บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ทดลองที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร และสาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนเมษายน 2551 ถึง เดือนสิงหาคม 2552 แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

การทดลองที่ 1 ผลของสภาพการนึ่งข้าวต่อการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กและสังกะสีในเนื้อเยื่อของเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท80 (กข 29)

การทดลองนี้เพื่อประเมินผลของปัจจัย pH อุณหภูมิและระยะเวลาในการแช่ข้าวเปลือกต่อปริมาณการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กและสังกะสี ในส่วนต่าง ๆ ของ ข้าวนึ่ง รวมทั้งปริมาณต้นข้าว (head rice yield) เพื่อคัดเลือกสภาพปัจจัยที่เหมาะสมที่สุดในการนึ่งข้าวเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุเหล็กและสังกะสีในข้าวขาว โดยวางแผนการทดลองแบบ แฟกทอเรียลสามปัจจัยแบบแผนสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in Completely Randomized Design) ทำการทวนซ้ำ 3 ครั้ง โดยปัจจัยได้แก่

- pH ที่ใช้แช่ข้าว มี 2 ระดับ ได้แก่ pH เป็นกรด (3±0.05) และกลาง (7±0.05)
- อุณหภูมิที่ใช้ในการแช่ข้าว มี 4 ระดับได้แก่ อุณหภูมิห้อง 45 55 และ 65 °C
- ระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ข้าวเปลือก มี 5 ระดับ ได้แก่ 2 4 6 8 และ 10 ชั่วโมง

พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดลองคือพันธุ์ ชัยนาท80 (กข 29) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก สำหรับขั้นตอนการทดลองนั้นเริ่มต้นด้วยการชั่งข้าวเปลือกตัวอย่างละประมาณ 100 กรัม จากนั้นนำเมล็ดข้าวมาทำความสะอาดโดยการ ล้างด้วยน้ำกรอง 2 ครั้ง และน้ำกลั่น 1 ครั้ง เสร็จแล้วจึงนำข้าวเปลือกมาแช่ในน้ำ deionized ที่ปรับ pH เป็นกรดและกลาง ประมาณ 150 มิลลิลิตร ก่อนที่จะนำไปแช่ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ จากนั้นนำไปนึ่งที่ความดัน 0.8 กิโลกรัม/ตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 119 °C เป็นเวลา 10 นาที นำข้าวเปลือกที่นึ่งแล้วไป ตากแดดจนกระทั่งความชื้นลดเหลือประมาณ 11-12%

นำข้าวเปลือกที่ตากจนแห้งแล้วไปกะเทาะเปลือกออก (de-husking) แยกเป็นแกลบ (hull) และข้าวกล้อง (brown rice) นำข้าวกล้อง ในปริมาณเท่ากันคือ 50 กรัม ไปขัดขาว (polishing) แยกเป็นข้าวขาว (white rice) และรำ (bran) โดยมีข้าวดิบ (raw rice) เปรียบเทียบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ข้อมูลที่บันทึกได้แก่

1. ความเข้มข้นของธาตุเหล็ก (Fe concentration) ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ดังนี้

- แกลบ
- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว
- รำ

2. ความเข้มข้นของธาตุสังกะสี (Zn concentration) ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ดังนี้

- แกลบ
- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว
- รำ

3. ปริมาณต้นข้าว (Head rice yield)

ต้นข้าว (Head rice) หมายถึง เมล็ดข้าวที่เมื่อนำมาขัดเป็นข้าวขาวแล้ว มีความยาวร้อยละ 75 หรือมากกว่า โดยเปรียบเทียบจากความยาวเดิมของเมล็ดข้าวนั้น การคำนวณหาปริมาณต้นข้าว คำนวณได้จาก (Gujral et al., 2002)

$$\text{ปริมาณต้นข้าว} = \frac{\text{น้ำหนักต้นข้าวหลังจากขัด}}{\text{น้ำหนักข้าวกล้องก่อนขัด}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ความแปรปรวนของการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กและสังกะสีในเมล็ดข้าวนึ่งระหว่างข้าว 5 พันธุ์

เพื่อประเมินผลของการนึ่งข้าวต่อความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กและสังกะสีในเมล็ดของข้าวพันธุ์ต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ สองปัจจัยแบบแผนสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in Completely Randomized Design) ทำการทวนซ้ำ 4 ครั้ง โดยปัจจัยได้แก่

- กรรมวิธี ได้แก่ การนึ่งและไม่นึ่งข้าว
- พันธุ์ข้าว 5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กข7 สุพรรณบุรี1 พิษณุโลก1 ชัยนาท1 และชัยนาท80

การทดลองเริ่มจากการปลูกข้าวทั้งหมด 5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กข7 พันธุ์พิษณุโลก1 พันธุ์สุพรรณบุรี1 พันธุ์ชัยนาท1 และพันธุ์ชัยนาท80 (กข29) ที่คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หลังจากเก็บเกี่ยวเมล็ดข้าวทั้ง 5 พันธุ์แล้วนำไปผ่านกระบวนการนึ่งด้วยขั้นตอนต่างๆ โดยเลือกวิธีการที่สามารถเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กและสังกะสีเข้าไปในส่วนของข้าวขาวได้มาก รวมทั้งมีปริมาณต้นข้าวสูงจากการทดลองที่ 1 โดยวิธีการคือชั่งข้าวเปลือกตัวอย่างละประมาณ 500 กรัม จากนั้นนำเมล็ดข้าวมาทำความสะอาดโดยการล้างด้วยน้ำกรอง 2 ครั้ง และน้ำกลั่น 1 ครั้ง เสร็จแล้วจึงนำมาแช่ในน้ำ deionized ประมาณ 500 มิลลิลิตร ที่ pH 7 อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปนึ่งที่ความดัน 0.8 กิโลกรัม/ตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 119 °C เป็นเวลา 10 นาที นำข้าวเปลือกที่นึ่งแล้วไปตากแดดจนกระทั่งความชื้นลดเหลือประมาณ 11-12%

นำข้าวเปลือก บางส่วน ที่ตากจนแห้งแล้ว แยกเป็นข้าวเปลือก (paddy) เก็บไว้สำหรับวิเคราะห์ และนำข้าวเปลือกส่วนที่เหลือ ไปสี (de-husking) แยกเป็น แกลบ (hull) และข้าวกล้อง (brown rice) นำข้าวกล้อง ในปริมาณเท่ากันคือ 50 กรัม ไปขัดขาว (polishing) แยกเป็นข้าวขาว (white rice) และรำ (bran) โดยมีข้าวดิบ (raw rice) เปรียบเทียบ

ข้อมูลที่บันทึกได้แก่

1. ขนาด (ความกว้าง ยาว หนา) ของเมล็ดก่อนและหลังนึ่ง
2. น้ำหนักก่อนและหลังการนึ่ง ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ดังนี้
   - ข้าวเปลือก
   - แกลบ
   - ข้าวกล้อง
   - ข้าวขาว
   - รำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ความเข้มข้นของธาตุเหล็ก (Fe concentration) ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ดังนี้

- ข้าวเปลือก
- แกลบ
- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว
- รำ

4. ความเข้มข้นของธาตุสังกะสี (Zn concentration) ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ดังนี้

- ข้าวเปลือก
- แกลบ
- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว
- รำ

5. ความเข้มข้นของ ธาตุเหล็กและสังกะสี (Fe and Zn concentration) ในข้าวหัก (broken rice) ใน

- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว

6. ปริมาณธาตุเหล็ก (Fe content) ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ดังนี้

- ข้าวเปลือก
- แกลบ
- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว
- รำ

คำนวณจาก ปริมาณธาตุเหล็ก = ความเข้มข้นของธาตุเหล็ก x น้ำหนักแห้ง

7. ปริมาณธาตุสังกะสี (Zn content) ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ดังนี้

- ข้าวเปลือก
- แกลบ
- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- รำ

คำนวณจาก ปริมาณธาตุสังกะสี = ความเข้มข้นของธาตุสังกะสี x น้ำหนักแห้ง

8. ปริมาณต้นข้าว (Head rice yield) คำนวณจาก

$$\text{ปริมาณต้นข้าว} = \frac{\text{น้ำหนักต้นข้าวหลังจากขัด}}{\text{น้ำหนักข้าวกล้องก่อนขัด}} \times 100$$

9. ความสูญเสียจากการขัดสี (Degree of milling; DOM) คือ ร้อยละของปริมาณรำที่ขัดออก หรือข้าวสารหลังการขัดสี (อรอนงค์, 2547; Gujral et al., 2002) คำนวณได้จาก

$$\text{การสูญเสียจากการขัดสี} = \frac{\text{น้ำหนักข้าวกล้อง} - \text{น้ำหนักข้าวขาว (ข้าวสาร)}}{\text{น้ำหนักข้าวกล้อง}} \times 100$$

10. ค่าความขาวของเมล็ด (Whiteness) ด้วยเครื่อง Satake Milling Meter MM 1D มีค่าระหว่าง 5.0-70.0% ใน

- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว

11. ค่าความโปร่งแสงของเมล็ด (Translucency) ด้วยเครื่อง Satake Milling Meter MM 1D มีค่าระหว่าง 0.01-8.00 ใน

- ข้าวกล้อง
- ข้าวขาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 การแสดงตำแหน่งของการสะสมธาตุเหล็กและสังกะสีในข้าวดิบและข้าวนึ่งโดยวิธีการย้อมสี

วิธีการประเมินปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดโดยใช้วิธีการย้อมสี Perls' Prussian blue เตรียมเมล็ดข้าวนึ่งและข้าวดิบของข้าวพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กข7 พันธุ์พิษณุโลก 1 พันธุ์สุพรรณบุรี 1 พันธุ์ชัยนาท1 และพันธุ์ชัยนาท80 โดยการแกะเมล็ดด้วยมือตัวอย่างละ 10 เมล็ด นำเมล็ดข้าวกล้องมาแช่ในน้ำกลั่นประมาณ 4-5 ชั่วโมง หลังจากนั้นผ่าครึ่งเมล็ดตามยาวด้วยมีดโกนที่เคลือบเทฟล่อน (teflon knife) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของธาตุเหล็ก หยดสารละลายที่ใช้สำหรับย้อมสี ซึ่งเตรียมจาก 2% HCL ผสมกับ 2% $K_4Fe(CN)_6.3H_2O$ (สารละลายสำหรับใช้ในการย้อมสีนี้ต้องใช้ทันทีหลังจากที่เตรียม ไม่สามารถเก็บไว้ได้นาน) โดยทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น 2 นาที บันทึกการติดสีย้อม (สีฟ้า) ของเมล็ดข้าวกล้องแต่ละเมล็ดดังนี้ ติดสีเข้ม (+++) ติดสีปานกลาง (++) ติดสีน้อย (+) และไม่ติดสี (0) โดยทำการบันทึกการติดสีย้อมภายใต้กล้องสเตอริโอ (Prom-u-thai et al., 2008)

วิธีการประเมินปริมาณธาตุสังกะสีในเมล็ดโดยใช้วิธีการย้อมสี Diphenylthiocarbazone (DTZ) staining เตรียมเมล็ดข้าวนึ่งและข้าวดิบของข้าว 5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กข7 พันธุ์พิษณุโลก1 พันธุ์สุพรรณบุรี1 พันธุ์ชัยนาท1 และพันธุ์ชัยนาท80 โดยการแกะเมล็ดด้วยมือตัวอย่างละ 10 เมล็ด นำเมล็ดข้าวกล้องมาแช่ในน้ำกลั่นประมาณ 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นผ่าครึ่งเมล็ดตามยาวด้วยมีดโกนที่เคลือบเทฟล่อน (teflon knife) จากนั้นแช่ในสารละลายที่ใช้สำหรับย้อมสี ซึ่งเตรียมจาก 1,5-diphenyl thiocarbazone (Merck) ผสมกับ methanol (500 มก./ลิตร) โดยแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา -30 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำ deionize และซับให้แห้ง บันทึกการติดสีย้อม (สีแดง) ของเมล็ดข้าวกล้องแต่ละเมล็ดดังนี้ ติดสีเข้ม (+++) ติดสีปานกลาง (++) ติดสี น้อย (+) และไม่ติดสี (0) โดยทำการบันทึกการติดสีย้อมภายใต้กล้องสเตอริโอ (Prom-u-thai et al., 2010)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแบบแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสิ่งทดลองโดยใช้ LSD (Least Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างข้าวดิบและข้าวนึ่งโดยใช้วิธี t-test และหาความสัมพันธ์โดยใช้ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved