บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

ทำการเตรียมข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่อยู่ในสภาพเดียวกันกับข้าวที่จำหน่าย มีความชื้นเริ่มต้น 12.79 เปอร์เซ็นต์ บรรจุข้าวในถุงบรรจุภัณฑ์ที่ทำจากฟิล์มพลาสติก 4 ชนิด ที่ได้รับการสนับสนุนจากบริษัทเจียเม้งมาร์เก็ตติ้ง จำกัด อ.เมืองนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี ได้แก่ LDPE/CPP, LLDPE/CPP, PET/LLDPE และ Foil/MPET/LLDPE ตามลำดับ (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 ฟิล์มพลาสติกชนิดต่างๆ ที่นำมาทำเป็นถุงบรรจุภัณฑ์ข้าวสาร

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ความหนาฟิล์ม (μm)	อัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ($cm^3.cm/cm^2.s.Pa$)
(1) LDPE/CPP	80	2.9900×10^{-13}
(2) LLDPE/CPP	110	2.2600×10^{-13}
(3) PET/LLDPE	115	0.2070×10^{-13}
(4) Foil/MPET/LLDPE	140	0.0167×10^{-13}

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(1) (2) (3) (4)

ภาพที่ 3.1 ชนิดของฟิล์มพลาสติกที่ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วงงวงข้าว

ทำการเก็บตัวอย่างด้วงงวงข้าวจากโรงสีเชียงใหม่ไชยวิวัฒน์ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ นำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการด้วยข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิห้องอยู่ในช่วง 28-32 องศาเซลเซียส โดยใช้ตะแกรง ร่อนแยกด้วงงวงข้าวประมาณ 300 ตัว นำไปใส่ในโหลแก้วขนาดประมาณ 800 มิลลิลิตร ภายในบรรจุข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ไม่มีแมลงเข้าทำลาย ปล่อยให้แมลงวางไข่เป็นเวลา 1 วัน ร่อนแยกด้วงงวงข้าวออกจากข้าวสาร ซึ่งแมลงจะวางไข่ในเมล็ดข้าวสาร ปล่อยให้แมลงเจริญเติบโตจากระยะไข่ ไปเป็นระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยอายุประมาณ 2 สัปดาห์ มาใช้ในการทดลอง

การคัดแยกไข่ของด้วงงวงข้าว

เพื่อให้ได้ไข่ของด้วงงวงข้าวที่มีอายุใกล้เคียงกัน จะนำด้วงงวงข้าว (ตัวเต็มวัย) ประมาณ 300-400 ตัวปล่อยลงในข้าวสารที่ต้องการศึกษา ให้แมลงไข่เป็นเวลา 1 วัน จึงร่อนแยกแมลงออกจากข้าวสาร ซึ่งไข่ของแมลงจะฝังอยู่ที่ผิวของข้าวสาร คัดแยกเมล็ดข้าวสารที่มีไข่ด้วงงวงข้าวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้แสงไฟส่องจากด้านล่างและด้านบน สังเกตจากผิวเมล็ดจะปรากฏรอยของการวางไข่ขนาดเล็ก ลักษณะเป็นวงรี กลมสม่ำเสมอ นำเมล็ดข้าวสารที่มีไข่นี้ไปใช้ในการศึกษาต่อไป

การวัดความชื้นข้าวสาร

ทำการวัดความชื้นของข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธีการอบ และคำนวณความชื้นจากน้ำหนักข้าวหลังการอบ ตามวิธีการของ ISTA (1999) สุ่มตัวอย่างข้าวสาร ทำ 20 ซ้ำ และนำมาคำนวณหาความชื้นเมล็ดข้าวตามสมการ

$$\text{ความชื้นเมล็ด} = \frac{(\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ} - \text{น้ำหนักเมล็ดหลังอบ})}{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1 การศึกษาหาฟิล์มพลาสติกชนิดต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อพัฒนาการของการเจริญเติบโตในระยะต่างๆ ของด้วงงวงข้าว

ศึกษาวงจรชีวิตของด้วงงวงข้าวที่เจริญเติบโตภายในบรรจุภัณฑ์ ที่ทำจากฟิล์มพลาสติกชนิดต่างๆ โดยนำ ด้วงงวงข้าวระยะไข่ หนอน ระยะดักแด้ซึ่งอาศัยอยู่ในเมล็ดข้าวสาร และตัวเต็มวัย มาใส่ไว้ในถุงบรรจุข้าวสารที่ทำจากบรรจุภัณฑ์ทั้ง 4 ชนิด ปิดผนึกด้วยระบบความร้อน

- ระยะไข่ นำเมล็ดข้าวสารที่มีการวางไข่ จำนวน 50 เมล็ด (ไข่ 50 ฟอง) ใส่ในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 4 ชนิด กรรมวิธีละ 50 เมล็ด พร้อมทั้งข้าวสารปริมาณ 500 กรัม จำนวน 4 ซ้ำ พร้อมบันทึกระยะเวลาจนกว่าตัวหนอนจะฟักออกจากไข่ โดยสังเกตภายใต้ผิวเมล็ดจะปรากฏรอยกัดกินของตัวหนอนเป็นทางจากจุดที่วางไข่

- ระยะตัวหนอน นำเมล็ดที่มีตัวหนอนเข้าทำลายภายในเมล็ด จากการเพาะเลี้ยงเพิ่มประชากรข้างต้น ปล่อยให้ตัวหนอนเจริญเติบโตต่อภายในเมล็ด มาใส่ในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 4 ชนิด กรรมวิธีละ 50 เมล็ด (หนอน 50 ตัว) พร้อมทั้งข้าวสารปริมาณ 500 กรัม จำนวน 4 ซ้ำ สังเกตด้วยตาเปล่าในการเข้าดักแด้ของแมลง พร้อมบันทึกระยะเวลาจนกว่าตัวหนอนจะเข้าสู่ระยะดักแด้

- ระยะดักแด้ นำเมล็ดข้าวที่มีการเข้าดักแด้ของแมลงจากการเพาะเลี้ยงเพิ่มประชากรข้างต้น จำนวน 50 เมล็ด พร้อมทั้งข้าวสารปริมาณ 500 กรัม มาใส่ในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 4 ชนิด จำนวน 4 ซ้ำ พร้อมบันทึกระยะเวลาจนกว่าดักแด้จะกลายเป็นตัวเต็มวัย

- ระยะตัวเต็มเต็มวัย นำตัวเต็มวัยมาใส่ในบรรจุภัณฑ์ชนิดทั้ง 4 ชนิด พร้อมทั้งข้าวสารปริมาณ 500 กรัม กรรมวิธีละ 50 ตัว จำนวน 4 ซ้ำ บันทึกระยะเวลาจนกว่าแมลงจะตายหมด

บันทึกผลระยะเวลาการเจริญเติบโตของด้วงงวงข้าวในแต่ละวัยที่เกิดขึ้น โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) มี บรรจุภัณฑ์แต่ละชนิดเป็นกรรมวิธี (treatment)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของชนิดฟิล์มพลาสติกที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงก๊าซออกซิเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่มีความสัมพันธ์ต่อการตายของด้วงงวงข้าว

ศึกษาปริมาณความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และออกซิเจนภายในบรรจุภัณฑ์ที่ทำมาจากฟิล์มพลาสติกแต่ละชนิด เพื่อหาความสัมพันธ์ต่อการตายของด้วงงวงข้าว โดยการนำด้วงงวงข้าวในระยะตัวเต็มวัย มาใส่ไว้ในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 4 ชนิด จำนวน 20 ตัวต่อถุง พร้อมกับบรรจุข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 100 กรัม ความชื้นของเมล็ด 12.79 เปอร์เซ็นต์ ก่อนที่จะมีการปิดผนึกด้วยความร้อน วางแผนการทดลองแบบ split plot design โดย main plot คือ ระยะเวลาในการเก็บรักษาข้าวสาร (รวม 13 เวลา) และ sub plot คือ ชนิดของบรรจุภัณฑ์ จำนวน 4 ชนิด ทุกกรรมวิธีทำ 4 ซ้ำ จากนั้นทำการศึกษาข้อมูลดังนี้

1. นับจำนวนด้วงงวงข้าวที่ตาย และวัดปริมาณเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้เข็มฉีดยา (syringe) ดูดก๊าซจากบรรจุภัณฑ์แต่ละชนิดปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วหาปริมาณก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้เครื่อง Headspace oxygen/carbon dioxide analyzer (ingleside. Illinois. NewYork) สุ่มทุกๆ 5 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน

2. วิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของข้าวที่เกิดจากการทำลายของแมลง

เมื่อครบเวลาการเก็บรักษา ไว้ 2 เดือนแล้ว สิ่งที่จะต้องทำการบันทึกผลมีดังนี้

2.1 บันทึกจำนวนเมล็ดที่ถูกทำลาย โดยการสุ่มนำเอาเมล็ดข้าวสารมา 100 เมล็ด แล้วทำการตรวจสอบเมล็ดที่ถูกด้วงงวงข้าวเข้าทำลาย

2.2 คำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของเมล็ดข้าวที่เกิดจากการเข้าทำลายของด้วงงวงข้าว โดยการนำตัวอย่างเมล็ดข้าวมาชั่งน้ำหนักที่หายไป ซึ่งเปอร์เซ็นต์ความเสียหายคำนวณจากสมการ

$$\% \text{ สูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนบรรจุถุงทดลอง} - \text{น้ำหนักเมล็ดหลังการทดลอง}}{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนบรรจุถุงทดลอง}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ กับปริมาณการตายของด้วงงวงข้าว

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ต่อปริมาณการตายของด้วงงวงข้าว

เมื่อทราบถึงชนิดฟิล์มพลาสติกที่ใช้ทำบรรจุภัณฑ์เก็บรักษาข้าวสาร ที่มีแนวโน้มทำให้ด้วงงวงข้าวเจริญเติบโตได้น้อยที่สุด จากนั้น ใช้บรรจุภัณฑ์ที่มีผลต่อการเจริญของแมลงนี้ มาใช้ในการทดลองนี้ โดยบรรจุข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 100 กรัม พร้อมกับ ปล่อยด้วงงวงข้าว จำนวน 20 ตัวลงไปในบรรจุภัณฑ์ จากนั้นบรรจุก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในบรรจุภัณฑ์ ก่อนที่จะมีการปิดผนึก วางแผนการทดลองแบบ split plot design โดย main plot คือช่วงระยะเวลา และ sub plot คือ ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (5 ระดับ) โดยระดับความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 0 (ชุดควบคุม), 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยเก็บรักษาไว้ภายในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ บันทึกผลการตายของด้วงงวงข้าวทุกวัน เป็นเวลา 10 วัน

การตรวจคุณภาพข้าวภายหลังการเก็บรักษาภายใต้ฟิล์มพลาสติกชนิดต่างๆ

เมื่อเสร็จสิ้นระยะเวลาการเก็บรักษาข้าวภายในบรรจุภัณฑ์ที่ทำจากฟิล์มพลาสติกทั้ง 4 ชนิด เป็นเวลา 3 เดือนที่กำหนด นำข้าวสารที่บรรจุอยู่ในฟิล์มพลาสติกชนิดต่างๆ มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ดังนี้

1. การวัดคุณภาพทางเคมี

1.1 วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์อะไมโลส (apparent amylose content)

เป็นวิธีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอะไมโลส โดยนำข้าวสารทดลองที่ผ่านการเก็บรักษาไว้ 3 เดือน มาบดให้ละเอียดโดยเครื่องปดแป้ง (cyclone mill) นำแป้งที่ได้มาวิเคราะห์ทางเคมี วัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายสีน้ำเงินของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะไมโลส และไอโอดีน (งามชื่น, 2545) โดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer (Specord 40, Analytikjena Ltd. Germany).

1.2 วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีน (protein content)

โดยวิธีการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน (Micro Kjeldahl Method) (AACC, 2000) โดยทำให้เกิดสีโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง เป็นเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer (รุ่น Specord 40, Analytikjena Ltd. Germany) แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยรวม (total fatty)

ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยรวม (total-fatty) โดยวิธี solvent extraction โดยใช้วิธีของ AOAC (1995) โดยใช้สารละลายปิโตรเลียมอีเธอร์ 50 มิลลิลิตร โดยเครื่อง Soxtec Manual Extraction Unit รุ่น 2055 (Foss Tecator. Sweden)

2. วัดคุณภาพในการหุงต้ม (cooking quality)

เวลาในการหุงข้าว หุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า (National: SR – D10HN) ขนาด 1 ลิตร ที่มีระบบอุ่นอัตโนมัติ บันทึกเวลาเมื่อปุ่มหุงหยุดทำงาน การหุงข้าวสวยนั้นใช้อัตราส่วน ข้าวสาร : น้ำ ในอัตราส่วน 1: 1.2 โดยปริมาตร (Juliano and Perez, 1984)

2.1 การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis) (Cagampang *et al*., 1998)

เป็นการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุกที่เปลี่ยนแปลงไปโดยเครื่อง Texture Analyzer (TA-XT plus Texture Analyzer; Texture Technologies Corp. Scarsdale NY.) ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ Texture Profile Analysis (TPA) ต่างๆ ได้แก่ ค่าความแน่นแข็ง (hardness) ค่าความเกาะติดกัน (cohesiveness) ค่าความเหนียวติดกัน (adhesiveness) ค่าความเหนียวติดยืด (gumminess) และค่าความเหนียวแน่น (stickiness)

2.2 การประเมินความชอบของผู้บริโภคข้าว โดยการใช้การชิมเป็นตัวทดสอบแล้วสังเกตจากคะแนนการชิมของรสชาติ (flavor) แบบประเมินความชอบ 7-Points hedonic scale (ไพโรจน์, 2545) โดยใช้ผู้ประเมินจำนวน 20 คน

2.3 วัดปริมาณการดูดน้ำของข้าว (Daniels *et al.,* 1998) โดยการสุ่มตัวอย่างของข้าวสารมา 20 กรัม ใส่ในกระบอกลวดตาข่าย เส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร จากนั้นนำไปใส่ลงในบีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำ 200 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิน้ำเดือด (97 องศาเซสเซียส) เป็นระยะเวลา 20 นาที จากนั้นนำขึ้นมาสะเด็ดน้ำทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที นำไปชั่งหาปริมาณน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

$$\text{ปริมาณการดูดน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักข้าวที่เพิ่มขึ้น} - \text{น้ำหนักข้าวเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักข้าวเริ่มต้น}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. วัดปริมาณความชื้นของข้าวสารหลังการเก็บรักษา โดยวัดค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของข้าวในบรรจุภัณฑ์ที่ทำจากฟิล์มพลาสติกชนิดต่างๆ หลังเก็บไว้ 3 เดือน เพื่อทราบถึงความชื้นที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงจากบรรจุภัณฑ์แต่ละชนิด นำตัวอย่างเมล็ดมาบดละเอียดให้ได้ซ้ำละประมาณ 5 กรัม ใส่ไว้ในกระป๋องอะลูมิเนียม อบในตู้อบด้วยอุณหภูมิ 130 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นทิ้งให้เย็นใน desiccator นาน 30 นาที บันทึกน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ และน้ำหนักหลังอบ (ISTA, 1999) คำนวณหาความชื้นเมล็ดจากสูตร

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

เมื่อ A = น้ำหนักกระป๋องอลูมิเนียมพร้อมฝา

B = น้ำหนักกระป๋องอลูมิเนียมพร้อมฝา และข้าวก่อนอบ

C = น้ำหนักกระป๋องอลูมิเนียมพร้อมฝา และข้าวหลังอบ

4. วัดสีของข้าวสาร โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-10 (Konica Minolta. Sensing, Inc. USA) การวิเคราะห์สีของข้าวสาร โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-10 วัดออกมาในค่า L*, a*, b* หลังจากข้าวสารได้ผ่านการเก็บรักษาไว้ในฟิล์มพลาสติกชนิดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ค่า L* คือ ค่าความสว่างของสี ซึ่งมีค่าเริ่มตั้งแต่ 0 ถึง 100 ค่า L* มีค่ามากแสดงว่าสีมีความสว่างมากและถ้า L* เท่ากับ 0 จะเป็นสีดำ

ค่า a* คือ ค่าแสดงระดับสีแดงและสีเขียว ถ้า a* มีค่าเป็นบวกแสดงถึงสีแดง มีค่าเป็นลบแสดงถึงสีเขียว เมื่อห่างจากจุด 0 มากแสดงถึงค่าสีแดงหรือสีเขียวมากขึ้น

ค่า b* คือ ค่าแสดงระดับสีเหลืองและสีน้ำเงิน ถ้า b* มีค่าเป็นบวกแสดงถึงสีเหลือง มีค่าเป็นลบแสดงถึงสีน้ำเงิน เมื่อห่างจากจุด 0 มากแสดงถึงค่าสีเหลืองหรือสีน้ำเงินมากขึ้น

ค่าดัชนีความขาว (Whiteness Index) $= 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$

5. ปริมาณสารหอม (2-acetyl-1-pyrroline; 2AP) เป็นการวิเคราะห์สารหอมในข้าวสารทดลองที่ได้ผ่านการเก็บรักษาในฟิล์มพลาสติกชนิดต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน ด้วยเครื่อง Headspace Gas Chromatography ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6820 ประเทศสวีเดน ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยเคมีของข้าว ภายใต้การสนับสนุนของโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยทางเคมี (PERCH) ผลที่ได้เป็นปริมาณของสาร 2-acetyl-1-pyrroline; 2AP (Tinakorn *et al.,* 2006) ซึ่งเป็นสารหอมที่อยู่ในข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังการเก็บรักษาด้วยฟิล์มพลาสติกชนิดต่างๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved