บทที่3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1. วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 ข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1 จำนวน 600 กิโลกรัม จากศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชที่ 4 จ.ชัยนาท

3.1.2 ข้าวเปลือกพันธุ์ กข.15 จำนวน 600 กิโลกรัม จากศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชที่ 8 จ.พะเยา

3.1.3 ข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 600 กิโลกรัม จากศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชที่ 7 จ.เชียงใหม่

3.2 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ (CRD : Completely Randomized Design) โดยมี 4 ทรีทเมนต์ คือ ข้าวเปลือกและข้าวสารของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 กข15 และขาวดอกมะลิ105 อุณหภูมิเก็บรักษา 2 อุณหภูมิ คือ อุณหภูมิอากาศแวดล้อม($27.16 \pm 2.72^{o}C$) และอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

3.3 การเตรียมวัตถุดิบ

นำข้าวเปลือกพันธุ์ ชัยนาท1 กข15 และ ขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 300 กิโลกรัมที่ทำความสะอาดแล้วบรรจุลงในกระสอบ กระสอบละ 15 กิโลกรัม นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ15 องศาเซลเซียส อีก 300 กิโลกรัม นำไปกะเทาะเปลือกและสีเป็นข้าวสาร แล้วบรรจุลงในถุงพลาสติกถุงละ 5 กิโลกรัม เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกข 15 เก็บรักษาตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ.2546 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 ข้าวพันธุ์ขาวมะลิ 105 เก็บรักษาตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2547 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2547

3.4 การเก็บข้อมูล

3.4.1 อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ ณ บริเวณต่าง ๆ โดยใช้ เครื่องเก็บค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (data logger ; 8829 , Today) บันทึกทุกเดือน ดังต่อไปนี้

- บริเวณที่เก็บข้าวเปลือกและข้าวสารที่อุณหภูมิห้อง
- ภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่เก็บข้าวเปลือกและข้าวสาร 15 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.2 สมบัติทางเคมีของข้าวเปลือกและข้าวสาร สุ่มวัดเดือนละ 1 ครั้ง

3.4.2.1 ความชื้นของข้าวเปลือกและข้าวสารที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยวิธี Oven method (สมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ,2543)

1. เครื่องมือ

1.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven ; UM 500 , Memmert , Germany)

1.2 เครื่องชั่ง ที่ชั่งได้ละเอียดถึง 0.0001 กรัม

1.3 โถดูดความชื้น

1.4 เครื่องบดเมล็ดข้าว

1.5 กระป๋องอะลูมิเนียม

2. วิธีวิเคราะห์

2.1 บดเมล็ดข้าวด้วยเครื่องบด

2.2 นำกระป๋องอะลูมิเนียมอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 130 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน

2.3 ชั่งเมล็ดข้าวที่ถูกบดแล้ว น้ำหนักประมาณ 3 – 5 กรัม ใส่ในกระป๋องอะลูมิเนียมตามข้อ 2.2 แล้วชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน

2.4 อบกระป๋องอะลูมิเนียม ตามข้อ 2.3 ในตู้อบที่อุณหภูมิ 130 °C โดยเปิดฝาไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วปิดฝาทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน

2.5 คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{(B - C)}{(B - A)} \times 100$$

เมื่อ A = น้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝา

B = น้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝาและเมล็ดข้าวบดก่อนอบ

C = น้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝาและเมล็ดข้าวบดหลังอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.2.2 ปริมาณอะมัยโลส โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายสีน้ำเงินของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะมัยโลสและไอโอดีน (งามชื่น ,2540)

1. เครื่องมือ

1.1 ขวดแก้วพร้อมจุก (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

1.2 สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VISIBLE Spectrophotometer Unicam UV 500; UV 530 , Thermo Spectronic , UK)

1.3เครื่องปั่นกวนระบบแม่เหล็ก (Magnetic stirrer; LD-846, Netherlands)

1.4เครื่องบดเมล็ดข้าวที่บดละเอียดได้ถึง 100 mesh

1.5เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. สารเคมี

2.1 เอทิลแอลกอฮอลล์ (ethyl alcohol) 95%

2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 2นอร์มัล (NaOH 80 กรัมใน 1 ลิตร)

2.3 กรดเกลเชียลอะซิติก (glacial acetic acid) 1 นอร์มัล (กรดเกลเชียลอะซิติก 60 มล. ใน 1ลิตร)

2.4 โปเตโตอะมัยโลสบริสุทธิ์

2.5 สารละลายไอโอดีน (ชั่ง ไอโอดีน (I) 0.2 กรัมและ โปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI) 2.0 กรัมละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มล.

3. วิธีวิเคราะห์

3.1 นำข้าวสารมาบดให้เป็นแป้งร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh แล้วชั่งแป้งมา 0.1000 กรัม ใส่ในขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 100 มิลลิลิตรที่แห้งสนิท

3.2 เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ

3.3 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 9 มิลลิลิตร

3.4 ปั่นกวนตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นกวนระบบแม่เหล็กนาน 10 นาทีให้เป็นน้ำแป้งแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3.5 เตรียมขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 100 มิลลิลิตร ชุดใหม่ เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มิลลิลิตร สารละลายกรดเกลเชียลอะซิติกปริมาตร 2 มิลลิลิตรและสารละลายไอโอดีนปริมาตร 2 มิลลิลิตร

3.6 ดูดน้ำแป้งตาม 3.4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วปริมาตรที่เตรียมไว้ตามข้อ 3.5 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้10 นาที

3.7 นำขวดแก้วปริมาตรที่เตรียมไว้ในข้อ 3.5 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นโดยไม่ต้องใส่น้ำแป้งเพื่อใช้เป็นแบลงค์ (blank)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.8 วัดความเข้มข้นของสีของสารละลายตาม 3.6 ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 620 นาโนเมตร หลังปรับเครื่องด้วยแบลงค์ให้ได้ค่าดูดกลืนแสงเท่ากับศูนย์

4. การเขียนกราฟมาตรฐาน (standard curve)

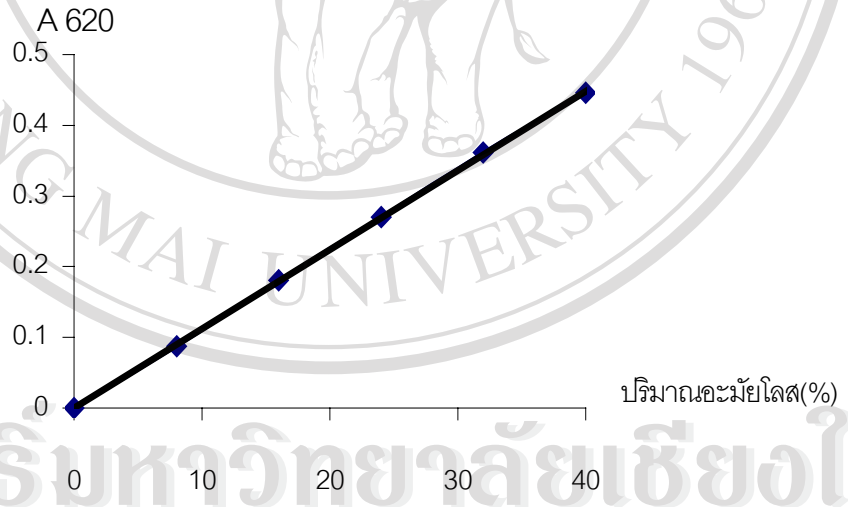
4.1 ชั่งโปเตโตอะมัยโลส 0.0400 กรัม ใส่ในขวดแก้วปริมาตรขนาด 100 มล. แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มัล ปริมาตร 9 มิลลิลิตรและเอธิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นสารละลายมาตรฐาน

4.2 เตรียมขวดควบคุม (blank) ตามข้อ 3.7

4.3 ปิเปตแบ่งสารละลายมาตรฐาน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรใส่ในขวดแก้วปริมาตรขนาด 100 มล. เติมน้ำประมาณ 70 มล.เติมกรดเกลเซียลอะซิติก 1 นอร์มัล ปริมาณ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มล. ลงในขวดที่มีสารละลายมาตรฐานตามลำดับ แล้วเติมสารละลายไอโอดีน 2.0 มล. เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มล.

4.4 วัดความเข้มข้นของสีสารละลายตามข้อ 3.8

4.5 เขียนกราฟระหว่างค่าปริมาณอะมัยโลสและค่าดูดกลืนแสง(A_{620}) ดังรูป 3.1



รูปที่ 3.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณอะมัยโลสและค่าดูดกลืนแสง(A_{620})

3.4.2.3 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วย Micro Kjeldahl method (ชนินันท์,2542)

1.อุปกรณ์

1.1 เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 ชุดเครื่องย่อย (Gerhardt Kjeldatherm Digestion Unit ; KB)

1.3 ชุดเครื่องกลั่น(Gerhardt Vapodest ; VAP 30)

1.4 ตู้ดูดสารเคมี

2. สารเคมี

2.1 กรดซัลฟูริกเข้มข้น

2.2 สารละลายกรดซัลฟูริก 0.1 นอร์มัล

2.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 32% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2.5 สารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 4 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2.6 สารเร่งปฏิกิริยา (Catalyst ; $CuSO_4$:K_2SO_4 10:1)

2.7 สารละลายอินดิเคติงบอริกแอซิด (Indicating boric acid)

การเตรียมสารละลายอินดิเคติงบอริกแอซิด

- ชั่ง Methyl red 200 มิลลิกรัม ละลายใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์ 100 มิลลิลิตร
- ชั่ง Methylene Blue 100 มิลลิกรัม ละลายใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์ 50 มิลลิลิตร

แล้วผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน นำมิกซ์อินดิเคเตอร์ 10 มิลลิลิตรแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

<u>3. วิธีการทดลอง</u>

3.1 ชั่งผงข้าวแห้งประมาณ 1.5 กรัมใส่ใน Kjeldahl tube

3.2 เติมสารเร่งปฏิกิริยา 10กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

3.3 นำไปย่อยด้วยเครื่อง Kjeldahltherm ซึ่งใช้อุณหภูมิในการย่อย 400 องศาเซลเซียสจนตัวอย่างเป็นสีเขียวใส

3.4 ทิ้งให้ Kjeldahl tube เย็น

3.5 ต่อ Kjeldahl tube เข้ากับเครื่องกลั่น เติมน้ำกลั่นลงไป 40 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนที่เกิดขึ้น เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 32 ลงไป 50 มิลลิลิตร หรือจนตัวอย่างกลายเป็นสีดำ

3.6 รองรับสารที่กลั่นด้วยสารละลายกรดบอริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด สารละลายที่ได้จะมีสีม่วงอ่อน

3.7 กลั่นตัวอย่างประมาณ 4 นาทีหรือจนไอของ NH_3 ถูกกลั่นจนหมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.8 หยุดกลั่น จากนั้นนำสารละลายในขวดรองรับที่เปลี่ยนจากสีม่วงอ่อนกลายเป็นสีเขียวอ่อนมาไตเตรทด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวอ่อนเป็นสีม่วงอ่อน

3.9 คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและปริมาณโปรตีน โดยใช้สูตร

ปริมาณไนโตรเจน (%) = ปริมาตรกรดซัลฟูริกที่ไตเตรต (มล.) x ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก x1.4
น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

ปริมาณโปรตีนในข้าว (%) = ปริมาณไนโตรเจน (%) x 5.95

3.4.2.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า ด้วยการเผาที่อุณหภูมิสูง (AOAC , 2000)

1.อุปกรณ์

1.1 เตาเผา (muffle furnace ; CWF11/13/201)

1.2 เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.3 Crucible

2 .วิธีการทดลอง

2.1 ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 3 – 5 กรัม ($\pm$ 0.0001 กรัม) ใส่ใน crucible ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน

2.2 นำตัวอย่างเข้าเผาใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาวหรือจนน้ำหนักคงที่

2.3 ทิ้งให้เย็นใน dessicator เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.4 ชั่งน้ำหนัก และคำนวณหาปริมาณเถ้า โดยใช้สูตร

ปริมาณเถ้า (ร้อยละ) = น้ำหนักหลังเผา (กรัม) x 100
น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.2.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธี Nelson’s method (Hodge andHofreiter,1962)

1. อุปกรณ์

1.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven ; UM 500 , Memmert , Germany)

1.2 เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.3 สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VISIBLE Spectophotometer Unicam UV 500; UV 530 , Thermo Spectronic , UK)

1.4 หลอดทดลองขนาด 18 x 150 มิลลิเมตร

1.5 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

1.6 ปิเปต ขนาด 1มิลลิลิตร

1.7 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5

1.8 ลูกแก้ว

1.9 water bath

2 สารเคมี

2.1 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 (anhydrous))

2.2 โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต (Potassium sodium tartrate)

2.3 โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ($NaHCO_3$)

2.4 โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4 (anhydrous))

2.5 คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)

2.6 กรดซัลฟูริกเข้มข้น

2.7 แอมโมเนียมโมลิบเดท((NH_4)$6Mo_7O_{24}.4H_2O$)

2.8 $Na_2HAsO_4.7H_2O$

2.9 เอทธานอล (Ethanol) 80 %

2.10 ดี-มอลโตส (D- maltose)

การเตรียม Nelson's reagent

ผสม Reagent A กับ Reagent B ในอัตราส่วน 12.5 : 0.5

Reagent A : ละลาย Na_2CO_3 (anhydrous) 12.5 กรัม โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต 12.5 กรัม โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต 10 กรัม และ Na_2SO_4 (anhydrous) 100 กรัม ในน้ำกลั่น 350 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร เป็น 500 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

Reagent B : ละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) 7.5 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วหยดกรดซัลฟูริกลงไป 1 หยด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียม Arsenomolybdate Reagent

ละลาย ($NH_4)6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 25 กรัม กรดซัลฟูริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร และ ละลาย $Na_2HAsO_4.7H_2O$ 3 กรัม ในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายทั้งสองผสมกันเก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 37 ^oC เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้ สารละลายที่ได้ต้องมีสีเหลืองและควรเก็บไว้ไม่ให้โดนแสง

3 วิธีการทดลอง

3.1 นำผงข้าวที่อบแห้งสนิทแล้ว จำนวน 0.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร

3.2 เติมเอทธานอล 80 % จำนวน 20 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระดาษฟลอยด์ แล้วนำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 60 ^oC เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเขย่าทุกครึ่งชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์

3.3 ทิ้งไว้ให้เย็น กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

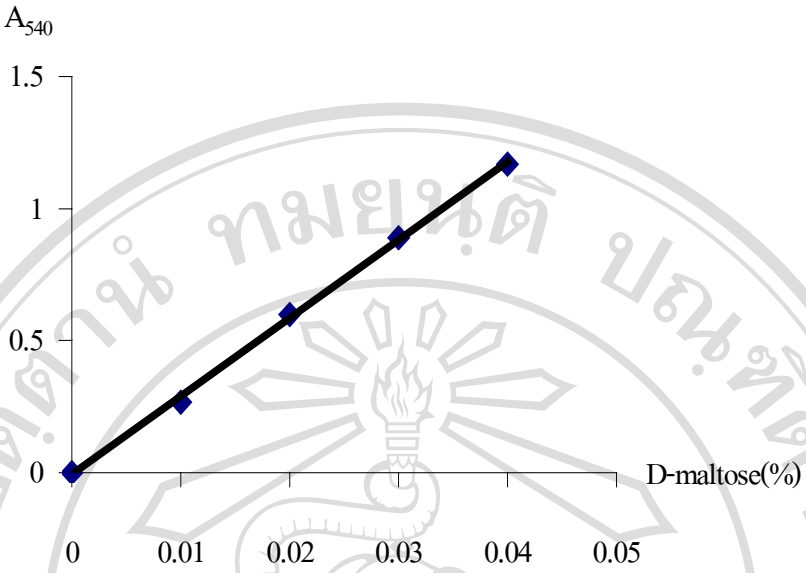
3.4 นำสารละลายที่ได้จากข้อ 3.3 ใส่ลงในหลอดทดลอง 18 x 150 มิลลิเมตร ทำแบลงค์ควบคู่ไปด้วย โดยการเติมน้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง

3.5 เติม Nelson's alkaline copper reagent ลงไปหลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปิดปากหลอดด้วยลูกแก้ว นำไปไว้ใน water bath ที่มีน้ำเดือด เป็นเวลา 20 นาที

3.6 ทิ้งไว้ให้เย็น เติมสารละลาย Arsenomolybdic acid reagent ลงไปหลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ตกตะกอนของ CuO_2 ที่เกิดขึ้นละลายให้หมด แล้วเติมน้ำกลั่นหลอดละ 7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3.7 นำสารละลายที่ได้จากข้อ 3.6 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยปรับค่าการดูดกลืนของแสงของแบลงค์ให้อ่านค่าได้เท่ากับศูนย์ก่อนพร้อมทั้งวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดี-มอลโตส ที่ทราบความเข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 3.2 กราฟมาตรฐานระหว่างเปอร์เซ็นต์ดี-มอลโตสและค่าการดูดกลืนแสง (A_{540})

3.4.2.6 ปริมาณกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) (Peter and Claudio,1991)

1. อุปกรณ์

1.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven ; UM 500 , Memmert , Germany)

1.2 เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.3 สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VISIBLE Spectrophotometer Unicam UV 500; UV 530 , Thermo Spectronic , UK)

1.4 เครื่อง vortex

1.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

1.6 หลอดทดลองขนาด 20 x 150 มิลลิเมตร

2. สารเคมี

2.1 50mM Bis(2-ethylhexy) sodium sulfosuccinate (AOT) in Isooctane

2.2 0.1M Tris(hydroxymethyl)aminomethane pH 9.0

2.3 2 mM phenol red in 0.1M Tris(hydroxymethyl)aminomethane pH 9.0

2.4 Isooctane

2.5 Isopropanol

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. วิธีการเตรียมสารเคมี

นำ 50mM Bis(2-ethylhexy) sodium sulfosuccinate (AOT) in Isooctane จำนวน 50 มิลลิลิตร 0.1M Tris(hydroxymethyl)aminomethane pH 9.0 จำนวน 0.375 มิลลิลิตร และ 2 mM phenol red in 0.1M Tris(hydroxymethyl)aminomethane pH 9.0 จำนวน 0.225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจนสารละลายใส ได้เป็นสารละลายA

4. วิธีการทดลอง

4.1 ชั่งผงข้าวที่อบแห้งแล้วจำนวน 10 กรัมใส่ในหลอดทดลองขนาด 20 x 150 มิลลิเมตร

4.2 เติม Isopropanol จำนวน 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex เป็น เวลา 2 นาที ที่ความเร็วรอบ 200 rpm แล้วเติม Isopropanol ลงไปอีก 4 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 2 นาที ที่ความเร็วรอบ 200 rpm ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที เพื่อให้ตกตะกอน

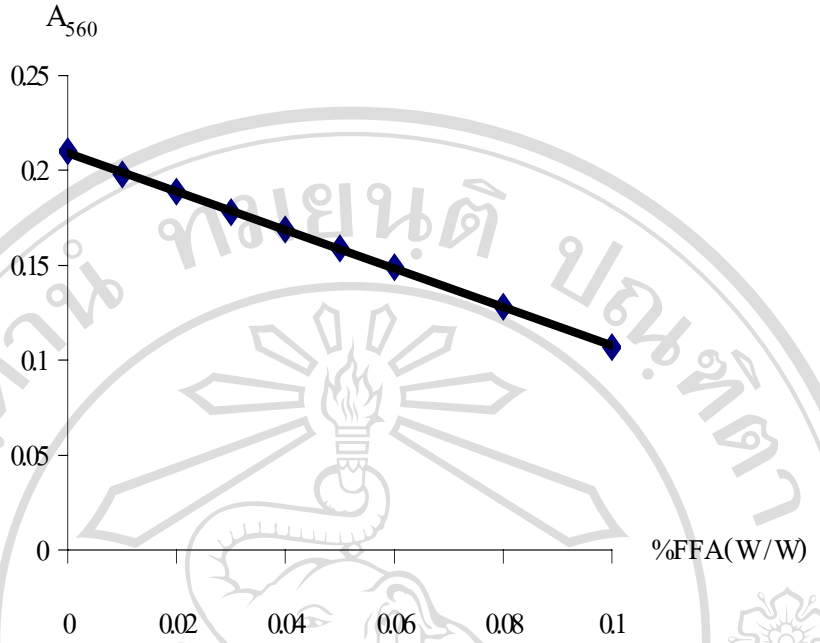
4.3 ดูดเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลวใส่ลงในหลอด centrifuge แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2500 rpm เป็นเวลา 10 นาที

4.4 ดูดเฉพาะส่วนใสจำนวน 30 ไมโครลิตร ลงไปใน cuvett ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

4.5 เติม สารละลาย A ลงไปใน cuvett เขย่าให้เข้ากัน 1 นาที

4.6 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง(absorbance) จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectophotometer) ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยปรับค่าดูดกลืนแสงของแบลงค์ให้อ่านค่าได้เท่ากับศูนย์ก่อน พร้อมทั้งวัดค่าดูดกลืนแสงของสารละลายโอเลอิกที่ทราบความเข้มข้น ดังรูปที่ 3.3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 3.3 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดไขมันอิสระกับค่าการดูดกลืนของแสง(A_{560})

3.5 การประเมินความชอบของผู้บริโภคต่อข้าวผสมโดยทดสอบประสาทสัมผัสและลักษณะ

สัมผัสของข้าวผสม

นำข้าวพันธุ์ ชัยนาท1 กข15 และ ขาวดอกมะลิ 105 ตั้งแต่เดือนที่ 3 ถึงเดือนที่ 6 มาผสมในอัตราส่วนต่าง ๆ วางแผนการทดลองแบบ Mixture Design โดยวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม JMP-Demo version 4.0.2 ซึ่งการวางแผนการทดลองแบบ Mixture Design เป็นการทดลองหาส่วนผสมของสูตรโดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของส่วนประกอบใด ส่วนประกอบที่เหลือในสูตรจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงด้วยและผลรวมของส่วนประกอบทั้งหมดต้องเท่ากับ 1.0 หรือ 100 ดังนั้นข้อจำกัดของการออกแบบ Mixture Design คือ เมื่อ q คือจำนวนส่วนประกอบในสูตร ข้อจำกัดนี้จะใช้ไม่ได้กับตัวแปรอิสระ $\sum_{i=1}^{q} .Xi = 1$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการทดลองแบบ Mixture Design นี้สามารถนำมาวิเคราะห์เพื่อให้ได้รูปแบบทางคณิตศาสตร์ที่จะหาความสัมพันธ์ระหว่างส่วนประกอบกับค่าที่วัดได้ (response variables) (ไพโรจน์,2535)

ในการผสมข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และ พันธุ์กข 15 ใช้มาตรฐานข้าวในการส่งออกกำหนด โดย

ชั้นของข้าวหอมมะลิ ไทย

ชั้นดีเลิศ (Prime Quality) อาจมีข้าวชนิดอื่นปน ไม่เกิน 10 %

ชั้นดีพิเศษ (Superb Quality) อาจมีข้าวชนิดอื่นปนไม่เกิน 20%

ชั้นดี (Premium Quality) อาจมีข้าวชนิดอื่นปนไม่เกิน 30 %

ข้าวที่มีข้าวชนิดอื่นปนเกิน 30% ไม่ถือว่าเป็นข้าวหอมมะลิไทย

ดังนั้นสิ่งที่ต้องการในการออกแบบวางแผนการทดลองแบบ Mixture Design โดยวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม JMP-Demo version 4.0.2 คือ

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 มีอยู่ในส่วนผสม 70-95%

ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีอยู่ในส่วนผสม 2.5-27.5%

ข้าวพันธุ์กข15 มีอยู่ในส่วนผสม 2.5-27.5%

โดยอัตราส่วนผสมที่วิเคราะห์ได้ คือ

ตารางที่ 3.1 อัตราการผสมข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์กข 15

ตัวอย่างที่	อัตราส่วนผสมต่อข้าว100 กรัม		
	พันธุ์ขาวมะลิ 105	พันธุ์ชัยนาท 1	พันธุ์ กข 15
1	70	2.5	27.5
2	70	27.5	2.5
3	95	2.5	2.5
4	70	15	15
5	82.5	2.5	15
6	82.5	15	2.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยใช้ผู้ทดสอบชิมคนไทย 50 คน โดยมีอายุในช่วง 19-28 ปี ทดสอบความชอบของผู้บริโภคตามแบบสอบถามประเภท 9 point - Hedonic scaling (ตัวอย่างแบบสอบถามดังภาคผนวก ข)

การเตรียมตัวอย่างข้าวในการทดสอบชิม

หุงข้าวด้วยหม้อหุงไฟฟ้า (National : SR-D10HN) ขนาด 1 ลิตรระบบอุ่นอัตโนมัติ โดยใช้อัตราส่วนข้าวต่อน้ำเย็น 1 : 1.2 โดยปริมาตร (Juliano and Parez , 1983) เอาข้าวสวยใส่ในชามสีขาวแต่ละตัวอย่างติดรหัสเลขสามหลัก เสริฟน้ำเปล่าสำหรับล้างและทำความสะอาดเพดานปากซึ่งผู้ทดสอบชิมต้องบ้วนปากทุกครั้งก่อนที่จะทดสอบตัวอย่างต่อไป มีการสุ่มลำดับการนำเสนอในชุดตัวอย่างของผู้ทดสอบชิมแต่ละท่าน นำเสนอตัวอย่างทีละตัวอย่างในบู๊ตทดสอบชิม ใช้แสงไฟสีขาวจากหลอดไส้ที่ความดันปกติ

