ภาคผนวก

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ความชื้น (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
2. ตู้อบไฟฟ้า
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้นหลังจากนั้นชั่งน้ำหนัก
2. ทำเช่นเดียวกับข้อ 1 ซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-2 กรัม ใส่ในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว
4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง
5. นำออกจากตู้อบใส่โถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก
6. อบซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาทีและทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
7. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้นคิดเป็นเปอร์เซ็นต์} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

เมื่อ M_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

M_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

Prince of Songkla University Pattani Campus

2. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000)

<u>อุปกรณ์</u>

1. อุปกรณ์การย่อยโปรตีน ประกอบด้วยเตาเผาและเครื่องดักจับไอกรด
2. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน
3. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร และขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ปิเปต (แบบกระเปราะ) ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
5. บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
6. ลูกแก้ว
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

<u>สารเคมี</u>

1. สารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.H_2O$) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) อัตราส่วน 1:10
2. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40
4. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4
5. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N
6. อินดิเคเตอร์เป็นสารผสมระหว่างเมทิลเรด เมธีลีนบลู และโบรโมครีซอลกรีน

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

<u>ขั้นตอนการย่อย</u>

1. การชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-3 กรัมใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน
2. ใส่สารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟตและโพแทสเซียมซัลเฟต ปริมาณ 5 กรัม
3. เติมกรดซัลฟูริกปริมาณ 20 มิลลิลิตร
4. วางหลอดย่อยในตัวอย่างย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบ ขวดใส่ด่างและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย
5. เปิดสวิทช์เครื่องดักจับไอกรดและเตาย่อยแล้วตั้งอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 400 องศาเซลเซียส ย่อยต่ออีก 60 นาที จนได้สารละลายใส
6. ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

Prince of Songkla University Pattani Campus

ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรท

1. จัดอุปกรณ์กลั่น แล้วเปิดสวิทช์ให้ความร้อน และเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่น

2. นำขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกรดบอริก (เข้มข้นร้อยละ 4) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์แล้วไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรด

3. เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อย 20 มิลลิลิตร จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ทำปฏิกิริยาเกินพอ สังเกตให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลขุ่น

4. กลั่นให้ได้ของเหลวอยู่ในระดับ 125 มิลลิลิตร

5. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 0.1 N จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วง

6. คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{(A-B)\times N\times 1.4007\times F}{W}$

เมื่อ A คือปริมาณกรดที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือปริมาณกรดที่ใช้ไตเตรทกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

N คือความเข้มข้นของกรด (N)

F คือแฟคเตอร์ (5.85)

W คือน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

Prince of Songkla University Pattani Campus

3. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

<u>อุปกรณ์</u>

1. Soxhlet apparatus
2. หลอดใส่ตัวอย่าง
3. สำลี
4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า
6. โถดูดความชื้น

<u>สารเคมี</u>

ปิโตรเลียมอีเทอร์หรือเฮกเซน

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ใส่ขวดกลมสำหรับการหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงใน Soxhlet เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์ ลงในขวดหาไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา
4. ประกอบอุปกรณ์ชุดกลั่นไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทช์ให้ความร้อน
5. ปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 6 ชั่วโมงแล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก Soxhlet ทั้งให้ตัวทำละลายไหลจาก Soxhlet ลงในขวดก้นกลมจนหมด
7. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ
8. นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
9. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

Prince of Songkla University Pattani Campus

10. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{W_2 \times 100}{W_1}$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักขวดตัวอย่างก่อนอบ

W_2 คือ น้ำหนักขวดตัวอย่างหลังอบ

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 2000)

<u>อุปกรณ์</u>

1. Crucible
2. Muffle furnace (เตาเผา)
3. Hot plate
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่ง

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกจากเตาเผาเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล

2. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1. จนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่ (ในแต่ละซ้ำต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล (W_1)

3. ชั่งตัวอย่างอย่างละเอียดประมาณ 2 กรัม (S) ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ เผาบนเตาไฟฟ้า จนหมดควัน

4. นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีเทาอ่อน หรือสีขาวสม่ำเสมอ นำออกจากเตาเผา เก็บในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล

5. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 4. (ในแต่ละซ้ำต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล (W_2)

6. คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{S}$$

Prince of Songkla University Pattani Campus

5. การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารโดยใช้วิธีการสกัดด้วยกรด-ด่าง (AOAC, 2000)

<u>อุปกรณ์</u>

1. อุปกรณ์ชุดหาปริมาณใยอาหาร
2. กระดาษกรองเบอร์ 41
3. Suction funnel
4. กรวยกรอง
5. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
6. Hot air oven
7. เตาอบ
8. โถดูดความชื้น
9. เครื่องชั่ง

<u>สารเคมี</u>

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1.25
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1.25
3. เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. นำกระดาษกรองอบในตู้อบ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงแล้วนำมาใส่ในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมันออกและนำมาใส่ในบีกเกอร์สำหรับวิเคราะห์ใยอาหาร
3. เติมกรดซัลฟิวริก ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
4. วางบีกเกอร์ลงบนอุปกรณ์ให้ความร้อนที่ต่อกับเครื่องควบแน่นและเปิดน้ำหล่อเครื่องควบแน่น เปิดสวิตซ์ไฟฟ้า ต้มให้เดือดนาน 30 นาที
5. กรองตัวอย่างขณะร้อนผ่านกระดาษกรองล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งน้ำล้างหมดความเป็นกรด
6. ถ่ายกากที่ได้ในบีกเกอร์ใบเดิมเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 200 มิลลิลิตร
7. วางบีกเกอร์ลงบนอุปกรณ์ให้ความร้อนที่ต่อกับเครื่องควบแน่นและเปิดน้ำหล่อเครื่องควบแน่น เปิดสวิตซ์ไฟฟ้า ต้มให้เดือดนาน 30 นาที
8. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองแผ่นเดิมล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งน้ำล้างหมดความเป็นด่าง
9. ล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

Prince of Songkla University Pattani Campus

10. นำกระดาษกรองพร้อมกากใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบและอบในตู้อบ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ในโถดูดความชื้น

11. ชั่งน้ำหนักซ้ำจนกระทั่งได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

12. คำนวณหาปริมาณเถ้าตามสูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณใยอาหาร} = \frac{(M_2 - M_1) \times 100}{S}$$

เมื่อ M_1 คือน้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

M_2 คือผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

S คือน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น

6. การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในสตาร์ช (ISO, 1987)

<u>อุปกรณ์</u>

1. ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
2. ไปเปตขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร
3. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
4. Spectrophotometer
5. Cuvette
6. น้ำกลั่น

<u>สารเคมี</u>

1. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)
2. สารละลายไอโอดีน (ละลายไอโอดีนร้อยละ 0.2 โพแทสเซียมไอโอไดร้อยละ 2)
3. เอทานอล
4. Potato amylose
5. Waxy rice starch
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 N
7. กรดอะซิติก 1 M

Prince of Songkla University Pattani Campus

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งสารตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 100 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมเอธิลแอลกอฮอร์ 1 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. ต้มให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที วางทิ้งไว้ 1 คืน

3. เติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

4. ปิเปตสารละลายน้ำแป้งที่เตรียมได้มา 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ที่กรดอะซิติกเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาทีในที่มืด

5. นำน้ำแป้งที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 565 นาโนเมตร

6. หาปริมาณอะมิโลสจากกราฟมาตรฐาน โดยแสดงค่าเป็นร้อยละของน้ำหนักตัวอย่าง

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. ชั่งอะมิโลสบริสุทธ์และแป้งข้าวเหนียว เตรียมสารละลาย (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมเอธิลแอลกอฮอร์ 1 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. ต้มให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที วางทิ้งไว้ 1 คืน

3. เติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

4. นำสารละลายอะมิโลสและอะมิโลเพกตินผสมเข้าด้วยกันในสัดส่วนที่มีปริมาณ อะมิโลส อยู่ในช่วง 0-100 โดยปริมาตร (ดังตารางภาคผนวกที่ 1)

5. ปิเปตสารละลายอะมิโลสที่เตรียมได้มา 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ที่มีกรดอะซิติกเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 20 นาที

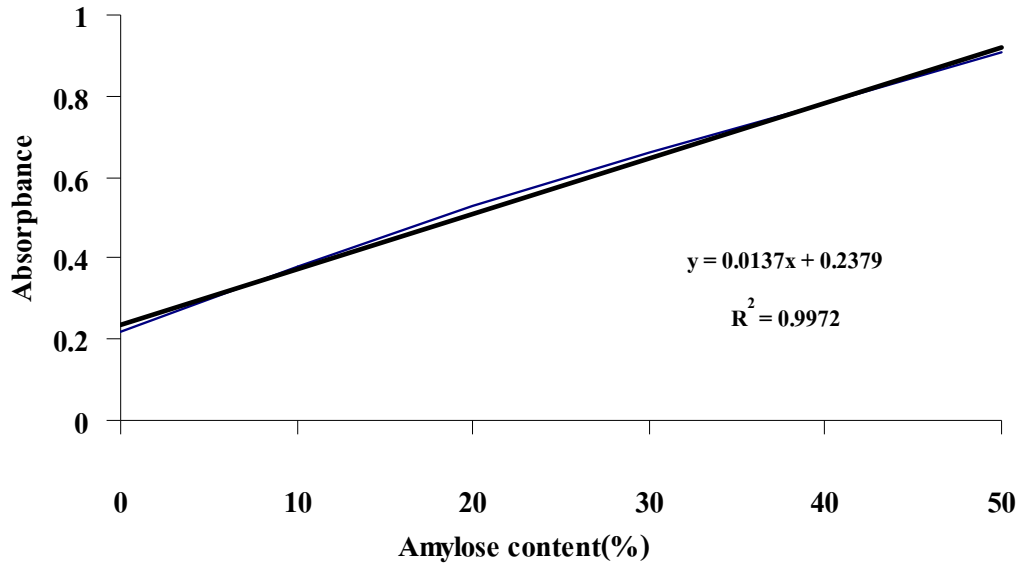
6. นำสารละลายมาตรฐานอะมิโลสที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 565 นาโนเมตร

7. นำค่าที่วัดได้ที่ระดับอะมิโลสต่างๆ มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาณอะไมโลส

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงสัดส่วนของปริมาณอะไมโลสและอะไมโลเพกตินสำหรับทำกราฟมาตรฐาน

อะไมโลส (เปอร์เซ็นต์)	อะไมโลเพกติน (เปอร์เซ็นต์)
0 (0)	20 (100)
2 (10)	18 (90)
4 (20)	16 (80)
6 (30)	14 (70)
8 (40)	12 (60)
10 (50)	10 (50)



รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของปริมาณอะไมโลส

7. การหาปริมาณเหล็ก (Bindra *et al.*, 1986)

<u>อุปกรณ์</u>

1. โกร่งบดตัวอย่าง
2. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
3. ไปเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร
4. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
5. Muffle furnace
6. Flame Atomic Absorption Spectrophotometer

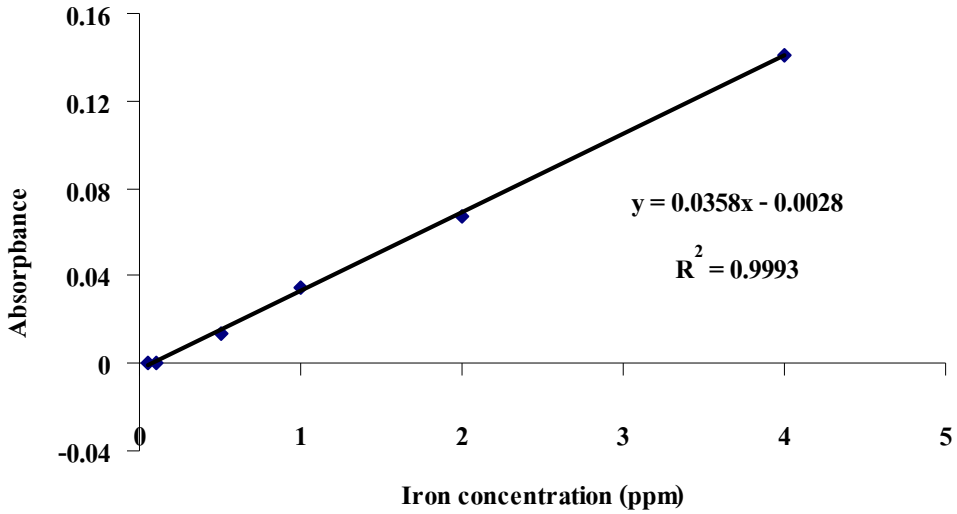
<u>สารเคมี</u>

1. กรดไนตริกเข้มข้น
2. กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 6 M
3. น้ำ Deionized

<u>การเตรียมตัวอย่าง</u>

1. บดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยโกร่งบดตัวอย่าง
2. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม นำไปเผาด้วย muffle furnace ที่ 450 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
3. หยดกรดไนตริกลงไปเล็กน้อย นำไปเผาซ้ำที่สภาวะเดิม นาน 24 ชั่วโมง จนเผาไหม้สมบูรณ์ได้เถ้าสีขาวเทา
4. ทิ้งให้ตัวอย่างเย็นลง แล้วเติมสารละลายกรดไฮโดรครอริก เข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 6 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำ Deionized ปริมาณ 3 มิลลิลิตร
5. นำไปให้ความร้อนสังเกตให้น้ำ Deionized ระเหยหมด
6. นำสารละลายที่ผ่านการระเหย ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำ Deionized
7. นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย Flame Atomic Absorption Spectrophotometer

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานของธาตุเหล็ก

Prince of Songkla University Pattani Campus

8. การวิเคราะห์วิตามิน (Sancho *et al*., 1998)

8.1 ปริมาณวิตามินอี

เตรียมตังอย่างโดยชั่งตัวอย่างแป้งข้าว 10 กรัม เติมเมทานอล 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่านาน 30 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำตัวอย่างที่ได้จากการกรองไปเอาระเหยตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนำตัวอย่างไปหาปริมาณวิตามินอีโดยใช้เครื่อง HPLC โดยตั้งค่าตามตารางภาคผนวกที่ 2

ตารางภาคผนวกที่ 2 สภาวะในการฉีดวิตามินอี โดยเทคนิค HPLC

Item	Value	Units
Total Flow	1.000	ml-min
B conc (เมทานอล)	20	%
C conc (อะซิโตนไนไตร)	80	%
D conc	0	%
Pump A Pressere	4.8	Mpa
Pump A Degasser	-91	Mpa
Room Temperature	26	° C
Oven Temperature	40.0	° C
Maximum Temperature	85.0	° C
Lamp (PDA)	D2	
D2 Lamp Chang tnterral	291	hr
W Lamp Chang tnterral	592	hr
Injection Volure	20	µl

Prince of Songkla University Pattani Campus

8.2 ปริมาณวิตามินบี

เตรียมตัวอย่างโดยการชั่งตัวอย่างแป้งข้าว 5 กรัม เติม *n*-hexane 4 มิลิลิตรและน้ำ Deionized ปริมาตร 16 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Homogenized ที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบ/นาที นาน 3 นาที หลังจากนั้นนำไปเซนทริฟิวส์ที่ 5,000 รอบ นาน 30 นาที แล้วนำไปหาวิตามินบีโดยใช้เครื่อง HPLC

ตารางภาคผนวกที่ 3 สภาวะในการฉีดวิตามินบี โดยเทคนิค HPLC

Item	Value	Units
Total Flow	1.000	ml-min
B conc	0.0	%
C conc (อะซิโตนไนไตร)	5.0	%
D conc (บัฟเฟอร์)	95.0	%
Pump A Pressere	4.8	Mpa
Pump A Degasser	-91	Mpa
Room Temperature	26	° C
Oven Temperature	40.0	° C
Maximum Temperature	85.0	° C
Lamp (PDA)	D2	
D2 Lamp Chang tnterral	291	hr
W Lamp Chang tnterral	592	hr
Injection Volure	20	µl

Prince of Songkla University Pattani Campus

9. การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวมีสี (Gómez-Alonso *et al*., 2007)

<u>อุปกรณ์</u>

1. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. แท่งแก้วคน
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง
4. อ่างน้ำร้อน

<u>สารเคมี</u>

1. เมทานอล
2. กรดฟอร์มิก

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. นำแป้งข้าวกล้อง 150 กรัม ไปสกัดด้วยเมทานอล น้ำและกรดฟอร์มิก (50:48.5:1.5 v/v) ที่อุณหภูมิห้อง โดยทิ้งข้ามคืน จากนั้นกรอกเอาแต่สารละลายใส
2. นำสารละลายที่ได้ไประเหยด้วยภายใต้ความดันที่ 45 องศาเซลเซียส จนกระทั่งตัวทำละลายระเหยหมด
3. นำสารละลายที่ได้เก็บในหลอดทดลอง แล้วปิดด้วยกระดาษฟรอยด์ เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

10. การหาปริมาณสารโพลีฟีนอล (Aguitar-Garcia, 2007)

<u>อุปกรณ์</u>

1. หลอดทดลอง
2. เครื่องเขย่าสารละลาย
3. ไปเปตขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร
4. ไมโครไปเปต
5. Spectrophotometer

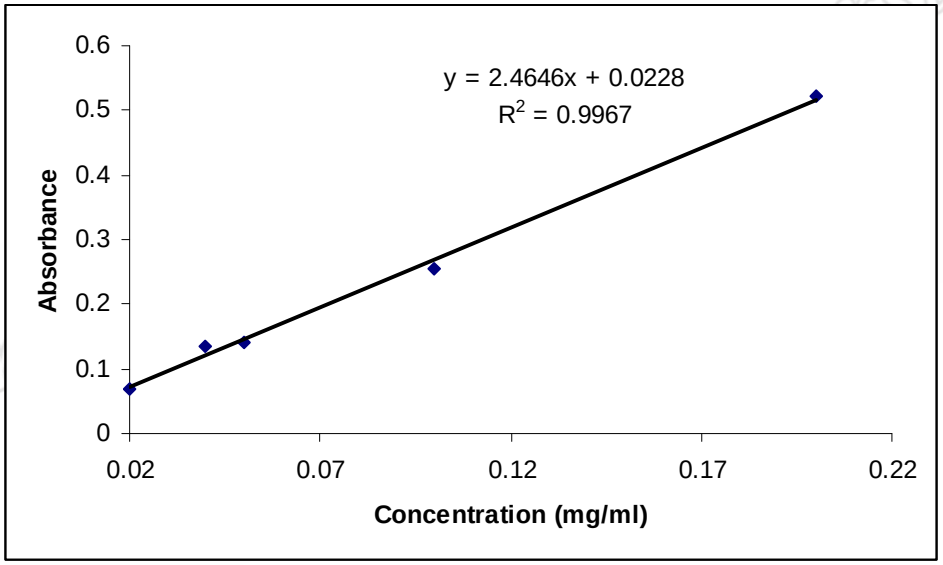
<u>สารเคมี</u>

1. สารละลาย Folin-Ciocalteu ต่อน้ำ 1:9 โดยปริมาตร
2. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เข้มข้น 75 กรัมต่อลิตร

Prince of Songkla University Pattani Campus

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. ดูดสารละลาย Folin-Ciocalteu ที่เตรียมใหม่ๆ มา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นใส่สารละลายตัวอย่าง 60 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน
2. บ่มในที่มืดนาน 2 นาที
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เข้มข้น 75 กรัมต่อลิตร จำนวน 2 มิลลิลิตร
4. บ่มสารละลายนาน 15 นาทีที่ 50 องศาเซลเซียส แล้วทำให้เย็นทันทีด้วยการลดอุณหภูมิด้วยน้ำแข็ง
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร ควรอ่านค่าภายใน 15 นาที
6. ทำกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายกรดแกลลิก



รูปภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

11. การวิเคราะห์การยับยั้งอนุมูล DPPH˙ (ดัดแปลงจาก Zigonenu *et al*., 2007)

<u>อุปกรณ์</u>

1. หลอดทดลอง
2. เครื่องเขย่าสารละลาย
3. ไมโครไปเปต
4. ไปเปตขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
6. Spectrophotometer

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลาย DPPH ในเอทานอล เข้มข้น 200 µM
2. เอทานอล
3. สารมาตรฐาน Trolox

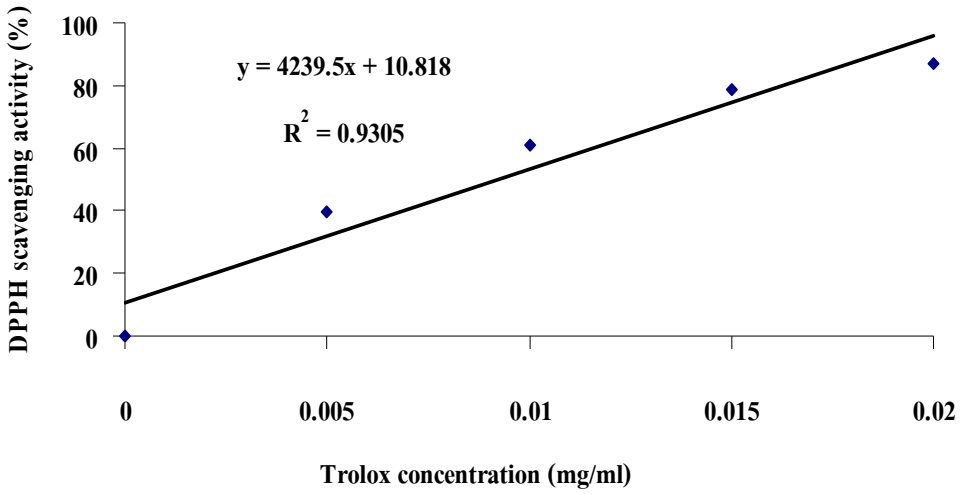
<u>ขั้นตอนการวิเคราะห์</u>

1. เจือจางตัวอย่างด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.4 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ไปเปตสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมใหม่ๆ จำนวน 3 มิลลิลิตรใส่ลงในสารละลาย DPPH ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 0 และ 30 นาทีในที่มืด
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลผสมกับสารละลาย DPPH เป็นตัวควบคุม คำนวณค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระตามสูตรดังนี้

$$\text{สามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH}^{\cdot} = \frac{\left(Abs_{t=0} - Abs_{t=30}\right)\times 100}{Abs_{t=0}}$$

4. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ แล้วหา สมการถดถอย
5. ทำกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลาย Trolox ในเอทานอล เข้มข้น 0, 0.005, 0.010, 0.015 และ 0.020 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
6. คำนวณหาค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยเทียบเท่ากับสารละลาย Trolox (Trolox equivalent antioxidant activity, µmol) โดยการนำความชันของกราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระของตัวอย่างหารด้วยความชันของกราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารละลาย Trolox

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปภาคผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐานของการกำจัดอนุมูล DPPH ของ Trolox

12. การวิเคราะห์การยับยั้งอนุมูล $ABTS^{+}$ (ดัดแปลงจาก Choi *et al.*, 2007)

<u>อุปกรณ์</u>

1. หลอดทดลอง
2. เครื่องเขย่าสารละลาย
3. ไมโครไปเปต
4. ไปเปตขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
6. Spectrophotometer

<u>สารเคมี</u>

1. ABTS
2. เอทานอล
3. สารมาตรฐาน Trolox

Prince of Songkla University Pattani Campus

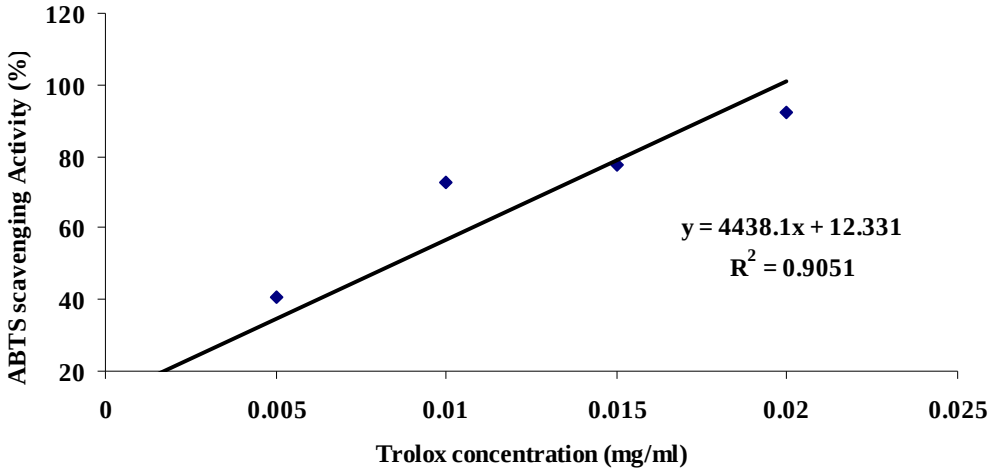
ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลาย ABTS โดยใช้ ABTS เข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ทำปฏิกิริยากับ สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต เข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ จากนั้นทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องนาน 16 ชั่วโมง
2. นำสารละลาย ABTS ที่เตรียมไว้ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 414 นาโนเมตร กำหนดให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 1.4-1.5 ถ้าไม่ได้ ให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น
3. เจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 0, 0.06, 0.125, 0.25 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
4. เติมสารละลายตัวอย่างจำนวน 600 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลาย ABTS ปริมาตร 6 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 414 นาโนเมตร คำนวณค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระตามสูตรดังนี้

$$\text{สามารถในการยับยั้งอนุมูล } ABTS^{+} = \frac{\left(Abs_{t=0} - Abs_{t=1}\right) \times 100}{Abs_{t=0}}$$

5. ทำกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลาย Trolox ในเอทานอล เข้มข้น 0, 0.005, 0.010, 0.015 และ 0.020 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
6. สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ แล้วหา สมการถดถอย
7. คำนวณหาค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยเทียบเท่ากับสารละลาย Trolox (Trolox equivalent antioxidant activity, μmol) โดยการนำความชันของกราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระของตัวอย่างหารด้วยความชันของกราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารละลาย Trolox

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปภาคผนวกที่ 5 กราฟมาตรฐานของการกำจัดอนุมูล $ABTS^{+}$ ของ Trolox

13. วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึกด้วยเครื่อง X-ray Diffraction (XRD) (Wajira and David, 2006)

<u>อุปกรณ์</u>

1. X-ray Diffractometer (PHILIP PS:X' Pet MPD)
2. ภาชนะใส่ตัวอย่าง

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. วางตัวอย่างในภาชนะใส่ตัวอย่าง
2. ตั้งค่าเครื่อง XRD โดยใช้แรงดันไฟฟ้าเท่ากับ 40 กิโลโวลต์ และกระแสไฟฟ้าเท่ากับ 30 มิลลิแอมแปร์
3. ใช้หลอดรังสีโคบอลต์สร้างคลื่นรังสี CoK_{α} ที่ความยาวคลื่น 1.54 อังสตรอม
4. รูปแบบการเลี้ยวเบนถูกบันทึกมุมในช่วง 4-38 องศา ใช้ Step size = 0.02

Prince of Songkla University Pattani Campus

2. การตรวจดูรูปร่างเม็ดสตาร์ชด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) (Navdeep and Narpinder, 2002)

<u>อุปกรณ์</u>

1. ก้านสำลี
2. กระดาษกาวสองหน้า
3. ทองคำสำหรับฉาบตัวอย่าง

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

ใช้ก้านสำลีเขี่ยตัวอย่างแป้งลงบนที่ใส่ตัวอย่าง ที่มีกระดาษกาวสองหน้าติดอยู่ และฉาบด้วยทอง จากนั้นนำไปถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน และวัดขนาดของเม็ดแป้งเฉลี่ยที่ได้

14. การตรวจดูลักษณะเม็ดสตาร์ชด้วยกล้องจุลทรรศน์ (กล้าณรงค์และเกื้อกูล, 2546)

<u>อุปกรณ์</u>

1. กล้องจุลทรรศน์แบบมีแสงโพลาไรซ์ที่เชื่อมต่อกับอุปกรณ์บันทึกภาพด้วยคอมพิวเตอร์
2. แผ่นสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์
3. กลีเซอรอล
4. ช้อนตักสารหรือไม้จิ้มฟัน
5. หลอดหยด

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ใช้หลอดดูดกลีเซอรอลลงแผ่นสไลด์ที่สะอาด
2. ใช้ช้อนตักสารหรือไม้จิ้มฟัน แตะแป้งเบาๆ และเคาะเบาๆ ให้กระจายบางๆและห่างๆ ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์
3. ตรวจดูรูปร่างของเม็ดสตาร์ช ให้ปิดแผ่นสไลด์ด้วยแผ่นปิดกระจก แล้วส่องดูสตาร์ชตัวอย่างภายใต้แสงปกติ บันทึกภาพ กรณีตรวจสอบลักษณะ moltese cross ทำได้โดยการวางแผ่นสไลด์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ปิดทางเดินแสงด้วยเลนส์โพลาไรซ์ แล้วปรับหมุนที่ตัวเลนส์โพลาไรซ์ เพื่อให้เกิดระนาบแสงโพลาไรซ์ ทำการบันทึกภาพ

Prince of Songkla University Pattani Campus

15. ศึกษาขนาดของเม็ดสตาร์ชด้วย Particle size analyzer (Kuar *et al*., 2004)

อุปกรณ์

1. เครื่อง Laser Particle Size Analyzer (COULTER LS230)
2. เครื่องคอมพิวเตอร์

วิธีการวิเคราะห์

1. ตัวอย่าง 0.25 กรัม ลงในน้ำกลั่นซึ่งอยู่ในขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial)
2. ผสมสารตัวอย่างให้เข้ากัน
3. หยดสารละลายตัวอย่างประมาณ 10 หยด ลงใน sample port
4. เมื่อเครื่องอ่านค่า Poralization 45% หรือ 10-14% abscuration.
5. เริ่มทำการวิเคราะห์

16. วิเคราะห์หาความหนืดอินทรินสิค (Intrinsic viscosity) (Tangiertpaibul and Rao, 1987)

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. สำลี
3. Ostward type viscometer ขนาด 2 มิลลิลิตร

สารเคมี

โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เข้มข้น 5 M

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างไปทำละลายด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เข้มข้น 5 M ปรับให้ความ เข้มข้นเท่ากับ 3 เปอร์เซ็นต์ (W/V)
2. นำสารละลายไปให้ความร้อนที่ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
3. นำออกมาวางให้เย็นทิ้งไว้ 1 คืน พร้อมกับคนตลอดเวลา
4. สังเกตว่าสารละลายที่ได้จะมีความใส จากนั้นนำไปกรองผ่านสำลีด้วย suction
5. นำสารละลายที่กรองได้ไปเจือจางด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ให้อยู่ในช่วง 0.1, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.00 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
6. ในการวิเคราะห์จะตั้งอุณหภูมิของระบบเท่ากับ 20 องศาเซลเซียส
7. ใส่ตัวอย่างลงไปใน Ostward type viscometer รอให้ตัวอย่างมีอุณหภูมิเท่ากับ 20 องศาเซลเซียส หรือไว้ 20 นาที แล้วดูดเอาสารละลายขึ้นไปข้างบนของหลอดคาปิลลารี่ โดยสังเกตว่าระดับของ

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารละลายต้องอยู่เหนือขีดที่หลอดคาปิลลารี่กำหนดไว้ จากนั้นปล่อยตัวอย่างไหลลงมา เริ่มจับเวลาการไหลของตัวอย่าง

8. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Relative viscosity และความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง แล้วหาค่าความชัน ซึ่งความชันที่ได้คือความหนืดอินทรินสิค จากสมการของ Einstein ดังต่อไปนี้

$$\eta_r = 1 + [\eta]c$$

เมื่อ η_r คือ Relative viscosity = t/t_0

t คือ เวลาที่สารละลายตัวอย่างใช้ในการไหล (วินาที)

t_0 คือ เวลาที่ตัวทำละลายใช้ในการไหล (วินาที)

$[\eta]$ คือ Intrinsic viscosity (มิลลิลิตรต่อกรัม)

c คือ ความเข้มข้นของสารละลาย (กรัมต่อมิลลิลิตร)

17. การวิเคราะห์กำลังการพองตัวและการละลาย (Li and Yeh, 2001)

<u>อุปกรณ์</u>

1. หลอดเซ็นติฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. อ่างน้ำร้อน
3. เครื่องเซ็นติฟิวจ์
4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง
6. ถ้วยอะลูมิเนียมสำหรับวิเคราะห์ความชื้น
7. หลอดหยด

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่างแป้ง 0.1 กรัม ใส่หลอดเซ็นติฟิวจ์
2. เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร
3. แช่หลอดเซ็นติฟิวจ์ในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55 65 75 85 และ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปทำให้เย็นลง มีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส
4. นำไปเหวี่ยงในเครื่องเซ็นติฟิวจ์ด้วยความเร็วรอบ 2200 รอบต่อนาที นาน 15 นาที
5. ดูดของเหลวชั้นบนใส่ถ้วยอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอนให้มากที่สุด และนำไปอบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่ แล้วชั่งบันทึกน้ำหนัก น้ำหนักที่

Prince of Songkla University Pattani Campus

ได้คือส่วนที่ละลายน้ำ

6. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแป้งเปียก (ส่วนที่เหลืออยู่ในหลอดเซ็นติฟิวจ์) เพื่อให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน และคำนวณค่ากำลังการพองตัว

<u>วิธีการคำนวณ</u>

$$\text{การละลาย (ร้อยละ)} = \frac{SW \times 100}{W}$$

เมื่อ SW คือ น้ำหนักที่ละลายน้ำ (กรัม)

W คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

$$\text{กำลังการพองตัว (กรัม/กรัม)} = \frac{PW \times 100}{W}$$

เมื่อ PW คือ น้ำหนักแป้งเปียก (กรัม)

W คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

18. ศึกษาความหนืดของสตาร์ชด้วย Rapid Viscosity Analyzer (RVA) (Newport Scientific, 1998)

<u>อุปกรณ์</u>

1. Rapid Viscosity Analyzer (RVA)
2. กระบอกใส่ตัวอย่าง

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. เตรียมตัวอย่างตามวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง RVA โดยใช้ตัวอย่างปริมาณ 3 กรัม ที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์และเติมน้ำปริมาณ 25 มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่างใส่เข้าไปในเครื่อง ซึ่งใช้ Thermocline software ในการควบคุม เลือกโปรไฟล์ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ คือ ใช้อุณหภูมิระหว่าง 50-95-50 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาทั้งหมด 13 นาที โดยความเร็วในการกวน 10 วินาทีแรกเป็น 960 รอบต่อนาที หลังจากนั้นลดเป็น 160 รอบต่อนาที ตลอดการทดลอง การปรับอุณหภูมิเริ่มจาก คงตัวไว้ที่ 50 องศาเซลเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที เพิ่มอุณหภูมิจาก 50 เป็น 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที 42 วินาที และคงไว้ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 นาที 30 วินาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงจาก 95 เป็น 50 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 3 นาที 48 วินาที คงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 2 นาที

Prince of Songkla University Pattani Campus

3. ในการชั่งตัวอย่างและวัดปริมาณน้ำ เพื่อที่จะให้ได้ผลถูกต้องควรนำค่าความชื้น (Moisture content) ของตัวอย่างมาคิดด้วย ซึ่งจะทำให้เมื่อคิดน้ำหนักของตัวอย่างเมื่อแห้งแล้วมีจำนวนเท่ากันปกติค่าความชื้นจะอยู่ที่ 14 เปอร์เซ็นต์ และมีสูตรที่ใช้ในการคำนวณสำหรับความชื้นที่ 14 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้

$$M_2 = \frac{(100-14)}{(100-M_1)} \times M_1$$

$$W_2 = 25 + (M_1 - M_2)$$

เมื่อ M_1 = น้ำหนักตัวอย่างตามที่แนะนำไว้ในตาราง
M_2 = น้ำหนักที่ถูกต้อง
W_2 = ปริมาณน้ำที่ถูกต้อง

19. ศึกษาการเกิดเจลาติไนเซชันด้วย Differential Scanning Calorimeter (DSC)

(ดัดแปลงจาก Kuar *et al*., 2004)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่อง Perkin Elmer diamond DSC
2. Aluminium pan พร้อมฝา ขนาด 30 ไมโครลิตร
3. วัสดุ Calibrate คือ Indium

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่างแป้งต่อน้ำ 1:3 (โดยน้ำหนักแห้ง) ลงใน Aluminium pan จากนั้นปิดผนึก และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12 ชั่วโมง หรือ 1 คืน
2. ตัวอย่างถูกวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 40-100 องศาเซลเซียส ที่อัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที
3. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลและอ่านอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนซ์ที่ต่างกันตั้งแต่อุณหภูมิเริ่ม (T_o) อุณหภูมิสูงสุด (T_p) อุณหภูมิสิ้นสุด (T_c) และค่าค่าเอนทาลปี

Prince of Songkla University Pattani Campus

20. ศึกษาการเกิดรีโทรกราเดชันด้วยเครื่อง DSC (ดัดแปลงจาก Kuar *et al*., 2004)

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่อง Perkin Elmer diamond DSC
2. Aluminium pan พร้อมฝา ขนาด 30 ไมโครลิตร
3. วัสดุ Calibrate คือ Indium

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่างแป้งต่อน้ำ 1:3 (โดยน้ำหนักแห้ง) ลงใน Aluminium pan จากนั้นปิดผนึก และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12 ชั่วโมง หรือ 1 คืน นำไปวิเคราะห์การเกิดเจลาทิไนเซชัน
2. เก็บตัวอย่างที่ผ่านการเกิดรีโทรกราเดชัน ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน
3. ตัวอย่างถูกวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่อัตราการให้ความร้อน 20 องศาเซลเซียสต่อนาที
4. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลและอ่านอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนซ์ที่ต่างกันตั้งแต่อุณหภูมิเริ่ม (T_o) อุณหภูมิสูงสุด (T_p) อุณหภูมิสิ้นสุด (T_c) และค่าค่าเอนทาลปี
5. หาอัตราการเกิดรีโทรกราเดชัน โดยคำนวณจากค่าเอนทาลปีของรีโทรกราเดชันต่อค่าเอนทาลปีของเจลาทิไนเซชัน

21. ศึกษาความคงทนต่อการแช่แข็งและการละลาย (Freeze-thaw stability)

(ดัดแปลงจาก Waliszewski *et al*., 2002)

<u>อุปกรณ์</u>

1. หลอดเซ็นติฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. อ่างน้ำร้อน
4. แท่งแก้ว
5. เครื่องเซ็นติฟิวจ์
6. เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. เตรียมสารละลายสตาร์ชกล้วยความเข้มข้นร้อยละ 8 w/w (โดยน้ำหนักแห้งของสตาร์ช)
2. ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. แล้วทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

Prince of Songkla University Pattani Campus

4. นำไปแบ่งใส่หลอดทดลอง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

5. นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

6. นำมาทำละลายที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง โดยทำการศึกษาการแช่แข็งและการทำละลายจำนวน 5 รอบ

7. วัดการแยกตัวของน้ำออกจากเจลโดยการหมุนเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที

22. การตรวจสอบเนื้อสัมผัสของเจลด้วย Texture Analyzer (Cheng *et al*., 2005)

<u>วิธีการใช้งาน</u>

1. เสียบปลั๊กเครื่องสำรองไฟ เปิดสวิตช์เครื่องมาที่ตำแหน่ง on อุปกรณ์เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ซึ่งประกอบด้วย ฐานทดสอบ และคอมพิวเตอร์ควบคุมการทำงาน ต่อพ่วงเข้ากับเครื่องสำรองไฟ
2. เปิดคอมพิวเตอร์ และเปิดสวิตช์ของฐานทดสอบซึ่งอยู่ด้านหลังของเครื่อง
3. เข้าโปรแกรมการทำงานของเครื่องโดย คลิกเมาส์ที่ Programe เลือก Texture expert จะปรากฏโปรแกรมย่อย คลิกเมาส์ที่ Texture expert english
4. หน้าต่างใหม่ที่ปรากฏขึ้นถามผู้ใช้ เลือกชื่อแล้ว OK
5. เริ่มการทำงานเข้าสู่โปรแกรมภายใต้โปรแกรม Project คลิกเมาส์ที่ restart
6. หน้าต่างใหม่ประกอบด้วยแถบคำสั่งต่างๆ คลิกเมาส์ที่ TA
7. ทดสอบการทำงานของเครื่อง

เลือก TA บนคำสั่ง แล้วเลือก Calibrate Force หน้าต่างใหม่จะเตือนให้ผู้ใช้ตรวจสอบว่ามีวัตถุใดๆ กีดขวางหัววัดหรือไม่ ถ้าไม่มีให้ตอบตกลง หน้าต่างใหม่ที่ปรากฏ จะแจ้งให้ผู้ใช้ยกตุ้มน้ำหนักวางบนคานวัด จากนั้นตอบตกลงเมื่อหน้าจอปรากฏข้อความ Calibrate successful ตอบตกลงเอาตุ้มน้ำหนักลง

เลือก TA –Calibrate probe กำหนดระยะทางให้มีความสูงกว่าชิ้นตัวอย่างเล็กน้อย สวมหัววัดจากนั้นตอบตกลง หัววัดจะเคลื่อนลงมาแตะกับฐานแล้วกลับไปยังตำแหน่งที่กำหนดซึ่ง Texture expert จะอ่านตำแหน่งดังกล่าวเป็นศูนย์

8. เลือก TA-setting จากแถบคำสั่ง เพื่อกำหนดค่าต่างๆ ซึ่งค่าเหล่านี้ได้มาจากเอกสารอ้างอิงของผู้ใช้หรือดูจากเอกสาร สภาวะที่ใช้คือหัววัดแบบทรงกระบอก ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร

Prince of Songkla University Pattani Campus

9. เลือก Mode Measure force in Compression กำหนดค่าต่างๆ ดังนี้

Force	10 gram
Pre-test speed	1.0 mm/s
Test speed	1.0 mm/s
Post-test speed	10 mm/s
Strain	90%
Acquisition rate	200 pps

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. เตรียมตัวอย่างเจลให้มีความเข้มข้นประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ แล้วเทใส่ถ้วยพลาสติก ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง
2. นำเจลที่ได้ไปวิเคราะห์ ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส ตามโปรแกรมที่ตั้งไว้ แต่ละตัวอย่างวัด 5 ซ้ำ
3. คำนวณหาค่าความแข็งของเจลจากพีคสูงสุด และหาความคงตัวของเจลจากพื้นที่ใต้กราฟ

23. การตรวจสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุกด้วย Texture Analyzer (Singh *et al.*, 2003)

<u>วิธีการใช้งาน</u>

1. เสียบปลั๊กเครื่องสำรองไฟ เปิดสวิตช์เครื่องมาที่ตำแหน่ง on อุปกรณ์เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ซึ่งประกอบด้วย ฐานทดสอบ และคอมพิวเตอร์ควบคุมการทำงาน ต่อพ่วงเข้ากับเครื่องสำรองไฟ
2. เปิดคอมพิวเตอร์ และเปิดสวิตช์ของฐานทดสอบซึ่งอยู่ด้านหลังของเครื่อง
3. เข้าโปรแกรมการทำงานของเครื่องโดย คลิกเมาส์ที่ Programe เลือก Texture expert จะปรากฏโปรแกรมย่อย คลิกเมาส์ที่ Texture expert English
4. หน้าต่างใหม่ที่ปรากฏขึ้นถามผู้ใช้ เลือกชื่อแล้ว OK
5. เริ่มการทำงานเข้าสู่โปรแกรมภายใต้โปรแกรม Project คลิกเมาส์ที่ restart
6. หน้าต่างใหม่ประกอบด้วยแถบคำสั่งต่างๆ คลิกเมาส์ที่ TA
7. ทดสอบการทำงานของเครื่อง

เลือก TA บนคำสั่ง แล้วเลือก Calibrate Force หน้าต่างใหม่จะเตือนให้ผู้ใช้ตรวจสอบว่ามีวัตถุใดๆ กีดขวางหัววัดหรือไม่ ถ้าไม่มีให้ตอบตกลง หน้าต่างใหม่ที่ปรากฏ จะแจ้งให้ผู้ใช้ยกตุ้มน้ำหนักวางบนคานวัด จากนั้นตอบตกลงเมื่อหน้าจอปรากฏข้อความ Calibrate successful ตอบตกลงเอาตุ้มน้ำหนักลง

Prince of Songkla University Pattani Campus

8. เลือก TA-setting จากแถบคำสั่ง เพื่อกำหนดค่าต่างๆ ซึ่งค่าเหล่านี้ได้มาจากเอกสารอ้างอิงของผู้ใช้ หรือดูจากเอกสาร สภาวะที่ใช้คือการวัดแบบ Back extrusion ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 40 มิลลิเมตร มีช่องว่างระหว่างกระบอกกับแผ่นกด 2.5 มิลลิเมตร
9. เลือก Mode Measure force in Compression กำหนดค่าต่างๆ ดังนี้

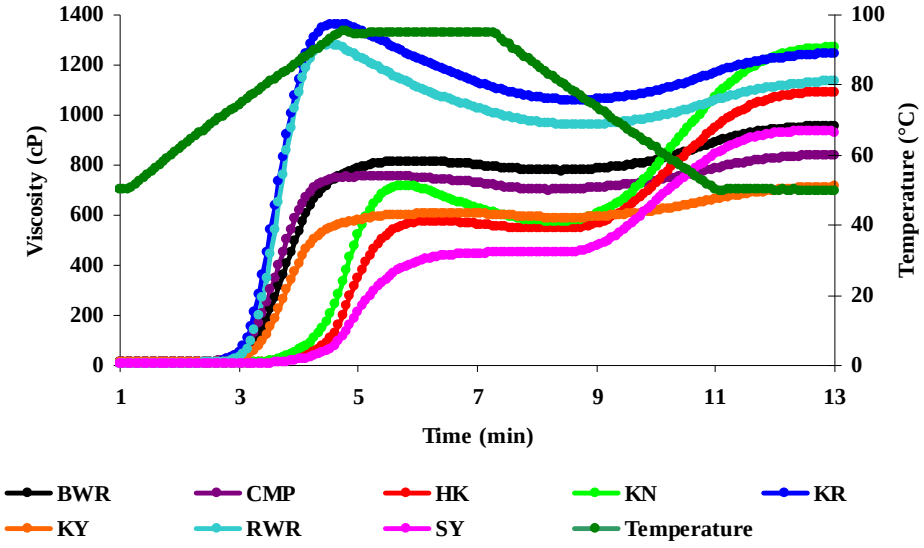
Force	5 gram
Pre-test speed	1 mm/s
Test speed	1 mm/s
Ost-test speed	10 mm/s
Strain	50%
Acquisition rate	200 pps

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

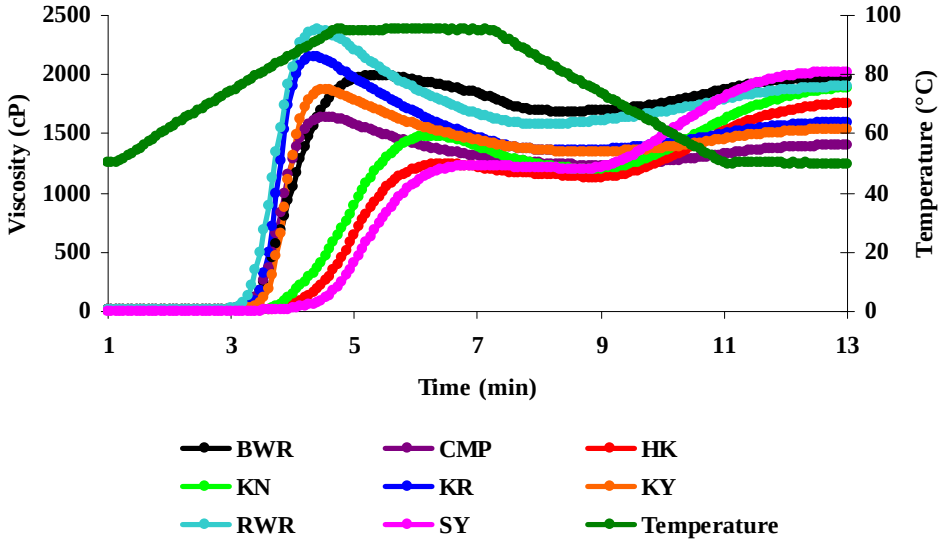
1. นำตัวอย่างข้าว 60 กรัม ใส่ในกระบอกตัวอย่าง
2. เลือก run a test เพื่อทำการวัดตัวอย่าง หลังจากวางตัวอย่างบนฐานวัดเรียบร้อยแล้ว ทำการตั้งชื่อแฟ้มข้อมูล เลือก directory เพื่อบันทึกข้อมูล ตอบตกลง เครื่องจะทำการวัดตัวอย่าง (ทำการวัดตัวอย่างละ 5 ซ้ำ)
3. คำนวณหาค่าความแข็งของข้าวสุกจากพีคสูงสุด และหาความคงตัวของข้าวสุกจากพื้นที่ใต้กราฟ

Prince of Songkla University Pattani Campus

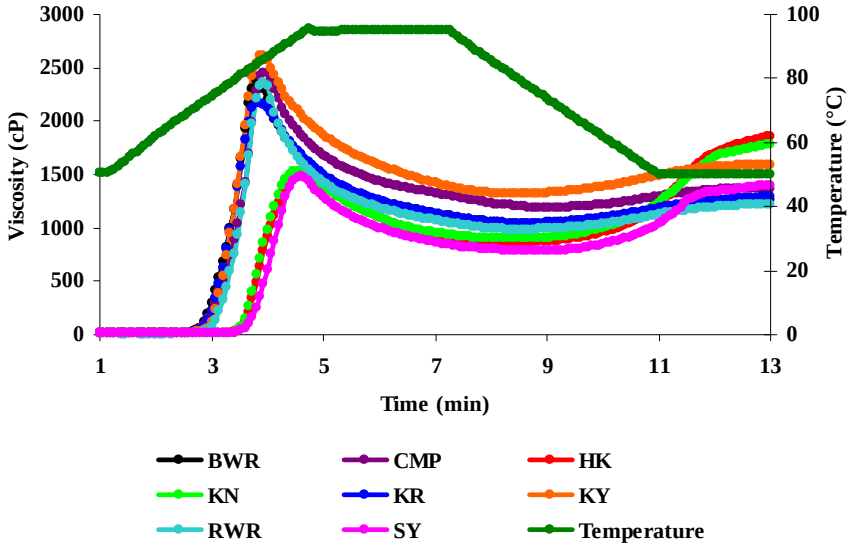
ภาคผนวก ข กราฟแสดงผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งข้าวกล้อง แป้งข้าวขัดขาวและสตาร์ชด้วย RVA



รูปภาคผนวกที่ 6 กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งข้าวกล้อง



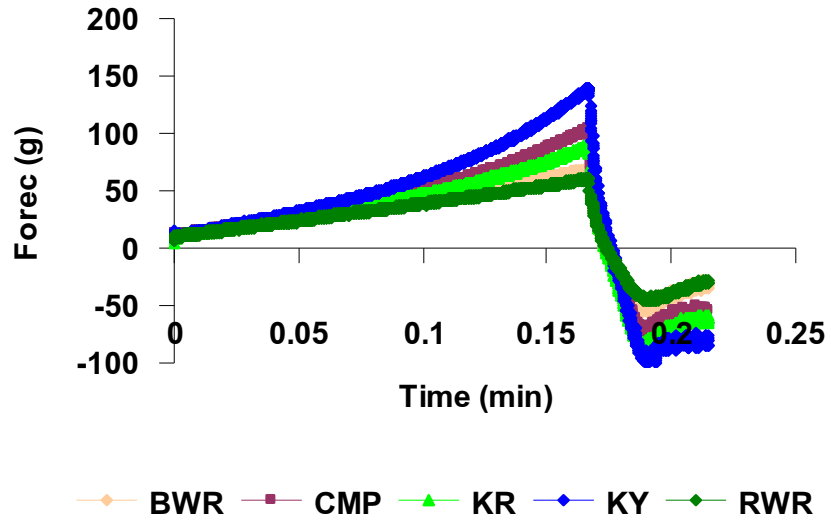
รูปภาคผนวกที่ 7 กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งข้าวขัดขาว



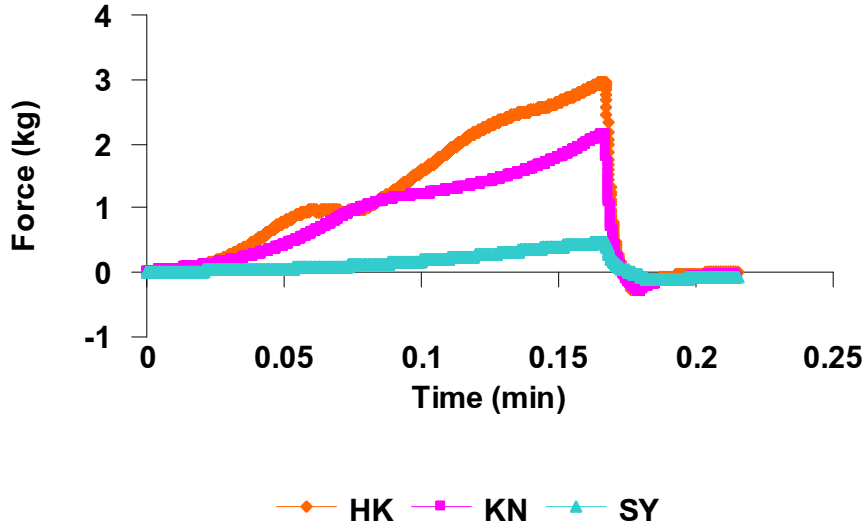
รูปภาคผนวกที่ 8 กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดของสตาร์ชข้าวมีสี

Prince of Songkla University Pattani Campus

ภาคผนวก ค กราฟแสดงผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของเจลจากสตาร์ชข้าวมีสี

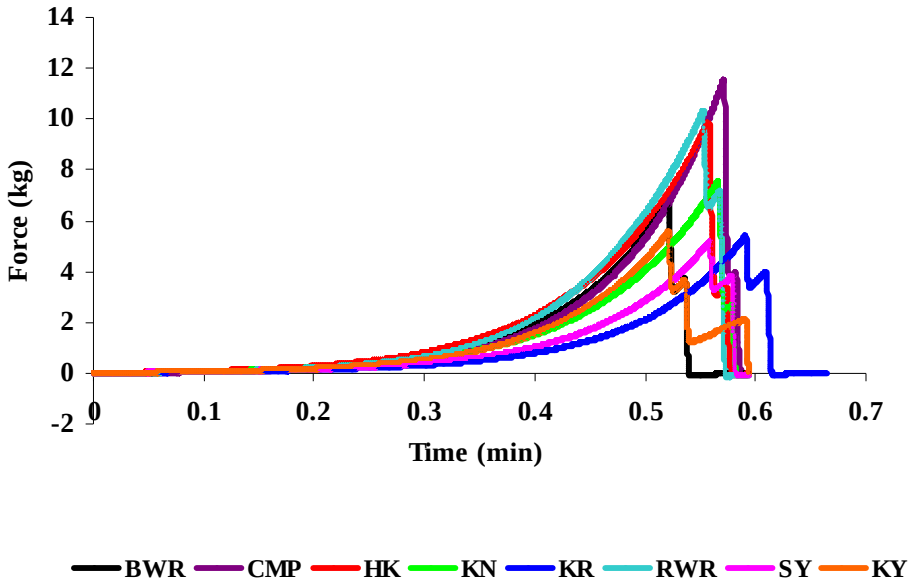


รูปภาคผนวกที่ 9 กราฟเนื้อสัมผัสของเจลจากสตาร์ชข้าวเหนียวมีสี

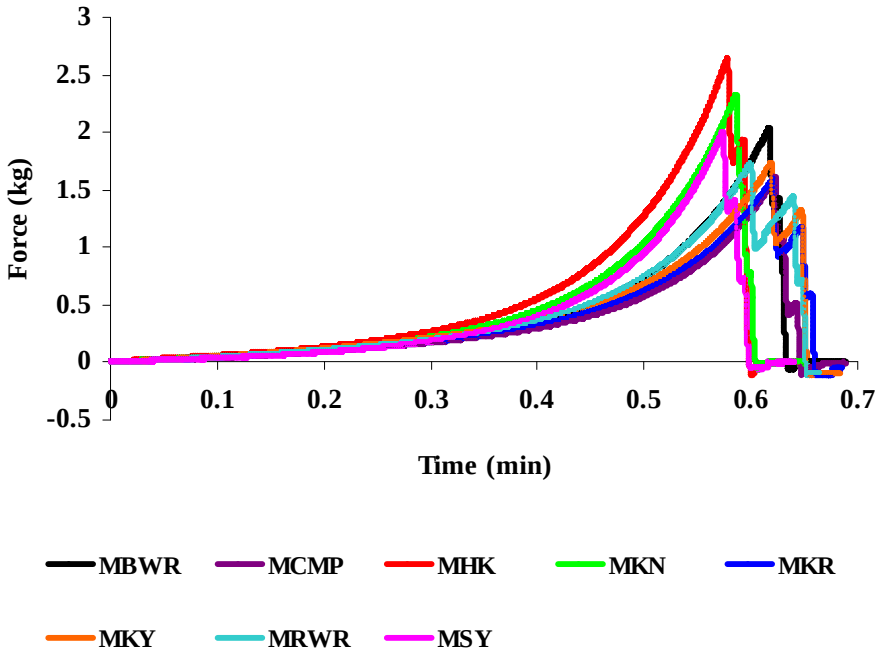


รูปภาคผนวกที่ 10 กราฟเนื้อสัมผัสของเจลจากสตาร์ชข้าวเจ้ามีสี

ภาคผนวก ง กราฟแสดงผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของข้าวมีสีหุงสุก



รูปภาคผนวกที่ 11 กราฟการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของข้าวกล้องมีสีหุงสุก



รูปภาคผนวกที่ 12 กราฟการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของข้าวขัดขาวมีสีหุงสุก

ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตัวแปรด้วยโปรแกรม SPSS

Table 4 Pearson correlation between rice grain color and iron content

		L*	a*	b*
Iron	Pearson Correlation	-.646(**)	-.654(**)	-.791(**)
	Sig. (2-tailed)	.001	.001	.000
	N	24	24	24

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

Table 5 Correlation between rice grain color and polyphenol content

		L*	a*	b*
Polyphenol	Pearson Correlation	-.893(**)	-.851(**)	-.928(**)
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.000
	N	24	24	24

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

Table 6 Correlation between rice grain color and $ABTS^{+}$ scavenging activity

		L*	a*	b*
$ABTS^{+}$	Pearson Correlation	-.794(**)	-.629(**)	-.770(**)
	Sig. (2-tailed)	.000	.001	.000
	N	24	24	24

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

Prince of Songkla University Pattani Campus

Table 7 Correlation between intrinsic viscosity and amylose content

		Intrinsic viscosity
Amylose content	Pearson Correlation	-.877(**)
	Sig. (2-tailed)	.000
	N	24

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

Table 8 Correlation between pasting properties and protein, lipid, fiber and ash content

		Protein	Lipid	Fiber	Ash
Peak viscosity	Pearson Correlation	-.463(**)	.129	.159	.158
	Sig. (2-tailed)	.000	.279	.183	.184
	N	72	72	72	72
Trough viscosity	Pearson Correlation	.117	.637(**)	.599(**)	.635(**)
	Sig. (2-tailed)	.327	.000	.000	.000
	N	72	72	72	72
Breakdown viscosity	Pearson Correlation	-.744(**)	-.256(*)	-.188	-.214
	Sig. (2-tailed)	.000	.030	.114	.072
	N	72	72	72	72
Final viscosity	Pearson Correlation	-.035	.605(**)	.693(**)	.611(**)
	Sig. (2-tailed)	.771	.000	.000	.000
	N	72	72	72	72
Setback viscosity	Pearson Correlation	-.186	.078	.243(*)	.088
	Sig. (2-tailed)	.118	.517	.040	.461
	N	72	72	72	72
Pasting time	Pearson Correlation	.578(**)	.296(*)	.326(**)	.296(*)
	Sig. (2-tailed)	.000	.011	.005	.011
	N	72	72	72	72
Pasting temperature	Pearson Correlation	.399(**)	.187	.291(*)	.232
	Sig. (2-tailed)	.001	.115	.013	.050
	N	72	72	72	72

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

Table 9 Correlation between elongation, lipid and protein content

		Lipid	Protein
Elongation	Pearson Correlation	-.742(**)	-.452(**)
	Sig. (2-tailed)	.000	.001
	N	48	48

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

Table 10 Correlation between hardness, chewiness, lipid and protein content

		lipid	protein
hardness	Pearson Correlation	-.504(**)	-.740(**)
	Sig. (2-tailed)	.000	.000
	N	48	48
chewiness	Pearson Correlation	-.529(**)	-.727(**)
	Sig. (2-tailed)	.000	.000
	N	48	48

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

*Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

Prince of Songkla University Pattani Campus