บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วิธีการทดลอง

1. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดผีเสื้อข้าวสารที่อาศัยอยู่ในข้าวสารขาวดอกมะลิ 105โดยใช้คลื่นความถี่วิทยุ

จุดประสงค์ของการทดลองนี้ เพื่อให้ทราบระยะการเจริญเติบโตของผีเสื้อข้าวสารที่คงทนต่อคลื่นวิทยุมากที่สุด โดยใช้โดยใช้เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุที่สร้าง และปรับปรุงโดย Institute of Agriculture Engineering, University of Göttingen, Germany ที่ความถี่ของคลื่นวิทยุ 27.12 MHz อัตราคลื่นวิทยุที่ใช้ในผลิตผลในโรงเก็บ (ณัฐศักดิ์, 2543) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณผีเสื้อข้าวสาร

ตัวอย่างผีเสื้อข้าวสารได้นำมาจาก ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการโดยใช้ดัดแปลงวิธีการเลี้ยงจากผีเสื้อข้าวสารจาก Bernadi *et al.*, (2000) ส่วนผสมอาหารสำหรับหนอนผีเสื้อข้าวสารประกอบด้วย ข้าวสารบดหยาบ ข้าวสาร น้ำตาล และ ยีสต์ อัตรา 2:4:1:1 ในสภาพห้องปฏิบัติการอุณหภูมิประมาณ 28-30 องศาเซลเซียส ระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนถึงตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 8 สัปดาห์

ผีเสื้อข้าวสารประมาณ 50 ตัวคละเพศจะถูกคัดแยกโดยใช้ aspirator ดูดผีเสื้อมาใส่ในโหลพลาสติกใสขนาดประมาณ 1 ลิตร ปิดปากโหลด้วยผ้าตาข่าย นำโหลคว่ำปากโหลให้วางอยู่บนจานแก้ว เพื่อรองรับไข่ที่ผีเสื้อเพศเมียจะวางไว้ และตกลงสู่จานแก้ว เก็บรวบรวมไข่ ในแต่ละวันไปเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมระยะหนอนผีเสื้อข้าวสารจะเก็บไข่ผีเสื้อข้าวสารในวันเดียวกันเพื่อให้ได้หนอนที่มีอายุเท่ากัน ไข่จะฟักเป็นตัวหนอนในเวลา 5-7 วัน เลี้ยงหนอนจนกระทั่งมีอายุประมาณ 4 สัปดาห์ซึ่งจะได้หนอนขนาดความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร นำหนอนที่ได้ไปใช้ในการทดลองผ่านคลื่นความถี่วิทยุ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนระยะดักแด้ ทำการเลี้ยงแมลงตั้งแต่ระยะไข่ ฟักเป็นหนอนในทำนองเดียวกันซึ่งจะปล่อยให้หนอนเข้าดักแด้ใช้เวลาประมาณ 5-6 สัปดาห์ นำดักแด้ไปใช้ในการทดลองเช่นเดียวกัน และระยะตัวเต็มวัย หรือผีเสื้อข้าวสารจะใช้เวลาเตรียมจากระยะไข่ถึงตัวเต็มวัยในเวลาประมาณ 7-8 สัปดาห์

การใช้คลื่นความถี่วิทยุ

1.1 การใช้คลื่นความถี่วิทยุกำจัดผีเสื้อข้าวสารในระยะต่างๆของการเจริญเติบโต ได้แก่ ไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ที่อาศัยอยู่ในข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ด้วยความถี่ 27.12 MHz (ณัฐศักดิ์, 2543) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กับระยะเวลาที่แมลงสัมผัสกับคลื่นความถี่วิทยุ 3 นาที นำแมลงในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยมาผ่านคลื่นความถี่วิทยุในอัตราดังกล่าวเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ แต่ละกรรมวิธีทำ 6 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำใช้จะใช้แมลง 30 ตัว

1.2 วัดการตายของผีเสื้อข้าวสาร

หลังจากที่ ระยะไข่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ ตามอัตราดังกล่าวข้างต้นแล้ว ไข่ที่ถูกทำลายจะไม่สามารถพัฒนาเป็นตัวหนอนและเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ ส่วนไข่ที่รอดจากคลื่นความถี่วิทยุจะสามารถพัฒนาเป็นตัวหนอน ดักแด้และตัวเต็มวัยได้ในเวลาประมาณ 8 สัปดาห์ นับจำนวนตัวเต็มวัยที่ได้ หักลบจำนวนไข่ที่ใช้ในการทดลอง (30 ฟอง) จะได้จำนวนไข่ที่ตายจากคลื่นความถี่วิทยุ

