บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องบด (Laboratory Universal Mill) รุ่น 100 UPZ ของบริษัท Alpine ประเทศเยอรมัน

เครื่องบด (Soy Bean Grinders) รุ่น YH-G5 ยี่ห้อ Lita

เครื่องบดขนาดเล็กแบบตั้งโต๊ะ รุ่น DCFH 48 ของบริษัท Kinematica ประเทศเยอรมัน

เครื่องเป่าแยกลมหมุน ยี่ห้อ Geprufte Sicherhou ประเทศเยอรมัน

เครื่องแยกขนาด (Air Jet Sieve) รุ่น A 222 LS ของบริษัท Alpine ประเทศเยอรมัน

เครื่องอบฆ่าเชื้อแบบแห้ง (Hot Air Oven) รุ่น 94789 ของบริษัท Contherm Scientific Ltd., ประเทศนิวซีแลนด์

เครื่องชั่งแบบหยาบ (Electronic Balance) รุ่น PM 6100 ยี่ห้อ Mettler ของบริษัท Mettler Instrument ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

เครื่องชั่งแบบละเอียด (Electronic Balance) รุ่น AE-240 ยี่ห้อ Mettler ของบริษัท Mettler Instrument ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

เตาเผา (Furnace) รุ่น CWF-12/13 ยี่ห้อ Carbolite ประเทศอังกฤษ

เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (Kjeldahl) รุ่น Buchi 315 Distillation unit และ Buchi 424 Digestor ของบริษัท Buchi Laboratory Techniques Ltd., ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

เตาให้ความร้อน (Electromantle) รุ่น EM 0250/C ยี่ห้อ Electrothermal ประเทศอังกฤษ

เตาให้ความร้อน (Electromantle) รุ่น EM 0500/C ยี่ห้อ Electrothermal ประเทศอังกฤษ

เครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) รุ่น RE-52 ของบริษัท Yamato Scientific, Tokyo ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องกวนแม่เหล็ก (Magnetic stirrer & Laboratory Hot Plate) รุ่น PC-101 ยี่ห้อ Corning Glass Works ของบริษัท Corning, New York ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

เคมีภัณฑ์	บริษัทผู้ผลิต	
กรดซัลฟิวริก (เกรดทางการค้า)	J.T. BAKER	ประเทศสหรัฐอเมริกา
กรดบอริก	CARLO ERBA	ประเทศอิตาลี
กรดไฮโดรคลอริก	MERCK	ประเทศเยอรมัน
กลีเซอรอล	BRIDH BIO -SCIENCE CORP	ประเทศสหรัฐอเมริกา
คอปเปอร์ซัลเฟต	MERCK	ประเทศเยอรมัน
โซเดียมไฮดรอกไซด์	MERCK	ประเทศเยอรมัน
ปิโตรเลียมอีเธอร์ (เกรดทางการค้า)	รวมเคมี	ประเทศไทย
โพแทสเซียมพธาเลต	RIEDEL DEHAEN	ประเทศเยอรมัน
โพแทสเซียมซัลเฟต	CARLO ERBA	ประเทศอิตาลี

2.3 เมล็ดข้าวฟ่าง

เมล็ดข้าวฟ่างที่ใช้สำหรับทำการทดลองการสกัดแป้งโดยการโม่แห้ง มี 5 พันธุ์ คือ

KU 9501 เป็นพันธุ์ลูกผสม เมล็ดมีสีขาว

KU 9502 เป็นพันธุ์ลูกผสม เมล็ดมีสีแดง

KU 804 เป็นพันธุ์แท้ เมล็ดมีสีขาว

KU 630 เป็นพันธุ์แท้ เมล็ดมีสีแดง และ KU 630 (เก่า)

KU 439 เป็นพันธุ์แท้ เมล็ดมีสีขาว

เมล็ดข้าวฟ่างทั้ง 5 พันธุ์ได้จากศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2539

2.4 วิธีดำเนินการทดลอง

2.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดข้าวฟ่างพันธุ์ต่าง ๆ

นำเมล็ดข้าวฟ่างทั้ง 5 พันธุ์ คือ KU 9501, KU 9502, KU 804, KU 630 และ KU 439 มาวิเคราะห์ปริมาณความชื้นภายในเมล็ด ทำการทดลอง 2 ซ้ำ (AOAC, 1990)

2.4.2 ศึกษาการปรับปริมาณความชื้นของเมล็ดข้าวฟ่าง

2.4.2.1 การปรับปริมาณความชื้นของเมล็ดข้าวฟ่าง

นำเมล็ดข้าวฟ่างมาแช่น้ำเย็นอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 26 องศาเซลเซียส) โดยแปรผันเวลาในการแช่น้ำตามวิธีการทดลองข้อ 2.4.2.2 และ 2.4.2.3 เมื่อครบเวลา นำเมล็ดข้าวฟ่างขึ้นจากน้ำใส่ตาข่ายไนล่อน ผึ่งและซับให้แห้งอย่างเร็ว จากนั้นจึงนำเมล็ดข้าวฟ่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นภายในเมล็ด

2.4.2.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการแช่น้ำกับปริมาณความชื้นภายในเมล็ดข้าวฟ่าง

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างพันธุ์ KU 630 (เก่า) มาดำเนินการทดลองตามวิธีการทดลองข้อ 2.4.2.1 โดยแปรผันเวลาในการแช่น้ำเป็น 0, 2, 4, 6,..., 24 ชั่วโมงตามลำดับ และ 0, 10, 20, 30,..., 120 นาทีตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

2.4.2.3 ศึกษาปริมาณความชื้นของเมล็ดข้าวฟ่างพันธุ์ต่างๆ ที่ถูกแช่น้ำในช่วงเวลา 0 - 120 นาที

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างทั้ง 5 พันธุ์ คือ KU 9501, KU 9502, KU 804, KU 630 และ KU 439 มาดำเนินการทดลองตามวิธีการทดลอง ข้อ 2.4.2.1 โดยแปรผันเวลาในการแช่น้ำเป็น 0, 10, 20, 30,..., 120 นาที ตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

2.4.2.4 ประเมินหาเวลาที่เหมาะสมในการแช่น้ำ

จากการทดลองข้อ 2.4.2.3 สามารถประเมินเวลาที่เหมาะสมสำหรับปรับปริมาณความชื้นของเมล็ดข้าวฟ่างทั้ง 5 พันธุ์ให้เพิ่มขึ้นจากเดิมประมาณ 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เพื่อนำเมล็ดข้าวฟ่างที่ปรับสภาพแล้วไปใช้ในการทดลองลำดับต่อไป

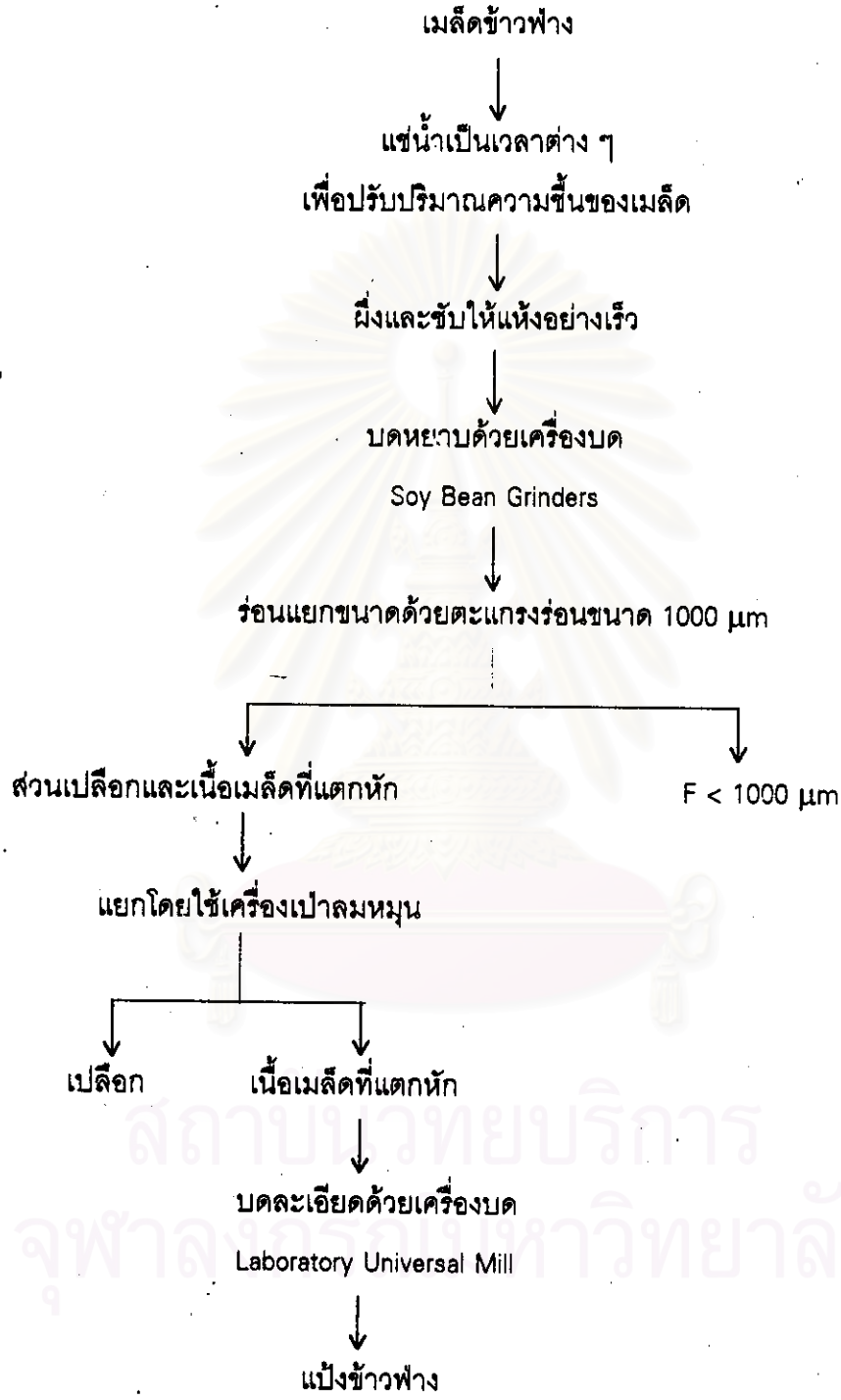
2.4.3 ศึกษาวิธีการและลำดับขั้นตอนการบดและแยกส่วนประกอบต่าง ๆ ของเมล็ดข้าวฟ่าง

นำข้าวฟ่างพันธุ์ KU 630 (เก่า) มาทดลองบดด้วยเครื่องบด 3 ชนิด คือ เครื่องบด Laboratory Universal Mill รุ่น 100 UPZ โดยทดลองใช้หัวบดชนิด stud disc และ beater disc รางบด 3 แบบคือ แบบรางบดยาวไม่มีตะแกรง (grinding track, long (without sieve)) แบบรางบดสั้นที่มีตะแกรง (grinding track, short (with sieve)) และแบบมีแต่ตะแกรง (sieve grates) ความเร็วรอบของเครื่องบด 17,500 - 18,500 รอบต่อนาที เครื่องบด Soy Bean Grinders รุ่น YH-G5 โดยปรับระยะห่างระหว่างจานบดเป็น 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิเมตร ความเร็วรอบของเครื่องบด 1,450 รอบต่อนาที และเครื่องบดขนาดเล็กแบบตั้งโต๊ะ รุ่น DCFH 48 ใช้ตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร

สังเกตลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่บดได้จากการใช้เครื่องมือแต่ละชนิดเพื่อประเมินว่าควรใช้เครื่องมือชนิดใดในการบดหยาบเพื่อแยกเปลือก หรือใช้เพื่อบดละเอียด

2.4.3.1 การบดเมล็ดข้าวฟ่าง

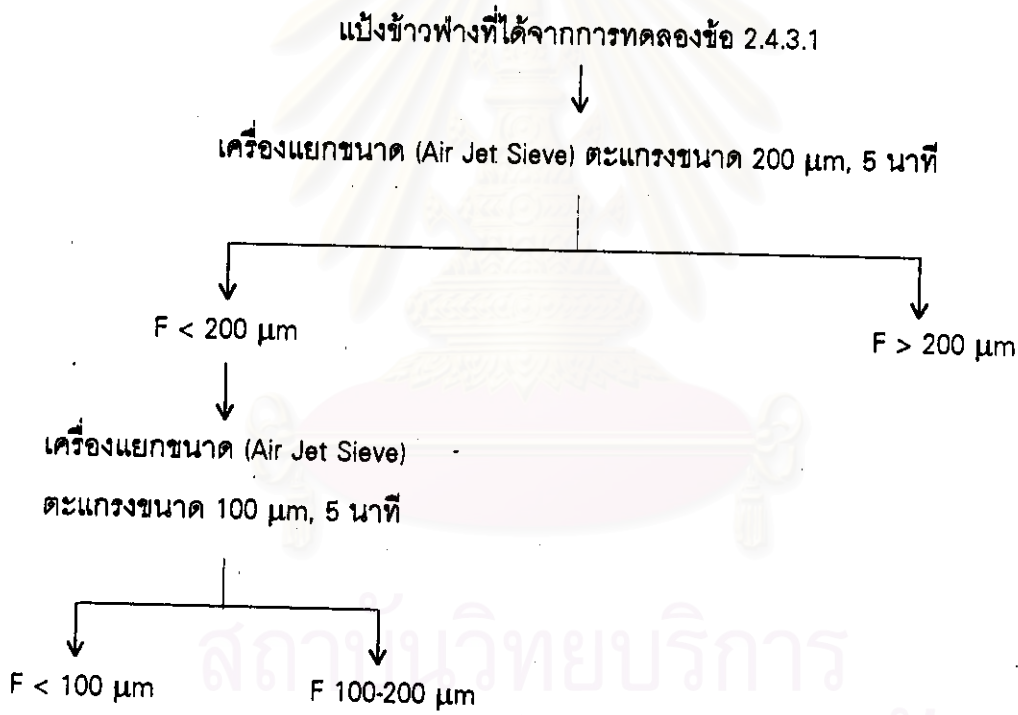
นำเมล็ดข้าวฟ่างทั้ง 5 พันธุ์ ที่ปรับปริมาณความชื้นแล้วจากขั้นตอนที่ 2.4.2:4 ไปบดหยาบด้วยเครื่องบด Soy Bean Grinders โดยปรับระยะห่างระหว่างจานหมุนเป็น 2.0 มิลลิเมตร ความเร็วรอบของเครื่อง 1,450 รอบต่อนาที แล้วนำส่วนที่บดได้ไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1000 ไมครอน เก็บส่วนที่ร่อนได้ไว้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และนำส่วนที่ค้างอยู่บนตะแกรงร่อน ไปแยกส่วนเปลือกออกด้วยเครื่องเป่าลมแบบหมุนที่ต่อกับตัวแปลงกระแส (power supply) เพื่อใช้ปรับแรงลม โดยปรับตัวแปลงกระแสเป็น 1 แอมแปร์ ความต่างศักย์ 10 โวลต์ ส่วนเนื้อเมล็ดที่แยกได้นำไป บดละเอียดด้วยเครื่องบด Laboratory Universal Mill โดยใช้หัวบดชนิด beater disc ติดรางบด (grinding track) แบบสั้นชนิดที่มีรูเปิดตะแกรงขนาดเล็ก ความเร็วรอบของเครื่องบด 18,000 รอบต่อนาที จะได้แป้งข้าวฟ่างที่จะใช้ในการทดลองลำดับต่อไป แผนผังแสดงขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 2-1



รูปที่ 2-1 แผนผังแสดงขั้นตอนการบดเมล็ดข้าวฟ่าง

2.4.3.2 การแยกขนาดแป้งข้าวฟ่าง

นำแป้งข้าวฟ่างที่ได้จากการทดลองข้อ 2.4.3.1 มาแยกขนาดของแป้งแต่ละส่วนด้วยเครื่องแยกขนาด Air Jet Sieve โดยใช้ตะแกรงขนาด 200 µm ปรับความดันลมประมาณ 2500 - 4000 ปาสคาล เป็นเวลา 5 นาที เก็บแป้งส่วนที่ค้างบนตะแกรงไว้ จากนั้นนำแป้งส่วนที่ร่อนได้ ไปร่อนอีกครั้งโดยใช้ตะแกรงขนาด 100 µm ปรับความดันลมประมาณ 2500 - 4000 ปาสคาล นาน 5 นาที เก็บแป้งส่วนที่ร่อนได้ และส่วนที่ค้างบนตะแกรงไว้ นำแป้งทั้ง 3 ส่วนที่ได้ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี แผนผังแสดงขั้นตอนการทดลองดังรูปที่ 2-2



รูปที่ 2-2 แผนผังแสดงขั้นตอนการแยกขนาดแป้งข้าวฟ่าง

2.4.4 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งแต่ละส่วนที่แยกได้

นำส่วนเปลือกและ F < 1000 µm ที่แยกได้จากการทดลองข้อ 2.4.3.1 และ แป้งแต่ละส่วนที่แยกได้จากการทดลองข้อ 2.4.3.2 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่

2.4.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC, 1990

ชั่งตัวอย่างบดละเอียดประมาณ 2 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนในภาชนะอลูมิเนียม ซึ่งอบและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว อบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่มีอุณหภูมิ 130 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปิดฝาแล้วนำภาชนะออกจากตู้อบไฟฟ้า ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำอีกครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ เมื่อผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้ 2 ครั้งติดต่อกันต้องต่างกันไม่มากกว่า 1 มิลลิกรัม จึงเป็นน้ำหนักสุดท้ายที่จะต้องอบและชั่ง

2.4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeldahl method) ตามวิธีของ AOAC, 1990

ชั่งตัวอย่างบดละเอียดประมาณ 2 กรัม ให้ได้น้ำหนักแน่นอนลงในขวด Buchi เติมสารผสมของ K_2SO_4 และ $CuSO_4.5H_2O$ (อัตราส่วน 19:1 กรัม) ปริมาณ 7 กรัม เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 15 มิลลิลิตร นำไปย่อยโดยใช้เครื่อง Buchi 424 ประมาณ 45 นาที จนได้สารละลายสีใส รอจนเย็น เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จนได้สารละลายสีน้ำตาล นำไปกลั่นโดยใช้ชุดกลั่นของเครื่อง Buchi 315 โดยรองรับสิ่งกลั่นด้วยสารละลายกรดบอริก 4% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตรซึ่งมีสารละลายอินดิเคเตอร์ผสมอยู่ 2-3 หยดให้ปลายของเครื่องควบแน่นของชุดกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริก กลั่นจนได้ปริมาตรรวม 250 มิลลิลิตร นำสารละลายที่รองรับสิ่งกลั่นแล้วไปไทเทรตด้วยสารละลายกรดมาตรฐานไฮโดรคลอริกจนได้สีชมพู เทียบกับสีของ blank (blank คือของเหลวที่ได้จากการใส่สารทุกชนิดในกระบวนการ kjeldahl ยกเว้นตัวอย่าง)

2.4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (ether extraction) ตามวิธีของ AOAC, 1990

ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งและบดละเอียดแล้วประมาณ 5 กรัม ให้ทราบน้ำหนักแน่นอนในกระดาษกรองเบอร์ 4 แล้วห่อให้เรียบร้อย นำไปใส่ในทิมเบิล ใส่ทิมเบิลใน exstraction tube ต่อเข้ากับหลอดควบแน่น ใช้สำลีจุกปลายของเครื่องควบแน่น เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวทำละลายระเหยไป ให้ความร้อนขวดแก้วโดยควบคุมอุณหภูมิให้มีการไขฟอนของตัวทำละลาย 10 นาที/ครั้ง ทำการสกัดติดต่อกันเป็นเวลา 6 - 8 ชั่วโมง นำสิ่งที่สกัดได้ในขวดแก้วไประเหยเอาปิโตรเลียมอีเธอร์ออกให้หมด โดยใช้ชุดระเหยสูญญากาศ อบตัวอย่างน้ำมันให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิประมาณ 100-120 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้ 2 ครั้งติดต่อกันต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม บันทึกน้ำหนักต่ำสุด

2.4.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย ตามวิธีของ AOAC, 1990

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักประมาณ 2.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมกรดซัลฟิวริก 1.25% ซึ่งต้มเดือดลงไป 200 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยการต้มให้เดือดต่อไปอีกนาน 30 นาที ขณะต้มนำกระจกนาฬิกาที่เติมน้ำไว้ปิดปากบีกเกอร์ กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 ล้างกากด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์กรด ถ่ายกากบนกระดาษกรองลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25% ซึ่งต้มเดือดจำนวน 200 มิลลิลิตร นำไปต้ม 30 นาที โดยใช้กระจกนาฬิกาปิดปากบีกเกอร์ไว้ขณะต้ม กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 ล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์ด่าง ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร ถ่ายกากที่เหลือใส่ในครูซิเบิล นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส นานประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่เดซิเคเตอร์ ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปชั่ง อบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักต่าง 2 ครั้งติดกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม จดน้ำหนักที่น้อยที่สุด ถือเป็นน้ำหนักครูซิเบิลและกาก หลังจากอบแห้งแล้ว เผาครูซิเบิลพร้อมด้วยกากที่อบแห้งแล้วในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600±20 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30 นาทีแล้วนำออกมาใส่เดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปชั่งแล้วเผาซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักต่าง 2 ครั้งติดกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม จดน้ำหนักที่น้อยที่สุด คือ น้ำหนักของครูซิเบิลและเถ้าหลังจากเผาแล้ว ผลต่างระหว่างน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองคือ น้ำหนักของเส้นใยหยาบ

2.4.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AACC, 1995

นำตัวอย่างที่บดละเอียดประมาณ 2 กรัม ชั่งใส่ครูซิเบิลที่เผาและชั่งน้ำหนักเรียบร้อยแล้วให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน เติมกลีเซอรอล 2-3 หยด แล้วนำไปเผาด้วยไฟอ่อนๆ จนหมดควัน แล้วนำมาเผาในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิประมาณ 500-600 องศาเซลเซียส นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือสีเทา นำออกมาใส่เดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปชั่ง เผาตัวอย่างซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม จดน้ำหนักที่น้อยที่สุดถือเป็นน้ำหนักของครูซิเบิลและตัวอย่าง

2.4.4.6 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต คำนวณจากผลต่าง คือ

%คาร์โบไฮเดรต = 100 - %โปรตีน - %ไขมัน - %เส้นใย - %เถ้า

หมายเหตุ : ในที่นี้ใช้ %dry basis ในการคำนวณทั้งหมด