บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

1) แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่
2) แป้งข้าวหอมนิล
3) แป้งข้าวสังข์หยด

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) เครื่องวัดค่าสี (Color Flex^{EZ})
2) เครื่อง rapid visco analyzer (RVA)
3) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer)
4) เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water activity)
5) เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (รุ่น 1002, Tecator, Sweden)
6) เครื่องสกัดไขมัน (Soxthlet apparatus)
7) ตู้อบลมร้อน
8) เครื่องวิเคราะห์เถ้า (muffle furnace)
9) เครื่องสกัดเส้นใย
10) เครื่องปั่นเหวี่ยง
11) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
12) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
13) ตู้ดูดควัน

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ แป้งข้าวหอมนิล และแป้งข้าวสังข์หยด

3.2.1.1 การวัดค่าสี

นำแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ แป้งข้าวหอมนิล แป้งข้าวสังข์หยด มาวัดค่าสีของแป้งโดยเครื่อง ColorFlex^{EZ} ในระบบ CLELAB ใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 โดยใส่ตัวอย่างแป้งในถ้วยใส่ตัวอย่างประมาณ ¾ ของถ้วย แล้วนำเข้าเครื่องวัดสี แสดงค่าวัดได้เป็น L* a* และ b* โดยที่ L* แสดงค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 (ดำ) จนถึง 100 (ขาว) a* แสดงค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว (ค่า + จะแสดงค่าสีแดง, ค่า – จะแสดงค่าสีเขียว) และ b* แสดงค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน (ค่า + จะแสดงค่าสีเหลือง, ค่า – จะแสดงค่าสีน้ำเงิน)

3.2.1.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความสามารถในการละลายน้ำ

ศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำ และความสามารถในการละลายน้ำ เตรียมตัวอย่างโดยการชั่งตัวอย่างแป้ง 0.5 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง (ที่ทราบน้ำหนักหลอดเริ่มต้นแล้ว) เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แช่น้ำที่อ่างควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ความเร็วรอบ 174 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสลงในจานระเหยที่ทราบน้ำหนักและทำการระเหยบนอ่างน้ำเดือดจนแห้ง จึงนำไปอบที่ตู้อบรมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื่นแล้วชั่งน้ำหนักเพื่อใช้ในการคำนวณหาส่วนที่สามารถละลายได้ ส่วนตะกอนแป้งที่ก้นหลอดให้นำมาชั่งน้ำหนักเพื่อใช้ในการอุ้มน้ำของแป้ง สูตรที่ใช้ในการคำนวณเป็น ดังนี้

$$\text{Water solubility index (WSI, \%)} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนใสหลังอบแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแป้งแห้งเริ่มต้น}}$$

$$\text{Water absorption index (WAI, g/g)} = \frac{\text{น้ำหนักตะกอนแป้งก่อนการปั่นเหวี่ยง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแป้งแห้งเริ่มต้น}}$$

3.2.1.3 ค่าการละลาย และกำลังพองตัว

ศึกษาค่าการละลาย และการพองตัวของแป้งเตรียมตัวอย่างโดยการชั่งตัวอย่างแป้ง 0.5 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร (ที่ทราบน้ำหนักหลอดเริ่มต้น) เติมน้ำกลั้นปริมาตร 15 มิลลิลิตร แช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เขย่าตลอดเวลา 30 นาที ด้วยอัตราเร็ว 80 รอบต่อนาที นำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดของเหลวใสตอนบนใส่ถ้วยอบแห้งที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบที่ตู้อบรมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื่นแล้วชั่งน้ำหนักเพื่อหาปริมาณส่วนละลายละลายน้ำ นำส่วนที่ไม่ละลายน้ำซึ่งเหลือยุในหลอดนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อหากำลังการพองตัว โดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\text{ร้อยละของการละลาย} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนที่ละลายน้ำหลังอบแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

$$\text{กำลังการพองตัว} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนที่ไม่ละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง} \times (100 - \text{ร้อยละของการละลาย})}$$

3.2.1.4 วัดสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่อง Rapid visco analyzer (RVA)

ศึกษาคุณสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่อง Rapid visco analyzer (RVA) ดัดแปลงวิธีมาจาก ICC standard method No.162 โดยชั่งน้ำกลั่นปริมาตร 25.0 ± 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในถ้วยตัวอย่าง แล้วเติมตัวอย่างแป้งน้ำหนัก 3.0 ± 0.01 กรัม ลงไป จะได้ตัวอย่างสารละลายแป้งที่มีความเข้มข้น 12% (w/w) ใช้ใบพัดคนให้เข้ากัน จากนั้นนำถ้วยตัวอย่างเข้าเครื่อง RVA วัดที่อุณหภูมิต่างๆโดยใช้เวลาทั้งหมด 13 นาที เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส กวนด้วยความเร็วรอบ 960 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วลดความเร็วรอบเป็น 160 rpm เป็นเวลา 50 วินาที จากนั้นเริ่มเพิ่มอุณหภูมิจาก 50 องศาเซลเซียส เป็น 90 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 13 องศาเซลเซียสต่อนาที เป็นเวลา 3.7 นาที และคงไว้ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 160 rpm เป็นเวลา 2.5 นาที จึงลดอุณหภูมิลงเหลือ 50 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 13 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงไว้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที บันทึกค่าต่างๆ ดังนี้ pasting temperature (อุณหภูมิการเกิดแป้งเปียก) peak temperature (อุณหภูมิที่เกิดความหนืดสูงสุด) peak viscosity (ความหนืดสูงสุด) final viscosity (ความหนืดสุดท้าย) breakdown viscosity (ความต่างของความหนืดสูงสุดและความหนืดต่ำสุด) และsetback viscosity (ความต่างของความหนืดสุดท้ายกับความหนืดสูงสุด)

3.2.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ แป้งข้าวหอมนิล แป้งข้าวสังข์หยด

3.2.2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยเครื่อง Proximate composition

ประกอบด้วย การวัดปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า ปริมาณเส้นใย โดยวิธี A.O.A.C (2000) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

3.2.2.2 ค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w)

วิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระของแป้งด้วยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระนำตัวอย่างแป้งใส่ในถ้วยตัวอย่างประมาณ $^1/_2$ ของถ้วย นำตัวอย่างเปิดฝาออกใส่ในช่องวัดค่า a_w แล้วบิดที่ดึงช่องใส่ถ้วยตัวอย่างไปที่ READ รอจนเครื่องส่งเสียงดัง และอ่านค่า a_w จากเครื่อง

3.2.2.3 ปริมาณอะไมโลส

วิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสของแป้งตามวิธี Juliano (1971) โดยเตรียมสารละลายตัวอย่าง และเตรียมสารละลายมาตรฐาน และนำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร

3.2.3 สถิติที่ใช้ในการวางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ผล

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และเคมีทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple range Test : DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS