บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

การเตรียมข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 เพื่อใช้ในการเลี้ยงมอดหัวป้อม

นำข้าวสารขาวหอมมะลิ 105 (ภาพ 3.1) ที่จำหน่ายเป็นการค้า โดยมีการรับรองจากกรมการค้าภายในว่าเป็นข้าวสารขาวหอมมะลิ 100 เปอร์เซ็นต์ ชั้น 1 ชนิดดีพิเศษ คือ มีข้าวชนิดอื่นปนได้ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ (กรมการค้าภายใน, 2550) ซึ่งเป็นข้าวที่ผลิตมาจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (Thai HA Public Company Limited, 2005) โดยนำข้าวสารแช่แข็ง 2-3 วันเพื่อกำจัดแมลงที่อาจติดมาด้วย จากนั้นทิ้งไว้ให้อุณหภูมิของเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้นจนเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วทำการปรับความชื้นของเมล็ดข้าวให้เป็น 18 เปอร์เซ็นต์เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญของแมลง

การเตรียมข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 เพื่อใช้ในการทดลองมอดหัวป้อม และการตรวจคุณภาพข้าว

นำข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ที่ใช้ในการค้า โดยมีการรับรองจากกรมการค้าภายในว่าเป็นข้าวสารขาวหอมมะลิ 100 เปอร์เซ็นต์ ชั้น 1 ชนิดดีพิเศษ คือ มีข้าวชนิดอื่นปนได้ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ (กรมการค้าภายใน, 2550) ซึ่งเป็นข้าวที่ผลิตมาจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (Thai HA Public Company Limited, 2005) ความชื้น 13 เปอร์เซ็นต์ มาใช้ในการทดลองโดยไม่นำมาผ่านกรรมวิธีใด ๆ เหมือนการเตรียมข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 เพื่อใช้ในการเลี้ยง และการทดลองมอดหัวป้อม

ภาพ 3.1 ข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ที่นำมาใช้ในการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณมอดหัวป้อมในระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ เพื่อใช้ในการทดลอง

ระยะไข่

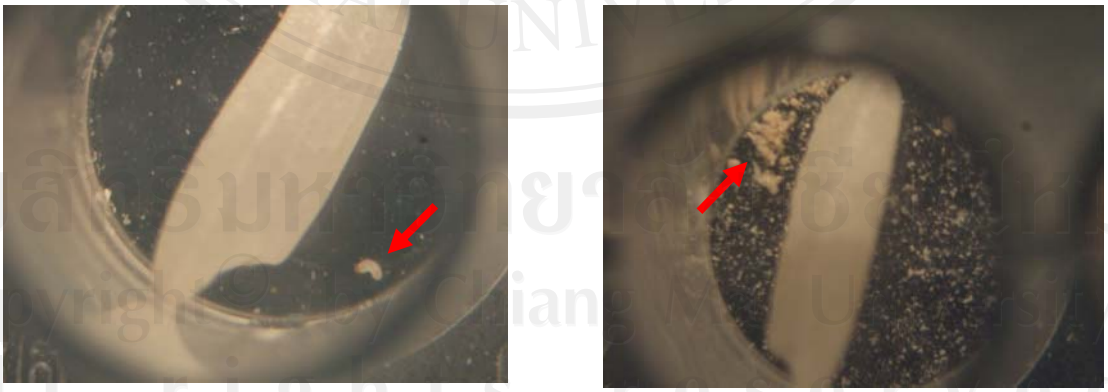
คัดมอดหัวป้อมตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย อัตราส่วน 1:1 ประมาณ 200-300 ตัว ใส่ลงในขวดโหลแก้วมีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ ขนาดบรรจุ 500 มิลลิลิตรที่บรรจุข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ประมาณ 500 กรัมที่ผ่านการแช่แข็งมาแล้วเพื่อกำจัดแมลงชนิดอื่นที่ติดมาด้วย จากนั้นทิ้งไว้ 7 วัน เพื่อให้มีการผสมพันธุ์และวางไข่ ทำการร่อนไข่โดยใช้ตะแกรงร่อนไข่ขนาดของช่อง 250 ไมโครเมตร และตะแกรงร่อนมอดขนาดของช่อง 1.40 มิลลิเมตร คัดแยกเมล็ดข้าว มอดหัวป้อม และไข่ออกมา ซึ่งไข่จะปนมากับเศษเมล็ดข้าวและผงฝุ่นต่าง ๆ ใช้พู่กันเขี่ยคัดแยกไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตริโอ

ระยะหนอน

ทำการคัดไข่ของมอดหัวป้อม 300 ฟอง ใส่ลงในขวดโหลแก้วมีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ ขนาดบรรจุ 500 มิลลิลิตรที่บรรจุข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ประมาณ 500 กรัมที่ผ่านการแช่แข็งมาแล้ว หลังจากไข่ฟักออกมาเป็นตัวหนอนประมาณ 4-8 วัน ทำการร่อนคัดเอาตัวหนอนที่ฟักออกจากไข่ใหม่ ๆ (neonate) โดยเขี่ยหนอนด้วยพู่กันวางลงในช่องของ 96 well plate ช่องละ 1 ตัวพร้อมกับใส่ข้าวสาร 1 เมล็ด (ภาพ 3.2) ตัวหนอนจะกัดกินแล้วเข้าสู่ภายในเมล็ด ซึ่งเมล็ดข้าวที่หนอนได้เข้าไปแล้วนั้นพบว่ามีฝุ่นผงจากการเข้ากัดกินเมล็ดข้าวของตัวหนอนตกอยู่รอบ ๆ เมล็ดข้าว

ระยะดักแด้

ใช้วิธีเดียวกับระยะหนอนเพียงแต่ทิ้งไว้ประมาณ 20-25 วัน เพื่อให้หนอนเข้าดักแด้



ภาพ 3.2 ตัวหนอนที่เขี่ยลงในช่องของ 96 well plate พร้อมเมล็ดข้าว 1 เมล็ด (ซ้าย) และภาพฝุ่นผงใกล้ ๆ เมล็ดข้าวสารที่เกิดจากหนอนกัดกินอยู่ภายในเมล็ด (ขวา)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระยะตัวเต็มวัย

ทำการคัดไข่ของมอดหัวป้อม 300 ฟอง ใส่ลงในขวดโหลแก้วมีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ ขนาดบรรจุ 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ประมาณ 500 กรัม (ภาพ 3.3) ที่ผ่านการแช่แข็งมาแล้ว รอให้ไข่ฟักออกมาเป็นตัวหนอน ดักแด้และตัวเต็มวัย ซึ่งใช้เวลาประมาณ 25-30 วัน

การเลี้ยงมอดหัวป้อมและทุกการทดลองแมลงจะอยู่ในห้องปฏิบัติการอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งควบคุมความชื้นสัมพัทธ์โดยแมลงที่ทดสอบอยู่ในกล่องพลาสติกปิด ขนาด กว้าง 12 นิ้ว ยาว 25 นิ้ว สูง 12 นิ้ว ซึ่งบรรจุสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นบริเวณก้นกล่อง ประมาณ 1.5 ลิตร

ภาพ 3.3 ขวดโหลแก้วมีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ ขนาดบรรจุ 500 มิลลิลิตรที่บรรจุข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ประมาณ 500 กรัม เพื่อใช้เลี้ยงแมลง (ซ้าย) ฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ (ขวา)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ

เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ (ภาพ 3.4) สร้าง และปรับปรุงโดย Institute of Agriculture Engineering, University of Göttingen, Germany ที่ความถี่ของคลื่นวิทยุ 27.12 MHz เป็นอัตราคลื่นความถี่ที่ใช้กับผลิตผลในโรงเก็บ (ณัฐศักดิ์, 2543)

ภาพ 3.4 เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ สร้าง และปรับปรุงโดย Institute of Agriculture Engineering, University of Göttingen, Germany ที่ความถี่ของคลื่นวิทยุ 27.12 MHz

ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างการทดลองเพื่อนำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุ

ภาชนะทรงกระบอกทำจากเทฟลอน (Teflon) (ภาพ 3.5) เส้นผ่านศูนย์กลาง 16 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร หนา 5 มิลลิเมตร โดยบรรจุข้าวได้ 450 กรัม

ภาพ 3.5 ภาชนะที่ใช้บรรจุข้าวขาวดอกมะลิ 105 เพื่อนำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ระยะการเจริญเติบโตของมอดหัวป้อมที่มีความทนทานที่สุดเมื่อได้รับคลื่นความถี่วิทยุ

ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาระยะการเจริญเติบโตของมอดหัวป้อมที่มีความทนทานต่อคลื่นความถี่วิทยุมากที่สุด โดยทำการทดลองมอดหัวป้อมในทุกระยะ โดยนำมอดหัวป้อม ระยะไข่ อายุ 3 วัน ระยะหนอนวัย 5 อายุ 20 วัน หลังจากไข่ฟักเป็นตัวหนอน ระยะดักแด้ อายุ 5 วัน และระยะตัวเต็มวัย อายุ 20 วัน ที่เตรียมไว้ แยกทำการทดลองมอดหัวป้อมแต่ละระยะการเจริญเติบโต โดยใช้มอดหัวป้อมแต่ละระยะจำนวน 30 ตัว ใส่ลงในภาชนะที่บรรจุข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ปริมาณ 450 กรัม (เต็มภาชนะ) ความชื้นข้าว 13 เปอร์เซ็นต์ โดยใส่ข้าวลงในภาชนะประมาณครึ่งหนึ่งแล้วใส่มอดหัวป้อมให้ทั่ว หลังจากนั้นเติมเมล็ดข้าวลงในภาชนะให้เต็มแล้วนำภาชนะข้าวสารนี้ไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุ 27.12 MHz ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 180 วินาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ไม่มีการผ่านคลื่นความถี่วิทยุ แต่ละกรรมวิธี ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

การทดลองที่ 2 การหาอัตราการใช้คลื่นความถี่วิทยุในอุณหภูมิ และระยะเวลาเหมาะสมที่จะทำให้มอดหัวป้อมตายอย่างสมบูรณ์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาอุณหภูมิและระยะเวลาที่ต่ำที่สุดที่สามารถกำจัดมอดหัวป้อมอย่างสมบูรณ์ได้ โดยนำข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ความชื้น 13 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 450 กรัม (เต็มภาชนะ) ที่มีมอดหัวป้อม (ระยะทนทานที่สุด) 30 ตัว มาทดลองในคลื่นความถี่วิทยุ 27.12 MHz ที่อุณหภูมิ 50, 55, 60, 65 และ 70 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 90, 120, 150 และ 180 วินาที ทำการทดลอง 4 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCBD โดยมีอุณหภูมิเป็น main plot และมีเวลาที่ใช้ในการผ่านคลื่นเป็น sub plot การทดลองนี้ แบ่งทำทีละ block โดยให้เวลาในการทำแต่ละครั้งเป็น block (block by time) ซึ่งแต่ละ block มีการทดลองครบทุกกรรมวิธี แต่ละกรรมวิธี ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

การทดลองที่ 3 ประสิทธิภาพของคลื่นความถี่วิทยุในการกำจัดมอดหัวป้อมในตำแหน่งต่าง ๆ

การศึกษาตำแหน่งการตายของมอดหัวป้อมเมื่อได้รับคลื่นความถี่วิทยุในตำแหน่งต่าง ๆ ในข้าวสาร ที่อาจมีผลต่อการตายของมอดหัวป้อมในระยะ ไข่ หนอน และดักแด้ ที่สามารถติดไปกับข้าวและภาชนะบรรจุข้าวได้ ซึ่งยากแก่การตรวจพบเนื่องจากไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ทำการทดลองโดยคัดเลือกระยะไข่ หนอน หรือระยะดักแด้ที่ทนทานที่สุดเป็นตัวแทนในการศึกษาคลื่นความถี่วิทยุในตำแหน่งต่าง ๆ ในภาชนะ เนื่องจากเป็นระยะที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ไปจากตำแหน่งที่กำหนดไว้ได้ (หนอนและดักแด้อาศัยอยู่ภายในเมล็ด) โดยนำมอดหัวป้อมจำนวน 10 ตัว มาวางบนภาชนะที่บรรจุข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 เพื่อนำไปผ่านคลื่น ที่ระดับความลึก 3 ระดับ คือ ระดับที่ 1 บนสุด (ผิวหน้าภาชนะบรรจุ) ระดับที่ 2 กึ่งกลางภาชนะ (ลึก 2.5 เซนติเมตร) ระดับที่ 3 ล่างสุด (ลึก 5 เซนติเมตร) โดยวางที่ระดับความลึกของตำแหน่งบนสุด (1) ตำแหน่งขอบภาชนะ (/1) แล้วเรียกตำแหน่งนี้ว่า ตำแหน่ง 1/1 นำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุ (RF) 27.12 MHz ในอุณหภูมิและระยะเวลาที่สามารถกำจัดมอดหัวป้อมได้อย่างสมบูรณ์ จากนั้นนำภาชนะบรรจุข้าวชุดใหม่และวางตำแหน่งแมลงในระดับความลึกบนสุด (1) ตำแหน่งที่ /2 เรียกว่า ตำแหน่ง 1/2 (ภาพที่ 3.6) นำไปผ่านคลื่นเช่นเดียวกันในตำแหน่ง 1/1 ทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้กับตำแหน่งที่ 1/3, 1/4, 1/5, 2/1, 2/2, 2/3, 2/4, 2/5, 3/1, 3/2, 3/3, 3/4 และ 3/5 ตามลำดับ หลังจากแมลงและข้าวผ่านคลื่นความถี่วิทยุ นำมาแยกเก็บไว้ในขวดโหลแก้วมีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ป้องกันแมลงเข้าออก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ภาพที่ 3.6 ตำแหน่งวางมอดหัวป้อมในภาชนะที่นำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระดับความลึก (1, 2 และ 3) แต่ละระดับความลึกมี 5 ตำแหน่ง ได้แก่ /1, /2, /3, /4 และ /5

วิธีการวัดการตายของมอดหัวป้อมในการทดลองที่ 1, 2 และ 3

นำมอดหัวป้อมในทุกระยะ และข้าวที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่แยกใส่ขวดโหลแก้วที่มีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง โดยระยะไข่ตั้งทิ้งไว้ 5 สัปดาห์ ระยะหนอน 3 สัปดาห์ ระยะดักแด้ 2 สัปดาห์ และระยะตัวเต็มวัย 1 สัปดาห์ ตามลำดับ จากนั้นทำการตรวจนับจำนวนแมลงระยะตัวเต็มวัยที่รอดตาย จำนวนแมลงที่ตายได้จากจำนวนแมลงที่รอดหักลบด้วยจำนวนแมลงที่นำมาทดสอบก่อนที่จะผ่านคลื่น (30 ตัว) และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การตายในชุดที่ผ่านคลื่นโดยนำมาคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality) ด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Abbott's formula (Abbott, 1925) ในกรณีที่พบจำนวนแมลงตายในชุดควบคุม (ไม่ผ่านคลื่น) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนแล้วเปรียบเทียบความแตกต่างเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงโดยวิธี Least Significant Difference (LSD)

เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality)

$$\text{Corrected Mortality} = \frac{\%\text{test mortality} - \%\text{control mortaltity}}{100 - \%\text{control mortality}} \times 100$$

