

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. เมล็ดพันธุ์ข้าววิจัย

สำหรับงานวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์นี้ งานทดลองต่างๆ เป็นงานสืบเนื่องในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวเก่าเพื่อลักษณะของเมล็ดข้าวเจ้าเก่า โดยใช้กลุ่มผสมคือ พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์แม่ และพันธุ์ก้าดอยสะเกิด เป็นพันธุ์พ่อ ทั้งนี้ การคัดเลือกในประชากรลูกผสมตั้งแต่ชั่วที่ 2 ถึง ชั่วที่ 6 (อภิรักษ์, 2545) เป็นการคัดเลือกเพื่อสายพันธุ์กรรมที่มีปริมาณ amylose content ในเมล็ด 12-19% และมี pericarp สีม่วง มีขนาดเมล็ด (length/width ratio or L/W ratio) เท่ากับ 2.20 (เท่ากับค่า mid-parent) ซึ่งจนถึงในชั่วที่ 6 ได้ประชากรลูกผสมที่มีพันธุ์กรรมดังกล่าว 71 สายพันธุ์ ที่พร้อมเข้าสู่การทดสอบเพื่อสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในงานทดลองนี้ ซึ่งมีลำดับขั้นตอนดังนี้คือ

งานทดลองที่ 1. การประเมินความหอมในข้าว

ปลูกที่แปลงทดลอง ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือน กรกฎาคม 2548 ถึงเดือนธันวาคม 2548 นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์คัดชั่วที่ 6 จำนวน 71 สายพันธุ์ ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร สายพันธุ์ละ 1 กระถางๆ ละ 4 ต้น โดยปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อ 2 ต้น และพันธุ์แม่ 2 ต้น รวมกระถางละ 8 ต้น เมื่อข้าวงอกแล้ว 25 วัน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 16-0-0 ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ก่อนออกดอก ภายหลังจากปลูกมีการดูแลน้ำในกระถาง การป้องกันโรคและกำจัดศัตรูพืชตามความเหมาะสม

การบันทึกข้อมูล

- จำนวนรวงต่อกอ
- จำนวนเมล็ดต่อรวง
- น้ำหนัก 1000 เมล็ด
- ความสูง

จากนั้นนำตัวอย่างเมล็ดข้าวที่ระยะเก็บเกี่ยวในแต่ละกระถางมาประเมินความหอมข้าว โดยวิธีการทดสอบกลิ่น (aroma test) (งามชื่น, 2536) คือ นำตัวอย่างข้าว 5 กรัม เติมน้ำเกลือความเข้มข้น 10% จำนวน 4 มิลลิลิตร แล้วปิดจุกยางโดยรองด้วยพลาสติกใส นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 3 นาที นำขึ้นมาทิ้งให้เย็น ประมาณครึ่งชั่วโมง คมกลิ่นหอมของข้าวที่ตัวอย่าง โดยทิ้งช่วงห่าง 10 วินาที

การให้คะแนนความหอม (aroma score)

คะแนน 3	ดมแล้วหอมขึ้นจมูกหรือหอมคล้ายใบเตย
คะแนน 2	ความหอมปานกลาง ดมแล้วรู้สึกว่ามีกลิ่นหอมแต่ไม่มากเท่าคะแนน 3
คะแนน 1	เมื่อดมแทบจะไม่ได้กลิ่น แต่ในส่วนประสาทจะรู้สึกหอม เป็นความหอมที่อ่อนมาก
คะแนน 0	ไม่หอมเลย

โดยแต่ละครั้งต้องมีข้าวมาตรฐานไว้เป็นตัวเปรียบเทียบ

หอม 3	ข้าวหอม 100% (ข้าวดอกมะลิ 105)
หอม 2	ข้าวหอม 50% และ ข้าวธรรมดา 50% (ข้าวดอกมะลิ 105 และ ก้าวคอกสะแก)
หอม 0	ข้าวธรรมดา 100% (ก้าวคอกสะแก)

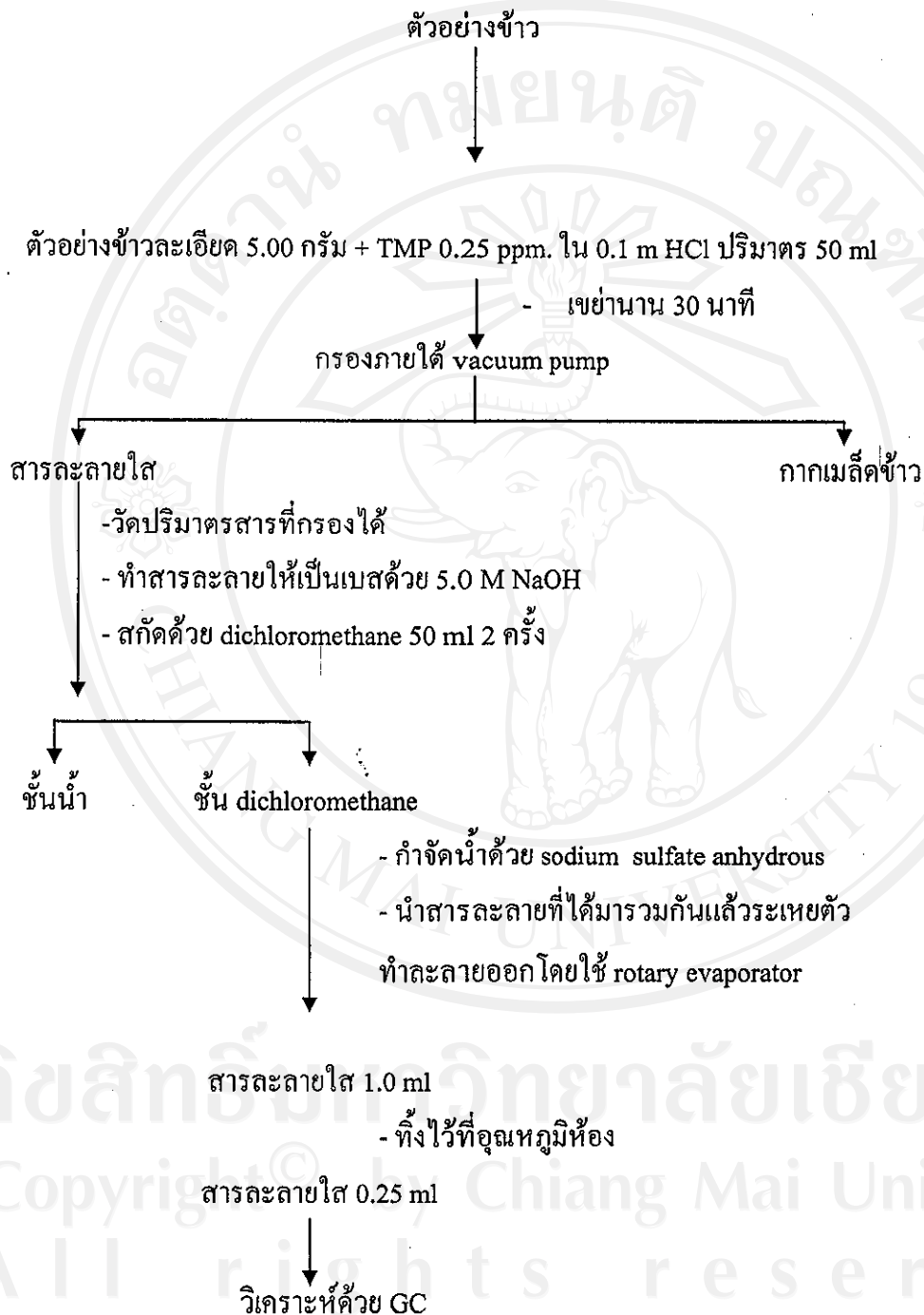
งานทดลองที่ 2. การตอบสนองของสายพันธุ์ในการผลิตสารหอมต่อปุ๋ยโพแทสเซียม

จากงานทดลองที่ 1 คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มี สารหอม 2AP สูง 4 สายพันธุ์ และที่มี สารหอม 2AP ต่ำ 1 สายพันธุ์ โดยใช้ พันธุ์พ่อแม่ เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ ปลูกลงแปลงทดลอง ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือน กรกฎาคม 2549 ถึงเดือน ธันวาคม 2549 ปลูกลงในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร วางแผนการทดลอง แบบวางแผนการทดลองแบบ Split Plot design in RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยกำหนดระดับปุ๋ย โพแทสเซียม 4 ระดับ คือ 0, 5, 10 และ 15 kg K₂O/ha (0, 3.535, 7.070 และ 10.605 กรัมต่อกระถาง) เป็น main plot และพันธุ์ข้าวที่คัดเลือก เป็น sub plot นำตัวอย่างเมล็ดข้าวที่ระยะเก็บเกี่ยว มา วิเคราะห์หาปริมาณของ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ข้าวกับ ระดับปุ๋ยโพแทสเซียมที่มีผลต่อปริมาณสารหอม 2AP ในข้าวตามแบบวิธีของ Mahatheeranont *et al.*, (2001)

วิธีการวิเคราะห์ 2AP

นำตัวอย่างข้าว 5 กรัม บดให้ละเอียด เติมสาร 2,4,6, trimethylpyridine (TMP) 0.25 ppm. ใน 0.1 M HCl ปริมาตร 50 ml เขย่าด้วย shaker เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง นำส่วนที่กรองได้มาทำให้เป็นเบสด้วยสารละลาย sodium hydroxide ความเข้มข้น 5.0 M และสกัด ต่อทันทีด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ dichloromethane ปริมาตร 50 ml ทำสองครั้ง แยกเก็บชั้นของตัว ทำละลายมารวมกัน จากนั้นเติม sodium sulfate anhydrous เพื่อกำจัดน้ำ แล้วนำไประเหยด้วย เครื่องหมุนระเหยความดันต่ำ (rotary evaporator) จากนั้นนำสารละลายใส 1.0 ml นำมาตรวจวัด

ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี ใช้คอลัมน์แบบคาปิลลารี Stabilwax DB ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ยาว 30 เมตร วิธีการเตรียมตัวอย่างแสดงในภาพ 3.1



ภาพ 3.1 แสดงขั้นตอนการสกัดสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline จากเมล็ดข้าวโดยวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรด

การบันทึกข้อมูล

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารและอัตราส่วนพื้นที่ได้ฟักของสารมาตรฐาน และสารมาตรฐานภายใน ความเข้มข้นของสารหอม 2AP ในสารสกัดคำนวณได้จากการนำผลอัตราส่วนพื้นที่ได้ฟักของสารหอม 2AP ที่มีในสารสกัดและสารมาตรฐานภายใน TMP มาเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน

การวิเคราะห์ข้อมูล

ปริมาณ 2-acetyl-1-pyrroline ที่คำนวณได้ในแต่ละตัวอย่างนำมาวิเคราะห์เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธี Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Least Significant Difference (LSD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved