

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ทดลองในการทำข้าววงอก

1. ข้าวกล้องหอมมะลิ (Brown rice) ใช้ข้าวหอมมะลิปลอดสารพิษที่ผลิตโดย กลุ่มแม่บ้าน ตำบลเฝៃรอบ อำเภอโพธิ์ประทับช้าง จังหวัดพิจิตร ซึ่งผ่านกระบวนการกะเทาะเปลือกออกเพียงครั้งเดียว

2. ข้าวกล้องมันปู (Red rice) ใช้ข้าวหอมมะลิแดงปลอดสารพิษที่ผลิตโดย ตำบลเขาทราย อำเภอทับคล้อ จังหวัดพิจิตร ซึ่งผ่านกระบวนการกะเทาะเปลือกออกเพียงครั้งเดียว

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทำวิจัย

1. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ

1.1 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol : C_2H_5OH) 95%

1.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide : NaOH)

1.3 กรดกลacialอะซิติก (Glacial acetic acid : CH_3COOH)

1.4 ไอโอดีน (Iodine : I_2)

1.5 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide : KI)

1.6 อะไมเลส (Potato amylase) มีความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 95 %

1.7 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide : KOH) 87%

1.8 โพแทสเซียมไฮโดรเจนเพทาเลท (Potassium hydrogen phthalate : $C_8H_5KO_4$)

1.9 ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolptalein : $C_{20}H_{14}O_4$)

1.10 กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid : K_2SO_4)

1.11 โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate : K_2SO_4)

1.12 กรดบอริก (Boric acid : H_3BO_3)

1.13 เมทิลเรด (Methyl red : $C_{15}H_{15}N_3O_2$)

1.14 ไบรโมไทมอลบลู (Bromothymol blue)

1.15 Dinitrosalicylic acid (DNS)

1.16 เอนไซม์ α - amylase ที่ได้จาก *B. Subtilis*

2. สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส (ซึ่งสารเคมีทั้งหมดเป็นเกรดที่ใช้ได้กับอาหาร)

2.1 น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทรายขาว)

2.2 โซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง)

2.3 กรดซิตริก

2.4 กาแฟ (ยี่ห้อเนสกาแฟ)

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการผลิตข้าวอก

1.1 ถังพลาสติกขนาด 20 x 12 นิ้ว

1.2 ผ้าขาวบางขนาด 1x1 เมตร

1.3 ตู้อบลมร้อนแบบถาด (Tray drier ; Model KPO – 700)

1.4 ถุงพลาสติกชนิด PP แบบ Ziplock ขนาด 10 x 10 นิ้ว

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ

2.1 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VIS Spectrophotometer) (Perkin Elmer ; Model Lambda 20)

2.2 เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO ; Model PE 503 – s)

2.3 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO ; Model AC 2105)

2.4 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (WATER BATH) (Poly Science ; Model 8205)

2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven ; Model 5300)

2.6 เครื่องบดอาหาร (Blender) (National ; Model MX – 795 N)

2.7 เครื่อง Rapid Visco Analyzer (Newport Scientific ; Model RVA-4)

2.8 เวอร์เนีย (PEACOCK VS – 150 0.01 mm. – 150 mm.)

2.9 เครื่องหาความชื้นอัตโนมัติ (SARTORIUS ; Model MA 40)

2.10 เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของอาหาร (Instron Texture Analyzer ; Model 4411)

2.11 เครื่องวัดค่าสี (Hunter Lab ; Model DP 9000 S/N 90905)

2.12 เดซิเคเตอร์ดูดความชื้น (Desiccator)

2.13 ชุดอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์โปรตีน

2.14 ชุดอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์อะไมโลส

3. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส

3.1 ถ้วยพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่าง

- 3.2 ถาดใส่ถ้วยพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่าง
- 3.3 แก้วน้ำดื่ม
- 3.4 แบบรายงานทดสอบ
- 3.5 กระดาษทิชชู
- 3.6 ดินสอ
- 3.7 ตัวอย่างมาตรฐานสำหรับการเปรียบเทียบ

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณภาพการหุงต้ม และคุณภาพการรับประทานของการงอกข้าวกล้องหอมมะลิ และข้าวกล้องมันปูออก โดยมีขั้นตอนการวิจัยดังนี้

ตอนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการงอกของข้าวกล้องหอมมะลิและข้าวกล้องมันปู

การวางแผนการทดลอง เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการงอกของข้าวกล้องหอมมะลิและข้าวกล้องมันปู ศึกษา 2 ปัจจัย คือ เวลาที่ใช้ในการแช่ข้าว และเวลาที่ใช้ในการเพาะ แบ่งเป็น 2 แผนการทดลอง แผนการทดลองที่ 1 เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการงอกข้าวกล้องหอมมะลิ 10 ระดับ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ที่อุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบ 2 x 5 Factorial in CRD ดังตาราง 9

ตาราง 9 สภาวะในการงอกข้าวกล้องหอมมะลิ

Treatment	เวลาที่ใช้ในการแช่ (ช.ม.)	เวลาที่ใช้ในการเพาะ (ช.ม.)
1	6	0
2	6	6
3	6	12
4	6	18
5	6	24
6	12	0
7	12	6
8	12	12
9	12	18
10	12	24

แผนการทดลองที่ 2 เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการงอกของข้าวกล้องมันปู 8 ระดับ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ที่อุณหภูมิต้อง วางแผนการทดลองแบบ 2 x 4 Factorial in CRD (ตาราง 10)

ตาราง 10 สภาวะในการงอกของข้าวกล้องมันปู

Treatment	เวลาที่ใช้ในการแช่ (ช.ม.)	เวลาที่ใช้ในการเพาะ (ช.ม.)
1	12	0
2	12	12
3	12	24
4	12	36
5	24	0
6	24	12
7	24	24
8	24	36

การเตรียมข้าวงอกแสดงดังภาพ 7 ทำโดยนำข้าวกล้องหอมมะลิ และข้าวกล้องมันปู ล้างทำความสะอาด เพื่อขจัดสิ่งสกปรกออก แล้วจึงแช่เมล็ดข้าวในน้ำ (น้ำสะอาด) ในอัตราส่วนเมล็ดข้าว : น้ำ เท่ากับ 1 : 3 (Loreti et al., 2003) ในถังพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง ตามเวลาที่ใช้ในการแช่ที่กำหนดข้างต้น โดยทำการเปลี่ยนน้ำที่แช่ทุก ๆ 3 ชั่วโมงเพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นหมัก จากการแช่น้ำเป็นเวลานาน และเหนียวที่แช่อก จากนั้นนำตัวอย่างมาเพาะต่อโดยเก็บไว้ในผ้าขาวบางในที่มีตามเวลาที่ใช้ในการเพาะที่กำหนดข้างต้นเช่นกันที่อุณหภูมิห้อง เมื่อถึงเวลาที่กำหนดนำตัวอย่างมาอบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50–60 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นประมาณ 12–14 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นข้าวงอกที่จะได้มีทั้งหมด 18 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นข้าวกล้องหอมมะลิ 10 ตัวอย่าง คือ ข้าวกล้องหอมมะลิงอกที่เตรียมโดยแช่น้ำเป็นเวลา 6 ชั่วโมง 5 ตัวอย่าง ได้แก่ 6 ; 0, 6 ; 6, 6 ; 12, 6 ; 18 และ 6 ; 24 (ระยะเวลาแช่ ; ระยะเวลาเพาะ) และข้าวกล้องหอมมะลิงอกที่เตรียมโดยแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง 5 ตัวอย่าง ได้แก่ 12 ; 0, 12 ; 6, 12 ; 12, 12 ; 18 และ 12 ; 24 (ระยะเวลาแช่ ; ระยะเวลาเพาะ) ข้าวกล้องมันปู 8 ตัวอย่าง คือ ข้าวกล้องมันปูงอกที่เตรียมโดยแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง 4 ตัวอย่าง ได้แก่ 12 ; 0, 12 ; 12, 12 ; 24 และ 12 ; 36 (ระยะเวลาแช่ ; ระยะเวลาเพาะ) และข้าวกล้องหอมมะลิงอกที่เตรียมโดยแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 4 ตัวอย่าง ได้แก่ 24 ; 0, 24 ; 12, 24 ; 24, และ 24 ; 36 (ระยะเวลาแช่ ; ระยะเวลาเพาะ) และเก็บไว้ในถุงพลาสติกชนิด PP แบบ Ziplock ขนาด 10 x 10 นิ้ว ปิด

สนิทในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป โดยวิเคราะห์ตัวอย่างข้าวกล้องอก
กับตัวอย่างควบคุมแต่ละชนิด (ไม่ผ่านการงอก) ทุกครั้ง



ภาพ 7 กระบวนการเตรียมข้าวออก

ตอนที่ 2 ศึกษาผลของสภาวะการงอกที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของข้าวกล้องหอมมะลิและข้าวกล้องมันปูในระหว่างกระบวนการงอก

วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าว (% Germinate rate) ตามวิธีของ Adkarinayake T.B. et al. (2006,) วิธีการตามภาคผนวก ก

ตอนที่ 3 การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของข้าวกล้องหอมมะลิและกับข้าวกล้องมันปูก่อน และหลังผ่านกระบวนการงอก

ด้านกายภาพ

1. ขนาดและรูปร่างเมล็ดของข้าวสารทั้ง 2 ชนิด ตามวิธีของ Dipti et al. (2002) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 1 ประกอบด้วย

1.1 ความยาวของเมล็ด (Length)

1.2 ความกว้างของเมล็ด (Breadth)

1.3 อัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้าง (Length / Breadth Ratio, L/B ratio)

2. สีเยื่อหุ้มเมล็ด (Pericarp color) วัดค่าสีโดยใช้เครื่อง Hunter Lab ยี่ห้อ HUNTER LAB รุ่น DP 9000 ซึ่งบันทึกค่าในระบบ CIE Lab วัดค่า L^* , a^* และ b^* (วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 2)

3. ความแข็ง (Hardness) โดยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส Instron Texture Analyzer (วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 3)

ด้านเคมี

4. ปริมาณโปรตีน (Protein content) kjedahl method ตามวิธี A.O.A.C. (1990) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 4

5. ปริมาณความชื้น (Moisture content) ตามวิธี A.O.A.C. (1990) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 5

6. เอนไซม์ α -อะไมเลส (α -Amylase activity) ตามวิธีของ Whitaker, Voragen and Wong (2003) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 6

ด้านเคมีกายภาพ

7. น้ำหนักเมล็ด 1000 เมล็ด (Thousand kernel weight) ตามวิธีของ Gujral and Kumar (2003) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 7

8. ปริมาณอะไมโลส (Amylose content) ดัดแปลงมาจากวิธีของ Juliano (1971) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 8

9. ความจุของเมล็ด (Bulk density) เป็นการกำหนดน้ำหนักต่อความสูงของเมล็ดข้าวสาร ตามวิธีของ Singh et al. (2005) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 9

10. ความคงตัวของแป้งสุก (Gel consistency) วัดระยะเวลาไหลของน้ำแป้ง มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร ตามวิธีของ Yu and Wang (2007) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 10

11. ค่าการสลายตัวในด่าง (Alkali test) คือ การวัดค่าสลายตัวของเมล็ดข้าวเต็มเมล็ดในสารละลายด่าง ตามวิธีของ Yu and Wang (2007) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 11

12. สมบัติความเหนียวของแป้งข้าว (Pasting properties) โดยใช้เครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) ตามวิธีของ กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ (2550) วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 12

ตอนที่ 4 ศึกษาคุณภาพการหุงต้มและคุณภาพการรับประทานของข้าวกล้องหอมมะลิ และข้าวกล้องมันปูก่อนและหลังผ่านกระบวนการงอก ตามวิธีของ Gujral and Kumar (2003)

1. ระยะเวลาการหุงสุก (Cooking time) มีหน่วยเป็นนาที (วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 13)

2. เปอร์เซ็นต์การขยายปริมาตร (% Volume expansion) การวัดปริมาตรผลต่างของข้าวสารเปรียบเทียบกับปริมาตรของข้าวหลังผ่านการหุงสุก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 14)

3. เปอร์เซ็นต์การดูดน้ำ (% Water uptake) เปรียบเทียบน้ำหนักข้าวสารกับข้าวหลังจากหุงสุก คำนวณการดูดน้ำของข้าวสุกคิดเป็น เปอร์เซ็นต์ (วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 15)

4. เปอร์เซ็นต์การยืดตัวด้านยาวของเมล็ด (%Elongation) (วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 16)

5. เปอร์เซ็นต์การยืดตัวด้านกว้างของเมล็ด(% Width expansion) (วิธีการตามภาคผนวก ข ข้อ 17)

ตอนที่ 5 การศึกษาทางจุลชีววิทยาของข้าวกล้องหอมมะลิ และข้าวกล้องมันปูก่อน และหลังผ่านกระบวนการงอก ตามวิธีของ บุญส่ง (2547) และศิริโฉม (2543) วิธีการตามภาคผนวก ค

การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร โดยวิธีการพอร์เพลท การศึกษาปริมาณยีสต์และราในอาหาร โดยวิธีการสเปรดเพลท

ตอนที่ 6 การศึกษาลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของข้าวกล้องหอมมะลิ และข้าวกล้องมันปูก่อน และหลังผ่านกระบวนการงอก

1. การฝึกฝนผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส เป็นการคัดเลือกผู้ที่จะมาประเมินตัวอย่างในการทดสอบชิม โดยจะต้องผ่านขั้นตอนดังต่อไปนี้ (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 1)

1.1 การทดสอบความสามารถในการรับรสอาหาร (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 1.1)

1.2 การทดสอบหาความเข้มข้นระดับต่ำสุดที่เริ่มรู้สึกได้ (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 1.2)

2. การฝึกบรรยายคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส โดยการให้ผู้ประเมินที่ผ่านการฝึกฝนในขั้นตอนที่ 1 เสนอคำศัพท์ที่เข้ากับลักษณะต่าง ๆ ของข้าวสุก (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 2)

3. การสร้างคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส เป็นการเลือกลักษณะทางประสาทสัมผัสจากการเลือกคำศัพท์ โดยมีการตกลง และทำความเข้าใจร่วมกันระหว่างผู้ทำวิจัย และผู้ประเมิน เพื่อคัดเลือกตัวอย่างมาตรฐานมาใช้ในการเปรียบเทียบระหว่างการประเมินในขั้นตอนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในขั้นตอนต่อไป (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 3)

4. การคัดเลือกผู้ทดสอบชิม เป็นการคัดเลือกผู้ทดสอบที่มีความเหมาะสมมากที่สุด 8 – 10 คน เพื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสกับตัวอย่างข้าวงอก (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 4)

5. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 5)

5.1 ขั้นตอนการหุงต้ม

โดยการปรับอัตราส่วน ข้าว : น้ำ ให้เหมาะสมของแต่ละตัวอย่างข้าว ทำการหุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้าเป็นเวลา 15 นาที และอุ่นต่อประมาณ 20 นาที ก่อนทำการเสิร์ฟ เพื่อทดสอบด้านประสาทสัมผัสในขั้นตอนต่อไป (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 5.1)

5.2 ขั้นตอนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสเป็นการทดสอบเชิงลึก โดยใช้การทดสอบเชิงพรรณนา วิธี Quantitative Descriptive Analysis (QDA) แบบ line scaling ทำโดยการคัดเลือกและฝึกฝนผู้ประเมิน (panelist) โดยมีผู้ประเมินที่ผ่านการฝึกฝนประมาณ 8 - 10 คน (วิธีการตามภาคผนวก ง ข้อ 5.2)

ตอนที่ 6 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาสหสัมพันธ์ (Correlation) ระหว่างระยะเวลาการเพาะในกระบวนการงอกข้าว กัดองหอมมะลิและข้าวกล้องมันปูกับผลจากการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณภาพการหุงต้ม และคุณภาพการรับประทาน โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์เพียร์สัน (Pearson's correlation coefficient) ตามวิธีการของระพินทร์ โปธิ์ศรี (2549)