การตรวจคุณภาพข้าว

วัดคุณภาพข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้รับการผ่านคลื่นความถี่วิทยุ 27.12 MHz ที่ 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 150 วินาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิ และระยะเวลาที่สามารถกำจัดมอดหัวป้อมได้สมบูรณ์ที่สุด โดยเปรียบเทียบกับข้าวสารชนิดเดียวกัน จากถุงเดียวกัน ที่ไม่ได้ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ โดยข้าวที่ใช้ทดสอบมีความชื้นเริ่มต้น 13 เปอร์เซ็นต์ สุ่มตัวอย่างข้าวสาร ตัวอย่างละ 100 กรัม ทุกกรรมวิธีทำ 9 ซ้ำ โดยวัดคุณสมบัติของข้าวดังต่อไปนี้

1. การวัดคุณข้าวทางกายภาพ

1.1 วิเคราะห์ความชื้น (ISTA, 2006)

วิเคราะห์ความชื้นข้าวโดยนำตัวอย่างข้าวมาบดให้กลายเป็นแป้ง นำไปชั่งแล้วทำการอบตัวอย่างข้าว พร้อมกล่องอลูมิเนียม (can) ด้วยความร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 ชั่วโมง คำนวณหาปริมาตรความชื้นจากสูตร

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

เมื่อ A = น้ำหนักกล่องอลูมิเนียมพร้อมฝา

B = น้ำหนักกล่องอลูมิเนียมพร้อมฝา และข้าวก่อนอบ

C = น้ำหนักกล่องอลูมิเนียมพร้อมฝา และข้าวหลังอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 วัดความขาวของข้าว

การวัดสีของข้าวสารโดยใช้เครื่องมือวัดสี Hunter Lab รุ่น Color Quest XE โดยใช้ข้าวสารประมาณ 50 กรัม ใส่ในภาชนะแก้วใส ซึ่งหลักการของเครื่อง Color Quest XE ใช้หลักการตกกระเจิงของแสง ค่าที่ได้จากเครื่องมือเป็นค่า L*, a*, b*

ค่า L* เป็นค่าที่แสดงถึงความสว่าง (lightness) ที่มีค่าเท่ากับ 0 แสดง ถึง วัตถุเข้าใกล้สีดำหรือมีสีมืดที่สุด หาก L* มีค่าเท่ากับ 100 วัตถุมีสีขาว หรือสว่างที่สุด

ค่า a* เป็นค่าที่แสดงความเป็นสีแดง หรือความเป็นสีเขียว โดยที่ค่า a* เป็นบวก แสดงถึงวัตถุมีสีแดง หากสีมีค่าเป็นลบ แสดงถึง วัตถุมีสีเขียว

ค่า b* เป็นค่าที่แสดงความเป็นสีเหลือง หรือสีน้ำเงิน โดยที่ค่า b* เป็นบวก แสดงถึงวัตถุมีสีเหลือง หากมีค่าเป็นลบ หมายถึงวัตถุมีสีน้ำเงิน

โดยค่า a* และ b* มีค่าอยู่ระหว่าง -60 ถึง +60

ค่าดัชนีความขาว (Whiteness Index) = $100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$

2. การวัดคุณข้าวทางเคมี

2.1 ปริมาณสารหอม (2-acetyl-1-pyrroline; 2AP)

การวิเคราะห์ปริมาณในข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการใช้คลื่นความถี่วิทยุเทียบกับข้าวสารที่ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ โดยใช้เครื่อง Headspace Gas Chromatography ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยเคมีของข้าว ภายใต้การสนับสนุนของโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและการวิจัยทางเคมี (Postgraduate Education and Research Program in Chemistry, PERCH) ผลที่ได้เป็นปริมาณของสาร 2-acetyl-1-pyrroline (Tinakorn *et al*., 2006)

2.2 ปริมาณอะไมโลส (apparent amylose content) (Juliano *et al*., 1981)

วิธีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอะไมโลส โดยนำข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ มาบดให้ละเอียดจนเป็นแป้ง แล้วนำมาวิเคราะห์ทางเคมี วัดค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะไมโลสกับไอโอดีนด้วยเครื่อง Spectrophotometer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved