

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### วัตถุดิบ

1. ใบเตย จากหอพักคุณพ่อดอกวัช ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ทำการคัดเลือกเฉพาะใบที่แก่จัด โดยเก็บใบที่ 4-7 นับจากยอดลงมา นำมาล้าง ตัดส่วนปลายออก หั่นตามขวางของใบให้ได้ความกว้างประมาณ 1-2 มิลลิเมตร และชั่งน้ำหนักตามต้องการ

2. ข้าว 3 สายพันธุ์คือ ข้าวดอกมะลิ105 ชัยนาท1 และพิษณุโลก2 ซึ่งทำการเก็บเกี่ยวเมื่อเดือนตุลาคม พ.ศ. 2550 จากโรงสีไฟสิงห์วัฒน์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

##### สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทำวิจัย

1. Ethyl alcohol:  $C_2H_5OH$  95 %
2. Potassium hydroxide (KOH) 85 %
3. Potassium iodine
4. Sodium hydroxide (NaOH) 1 N
5. Acetic acid เจือจาง
6. Plate count agar (PCA)
7. Rose Bengal
8. Peptone water
9. น้ำกลั่น

##### อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการสกัด 2AP จากใบเตย
  - 1.1 ชุดกลั่นไอน้ำ
  - 1.2 บีกเกอร์
  - 1.3 ตัวให้ความร้อน
  - 1.4 ขวดสีชา
  - 1.5 เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ
  - 2.1 เครื่องปั่นผสมของเหลวในหลอดทดลอง (test tube mixer)
  - 2.2 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
  - 2.3 เครื่องชั่ง ที่ชั่งได้ละเอียดถึง 0.0001 กรัม
  - 2.4 หลอดทดลองขนาด 13\*100 มิลลิเมตร
  - 2.5 เครื่องบดเมล็ดข้าวที่บดละเอียด 80-100 เมช (mesh)
  - 2.6 เวอร์เนียร์ที่อ่านได้ละเอียดถึง 0.01 มิลลิเมตร
  - 2.7 ตะแกรงโลหะทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร
  - 2.8 เครื่อง GC-MS รุ่น QP2010 Plus, Detector FID
3. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส
  - 3.1 ขวดแก้วสำหรับใส่ตัวอย่าง
  - 3.2 ถาดใส่ขวดแก้วสำหรับใส่ตัวอย่าง
  - 3.3 แก้วน้ำดื่ม
  - 3.4 ไม้ปลายแหลม
  - 3.5 แบบรายงานการทดสอบ
  - 3.6 กระดาษทิชชู
  - 3.7 ดินสอ
  - 3.8 หม้อหุงข้าวไฟฟ้ายี่ห้อ Panasonic รุ่น SR-610
  - 3.9 Aluminium foil

#### ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

ตอนที่ 1 วิธีการสกัดสารหอมจากใบเตยสำหรับปรับปรุงกลิ่นหลังการหุงต้มของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และพันธุ์พิษณุโลก2 ให้ใกล้เคียงข้าวพันธุ์ชาวดอกมะลิ105

##### 1.1 วิธีการสกัดสารหอมจากใบเตยสำหรับปรับปรุงกลิ่น

ทำการสกัดสารที่ให้กลิ่นหอม (2-acetyl-1-pyrroline, 2AP) ในใบเตยที่เก็บจากหอพัก คุณพ่อดอกกรัก ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก คัดเลือกเฉพาะใบที่แก่จัด โดยเก็บใบที่ 4 นับจากยอดลงมา นำมาล้าง ตัดส่วนปลายออก หั่นตามขวางให้ได้ความกว้างประมาณ 1-2 มิลลิเมตร และชั่งน้ำหนัก 20 กรัม เพื่อนำไปสกัดสารที่ให้กลิ่นหอม ด้วยวิธีการลั่นด้วยน้ำร้อนนาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา และวิเคราะห์ปริมาณ 2-acetyl-1-pyrroline โดยแก๊สโครมาโทกราฟี รุ่น QP2010 Plus ซึ่งมีตัว

ตรวจวัดแบบ FID ที่ดัดแปลงตามวิธีของ น่องนุช เจริญกุล, ณัฐฐา เลหากุลจิตต์ และ ดุษฎี อุดภาพ (2545)

ออกแบบการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

1.2 การวิเคราะห์สมบัติด้านเคมี กายภาพและจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบเตย

1.2.1 ด้านกายภาพ

1) สี (Hunter Lab รุ่น DP 9000)

1.2.2 ด้านเคมี

1) ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดย pH meter ยี่ห้อ CONSORT รุ่น C 830

2) ปริมาณ 2-acetyl-1-pyrroline (น่องนุช เจริญกุล, ณัฐฐา เลหากุลจิตต์ และ ดุษฎี อุดภาพ, 2545)

1.2.3 ด้านจุลินทรีย์

1) จุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (AOAC, 1995)

2) ยีสต์และรา โดยวิธี spread plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose bengal (AOAC, 1995)

ออกแบบการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

1.3 การประยุกต์ใช้สารสกัดจากใบเตยในการปรับปรุงคุณภาพด้านกลิ่นของข้าวพันธุ์ ชัยนาท1 และพันธุ์พิษณุโลก2

นำสารสกัดจากใบเตยที่เก็บไว้ในขวดสีชาและเก็บไว้ในตู้เย็นที่สกัดได้ (จากข้อ 1.1) เติมในหม้อหุงข้าวระหว่างการหุงต้ม จากนั้นคัดเลือกข้าวที่มีกลิ่นใกล้เคียงข้าวขาวดอกมะลิ105 โดยทดสอบคุณสมบัติด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-Point Hedonic Scale ทดสอบความชอบและให้ผู้ทดสอบทั่วไปจำนวน 50 คน

1.3.1 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับเติมสารสกัดจากใบเตยในระหว่าง  
การหุงของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และพิษณุโลก2 (ภาพ 2 และ 3)

ชั่งข้าวสาร 200 กรัม ใส่ในหม้อหุงข้าวอัตโนมัติ คัดแยกสิ่งปลอมปนออกจากเมล็ดข้าว

↓  
ล้างน้ำ 1 ครั้ง และรินน้ำออก (ข้าวขาว)

↓  
เติมน้ำกลั่น 490 มิลลิลิตร (สำหรับชัยนาท1) และ 400 มิลลิลิตร (สำหรับพิษณุโลก2)

↓  
เสียบปลั๊กและกดปุ่มหุงข้าว

↓  
เติมสารสกัดจากใบเตยปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในแต่ละช่วงเวลาดังนี้

0, 4, 8, 12, 16 และ 20 นาที (สำหรับชัยนาท1) และ

0, 3, 6, 9, 12 และ 15 นาที (สำหรับพิษณุโลก2)

↓  
นำข้าวสวยหุงสุกมาทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale 9 point

↓  
และผู้ทดสอบจำนวน 50 คน

ภาพ 2 กระบวนการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับเติมสารสกัดจากใบเตยในระหว่าง  
การหุงข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และพิษณุโลก2

1) การทดสอบซ้ำสำหรับระยะเวลาที่เหมาะสมในข้อ 1.3.1

ทิ้งข้าวสาร 200 กรัม ใส่ในหม้อหุงข้าวอัตโนมัติ คัดแยกสิ่งปลอมปนออกจากเมล็ดข้าว

↓  
ล้างน้ำ 1 ครั้ง และรินน้ำออก (ข้าวขาว)

↓  
เติมน้ำกลั่น 490 มิลลิลิตร (สำหรับชั้นนาท1) และ 400 มิลลิลิตร(สำหรับพิษณุโลก2)

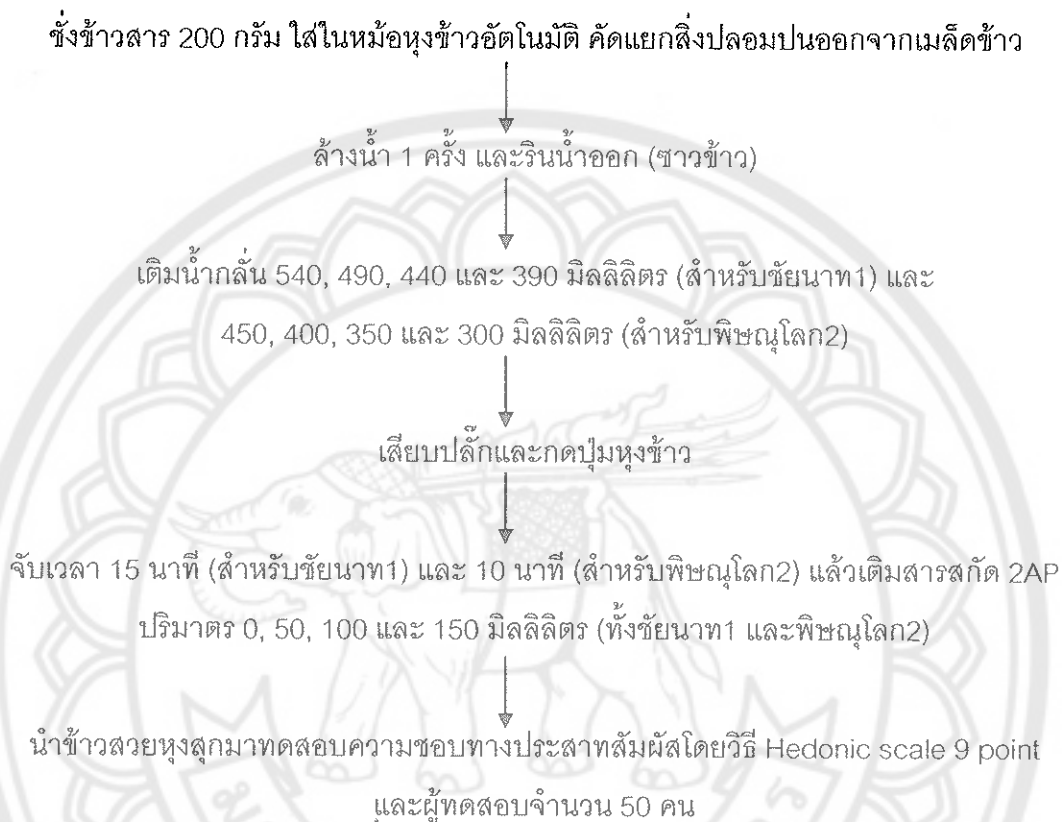
↓  
เสียบปลั๊กและกดปุ่มหุงข้าว

↓  
เติมสารสกัดจากใบเตยปริมาณ 50 มิลลิลิตร ในแต่ละช่วงเวลา  
ที่ดีที่สุดข้อ 1.3.1 ทั้งข้าวพันธุ์ชั้นนาท1 และพิษณุโลก2

↓  
นำข้าวสวยหุงสุกมาทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale 9 point  
และผู้ทดสอบจำนวน 50 คน

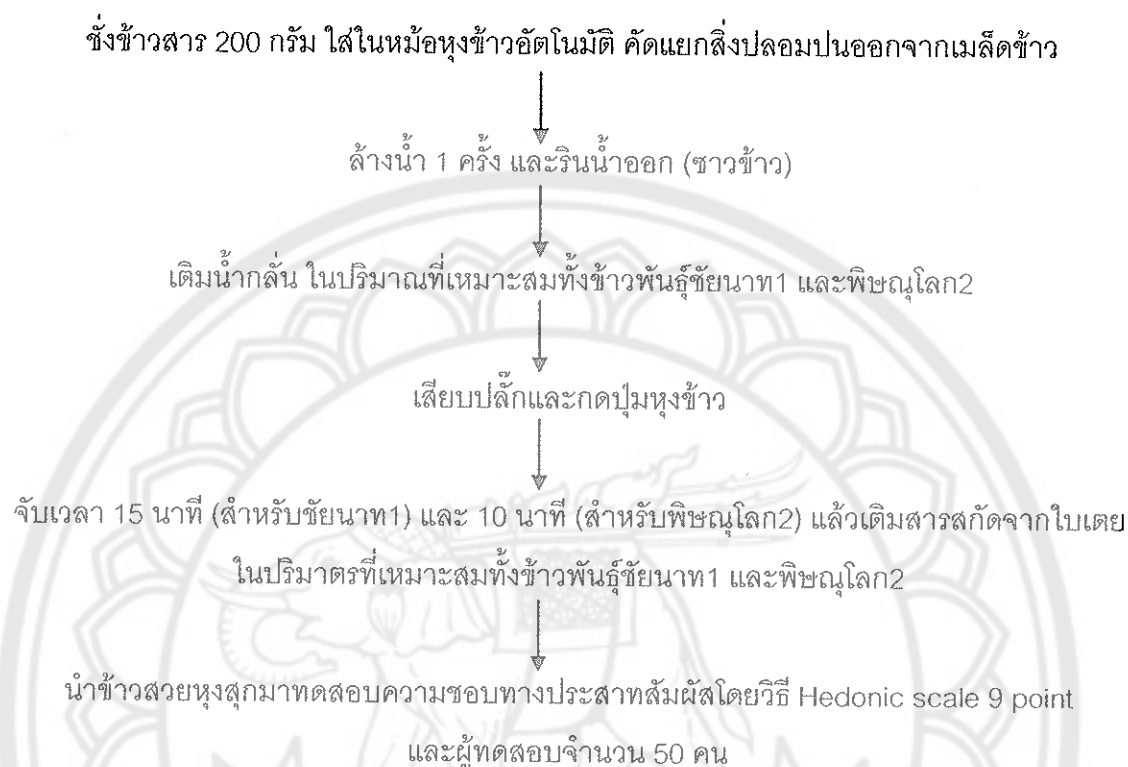
ภาพ 3 กระบวนการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับเติมสารสกัดจากใบเตยในระหว่าง  
การหุงข้าวพันธุ์ชั้นนาท1 และพิษณุโลก2 (การยืนยัน)

1.3.2 การศึกษาปริมาณสารสกัดจากใบเตยที่เหมาะสมสำหรับเติมลงไปในหม้อหุงข้าวของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และพิษณุโลก2 (ภาพ 4 และ 5)



ภาพ 4 กระบวนการศึกษาปริมาณสารสกัดจากใบเตยที่เหมาะสมสำหรับเติมลงไป  
ในหม้อหุงข้าวของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และพิษณุโลก2

1) การทดสอบซ้ำสำหรับปริมาณสารสกัดที่พอเหมาะในข้อ 1.3.2



ภาพ 5 กระบวนการศึกษาปริมาณสารสกัดจากใบเตยที่เหมาะสมสำหรับเติมลงในหม้อหุงข้าวของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และพิษณุโลก2 (การยืนยัน)

โดยการหุงต้มแบบการทดลองแบบ RCBD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และการทดสอบทางประสาทสัมผัส ออกแบบการทดลองแบบ Factorial in RCBD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

## ตอนที่ 2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพ เคมี และเคมีกายภาพ ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พันธุ์ชัยนาท1 และพันธุ์พิษณุโลก2 ทั้งก่อนและหลังการหุงต้ม

สำหรับการวิเคราะห์คุณสมบัติด้านต่างๆ นั้น ได้นำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นตัวควบคุมเพื่อเปรียบเทียบข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และ พิษณุโลก2 ทั้งก่อนและหลังการหุงต้ม โดยข้าวแต่ละพันธุ์ที่ใช้มีอายุการเก็บรักษาเท่ากันคือมีอายุหลังการเก็บเกี่ยว 5 เดือน

### 2.1 การวิเคราะห์คุณภาพข้าวก่อนการหุงต้มของข้าว 3 สายพันธุ์

#### 2.1.1 ด้านกายภาพ

- 1) ความยาวของเมล็ด (Length) (Dipti, et al., 2002)
- 2) สี (Hunter Lab รุ่น DP 9000)

#### 2.1.2 ด้านเคมี

- 1) ความชื้น (Moisture content) (กรมวิชาการเกษตร, 2545)
- 2) ค่าการสลายตัวของเมล็ดในด่าง (Alkali test) (กรมวิชาการเกษตร, 2545)
- 3) ปริมาณอะไมโลส (Amylose content) (AOAC, 1995)
- 4) ปริมาณโปรตีน (Protein content) (AOAC, 1995)
- 5) สาร 2-acetyl-1-pyrroline (น้องนุช เจริญกุล, ณีจรรยา เลหากุลจิตต์ และ ดุษฎี อุตภาพ, 2545)

#### 2.1.3 ด้านเคมีกายภาพ

- 1) ความหนืดของแป้งข้าว (Pasting properties) โดยใช้เครื่อง Brabender Visco/Amylograph (กรมวิชาการเกษตร, 2545)
- 2) ความคงตัวของแป้งสุก (Gel consistency) วัดระยะเวลาไหลของน้ำแป้ง มีหน่วยเป็น มิลลิเมตร (กรมวิชาการเกษตร, 2545)

### 2.2 การวิเคราะห์คุณภาพข้าวหลังการหุงต้มของข้าว 3 สายพันธุ์

#### 2.2.1 ด้านกายภาพ

- 1) ความยาวของเมล็ด (Length) (Dipti, et al., 2002)
- 2) การยืดตัวของข้าวสุก (Dipti, et al., 2002)
- 3) ระยะเวลาการหุงสุก (Cooking time) (Gujral and Kumar, 2003)
- 4) ปริมาตรที่เพิ่มขึ้น (Volume expansion) (Gujral and Kumar, 2003)
- 5) ร้อยละของการดูดน้ำ (% Water uptake) (Gujral and Kumar, 2003)
- 6) สี (Colour) (Hunter Lab รุ่น DP 9000)



### 2.2.2 ด้านเคมี

- 1) ปริมาณโปรตีน (Protein content) (AOAC, 1995)
- 2) สาร 2-acetyl-1-pyrroline (น้องนุช เจริญกุล, ณีฐฐา เลานกุลจิตต์ และ ดุษฎี อุตภาพ, 2545)

ออกแบบการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตอนที่ 3 การศึกษาสมบัติทางกายภาพ และเคมี หลังการหุงต้มเมื่อใช้สารสกัดจากใบเตย สำหรับปรับปรุงกลิ่นร่วมกับข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และพันธุ์พิษณุโลก2

โดยวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (ข้าวขาวดอกมะลิ105) ดังนี้

#### 3.1 ด้านกายภาพ

- 3.1.1 ความยาวของเมล็ด (Length) (Dipti, et al., 2002)
- 3.1.2 การยืดตัวของข้าวสุก (Dipti, et al., 2002)
- 3.1.3 ระยะเวลาการหุงสุก (Cooking time) (Gujral and Kumar, 2003)
- 3.1.4 ปริมาตรที่เพิ่มขึ้น (Volume expansion) (Gujral and Kumar, 2003)
- 3.1.5 ร้อยละของการดูดน้ำ (% Water uptake) (Gujral and Kumar, 2003)
- 3.1.5 สี (Hunter Lab รุ่น DP 9000)

#### 3.2 ด้านเคมี

- 3.2.1 ปริมาณโปรตีน (protein content) (AOAC, 1995)
- 3.2.2 สาร 2-acetyl-1-pyrroline (น้องนุช เจริญกุล, ณีฐฐา เลานกุลจิตต์ และ ดุษฎี อุตภาพ, 2545)

ออกแบบการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตอนที่ 4 การทดสอบความเข้มของกลิ่นของสารสกัดจากใบเตยสำหรับปรับปรุงกลิ่นหลังการหุงต้มของข้าวพันธุ์ชัยนาท1 และพันธุ์พิษณุโลก2 ให้ใกล้เคียงข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

นำสารสกัดจากใบเตยไปศึกษาการทนทานของกลิ่นหอมหลังการหุงต้ม ใช้การทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive analysis method) โดยการคัดเลือก และฝึกฝนผู้ประเมิน (panelist) โดยมีผู้ประเมินที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ผู้ประเมินแต่ละคนจะต้องเสนอคำศัพท์ที่ใช้อธิบายคุณลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ให้ได้มากที่สุดจากนั้นทำการคัดเลือกคำศัพท์ที่เป็นที่ยอมรับของสมาชิกในกลุ่ม ในขั้นตอนการฝึกฝนจะมีตัวอย่างมาตรฐาน (standard reference) เพื่อฝึกฝนผู้ประเมินแต่ละคนให้มีความเข้าใจตรงกันถึงคำจำกัดความและหลักเกณฑ์การให้คะแนนของแต่ละคุณลักษณะ ผลของการประเมินจะแสดงเป็นคะแนนของคำศัพท์ที่อธิบายลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการตกลงและเป็นที่ยอมรับของกลุ่มผู้ประเมินทั้งหมด สเกลที่ใช้สำหรับทดสอบเป็น Line Scale ซึ่งมีความยาว 15 เซนติเมตร

สำหรับการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสนั้นอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาแบ่งออกเป็น 2 สภาวะคือ ทำการหุงข้าวแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ  $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส) (ข้อ 4.1) และทำการหุงข้าวแล้วนำไปแช่เย็น (ประมาณ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส) หลังจากนั้นจึงทดสอบชิม (ข้อ 4.2) ดังนี้

4.1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ  $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส)

4.1.1 ข้าว 3 พันธุ์คือขาวดอกมะลิ 105 ชัยนาท1 และพิษณุโลก2

4.1.2 ภาชนะในการเก็บคือหม้อหุงข้าว

4.1.3 วิธีการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส นำข้าว 3 ชนิดหลังหุงสุกแล้วเก็บในหม้อหุงข้าวมาทดสอบชิมทุกๆ 1 ชั่วโมง รวมทั้งสิ้น 12 ชั่วโมง

4.2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (ประมาณ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส)

4.2.1 ข้าว 3 พันธุ์คือขาวดอกมะลิ105 ชัยนาท1 และพิษณุโลก2

4.2.2 ภาชนะในการเก็บคือถุงพลาสติกชนิดทนร้อนและกล่องพลาสติกชนิดเข้า

ไมโครเวฟได้

4.2.3 วิธีการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุดคือ

1) ชุดที่ 1 ข้าว 3 พันธุ์ บรรจุถุงพลาสติกชนิดทนร้อนแล้วนำมาอุ่นโดยหม้อหุงข้าว

2) ชุดที่ 2 ข้าว 3 พันธุ์ บรรจุกล่องพลาสติกชนิดเข้าไมโครเวฟได้แล้วนำมาอุ่นโดยไมโครเวฟ

#### 4.2.4 ทดสอบชิมทุกๆ 1 ชั่วโมง รวมทั้งสิ้น 12 ชั่วโมง

ออกแบบการทดลองแบบ Factorial in RCBD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

