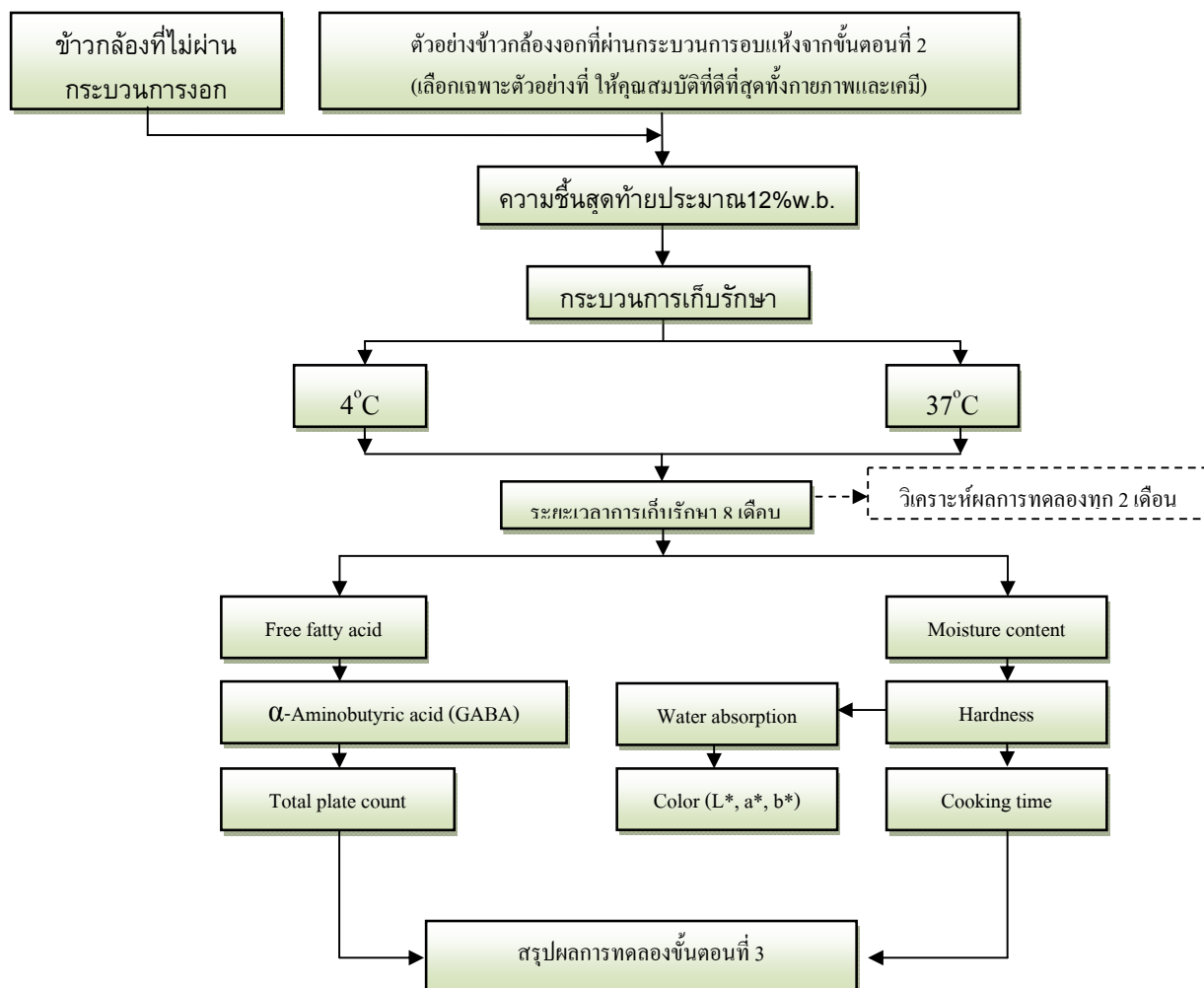
2) **การเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง** โดยนำข้าวกล้องทั้งสองแบบ จำนวนอย่างละ 6 ถุง นำมาเรียงบนถาดอะลูมิเนียม ใส่เข้าเก็บรักษาภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น โดยกำหนดอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส โดยเมื่อครบกำหนดทุกๆ 2 เดือน จะนำตัวอย่างออกมาทำการทดสอบทางกายภาพและทางเคมี



รูปที่ 3.4 การเก็บรักษาข้าวกล้องทั้งสองชนิดภายในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C



รูปที่ 3.5 การเก็บรักษาข้าวกล้องทั้งสองแบบที่ 37 องศาเซลเซียส



รูปที่ 3.6 ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีในผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอกพันธุ์หอมมะลิ 105 ระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C และ 37°C เป็นเวลา 8 เดือน

3.4 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

3.4.1 การทดสอบค่าสี

ทำการวัดโดยใช้เครื่อง Colorimeter Minolta Model DP – 301 ค่าที่ได้จะแสดงเป็นค่า L*, a* และ b* Hunter scale เมื่อ

ค่า L* คือ ค่าแสดงความเข้มสว่างของสี ซึ่งค่า L* มีมาก แสดงว่ามีสีสว่างมาก โดยที่ระดับ L* เท่ากับ 0 จะเป็นสีดำ

ค่า a* คือ ค่าแสดงระดับสีแดง เขียว เมื่อ a* มีค่าเป็นบวกจะแสดงลักษณะสีแดง ถ้ามีค่าเป็นลบจะแสดงลักษณะสีเขียว เมื่อห่างจากจุด 0 มาก แสดงว่าค่าสีแดงหรือสีเขียวจะมีค่ามากขึ้น

ค่า b* คือ ค่าแสดงระดับสี เหลือง น้ำเงิน เมื่อ b* มีค่าเป็นบวกจะแสดงลักษณะสีเหลือง ถ้ามีค่าเป็นลบจะแสดงลักษณะสีน้ำเงิน เมื่ออยู่ห่างจากจุด 0 มาก แสดงว่าค่าของสีเหลืองหรือสีน้ำเงินจะมีค่ามากขึ้น



รูปที่ 3.7 เครื่องวัดสี (Colorimeter) ยี่ห้อ Konica

3.4.2 การทดสอบความชื้น (Moisture content)

การเปลี่ยนแปลงความชื้นของเมล็ดงาสามารถทดสอบได้ โดยการนำเมล็ดงามาชั่งน้ำหนักประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยหาความชื้น (Aluminum moisture can) ที่ทราบน้ำหนัก แล้วนำเข้าตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปใส่ใน Dedicator นาน 30 นาที แล้วทำการชั่งน้ำหนักถ้วยหลังอบ นำน้ำหนักที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น

การคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างงาก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างงาหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างงาก่อนอบ}} \quad (3.1)$$

3.4.3 คุณสมบัติของข้าวหุงสุก

คุณภาพการหุงต้มและรับประทานข้าว เป็นคุณภาพที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้อทั้งนี้ เพราะความชอบของแต่ละคนแตกต่างกัน เช่นบางคนชอบข้าวแข็งร่วนหุงขึ้นหม้อ บางคนชอบข้าวนุ่มเหนียว คุณภาพการหุงต้มและรับประทานข้าวนี้สามารถหาได้ทั้งวิธีโดยตรงและวิธีโดยอ้อม

3.4.3.1 เวลาการหุงต้ม (Cooking time)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างข้าว 10 กรัม หุงต้มในน้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิเริ่มต้นประมาณ 95 องศาเซลเซียส หลังจากเวลาผ่านไป 15 นาที ให้ตักข้าวขึ้นมาวิเคราะห์ทุกๆ 2 นาที โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวออกมาจำนวน 10 เมล็ดและทำการกดด้วยแผ่นแก้ว 2 แผ่นประกบกัน ทำการนับและจดบันทึกจำนวนเมล็ดข้าวที่โปร่งใส จนกระทั่งเสร็จกระบวนการ 90 เปอร์เซนต์ของเมล็ดข้าวจะมีความโปร่งใสหรือไม่มีไตและนั่นคือเวลาในการหุงต้ม

การคำนวณหาปริมาณน้ำที่ใช้เดิมในการหุงข้าว การทดลองเบื้องต้นของการคำนวณหาปริมาณน้ำที่ใช้เดิมในการหุงข้าวโดยส่วนมากพบว่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของข้าวหุงสุกอยู่ที่ประมาณ 67-68 %wb. ดังนั้นต้องระวังไอน้ำที่ระเหยไม่ให้เกิดมาปนได้อีก การคำนวณหาปริมาณน้ำที่ใช้เดิมในการหุงข้าว โดยใช้สมการ

$$W_w = 3.125DM - W_m + W_s \quad \dots(3.2)$$

เมื่อ W_w = ปริมาณน้ำที่ต้องเติมต่อข้าว 25 g (g)
 DM = Dry matter ต่อข้าว 25 g (g)
 W_m = น้ำหนักของข้าว (g)
 W_s = น้ำหนักของไอน้ำที่สูญเสีย (เช่น 0.7 g ต่อน้ำหนักข้าว 25 g)

ในการทดลอง หาค่าน้ำหนักแห้งของข้าว (Dry mass) โดยวิธีการอบ (130 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง) หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ซึ่งการทดลองนี้ให้ค่า 20.949 กรัมต่อข้าว 25 กรัม ปริมาณน้ำที่ต้องเติมสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\begin{aligned} W_w &= (3.125 \times 20.949) - 25 + 0.7 \\ &= 41.166 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้นจะต้องเติมน้ำปริมาณ 41.166 กรัมต่อข้าว 25 กรัม (ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105)

3.4.3.2 ปริมาณการดูดซึมน้ำ (Water absorption)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างข้าว 2 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 97-98 องศาเซลเซียส ในอ่างต้มน้ำ (Water bath) ที่มีการควบคุมอุณหภูมิ โดยใช้เวลาเท่ากับเวลาของการหุงสุกที่ได้คำนวณไว้แล้ว (Cooking time) หลังจากนั้นนำหลอดทดลองออกจาก

อ่างต้มน้ำ (Water bath) แช่หลอดทดลองในน้ำเย็นประมาณ 30 นาที ครึ่งหลอดทดลองลงพร้อมเทน้ำทิ้งประมาณ 45 นาที ซึ่งน้ำหนักข้าวที่ได้โดยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคิดเป็นกรัมของน้ำที่ดูดซึมต่อกรัมของข้าว

3.4.3.3 ค่าความแข็ง (Hardness)

เนื้อสัมผัสของตัวอย่างข้าวที่ทำการหุงต้มแล้วหาได้ในรูปของการทดสอบค่าความแข็งของเมล็ดข้าววัดโดยวิธีการกดเมล็ดข้าวด้วย instron universal testing machine

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างข้าว 25 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาณเท่ากับที่คำนวณได้ ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์จะมีตัวอย่างข้าวกับน้ำ หลังจากนั้นนำไปใส่ในหม้อหุงข้าวที่ใส่น้ำไว้ประมาณ 1400 มิลลิลิตร จนกระทั่งถึง Cooking time ซึ่งได้ทดลองไว้ก่อนหน้านี้ จากนั้นนำออกมาและวางคว่ำไว้บนตะแกรงเพื่อปล่อยให้เย็นเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นปิดบีกเกอร์ด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ จนกว่าจะนำไปใช้ทดสอบต่อไป

ค่าความแข็งของเมล็ดข้าววัดโดยการทดสอบแรงกดด้วย instron universal testing machine ด้วยวิธีการกด (Back extrusion) โดยนำข้าวที่ผ่านการหุงสุกจำนวน 4 กรัม ใส่ใน Probe โดยใช้หัวกดแบบ Compression ซึ่งมีการจัดตั้งอุปกรณ์ ดังรูปที่ 3.8 ทำการเชื่อมต่อกับโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ซึ่งค่าที่อ่านได้เป็นค่าความแข็งของข้าวจากการกดในหน่วยนิวตัน (N)



รูปที่ 3.8 เครื่องทดสอบเนื้อสัมผัสอาหาร Instron Universal Testing machine

3.4.4 ปริมาณจุลินทรีย์โดยรวม (Total plate count)

การนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ที่เพาะบนจานอาหาร (plate count) ด้วยวิธี Pour plate นำตัวอย่างแบ่งข้าวที่บดแล้ว 1 กรัม เจือจางในหลอดทดลองที่ใส่น้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วทำการเพาะเชื้อจุลินทรีย์จาก

ตัวอย่าง ที่มีระดับการเจือจางที่เหมาะสม โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ 1 มิลลิลิตร หยดไปบนจานอาหารแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิ 44 – 46 องศาเซลเซียสลงไป ผสมเชื้อจุลินทรีย์ให้เข้ากับอาหารโดยแกว่งจานอาหารไปมาเบาๆ ทิ้งให้อาหารแข็งตัวแล้วนำไปป่ม ภายหลังบ่มแล้วโคโลนีของจุลินทรีย์จะเจริญทั้งภายในและบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นับจำนวนจุลินทรีย์ในจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ 25 - 250 เซลล์ ก็จะทำให้สามารถคำนวณ หาเชื้อจุลินทรีย์ต่อมิลลิลิตรหรือต่อกรัมตัวอย่างได้ จากสมการ

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์ในน้ำ (1 มิลลิลิตร)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีบนจาน}}{\text{ความเจือจางของตัวอย่างที่นำมาทดสอบ}} \quad (3.3)$$

3.4.5 ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid)

1) การเตรียมตัวอย่างข้าวที่ต้องการหาค่าปริมาณกรดไขมันอิสระ

นำตัวอย่างเมล็ดข้าวที่มีความชื้นต่ำ (11-12%wb.) บดด้วยเครื่องบดแบ่งผ่านตะแกรง (Model ZM 100, Germany) หลังจากนั้นอบแบ่งที่ผ่านการบดแล้วในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยตัวอย่างข้าวหลังการอบนี้ต้องบรรจุในถุงปิดผนึกอย่างดีก่อนนำไปทดสอบต่อไป

2) ขั้นตอนการสกัด

ขั้นตอนการหาปริมาณไขมัน [26] นำตัวอย่างแบ่งข้าวที่ผ่านการบดประมาณ 3 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง แล้วใส่ใน Thimble ปิดด้วยสำลี แล้วใส่ในตะแกรงลวดก่อนแขวนในกระบอกแก้วอีกครั้ง หลังจากนั้นเติม Petroleum ether 150 มิลลิลิตร แล้วนำเข้าเครื่องสกัด (Model SX PC, Gerhardt, UK) ซึ่งเครื่องสกัดจะทำงานโดยอัตโนมัติตามโปรแกรมที่ตั้งไว้ ระหว่างนั้นจะมีการหมุนเวียนสารละลายทำให้เกิดการระเหยกลายเป็นไอแห้ง เมื่อการทำงานเสร็จสิ้นให้นำกระบอกแก้วออกจากเครื่องสกัดและอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ ซึ่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นจากการสกัดสามารถคำนวณและแสดงเป็นอัตราร้อยละของปริมาณไขมันทั้งหมด



รูปที่ 3.9 เครื่องสกัดไขมัน (Model SX PC, Gerhardt, UK)

3) การหากรดไขมันอิสระ

กรดไขมันอิสระหาได้จากวิธีการไตเตรท โดยนำกระบอกแก้วที่ผ่านขั้นตอนการสกัด เติมสารละลาย 0.04% Alcohol phenolphthalein จำนวน 50 มิลลิลิตร โดยใช้ Phenolphthalein เป็น indicator และไตเตรทด้วย 0.0178N Potassium Hydroxide (KOH) ทำการไตเตรทจนกระทั่งเปลี่ยนเป็นสีชมพู ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1 นาที การคำนวณเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันอิสระ โดยใช้สมการ

$$FFA(\%) = \frac{(a * t * M)}{100 * m} \quad \dots(3.4)$$

เมื่อ a = ปริมาณของ KOH (มิลลิลิตร)
t = ความเข้มข้นของ KOH (0.0178 N)
M = มวลโมเลกุลของ Oleic acid (288)
m = น้ำหนักของไขมัน (กรัม)

3.4.6 ปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก (GABA)

โดยการบดลดขนาดให้เป็นผงแบ่งจำนวน 10 กรัม ด้วยเครื่องบดแบ่งผ่านตะแกรง ขนาด 0.2 mm [Model ZM 100, Germany] จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ได้ใส่ถุงซิปปิดให้สนิท ระบุข้อมูลของตัวอย่างให้เรียบร้อยแล้วจึงส่งตรวจผล อ้างอิงวิธีจาก Mustafa, A. และคณะ (2007)



รูปที่ 3.10 เครื่องบดแบ่ง [Model ZM 100, Germany]