

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

#### วัตถุดิบ

ข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1 จากสถานีทดลองพันธุ์ข้าวชัยนาท เป็นข้าวสารชนิดสีดีพิเศษที่  
สถานีวิจัยข้าวปทุมธานี จ. ปทุมธานี

#### สารเคมี

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบของวัตถุดิบ

Absolute ethyl alcohol	(A.R.) บริษัท Mallinckrodt, Mexico
Acetic acid	(A.R.) บริษัท Scharlue Chemie S.A., Spain
Boric acid	(A.R.) บริษัท Merck , Germany
Bovine serum albumin	บริษัท Fluka Chemie , Switzerland
Casein	บริษัท Fluka Chemie, Switzerland
Citric acid	(A.R.) บริษัท Asia Pacific Specialty Chemical, Australia
Copper sulfate pentahydrate	บริษัท Scharlue Chemie S.A., Spain
Folin-ciocalteu reagent 2 N	บริษัท Fluka Chemie, Switzerland
Formic acid	บริษัท Fisher Scientific, U.K.
Hydrochloric acid	(A.R.) บริษัท J.T. Baker, U.S.A.
Iodine	(A.R.) บริษัท Carlo Erba, U.S.A.
Methanol	(A.R.) บริษัท Merck, Germany
Methyl red	(A.R.) บริษัท Carlo Erba, U.S.A.
Methylene blue	(A.R.) บริษัท Ajax Finechem , Australia
Osmium tetroxide	บริษัท Granula J.T. Baker, U.S.A
Petroleum ether	(A.R.) บริษัท Ajax Finechem , Australia
Potassium iodide	(A.R.) บริษัท Asia Pacific Specialty Chemical, Australia
Potassium sulphate	(A.R.) บริษัท Ajex Finechem, Australia
Selenium reagent mixture	(A.R.) บริษัท Merck, Germany
Sodium carbonate	(A.R.) บริษัท Asia Pacific Specialty Chemical, Australia
Sodium acetate	บริษัท Asia Pacific Specialty Chemical, Australia
Sodium chloride	(A.R.) บริษัท Jon & Wall chemical, U.K.
Sodium cyanide	บริษัท Granula J.T. Baker, U.S.A.
Sodium dihydrogen phosphate	(A.R.) บริษัท Asia Pacific Specialty Chemical, Australia

Sodium hydroxide	(A.R.) บริษัท Ajax Finechem , Australia
Sodium potassium tartrate	(A.R.) บริษัท Ajax Finechem, Australia
Standard cysteine	บริษัท Himedia Laboratories Pvt., India
Standard cystine	บริษัท Himedia Laboratories Pvt., India
Standard potato amylose	(A.R.) บริษัท Sigma, Germany
Sulfuric acid	(A.R.) บริษัท J.T. Baker, U.S.A.
Trichloroacetic acid	บริษัท Merck, Germany

### เครื่องมือและอุปกรณ์

#### อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

- ตู้เก็บข้าวควบคุมความชื้นสัมพัทธ์โดยใช้สารละลายเกลืออิ่มตัว
- เครื่องบดข้าว (miller) (รุ่น NSB-6 บริษัท Mitsubishi Electric (Thailand) Co., Ltd. )
- ตู้อบลมร้อน (tray dryer) ( รุ่น Bz-17H บริษัท Kobushi , Japan)
- เครื่องปั่น (blender ) (BL300T/BL350L บริษัท Kenwood Ltd., U.K.)
- ตะแกรงร่อนขนาด 100 mesh และ 200 mesh
- เครื่อง centrifuge (รุ่น Mikro 22R บริษัท Hettich (Zentrifugen), Switzerland)

#### อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

- เครื่องชั่งน้ำหนักที่มีความละเอียดถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง (รุ่น AB204 บริษัท Mettler Toledo (Thailand) Ltd.)
- เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร (texture analyzer) (รุ่น TA-XT2 บริษัท Stable Microsystem, U.K.)
- เครื่องวัดสี ( รุ่น CR 300 series บริษัท Minolta, ประเทศญี่ปุ่น)
- เตาเผาช่วงอุณหภูมิ 500-700 องศาเซลเซียส (รุ่น AB204 จาก บริษัท Mettler Toledo (Thailand) Ltd.)
- ตู้อบลมร้อนช่วงอุณหภูมิ 50-250 องศาเซลเซียส (hot air oven) (รุ่น 600 บริษัท Memmert จำกัด, U.S.A)
- เครื่องกรองสุญญากาศ

### อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์โปรตีนโปรตีน (BUCHI ประกอบด้วย digestion unit รุ่น K-424, distillation unit รุ่น B-324, scrubber รุ่น B-414 บริษัท BUCHI, Switzerland)
- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน (Soxtec automatic) (รุ่น Avanti 2050 บริษัท Perstorp Analytical, Sweden)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (รุ่น Cyberscan pH 1000 Bench บริษัท Eutech, Singapore)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ( Lambda 25 รุ่น UV/VIS จากบริษัท Parkin Elmer, U.S.A.)
- เครื่องชั่งน้ำหนักที่มีความละเอียดถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง (รุ่น AB204 บริษัท Mettler Toledo (Thailand) Ltd.,)
- เครื่องแก้วต่าง ๆ ได้แก่ บีกเกอร์, ขวดรูปชมพู่, กระจกตวง, หลอดทดลอง+ฝาเกลียว เป็นต้น
- magnetic stirrer (Agimatic-N)
- hot plate
- vortex mixer (รุ่น 37600 Mixer บริษัท Syborn, U.S.A.)

### อุปกรณ์ที่ใช้ในการคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูล

- เครื่องคอมพิวเตอร์
- โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 10.0 for window (SPSS Inc., U.S.A.)

## การวิเคราะห์

- ก. การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ (รายละเอียดในภาคผนวก ก.)
- การวัดสีของผลิตภัณฑ์ (L, a, b) โดยเครื่อง Minolta chroma meter และคำนวณค่า E
  - การทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง texture analyzer (Gujral and Kumar, 2003)
  - การวัดขนาดความกว้าง ความยาว อัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของเมล็ดข้าวสาร น้ำหนักของข้าวสาร 100 เมล็ด และพื้นที่ผิวของข้าวสาร (Bhattacharya and Sowbhagya, 1971)
  - การทดสอบคุณภาพการหุงต้ม (cooking quality test) (Gujral and Kumar, 2003)
- ข. การวิเคราะห์ทางเคมี (รายละเอียดในภาคผนวก ข.)
- ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณเถ้า ปริมาณไขมัน ปริมาณเส้นใย (AOAC, 1995) และคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต
  - % degree of gelatinization ของข้าวสุก (Birch and Priestley, 1993)
  - ปริมาณอะไมโลสที่ละลายน้ำร้อน (Juliano, 1971) และปริมาณอะไมโลสที่ไม่ละลายน้ำร้อน (Juliano, 1971; Charstil, 1986)
  - ปริมาณกรดอะมิโน cysteine และ cystine (Charstil, 1989)
- ค. การหาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ ณ จุดสมดุล (% Equilibrium relative humidity, %ERH) และความชื้นสมดุลของข้าวสาร (% Equilibrium moisture content, %EMC) (รายละเอียดในภาคผนวก ค.)
- ง. การวิเคราะห์ทางชีวเคมี (รายละเอียดในภาคผนวก ง.)
- การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease (Lorenz and Saunders, 1978; Munilla-Moran and Stark, 1989)

## ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของข้าวสารใหม่

วัตถุดิบ คือข้าวสารพันธุ์ชัยนาท 1 ได้จากสถานีทดลองพันธุ์ข้าว จ. ชัยนาท สีที่ระดับการสีพิเศษที่ศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าวปทุมธานี จ. ปทุมธานี และนำข้าวสารที่ได้มาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ดังนี้

#### 3.1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของข้าวสาร

ความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1995) และคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต (CHO) โดยวิธีหาความแตกต่างดังนี้

$$\% \text{CHO} = 100 - (\% \text{โปรตีน} + \% \text{ไขมัน} + \% \text{เส้นใย} + \% \text{เถ้า})$$

#### 3.1.2 วิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสในข้าวสารใหม่

- ปริมาณอะไมโลสที่ละลายน้ำร้อน ตามวิธีของ Juliano (1971)
- ปริมาณอะไมโลสที่ไม่ละลายน้ำร้อน ตามวิธีของ Juliano (1971) และ Charsti (1986)

#### 3.1.3 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน cysteine และ cystine

- ปริมาณกรดอะมิโน cysteine (mg/g rice flour) และกรดอะมิโน cystine (mg/g rice flour) ตามวิธีของ Chrastil (1990b)