การนับจำนวนหนอน และดักแด้ผีเสื้อข้าวสารที่ตายจากการได้รับคลื่นความถี่วิทยุจะใช้วิธีการเดียวกันคือให้หนอนพัฒนาจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย โดยใช้เวลาประมาณ 7 และ 4 สัปดาห์ และคำนวณจำนวนหนอนที่ตายในทำนองเดียวกันกับระยะไข่

การนับจำนวนตัวเต็มวัยจะ สังเกตจำนวนการตายของผีเสื้อข้าวสาร หลังการผ่านคลื่นความถี่วิทยุ เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์

หากพบจำนวนแมลงที่ตายในระยะต่างๆ ในชุดควบคุม (ไม่ผ่านคลื่น) จะนำเปอร์เซ็นต์การตายในชุดที่ผ่านคลื่นมาคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (adjusted mortality)

$$= \frac{\%\text{การตายในกรรมวิธี (treatment)} - \%\text{การตายในชุดควบคุม (control)}}{100 - \%\text{การตายในชุดควบคุม (control)}}$$

เปอร์เซ็นต์การตายของผีเสื้อข้าวสารทุกระยะการเจริญเติบโต ใน 2 กรรมวิธีนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี Student t-test

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ศึกษาผลของการใช้คลื่นความถี่วิทยุในการกำจัดผีเสื้อข้าวสารในวัยที่มีความสามารถในการรอดชีวิตมากที่สุด

ในการทดลองนี้มีจุดประสงค์ที่จะหาอัตราของคลื่นความถี่วิทยุที่มีอุณหภูมิ และเวลาที่น้อยที่สุดที่ทำให้ผีเสื้อข้าวสารระยะที่รอดตายมากที่สุด จากการทดลองที่ 1 ผีเสื้อข้าวสารระยะที่มีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุดจากการทำการทดลองที่ 1 ภายใต้อิทธิพลของการใช้คลื่นความถี่วิทยุ (RF) ความถี่ 27.12 MHz (ณัฐศักดิ์, 2543) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กับระยะเวลาที่แมลงสัมผัสกับคลื่นความถี่วิทยุ 3 นาที นำแมลงที่ได้จากระยะที่รอดตายมากที่สุดมาทดสอบกับการใช้คลื่นความถี่วิทยุ (RF) ด้วยความถี่ 27.12 MHz ใน 6 กรรมวิธี ได้แก่ 40, 45, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส และชุดควบคุม ซึ่งในแต่ละกรรมวิธีจะใช้ผีเสื้อข้าวสารระยะที่รอดตายมากที่สุดจำนวน 30 ตัว (ฟอง) ที่บรรจุอยู่ในข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 450 กรัม โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ของข้าวสารประมาณ 13.17 เปอร์เซ็นต์ จะผ่านคลื่นความถี่วิทยุเป็นระยะเวลา 3 นาที แต่ละกรรมวิธีทำ 5 ซ้ำ เก็บแมลงที่ได้รับคลื่นความถี่วิทยุ ไว้ในสภาพห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิประมาณ 27-30 องศาเซลเซียสจนกระทั่งถึงระยะเวลาที่แมลงเป็นตัวเต็มวัยนับตัวเต็มวัยที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบจำนวนแมลงที่ตายกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ หากพบจำนวนแมลงที่ตายในระยะต่างๆ ในชุดควบคุม (ไม่ผ่านคลื่น) จะนำเปอร์เซ็นต์การตายในชุดที่ผ่านคลื่นมาคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925)

3. ศึกษาผลของการใช้คลื่นความถี่วิทยุต่อคุณภาพของข้าวสารขาวดอกมะลิ 105

นำข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 450 กรัม มาผ่านการใช้คลื่นความถี่วิทยุ (RF) ความถี่ 27.12 MH_z ในระดับอุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 40, 45, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 นาที มาตรวจสอบคุณภาพของข้าวสารขาวดอกมะลิที่เปลี่ยนไปหลังการผ่านการใช้คลื่นความถี่วิทยุดังกล่าว เปรียบเทียบกับคุณภาพของข้าวสารที่ไม่ได้รับคลื่นความถี่วิทยุ ดังนี้

การตรวจคุณภาพข้าว

3.1 การวัดคุณภาพทางเคมี

3.1.1 เปอร์เซ็นต์อะไมโลส (apparent amylose content)

เป็นวิธีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอะไมโลสโดย นำข้าวขาวหอมมะลิ 105 ที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุมาบดให้ละเอียดโดยเครื่องบดแป้ง (cycolone mill) นำแป้งที่ได้มาวิเคราะห์ทาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เคมี วัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายสีน้ำเงินของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะไมโลสและไอโอดีน (งานชื่น, 2545)

3.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วย Micro Kjeldahl method

นำข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านคลื่นวิทยุมาตรวจโดยวิธี Micro Kjeldahl method (AACC, 2000) เพื่อหาปริมาณไนโตเจนในข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ที่เปลี่ยนแปลงไปเปรียบเทียบกับคุณภาพของข้าวสารที่ไม่ได้รับคลื่นความถี่วิทยุ

3.2 การวัดคุณภาพการหุง

3.2.1 การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis) Champagen *et al*., (1998)

เป็นการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุกที่เปลี่ยนแปลงไปโดยเครื่อง Texture analyzer (TA-XT plus Texture Analyzer; Texture Technologies Corp. Scarsdale NY.) ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ Texture Profile Analysis (TPA) ต่างๆ ได้แก่ ค่าความแน่นแข็ง (Hardness) ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ค่าความเกาะติดกัน (Cohesiveness) ค่าความเหนียวติดกัน (Adhesiveness) ค่าความเหนียวติดยึด (Gumminess) และค่าการเคี้ยว (Chewiness) (Lyon *et al*., 2000)

3.2.2 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความหนืดของน้ำแป้ง

เป็นการวัดความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไปของน้ำแป้งโดยคุณสมบัติทางด้านความหนืดตรวจวัดด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) รุ่น RVA-4D จากบริษัท Newport Scientific Warriewood NSW Australia ข้อมูลที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์เครื่องนี้ ได้แก่ ความหนืดสูงสุด (peak) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ค่าความคงทนต่อการกวนของแป้งข้าวและความเหนียว (breakdown) ความหนืดจากการคืนตัว (setback) และค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืด(pasting temperature)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.3 อัตราการยืดตัวของเมล็ดข้าวสุก (elongation ratio during cooking) วัดตามวิธีการของ Juliano and Pezer (1984) โดยการ

1. สุ่มข้าวเต็มเมล็ด 20 เมล็ด และวัดความยาว 10 เมล็ด คำนวณค่าเฉลี่ย

2. นำข้าว 20 เมล็ด ใส่ในตะแกรง แล้วแช่น้ำในน้ำเย็นเป็นเวลา 30 นาที

3. นำข้าวพร้อมตะแกรงต้มในน้ำเดือด 10 นาที

4. ยกตะแกรงขึ้นจากน้ำเดือดแล้วจุ่มในน้ำเย็น เทข้าวลงจานพลาสติกที่มีฝาปิด

5. เลือกเมล็ดที่ตรง 10 เมล็ด วัดความยาว และคำนวณอัตราการยืดตัวของข้าวสุก

$$\text{อัตราการยืดตัวของข้าวสุก} = \frac{\text{ความยาวเฉลี่ยของข้าวสุก}}{\text{ความยาวเฉลี่ยของข้าวสาร}}$$

อัตราส่วนระหว่างความยาวของเมล็ดข้าวสุกต่อความยาวของเมล็ดข้าวสารน้อยกว่า 1.9 แสดงว่า ข้าวยืดปกติ

อัตราส่วนระหว่างความยาวของเมล็ดข้าวสุกต่อความยาวของเมล็ดข้าวสารมากกว่า 1.9 แสดงว่า ข้าวยืดมาก

3.2.4 ความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency)

วัดโดยใช้วิธีการของ Champagen *et al*. (1973) โดยวิธีการดังต่อไปนี้

1. ชั่งแป้งตัวอย่าง 0.1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 13×10 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลาย ไธมอลบูล (thymol blue) ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 จำนวน 0.2 มิลลิลิตร ลงในหลอดแป้งในข้อ 1

3. เติมโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.2 นอร์มัล จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าด้วย mixer เป็นเวลา 2-3 วินาที เพื่อปล่อยให้แป้งลอยตัว

4. นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 8 นาที หลังจากนั้นนำหลอดมาเขย่าด้วย mixer อีกครั้ง เป็นเวลา 2-3 วินาที

5. นำไปแช่ในน้ำเย็นจัด 20 นาที วางหลอดทดลองในแนวนอนบนกระดาษกราฟเป็นเวลา 30 นาที อ่านระยะทางที่แป้งไหล โดยเทียบกับกระดาษกราฟ

3.3 ปริมาณสารหอม (2-acetyl-1-pyrroline; 2AP)

เป็นการวิเคราะห์สารหอมในข้าวสารขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการใช้คลื่นความถี่วิทยุเทียบกับข้าวสารที่ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ ด้วยใช้เครื่อง Headspace Gas Chromatography ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยเคมีของข้าว ภายใต้การสนับสนุนของโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยทางเคมี (PERCH) ผลที่จะได้เป็นปริมาณของสาร 2-acetyl-l-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

pyrroline; 2AP (Tinakorn *et al*., 2006) ซึ่งเป็นสารหอมที่อยู่ในข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังผ่านคลื่นความถี่วิทยุ (RF)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการทดลองที่ 2 และ3 เป็นการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของตัวแปรที่ศึกษา และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย (comparison of means) โดย Least Significant Difference (LSD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved