บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

- ข้าวขาวสายพันธุ์ ชัยนาท (อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่)
- ข้าวขาวหอมมะลิ สายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) (สถานีทดลองข้าว อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่)
- ใบเตย (ตลาดสุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- ถุงบรรจุภัณฑ์ชนิด aluminium foil (LLDPE/PET/Al-PE; Linear low density polyethylene/polyethylene terephthalate/aluminum-polyethylene) (สยามแพค เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- ถุงบรรจุภัณฑ์ชนิด laminated plastic (Nylon/LLDPE; Nylon/ Linear low density polyethylene) (สยามแพค เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler-Toledo: Model PLI502-S, Greifensee, Switzerland)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler-Toledo: Model AL204, Greifensee, Switzerland)
- เครื่องกวนแม่เหล็ก (magnetic stirrer: Model HB502, Bibby sterilin Ltd., UK) และแท่งแม่เหล็ก (magnetic bar)
- ชุดกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation extraction) (Union Science, Chiang mai, Thailand)
- ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4-7^{o}C (Haier: Model HR 818-C, Thailand)
- ตู้อบลมร้อน (Memmert: Model UM 500, Germany)
- เครื่องอบแห้งฟลูอิดไดซ์เบด (fluid bed dryer) (Sherwood scientific Co., Ltd: Model 50000101, UK)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- เครื่องวัดสี (Color Global : Model Color Quest XE, America)
- เครื่องมือวิเคราะห์ water activity a_w (Novasina : Model MS1, Switzerland)
- เครื่องวิเคราะห์ความหนืดอย่างรวดเร็ว Rapid Visco Analyser (Newport Scientific: Model RVA-4, Australia)
- ปั๊มลมแรงดันสูง (Puma Industrial: Model XM-2540, Taiwan)
- หม้อหุงข้าว (Otto kingglass Co.,Ltd: Model CR-110, Bangkok, Thailand)
- Heater (Barnstead, UK)
- เครื่องปิดผนึกสุญญากาศ (Vacuum Packing Machine) (Audition Electro: Model VM-203, Holland)
- เครื่องมือวิเคราะห์แกสโครมาโทกราฟี (Headspace gas chromatography with nitrogen – phosphorus detector; HS-GC-NPD)
  (Gas Chromatography, Hewlett Packard: Model HP 6890N, America)
  (Column GC, Hewlett Packard: Model HP 5, America)
- เครื่องมือ Scanning electron microscopy (SEMs)
- ชุดอุปกรณ์ศึกษาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส Sensory

3.3 สารเคมี

- มอลโตเดกซ์ตริน maltodextrin (Union Science เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- อคาเซียกัม acacia gum (Union Science เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- ซอร์บิทอล sorbitol (Union Science เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- เวย์โปรตีนไอโซเลท whey protein isolate (pdstohome กรุงเทพ ประเทศไทย)
- โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) (Rankem, India)
- โซเดียมโบรไมด์ (NaBr) (Rankem, India)
- โพแทสเซียมไนเตรท ($KNO_{3)}$ (Rankem, India)
- โพแทสเซียมคาร์บอเนต ($K_2CO_{3)}$ (Rankem, India)
- แมกนีเซียมไนเรตเฮกซะไฮเดรต ($Mg(NO_3)_26H_2O$) (Rankem, India)
- ลิเทียมคลอไรด์ (LiCl) (Ajax, NSW, Australia)
- โพแทสเซียมอะซิเตท (CH_3COOK) (Ajax, NSW, Australia)
- สตรอนเตียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($SrCl_26H_2O$) (Ajax, NSW, Australia)
- โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (Lab-Scan, Bangkok, Thailand)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) (Lab-Scan, Bangkok, Thailand)
- 2,6-ไดเมททิลไพริดีน (2,6-Dimethylpyridine: 2,6-DMP) (Merck, Schuchardt, Germany)
- 2,4,6-ไตรเมททิลไพริดีน (2,4,6-Trimethylpyridine: 2,4,6-TMP) (Merck, Schuchardt, Germany)

3.4 วิธีการทดลอง

งานวิจัยแบ่งเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาวัสดุห่อหุ้มในการห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตย และผลของอุณหภูมิทำแห้งด้วยเทคนิคฟลูอิดไดซ์เซชันต่อปริมาณสาร ACPY ในผลิตภัณฑ์ข้าวขาวเคลือบสารหอมจากใบเตย

1.1 สกัดสารหอมจากใบเตยด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

นำใบเตยสดที่ผ่านการล้างและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆขนาด 0.5x1.0 cm. ปริมาณ 40 กรัม และน้ำกลั่นปริมาณ 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วก้นกลมของชุดกลั่นด้วยไอน้ำ (ภาพภาคผนวก ก.1) ให้ความร้อนจนน้ำเดือดและให้ไอน้ำไหลผ่านใบเตยตัวอย่าง กลั่นจนได้สารละลายปริมาณ 150 มิลลิลิตร โดยเก็บสารที่กลั่นได้ไว้ในขวดแก้วหุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-7°C ทิ้งไว้ข้ามคืนก่อนนำมาทำการห่อหุ้ม

1.2 ศึกษาวัสดุห่อหุ้มในการห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตย และอุณหภูมิทำแห้งด้วยเทคนิค ฟลูอิดไดซ์ - เซชัน

1.2.1 เตรียมสารห่อหุ้มที่ใช้ศึกษา 4 ชนิดได้แก่

ก. สารผสมของมอลโตเดกส์ตริน (maltodextrin) และอคาเซียกัม (acacia gum) (MD/AG) สัดส่วน 30 : 70 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) (Apintanapong and Noomhorm, 2003) นำมาละลายในน้ำที่อุณหภูมิ 50°C เพื่อเตรียมให้ได้ส่วนผสมของสารห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 33% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

ข. สารผสมของเวย์โปรตีนไอโซเลท (whey protein isolates) และอคาเซียกัม (acacia gum) (W/AG) สัดส่วน 2 : 1 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) (Weinbreck *et al.*, 2004) นำมาละลายในน้ำที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อุณหภูมิ 50°C เพื่อเตรียมให้ได้ส่วนผสมของสารห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 33% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

ค. สารผสมของเวย์โปรตีนไอโซเลท (whey protein isolates) และมอลโตเดกส์ตริน (maltodextrin) (W/MD) ในสัดส่วน 9 : 1 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) (Bae and Lee, 2008) นำมาละลายในน้ำที่อุณหภูมิ 50°C เพื่อเตรียมให้ได้ส่วนผสมของสารห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 33% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

ง. สารผสมของแป้งข้าว (rice starch) และซอร์บิทอล (sorbitol) (RS/SB) เตรียมโดยการบดข้าวขาวพันธุ์ชัยนาท แล้วนำมาร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 70 – mesh จากนั้นจึงนำข้าวขาวที่ผ่านการบดและร่อนมาทำเป็นเจลก่อน โดยนำมาผสมกับน้ำให้ความร้อนและคนจนเกิดเป็นเจล หลังจากนั้นจึงนำมาผสมกับซอร์บิทอล สัดส่วน 1 : 6 : 8 (เจลข้าว : ซอร์บิทอล : น้ำ) (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) (Laohakunjit and Kerdchoechuen, 2007)

1.2.2 ห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตยด้วยวัสดุห่อหุ้ม

ผสมสารสกัดจากใบเตย ที่กลั่นได้จากข้อ 1.1 กับสารห่อหุ้มทั้งสี่ชนิด (MD/AG), (W/AG), (W/MD), (RS/SB) ให้ได้ความเข้มข้นสารผสมของสารสกัดธรรมชาติจากใบเตย 25% (ปริมาตรโดยปริมาตร) วัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (ดังภาพในภาคผนวก ก.2)

1.2.3 เคลือบผิวข้าวขาวด้วยสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตย

นำสารสกัดจากใบเตยที่ผ่านการห่อหุ้มด้วยสารห่อหุ้มทั้ง 4 ชนิด (MD/AG), (W/AG), (W/MD), (RS/SB) ที่เตรียมได้จากข้อ 1.2.2 มาเคลือบลงบนข้าวขาวชัยนาท ด้วยการฉีดพ่นด้วยชุดหัวฉีดละอองฝอยที่ต่อกับปั๊มลมแรงดันสูง (ภาพภาคผนวก ก.3 a และ b) และทำให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งฟลูอิดไดซ์เบด (ภาคผนวก ก.4) โดยทำการแปรผันอุณหภูมิในการทำแห้ง 3 ระดับคือ 45, 65 และ 85°C ที่ความเร็วลม 3.65 เมตรต่อวินาที อบแห้งจนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นน้อยกว่า 14% โดยใช้ข้าวขาวชัยนาท 300 กรัม ต่อปริมาณสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตย 30 มิลลิลิตร แล้วตรวจวัดคุณภาพทางกายภาพของข้าวที่ผ่านการเคลือบและทำแห้ง ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ก. ตรวจวัดปริมาณสารหอมที่เคลือบอยู่บนข้าว

ตรวจวัดปริมาณสารหอมที่เคลือบอยู่บนข้าวด้วยเครื่อง Automated Headspace Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus detector (HS-GC-NPD) และใช้วิธีการวิเคราะห์จาก Tulyathan *et al.* (2007) คำนวณความเข้มข้นของสาร ACPY โดยการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟโคร

มาโทแกรมของสาร ACPY/DMP กับ standard curve ของ Tulyathan *et al.* (2007) เมื่อใช้ DMP เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เป็นแบบทดสอบทางสถิติ วัดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณสารหอมที่มีอยู่ ระหว่างสารห่อหุ้มทั้ง 4 ชนิด และอุณหภูมิการทำแห้งทั้ง 3 ระดับ วิเคราะห์ความแตกต่างด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ข. วัดปริมาณความชื้นของข้าวเคลือบสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตยที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการฟลูอิดไดซ์เซชันโดยใช้ตู้อบแบบสุญญากาศ ตามวิธี AOAC (2000)

ค. วัดค่าสีของข้าวเคลือบสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตย (L*, a*, b*) หลังจากการทำแห้งด้วยเทคนิค fluidization ด้วยเครื่องวัดสี (Color Global: Model Color Quest XE, America) โดยใช้ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวขาวที่ไม่ผ่านกระบวนการเคลือบผิวและทำแห้งเป็นตัวแปรควบคุม

ง. ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของข้าวขาวเคลือบสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตย และทำแห้งด้วยเทคนิค fluidization ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ความหนืดอย่างรวดเร็ว (Rapid Visco Analyser: RVA)

1.2.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

นำข้าวขาวที่ผ่านการเคลือบด้วยสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตยที่มีความเข้มข้นของสาร ACPY มากที่สุด 6 ลำดับแรกที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) มาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยทดสอบความหอมของเมล็ดข้าวเคลือบสารหอมและข้าวเคลือบสารหอมหุงสุก เปรียบเทียบความแตกต่างจากข้าวหอมมะลิสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) ทดสอบความแตกต่างด้วยวิธี multiple comparison test ให้คะแนนความหอมของผลิตภัณฑ์เปรียบเทียบกับข้าวหอมมะลิสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) ที่ใช้เป็นตัวอย่างมาตรฐาน ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนเป็นแบบทดสอบทางสถิติ วิเคราะห์ความแตกต่างด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 2 ศึกษาผลของสภาวะในการเก็บรักษาข้าวขาวที่ผ่านการเคลือบด้วยสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตยต่ออัตราการการลดลงของปริมาณสารหอม ACPY

ศึกษาสภาวะการเก็บรักษาความหอมของข้าวขาวที่ผ่านกระบวนการเคลือบด้วยสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตยที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองตอนที่ 1 มาเก็บรักษาในสภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดอลูมินัมฟอล์ย (aluminum foil) (LLDPE/PET/Al-PE) และลามิเนทพลาสติก (laminated plastic) (Nylon/LLDPE) และเก็บรักษาข้าวขาวเคลือบสารหอมจากใบเตยในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 7°C และ 30°C

โดยวัดปริมาณสารหอมทุกๆ 25 วัน เป็นเวลาทั้งหมด 100 วัน ด้วยเครื่อง HS-GC-NPD โดยดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์จาก Tulyathan *et al.* (2007) คำนวณความเข้มข้นของสาร ACPY โดยการเปรียบเทียบสัดส่วนพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโทแกรมของสาร ACPY/TMP กับสัดส่วนพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโทแกรมของ TMP/DMP และกราฟมาตรฐาน (standard curve) (Tulyathan *et al.*, 2007) นำค่าสัดส่วนพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโทแกรมของ ACPY/TMP มาวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของสารที่เปลี่ยนแปลงไป ออกแบบการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomize Design (CRD) 2^2 วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตอนที่ 3 ศึกษา Adsorption Isotherm ของผลิตภัณฑ์ข้าวเคลือบสารห่อหุ้มสารสกัดจากใบเตย

สร้าง Adsorption Isotherm ด้วยวิธี Static-Gravimetric method เป็นการหาสภาวะที่อาหารมีความชื้นสมดุลกับสภาวะของระบบที่สร้างขึ้นจากสารละลายเกลืออิ่มตัว 10 ชนิด ศึกษาที่อุณหภูมิเก็บรักษา 3 ระดับคือ 7 ± 2°C, 30 ± 2°C และ 50 ± 2°C สารละลายเกลืออิ่มตัวที่ศึกษามีค่ากิจกรรมของน้ำ (a_w) ตั้งแต่ 0.112 ไปจนถึง 0.946 เตรียมสารละลายเกลือโดยการชั่งน้ำหนักเกลือมาละลายในน้ำโดยคนสารละลายตลอดเวลา (ปริมาณเกลือและน้ำแสดงดังตารางภาคผนวก ข.2) คนสารละลายเกลือจนเกลือไม่สามารถละลายได้อีก (ใช้ระยะเวลาในการเตรียมสารละลายเกลืออิ่มตัวประมาณ 3 วันต่อเกลือ 1 ชนิด) และบรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัวทั้ง 10 ชนิด ลงในโหลแก้วปิดสนิทดังภาพ (ภาคผนวก ก.12)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างข้าวเคลือบสารสกัดจากใบเตย และข้าวขาวดอกมะลิ 105 ปริมาณ 5 กรัม ในขวดแก้วทดสอบบรรจุลงในโหลแก้วสารละลายเกลืออิ่มตัวทั้ง 10 ชนิดที่เก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ เติมสารละลายโทลูอีนปริมาณ 1 มิลลิลิตรใส่ขวดแก้วและบรรจุลงในโหลแก้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทุกใบเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เปลี่ยนแปลงไปและบันทึกผลจนกระทั่งน้ำหนักของตัวอย่างข้าวคงที่ ซึ่งจะใช้ระยะเวลาประมาณ 40 วันเพื่อเข้าสู่สมดุล จากนั้นจึงนำข้อมูล ณ.จุดสมดุลมาศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการดูดซับความชื้นที่เหมาะสม โดยเลือกใช้แบบจำลองดังตารางที่ 2.1 (บทที่ 2) เนื่องจากเป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการศึกษาแอดซอร์พชันไอโซเทอร์มและใช้การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ non-linear regression โดยเลือกแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ให้ค่า residual sum of square น้อยที่สุด ซึ่งแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ดีนั้นจะให้ค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์เฉลี่ยเป็นร้อยละ (mean relative error, MRE) น้อยกว่า 10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved