

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จาก 3 แหล่งปลูกต่างกัน คือ จังหวัดสุรินทร์ จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดอำนาจเจริญ โดยข้าวที่ใช้จะเป็นข้าวใหม่ที่เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนมิถุนายน 2546 และผ่านการขัดสีแล้ว นำมาบรรจุในถุงไนลอนในสภาพบรรยากาศปกติ ขนาดถุงละ 1 กิโลกรัม และเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ 4 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80 เพื่อใช้ทดลองต่อไป
2. วัสดุและเคมีภัณฑ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลส กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส สารที่ระเหยได้ในข้าวขาวดอกมะลิ 105 และโครงสร้างจุลภาค
3. ถุงไนลอน (Nylon) ขนาด 20x25 และ 5x10 เซนติเมตร ความหนา 0.013 มิลลิเมตร มีคุณสมบัติป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ ก๊าซออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 24-26 กรัม/ตรม./วัน, 2.6 ลบ.ซม./ตรม./วัน และ 4.7 ลบ.ซม./ตรม./วัน

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการแปรรูปข้าว
 - 1) หม้อนึ่ง
 - 2) เครื่อง High pressure ยี่ห้อ SFP รุ่น S-FL-850-9-W ประเทศอังกฤษ
 - 3) เครื่องปิดผนึกถุง ประเทศจีน
 - 4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP310S ประเทศเยอรมัน
 - 5) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น 854-Schwabach ประเทศเยอรมัน
2. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดข้าว
 - 1) เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC 5 B plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
 - 2) เครื่อง Gas chromatography ยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น 5890 series II ประเทศสหรัฐอเมริกา

- 3) เครื่อง Mass spectrometry ยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น 5972A MS detector ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP210S ประเทศเยอรมัน
- 5) เวิร์เนียร์ ยี่ห้อ Mitutoyo ประเทศญี่ปุ่น
- 6) ตะแกรงร่อนขนาด 100 mesh ยี่ห้อ Fritsch ประเทศเยอรมัน
- 7) เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic stirrer) ยี่ห้อ Bibby รุ่น SB162-3 ประเทศอังกฤษ
- 8) เครื่องตีผสม (blender) ยี่ห้อ National รุ่น MX-T700GN ประเทศไต้หวัน
- 9) เครื่อง Vortex รุ่น G-560E ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 10) ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น UM 500 ประเทศเยอรมัน
- 11) เครื่อง Differential Scanning Calorimeter ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น DSC7 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 12) เครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD) ยี่ห้อ Philips รุ่น X'pert MPD ประเทศเนเธอร์แลนด์
- 13) เครื่อง Texture analyzer รุ่น TA-XT2 ประเทศอังกฤษ
- 14) เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Jasco รุ่น V530 ประเทศญี่ปุ่น
- 15) เครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM5800LV ประเทศญี่ปุ่น

วิธีการ

1. ศึกษาคุณภาพของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ดิบ

โดยนำข้าวสารพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 จาก 3 แหล่งปลูกต่างกัน คือ จังหวัดสุรินทร์ จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดอำนาจเจริญ มาวิเคราะห์คุณภาพของเมล็ดข้าวดังนี้

- 1.1 ความกว้าง ยาว อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างเมล็ด (Adair *et al.*, 1966)
- 1.2 น้ำหนักเมล็ด (เครื่องวัดยี่ห้อ อุตตะวิริยะสุข, 2534)
- 1.3 ความชื้น (A.O.A.C, 2002)
- 1.4 ปริมาณอะมิโลส (Juliano, 1971)

- 1.5 กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (ดัดแปลงจาก Theerakulkait and Barrett, 1995)
- 1.6 ชนิดสารที่ระเหยได้ในข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้โคคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลาย (ดัดแปลงจาก Mahatheeranont *et al.*, 2001) นำสารที่สกัดที่ได้มาวิเคราะห์ด้วย Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) (สภาวะการวิเคราะห์สารดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ 1 ในสภาวะ Scan mode)
- 1.7 โครงสร้างผลึกโดยใช้เครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD) (Kim *et al.*, 2001)
- 1.8 โครงสร้างจุลภาคใช้เครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) (Kato *et al.*, 2000)
- วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD; Completely Randomized Design) โดยทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการวิเคราะห์ความกว้าง ยาว อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างเมล็ด น้ำหนักเมล็ด ความชื้น ปริมาณอะมิโลส และกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS 11.5 และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2. ศึกษาผลของการใช้ความร้อนและการใช้ความดันสูงต่อการสุกของข้าวขาวดอกมะลิ 105

นำข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากแหล่งปลูกต่างกันจำนวน 3 แหล่ง คือ จังหวัดสุรินทร์ จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดอำนาจเจริญ มาทำให้สุกด้วย 2 วิธีการ ได้แก่ การใช้ความร้อน และการใช้ความดันสูง

2.1 ผลของการใช้ความร้อน

นำข้าวสารมาทำให้สุกโดยกำหนดอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักน้ำต่อข้าวเป็น 3 ระดับ คือ 1 : 1, 1.5 : 1 และ 2 : 1 หลังจากนั้นให้ความร้อนโดยการนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที และนำตัวอย่างข้าวสุกที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพของเมล็ดข้าวดังนี้

- 2.1.1 อัตราการยืตัวของเมล็ด (Juliano and Perez, 1984)
- 2.1.2 ความแข็งของเนื้อสัมผัส (hardness) โดยใช้เครื่อง Texture analyzer รุ่น TA-XT2 หัววัด 5-blade kramer shear (Juliano, 1985)
- 2.1.3 ความชื้น (A.O.A.C, 2002)

2.1.4 การเกิดเจลาตินไนซ์โดยใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) (Teo *et al.*, 2000)

2.1.5 โครงสร้างผลึกโดยใช้เครื่อง X-Ray Diffractometer (XRD) (Kim *et al.*, 2001)

2.1.6 โครงสร้างจุลภาคโดยใช้เครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) (Kato *et al.*, 2000)

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (3x3) ในการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD; Completely Randomized Design) สำหรับการวิเคราะห์ค่าความชื้น ทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้ มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS 11.5 และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

คัดเลือกข้าวในชุดการทดลองที่หุงสุกดีที่สุดในข้อพิจารณาจากการเกิดเจลาตินไนซ์ โดยสมบูรณ์ด้วย DSC (ไม่แสดงค่าพลังงานที่ใช้ในการเจลาตินไนซ์ อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 63-78.4 °C) (Russell and Juliano, 1983 อ้างโดย Juliano, 1985) และมีค่าความแข็งเนื้อสัมผัส (hardness) อยู่ในช่วง 6.5-7.5 กิโลกรัม หรือ 63.74-73.55 นิวตัน โดยใช้ Kramer shear press (Juliano, 1985) ซึ่งเป็นค่าความแข็งของข้าวสุกที่มีเนื้อสัมผัสที่ดี หลังจากนั้นนำมาวิเคราะห์ชนิดสารที่ระเหยได้ตามวิธีในข้อ 1.6

2.2 ผลของการใช้ความดันสูง

นำข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จาก 3 แหล่ง มาแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง (28-32 °C) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และบรรจุลงในถุงไนลอนขนาด 5x10 เซนติเมตร น้ำหนักบรรจุ 75 กรัมต่อถุง โดยอัตราส่วนน้ำหนักน้ำต่อข้าวที่ใช้เท่ากับ 1 : 2 นำไปให้ความดัน 3 ระดับ คือ 600, 700 และ 800 เมกกะปาสกาล เป็นเวลา 30, 45 และ 60 นาที (ระดับความดันสูงสุดในการใช้งานเครื่อง High pressure ยี่ห้อ SFP รุ่น S-FL-850-9-W ประเทศอังกฤษ เท่ากับ 900 เมกกะปาสกาล) แล้วนำตัวอย่างข้าวที่ได้มาทดสอบการสุกเบื้องต้นของเมล็ดโดยการกดเมล็ดข้าวระหว่างกระจกนาฬิกา 2 อัน

(Gujral and Kumar, 2003) ข้าวที่สุกโดยสมบูรณ์จะต้องไม่พบผงขาวขุ่นปรากฏในส่วนใจกลางเมล็ด ในกรณีที่การใช้ความดันยังไม่สามารถทำให้ข้าวสุกได้โดยสมบูรณ์จะต้องเพิ่มขั้นตอนการให้ความร้อนเบื้องต้นที่อุณหภูมิต่ำกว่าช่วงอุณหภูมิเจลาตินไนซ์ของแป้งข้าว (68-78 °C) (Swinkels, 1985) แล้วจึงนำไปให้ความดันสูงตามสถานะเดิมต่อไป หลังจากนั้นนำข้าวสุกมาวิเคราะห์คุณภาพของเมล็ดข้าวตามวิธีในข้อ 2.1.1-2.1.6 และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสตามวิธีในข้อ 1.5

วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (3x3x3) ในการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD; Completely Randomized Design) โดยทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมของ เอนไซม์ไลพอกซีจีเนส อัตราการยึดตัวของเมล็ด ความแข็งของเนื้อสัมผัส และความชื้น นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS 11.5 และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

คัดเลือกข้าวในชุดการทดลองที่หุงสุกดีที่สุดในเชิงพิจารณาจากการเกิดเจลลาตินในซ์ โดยสมบูรณ์ด้วย DSC (ไม่แสดงค่าพลังงานที่ใช้ในการเจลลาตินในซ์ อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 63-78.4 °C) (Russell and Juliano, 1983 อ้างโดย Juliano, 1985) และมีค่าความแข็งเนื้อสัมผัส (hardness) อยู่ในช่วง 6.5-7.5 กิโลกรัม หรือ 63.74-73.55 นิวตัน โดยใช้ Kramer shear press (Juliano, 1985) ซึ่งเป็นค่าความแข็งของข้าวสุกที่มีเนื้อสัมผัสที่ดี หลังจากนั้นนำมาวิเคราะห์ชนิดสารที่ระเหยได้ตามวิธีในข้อ 1.6

3. ศึกษาผลของสภาวะการเก็บรักษาต่อคุณภาพของเมล็ดข้าวสุกพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105

ใช้ตัวแทนข้าวสารพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 จำนวน 1 แหล่งที่คัดเลือกได้จากการทดลองข้อ 2 นำมาบรรจุในถุงไนลอนในสภาพบรรยากาศปกติและสภาพสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 2 ระดับ คือ 20 °C และอุณหภูมิห้อง (28-32 °C) ตลอดช่วงการเก็บรักษา 0, 3, 6, 9 และ 12 เดือน เมื่อถึงแต่ละช่วงเวลาตามที่กำหนด ทำการสุ่มตัวอย่างข้าวสารจากแต่ละสภาวะการเก็บเพื่อนำมาทำให้สุกโดยใช้ความร้อนและใช้ความดันสูงตามสภาวะการทดลองที่เหมาะสมตามข้อ 2.1 และ 2.2 ตามลำดับ วิเคราะห์คุณภาพของเมล็ดข้าวตามวิธีในข้อ 2.1.1-2.1.6 ติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารที่สำคัญบางชนิด ได้แก่ 2AP, n-hexanal และ n-nonanal และคำนวณหาปริมาณสารที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (สภาวะการติดตามสารดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ 1 ในสภาวะ SIM mode โดยเลือกติดตามไอออนที่แสดงลักษณะเฉพาะตรงกับสารที่สนใจเท่านั้น เปรียบเทียบจาก mass spectra จาก Library Wiley275)

วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (2x2x5) ในการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD; Completely Randomized Design) สำหรับการวิเคราะห์อัตราการยึดตัวของเมล็ด ความแข็งของเนื้อสัมผัสและความชื้น โดยทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS 11.5 และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อ

มันร้อยละ 95

4. ศึกษาผลของการแปรรูปต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารที่ระเหยได้ในข้าวขาวดอกมะลิ 105

ใช้ข้าวสารพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 จากแหล่งปลูกต่างกัน จำนวน 3 แหล่ง คือ จังหวัดสุรินทร์ จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดอำนาจเจริญ และใช้ตัวอย่างข้าวสุกจากแต่ละแหล่งโดยใช้ความร้อนและใช้ความดันสูงตามสภาวะการทดลองที่เหมาะสมตามข้อ 2.1 และ 2.2 ตามลำดับ มาสกัดสารที่ระเหยได้โดยใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลาย และวิเคราะห์โดย Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) เปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคกับ 2,4,6-trimethylpyridine (TMP) ที่ใช้เป็น internal standard (สภาวะการวิเคราะห์สารดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ 1 ในสภาวะ Scan mode) (ดัดแปลงจาก Wongpornchai *et al.*, 2004)