#### 3.1.4 วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease (proteolytic activity)

- กิจกรรมของเอนไซม์ protease ตามวิธีของ Lorenz และ Saunders (1978) และ Munilla-Moran and Stark (1989)

#### 3.1.5 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของข้าวสาร ตามวิธีของ Bhattacharya and Sowbhagya (1971)

- สีของข้าวสาร (L, a, b) และคำนวณค่าสี (E) และ ค่าความแตกต่างของสี ( $\Delta E$ ) (ในภาคผนวก ก1)
- อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของข้าวสาร (L/W) (ในภาคผนวก ก3)
- ความยาวของเมล็ดข้าวสาร (ม.ม.) (L) (ในภาคผนวก ก3)
- พื้นที่ผิวของเมล็ดข้าว (ม.ม.)<sup>2</sup> (s) (ในภาคผนวก ก3)
- น้ำหนักข้าวสาร 100 เมล็ด (กรัม) (ในภาคผนวก ก3)
- ค่าการดูดซึมน้ำของข้าวสาร (water uptake, %) ตามวิธีของ Gujral and Kumar (2003) (ในภาคผนวก ก4.3)

- ค่าการละลายของของแข็งที่ละลายน้ำได้ (solid loss, %) ตามวิธีของ Gujral and Kumar (2003) (ในภาคผนวก ก4.2)
- % degree of gelatinization ตามวิธีของ Birch และ Priestley (1973) (ในภาคผนวก ข7)
- เวลาที่เหมาะสมในการหุงต้ม (cooking time) ตามวิธีของ Gujral and Kumar (2003) (ในภาคผนวก ก4.1)

### 3.1.6 วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุก ตามวิธีของ Gujral and Kumar (2003)

- ค่า hardness

หุงข้าวโดยใช้อัตราส่วนข้าวต่อน้ำเท่ากับ 1:2.4 ในหม้อหุงข้าวอัตโนมัติและใช้เวลาในการหุงข้าวนาน 20 นาที และวัดตัวอย่างข้าวสุกที่ได้โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (รุ่น TA-XT2 จากบริษัท Stable Microsystem, U.K.) ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

### 3.2 หาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (% Equilibrium Relative Humidity, %ERH) และ ความชื้นสมดุลของข้าวสาร (% Equilibrium Moisture Content, %EMC)

หาสมการความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ (% Equilibrium relative humidity, %ERH) และ ความชื้นสมดุลของข้าวสาร (% Equilibrium moisture content, %EMC) ที่เก็บในภาชนะปิดที่มีการปรับความชื้นโดยใช้สารละลายอิมิตัวของเกลือที่มีค่า water activity ( $a_w$ ) ต่างๆ ตามวิธีในภาคผนวก ค จากเส้น curve ของกราฟจากความสัมพันธ์ดังกล่าวนำมากำหนดภาวะที่ใช้ปรับความชื้นสมดุลของข้าวสารเป็นร้อยละ 9 12 และ 15 โดยนำข้าวสารที่ต้องการปรับ %EMC มาใส่ในตู้เก็บข้าวที่ควบคุม %ERH ที่มีการปรับโดยใช้สารละลายเกลืออิมิตัว คือ NaCl ( $a_w = 0.75$ ) KCl ( $a_w = 0.842$ ) และ  $K_2SO_4$  ( $a_w = 0.975$ ) หาความชื้นที่แน่นอนของข้าวสารที่มีการปรับความชื้นสมดุลโดยใช้ hot air oven ตามวิธีของ AOAC (1995) และเก็บข้าวสารที่ความชื้นสมดุลดังกล่าวที่อุณหภูมิ  $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส นานเป็นเวลา 6 เดือน

### 3.3 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของข้าวสารตลอดระยะเวลาการเก็บ

เก็บข้าวสารที่ระดับความชื้นสมดุลร้อยละ 9, 12 และ 15 ที่อุณหภูมิ  $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน และวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ของข้าวทุกเดือน ตามข้อ 3.1.1 – 3.1.6

วางแผนการทดลองแบบ 3X7 Asymmetric factorial design in CRD (Completely randomize design) วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS และเปรียบเทียบ

ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ (ในผลการวิเคราะห์ข้อ 3.3.1-3.3.5) และทดลอง 5 ซ้ำ (ในผลการวิเคราะห์ข้อ 3.3.6)