3.6 การวัดลักษณะเนื้อสัมผัสโดยเครื่องมือวัดวิเคราะห์ความนุ่มและความเหนียวของข้าวสุก (Texture Profile Analysis)

1. อุปกรณ์

1.1 เครื่อง Texture analyzer (TA-XT2I) โดยใช้หัวกดทรงกระบอกเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร ตั้งให้ระยะห่างจากตัวอย่าง 15 มิลลิเมตร ความเร็วรอบของหัวกดขณะทำการทดสอบ 1 มิลลิเมตร / วินาที ความเร็วรอบของหัวกดหลังการทดสอบ 10 มิลลิเมตร / วินาที กดชิ้นตัวอย่างเป็นระยะทาง 0.9 ของความสูงข้าวสุก (90 % strain)

1.2 แผ่นกระจกหนา 6 มิลลิเมตร กว้าง 12.7 เซนติเมตร ยาว 13.97 เซนติเมตร ตรงกลางตีกรอบรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 25 x 25 ตารางมิลลิเมตร

1.3 หม้อหุงไฟฟ้า (National : SR-D10HN) ขนาด 1 ลิตรระบบอุ่น

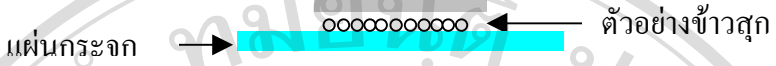
2. วิธีการทดลอง

2.1 หุงข้าวโดยใช้อัตราส่วน 1 : 1.2 โดยปริมาตร (Juliano and Parez , 1983)

2.2 หลังจากข้าวสุกแล้วทิ้งไว้ 15 นาที แล้วสุ่มข้าวสุกจากหม้อหุงข้าว โดยเลือกข้าวสุกจากบริเวณกลาง ของชั้นข้าวสุกเพื่อให้เกิดความสม่ำเสมอในการวัด

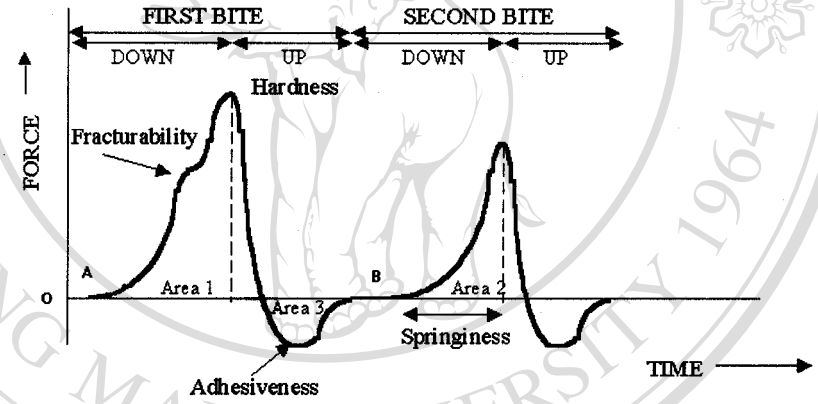
2.3 เรียงเมล็ดข้าวสุกบนแผ่นกระจกให้เต็มพื้นที่รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสที่ตีกรอบไว้ โดยเรียงเพียงชั้นเดียว ทำการวัด ดังรูป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 3.4 การเตรียมตัวอย่างขณะทำ Texture profile analysis

ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุกสามารถวัดโดยวิธี Texture Profile Analysis (TPA) จะได้ค่าตัวแปรทางเนื้อสัมผัสซึ่งสัมพันธ์กับคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัส โดยจะแสดงผลออกมาดังรูป 3.6



รูปที่ 3.5 ตัวอย่างกราฟจากการวัด Texture Profile Analysis (TPA)

จากภาพมีนิยามเกี่ยวกับ Texture Profile Analysis (TPA) ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

Hardness : แรงสูงสุดของการกดครั้งแรก

Adhesiveness : งานที่ต้องใช้ในการดึงหัววัดออกจากผิวหน้าของตัวอย่าง

: Area 3

Stickiness : แรงที่ต้องใช้ในการดึงหัววัดออกจากตัวอย่าง

Cohesiveness : แรงยึดเกาะกันภายในเนื้อของอาหาร

: Area2 / Area3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved