บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีในการทดลอง

3.1.1 ตัวอย่างที่นำมาศึกษา

ข้าวที่นำมาศึกษาเป็นพันธุ์ทางการค้าจำนวน 8 พันธุ์ ประกอบด้วยข้าวเจ้า 5 พันธุ์ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 ชัยนาท 1 หอมแดง และข้าวเหนียว 3 พันธุ์ ได้แก่ กข 6 สันป่าตอง ข้าวก่ำ

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 สารเคมีวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลส

- เอทธิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) 95 เปอร์เซ็นต์
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N
- กรดเกลเชียลอะซิติก (glacial acetic acid) 1 N
- สารละลายไอโอดีน (ไอโอดีน 0.2 กรัม และโปแตสเซียมไอโอไดด์ 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร)

3.1.2.2 สารเคมีค่าการสลายตัวในด่าง

- สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 1.7 เปอร์เซ็นต์ (19.54 กรัม KOH ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร)

3.1.2.3 สารเคมีวิเคราะห์ปริมาณโอรีซานอล

- เฮกเซน (hexane)
- เฮปเทน (n - heptane)

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

3.1.3.1 เครื่องสกัดไขมัน รุ่น S306AK (Gerhardt)

3.1.3.2 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น Helios Gamma (Thermo Electron)

3.1.3.3 เครื่องบดข้าวได้ละเอียด 100 เมช

3.1.3.4 ตู้อบลมร้อน (Oven) รุ่น Modell 700 (Memmert)

3.1.3.5 เครื่องกระเทาะเมล็ดข้าว รุ่น P - 1 (Ngek seng huat)

3.1.3.6 เครื่องขัดสีข้าว รุ่น K - 1 (Ngek seng huat)

3.1.3.7 เครื่องเขย่า รุ่น RO5 (Gerdhardt)

3.1.3.8 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น CENTRIKON 42K (Kontron instruments)

3.1.3.9 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ Multi stirrer Magneti Stirrer (Velp scientifica)

3.1.3.10 เครื่อง RVA (Rapid Visco Analyzer) รุ่น RVA – super3 (Newport Scientific)

3.2 สถานที่ดำเนินงานวิทยานิพนธ์

3.2.1 ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 ห้องปฏิบัติการโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 ระยะเวลาการดำเนินงาน

เดือนธันวาคม 2548 ─ ธันวาคม 2549

3.4 วิธีการทดลอง

แบ่งการทดลอง ออกเป็น 2 การทดลอง คือ

3.4.1 การศึกษาปริมาณโอรีซานอล และคุณสมบัติทางเคมี – ฟิสิกส์ ของพันธุ์ข้าวบางชนิดในประเทศไทย

การทดลองนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ การศึกษาปริมาณโอรีซานอลในพันธุ์ข้าว และการศึกษาคุณสมบัติทางเคมี – ฟิสิกส์ของข้าว

3.4.1.1 การศึกษาปริมาณโอรีซานอลในพันธุ์ข้าวทางการค้า

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยใช้ข้าวพันธุ์การค้าจำนวน 8 พันธุ์ ประกอบด้วยข้าวเจ้า 5 พันธุ์ และข้าวเหนียว 3 พันธุ์ ได้แก่

ข้าวเจ้า	ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1
	ชัยนาท 1 หอมแดง
ข้าวเหนียว	กข 6 สันป่าตอง ข้าวก่ำ

ข้าวตัวอย่างจะถูกขัดสีเพื่อแยกส่วนเปลือก รำข้าว และข้าวสาร ส่วนของรำที่ถูกขัดสีจะบรรจุในถุงพลาสติกสีเข้มและเก็บรักษาในตู้เย็นป้องกันการเสื่อมคุณภาพในระหว่างรอการสกัดไขมัน

การหาปริมาณโอรีซานอล ดัดแปลงจาก Bucci *et al*. (2003) โดยสกัดรำข้าว 10 กรัมด้วยเฮกเซน 140 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องสกัดไขมัน จากนั้นนำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporater) นำตัวอย่างน้ำมันที่ได้ตัวอย่างละ 0.1 มิลลิกรัม ละลายด้วย n-heptane ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 315 นาโน

เมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าปริมาณโอรีซานอล ตามสมการ y = 29.91x + 0.3439 ซึ่งได้จากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแกรมมาโอรีซานอลมาตรฐาน (ภาคผนวกที่ 1.1)

3.4.1.2 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี – ฟิสิกส์ของข้าวแต่ละพันธุ์

นำข้าวสารทั้ง 8 พันธุ์ ที่ผ่านการขัดสีจากข้อ 3.4.1.1 มาศึกษาคุณสมบัติทางเคมี – ฟิสิกส์ ซึ่งได้แก่

(1) ปริมาณความชื้น

บดเมล็ดข้าวด้วยเครื่องบดให้เป็นแป้ง ชั่งตัวอย่างแป้งใส่ถ้วยอบที่ทราบน้ำหนักแน่นอนจากนั้นจึงนำไปอบในตู้อบที่ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำออกจากตู้อบแล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนักแห้งหลังอบ คำนวณหาปริมาณความชื้นด้วยสูตรดังนี้

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักแป้งก่อนอบ - น้ำหนักแป้งหลังอบ}}{\text{น้ำหนักแป้งก่อนอบ}} \times 100$$

(2) ปริมาณอะมิโลส (amylose content)

นำแป้งข้าวที่บดแล้วมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช ชั่งแป้งปริมาณ 0.1 กรัม ปิเปตเอทธานอล 1 มิลลิลิตร เติมในตัวอย่างเขย่าเบาๆ ปิเปตโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N 9 มิลลิลิตร พร้อมล้างแป้งที่เกาะผนังขวด นำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายแป้ง 5 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มิลลิลิตร เติมกรดเกลเชียลอะซิติก 1 N 1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร เขย่าและทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร คำนวณปริมาณอะมิโลสจากสมการมาตราฐาน y = 108.2 x + 0.7946 สมการดังกล่าว ได้จาก สมการเส้นตรงที่คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย อะมิโลสมาตราฐาน (ภาคผนวกที่ 1.2)

(3) การสลายเมล็ดข้าวในด่าง (alkaline digestion test)

สุ่มเมล็ดข้าวขาวมา 10 เมล็ด ใส่ในจานทดลอง ที่วางบนพื้นราบสีดำ เติมสารละลายโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ 1.7 เปอร์เซ็นต์ ให้ข้าวจมอยู่ในสารละลาย และวางไว้ในอุณหภูมิห้อง โดยไม่ขยับเขยื้อนเป็นเวลา 23 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดตรวจเมล็ดข้าวตามระดับของการสลายตัว (ตารางที่ 3.1 และ ภาพที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 แสดงระดับค่าการสลายเมล็ดข้าวในด่าง (งามชื่น คงเสรี. 2546)

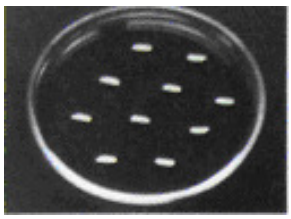
+

ค่าการสลาย	ลักษณะของเมล็ดข้าวที่สลายในด่าง
1	ลักษณะของเมล็ดข้าวไม่เปลี่ยนแปลงเลย
2	เมล็ดข้าวพองตัว
3	เมล็ดข้าวพองตัวและมีแป้งกระจายออกมาจากบางส่วนของเมล็ดข้าว
4	เมล็ดข้าวพองตัวและมีแป้งกระจายออกมารอบเมล็ดข้าวเป็นบริเวณกว้าง
5	ผิวของเมล็ดข้าวปริทางขวางหรือทางยาว และมีเมล็ดกระจายออกมารอบเมล็ดเป็นบริเวณกว้าง
6	เมล็ดข้าวสลายตัวทั้งเมล็ด มีลักษณะเป็นเมือกขาวขุ่น
7	เมล็ดข้าวสลายตัวตลอดทั้งเมล็ด และมีลักษณะเป็นแป้งเปียกใส

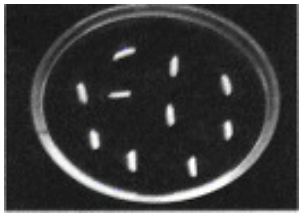
(4) การดูดน้ำของข้าว

ชั่งตัวอย่างเมล็ดข้าวสารจำนวน 2 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดทดลองด้วยสำลี ต้มในอ่างน้ำร้อน (water bath) อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที รินน้ำออกให้ข้าวสะเด็ดน้ำ ชั่งน้ำหนักข้าวสุก คำนวณการดูดน้ำจากสูตร

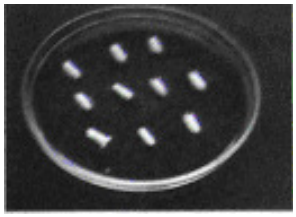
$$\text{ความสามารถในการดูดน้ำของข้าว (\%)} = \frac{\text{(น้ำหนักข้าวสุก – น้ำหนักข้าวสาร)}}{\text{น้ำหนักข้าวสาร}} \times 100$$



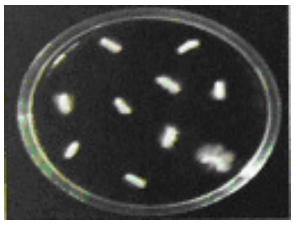
คะแนน 1



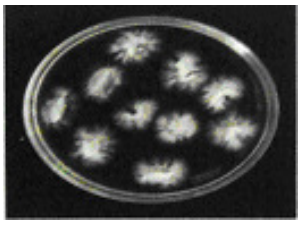
คะแนน 2



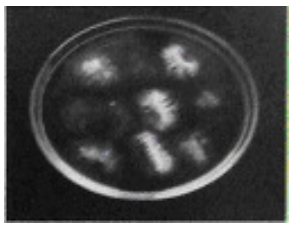
คะแนน 3



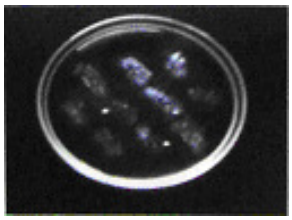
คะแนน 4



คะแนน 5



คะแนน 6

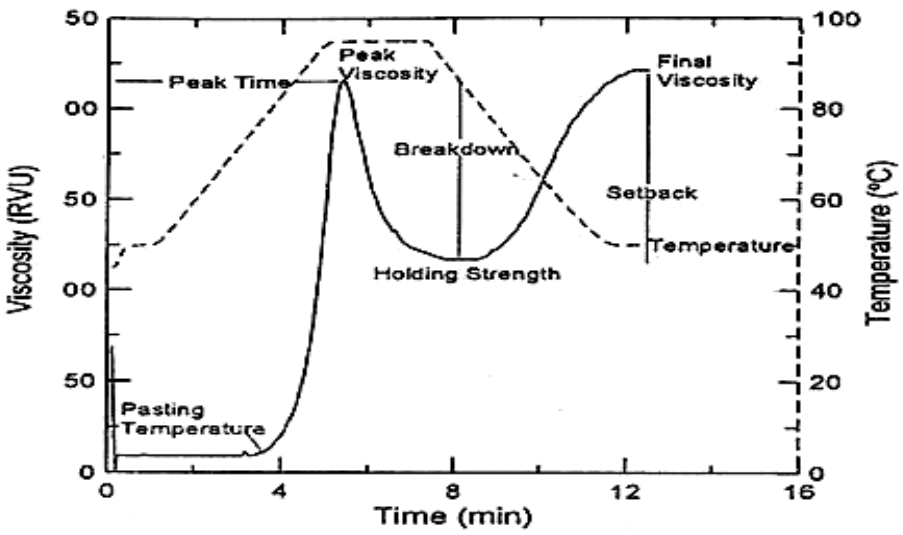


คะแนน 7

ภาพที่ 3.1 แสดงระดับการสลายตัวในด่าง (อรอนงค์ นัยวิกุล.2547)

(5) การวัดค่าความหนืดด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA)

ชั่งตัวอย่างแป้งแห้ง 3 กรัม เติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ลงในถ้วยอะลูมิเนียมของเครื่อง RVA ใส่พาย (paddle) ลงในถ้วยอะลูมิเนียม หมุนพายไปมาเพื่อกวนตัวอย่างไม่ให้จับเป็นก้อน นำถ้วยอะลูมิเนียมที่ใส่พายเข้าเครื่อง RVA จากนั้นเปิดเครื่องทำงาน เริ่มให้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส เพิ่มความร้อนด้วยอัตราประมาณ 12 องศาเซลเซียสต่อนาที จนได้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ปล่อยไว้ 2-3 นาที แล้วทำให้เย็นลงด้วยอัตราประมาณ 12 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที เครื่องจะทำการบันทึกอุณหภูมิและค่าความหนืดที่เปลี่ยนไปกับเวลาดังภาพที่ 3.2 จากกราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดต่อเวลาที่ได้ อ่านและบันทึกค่าต่างๆ ดังนี้ อุณหภูมิที่ทำให้แป้งพองตัว (pasting temperature) ความหนืด (RVU) เมื่อแป้งพองตัวสูงสุด (peak viscosity), ความหนืด (RVU) เมื่อแป้งเย็นตัว (final viscosity), ความหนืด(RVU) เมื่อแป้งยุบตัว (break down), ความหนืด (RVU) เมื่อแป้งคืนตัว (setback) และ ความหนืด(RVU) เมื่อแป้งคงตัว (trough)



ภาพที่ 3.2 แสดงตัวอย่างกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ความหนืดของแป้งด้วยเครื่อง RVA

3.4.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้งและการเก็บรักษาข้าวเปลือกต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโอรีซานอลในน้ำมันรำข้าว และคุณสมบัติทางเคมี – ฟิสิกส์ของข้าว

วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ปัจจัยแรก ได้แก่ การลดความชื้น 4 วิธี ประกอบด้วย การลดความชื้นในที่ร่ม และลดความชื้นโดยการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่ 2 ได้แก่ ระยะเวลาการเก็บรักษา 9 ระยะ คือ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 เดือน

นำข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1 มาปรับให้มีความชื้นเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ (ระดับที่ใกล้เคียงข้าวเก็บเกี่ยวใหม่) ก่อนนำมาลดความชื้นตามสิ่งทดลองที่กำหนด เพื่อให้ข้าวมีความชื้น 12 - 13 เปอร์เซ็นต์ หลังลดความชื้น ข้าวเปลือกจะถูกเก็บรักษาในถุงปิดสนิทที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 8 เดือน ทำการทดสอบหาปริมาณโอรีซานอล และคุณสมบัติทางเคมี – ฟิสิกส์ ก่อนการเก็บรักษาและทุกเดือนระหว่างเก็บรักษาตามวิธีการเดียวกับข้อ 3.4.1.1 และ 3.4.1.2 และหาเปอร์เซ็นต์การแตกหักเพิ่มเติม โดยสุ่มตัวอย่างข้าว 100 กรัม คัดเมล็ดข้าวหักออก นำต้นข้าวที่ได้มาหาเปอร์เซ็นต์การแตกหัก จากสูตร

$$\text{การแตกหัก } (\%) = \frac{\text{น้ำหนักข้าวเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักต้นข้าว}}{\text{น้ำหนักข้าวเริ่มต้น}} \times 100$$

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance : ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Least significant difference test (LSD) ด้วยโปรแกรม SAS version 6.12