บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กะเทาะเมล็ด พันธุ์ซีพี.ดีเค. 888 เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2551 จากแปลงปลูกเกษตรกร อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน เก็บไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 3 °C ระหว่างรอการทดลอง

3.1.2 เชื้อรา *Aspergillus flavus* บริสุทธิ์ที่เพาะได้จากเมล็ดข้าวโพด จากนั้นนำมาขยายเพื่อใช้ในการทดลอง โดยจะถูกเก็บไว้ตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C

3.1.2 เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ (Radio frequency generator) สร้างโดย Institute of Agriculture Engineering, University of Göttingen ประกอบด้วยส่วนต่างๆในการทำงานของเครื่องดังนี้

- คอมพิวเตอร์ที่ใช้ในการควบคุมการทำงานของเครื่อง มีโปรแกรมการทำงานของเครื่องเพื่อใช้ในการควบคุมระหว่างการทดลอง

- เครื่องกำเนิดพลังงานคลื่นความถี่วิทยุ (RF Generator) ทำการปล่อยพลังงานที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้าสูงผ่านเข้าไปแบบไฟฟ้ากระแสสลับที่ความถี่ 27.12 MHz หรือ 27,120,000 ครั้งต่อวินาที เครื่องมีกำลังสูงสุดอยู่ที่ 2,720 วัตต์ ในระดับ 100%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3.1 เครื่อง Radio Frequency Generator

- ช่องใส่ตัวอย่าง เครื่อง RF Generator ทำการปล่อยพลังงานส่งผ่านไปยัง Electrode Plate ขนาด ความกว้าง 350 มิลลิเมตร ยาว 350 มิลลิเมตร ภายในระบบมีการให้ความร้อนด้วยน้ำร้อน ซึ่งต่อผ่านด้วยท่อเข้ามาจากเครื่องทำน้ำร้อน เพื่อรักษาอุณหภูมิระหว่างการให้คลื่นความถี่วิทยุกับตัวอย่าง ป้องกันการเกิดหยดน้ำที่เกิดจากการควบแน่นของความต่างระหว่างอุณหภูมิภายหลังที่เมล็ดพืชได้รับความร้อนและเกิดการคายน้ำบริเวณโดยรอบบนฝาอลูมิเนียมที่บรรจุเมล็ดพืชระหว่างการทดลอง

ภาพที่3.2 ช่องใส่ตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- เครื่องทำน้ำร้อน (Water bath)ควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ เป็นตัวช่วยในการรักษาอุณหภูมิของแผ่น Electrode ให้คงที่ เนื่องพลังงานจะถูกปล่อยจนกระทั่งได้อุณหภูมิที่ต้องการแล้วจะหยุดการส่งผ่านพลังงาน จึงต้องใช้น้ำร้อนเป็นตัวช่วยในการรักษาอุณหภูมิให้คงที่ สามารถปรับอุณหภูมิได้ตั้งแต่ 30-80 °C

- ภาชนะบรรจุตัวอย่าง เป็นวัสดุทรงกระบอกซึ่งมีปริมาตร 700 cm^3ใช้ในการบรรจุตัวอย่าง ทำมาจากเทฟลอน (Teflon) ซึ่งมีความต้านทานไฟฟ้าสูง ไม่ดูดซับพลังงาน ประกอบเข้ากับฝาปิดบน-ล่าง สามารถถอดแยกออกจากกันได้ ทำมาจากอลูมิเนียมที่มีความสามารถในการนำไฟฟ้าสูง

- ตัววัดอุณหภูมิ เป็นเส้นใยแก้วนำแสง (Fiber optic) บริษัท FISO Technology รุ่น UMI Sinal Conditioner ขนาด 0.8 มิลลิเมตร ผ่านโปรแกรมคอมพิวเตอร์ FISO Commander แสดงผลด้วยจอแสดงผล 4 ช่องสัญญาณ Model 750 สามารถวัดอุณหภูมิได้ตั้งแต่ -40°C ถึง 250°C ความถี่ในการวัดอุณหภูมิ 4 ครั้งต่อวินาที มีค่าความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิ ±0.1เคลวิน ใช้สอดผ่านภาชนะบรรจุเพื่อใช้วัดอุณหภูมิตัวอย่าง โดยวางไว้ตำแหน่งไว้ตรงกึ่งกลางของตัวอย่าง

3.2 การดำเนินการทดลอง

3.2.1 การวางแผนการทดลอง

โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ การศึกษาการให้คลื่นความถี่วิทยุกับเมล็ดในสภาพร้อนแห้ง (hot dry condition, 14% wb) และการศึกษาการให้คลื่นความถี่วิทยุกับเมล็ดในสภาพร้อนชื้น (hot wet condition, 25% wb) ปลูกถ่ายเชื้อ *A. flavus* ลงบนเมล็ดข้าวโพด วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB (Randomize Complete Block Design) มี 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิและเวลา การให้คลื่นความถี่วิทยุกับเมล็ดในสภาพร้อนแห้ง (hot dry condition) ปัจจัยด้านอุณหภูมิมีอยู่ 3 ระดับ คือ 80, 90 และ 100 °C ปัจจัยด้านระยะเวลา 3 ระดับคือ 1, 5 และ 10 นาที และให้คลื่นความถี่วิทยุกับเมล็ดในสภาพร้อนชื้น(hot wet condition) ปัจจัยด้านอุณหภูมิมีอยู่ 3 ระดับ คือ 70, 80 และ 90 °C ปัจจัยด้านระยะเวลา 3 ระดับคือ 1, 5 และ 10 นาที แต่ละการทดลองทำ 10 ซ้ำ เทียบกับชุดควบคุม

3.2.2 วิธีการทดลอง

1. การศึกษาการให้คลื่นความถี่วิทยุกับเมล็ดที่มีความชื้นต่ำ ซึ่งเป็นสภาพการให้ความร้อนแบบร้อนแห้ง (hot dry condition) ทำให้เมล็ดข้าวโพดปลอดเชื้อโดยการแช่ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1% นาน 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นทำการปรับระดับความชื้นของเมล็ดให้มีความชื้นอยู่ที่ 14% (wb) ปลูกถ่ายเชื้อ *Aspergillus flavus* ลงในเมล็ดข้าวโพดที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/กิโลกรัม เพื่อให้เชื้อกระจายอยู่ทั่วทุกเมล็ดทำการคลุกเคล้าใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เครื่องเขย่า (Shaker) บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทุกขั้นตอนระหว่างการเตรียมการทดลองควรทำความสะอาดวัสดุให้ปลอดเชื้อ เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดที่เตรียมได้มาผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 80 90 และ100 °C เป็นเวลา 1, 5 และ 10 นาที เทียบกับชุดควบคุม

2. การศึกษาการให้คลื่นความถี่วิทยุกับเมล็ดที่มีความชื้นสูง ซึ่งเป็นสภาพการให้ความร้อนแบบร้อนชื้น (hot wet condition) ทำให้เมล็ดข้าวโพดปลอดเชื้อโดยการแช่ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1% นาน 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นทำการปรับระดับความชื้นของเมล็ดให้มีความชื้นอยู่ที่ 25% (wb) ปลูกถ่ายเชื้อ *Aspergillus flavus* ลงในเมล็ดข้าวโพดที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/กิโลกรัม เพื่อให้เชื้อกระจายอยู่ทั่วทุกเมล็ดทำการคลุกเคล้าในเครื่องเขย่า (Shaker) บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทุกขั้นตอนระหว่างการเตรียมการทดลองควรทำความสะอาดวัสดุให้ปลอดเชื้อ เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดที่เตรียมได้มาผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 70 80 และ90 °C เป็นเวลา 1, 5 และ 10 นาที เทียบกับชุดควบคุม

3.3 การวัดผลการทดลอง

3.3.1 การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อรา *A. flavus* หลังการให้คลื่นความถี่วิทยุ

นำเมล็ดข้าวโพดมาทดสอบการปนเปื้อนเชื้อราโดยวิธีการวางอาหารบน PDA ซึ่งเป็นอาหารเฉพาะต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspegillus* Czapek Dox agar (Mathur and Kongsdal, 2003) โดยทำการสุ่มเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการทดลองมาจำนวน 400 เมล็ด มาวางบนจานเลี้ยงเชื้อจานละ 10 เมล็ด เก็บไว้ในตู้เลี้ยงเชื้อที่ปรับอุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลานาน 7 วัน นำมาตรวจนับจำนวนเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่ติดเชื้อ ทำการบันทึกผลการทดลอง

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเมล็ด

$$\% \text{ การติดเชื้อของเมล็ด} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่เกิดเชื้อรา}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

3.3.2 การวัดความชื้นของเมล็ด

วัดความชื้นของเมล็ดโดยวิธี Hot Air Oven ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (ISTA Rules, 1999) ทำการสุ่มเมล็ดจากตัวอย่างประมาณ 5 กรัม บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด ชั่งตัวอย่างลงในกระป๋องอลูมิเนียมขนาด 3 oz นำเข้าตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 130-133 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นภายในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นนำไปชั่ง บันทึกผลการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\% \text{ moisture content (wb)} = (M_2-M_3) \times \frac{100}{(M_2-M_1)}$$

M_1 = น้ำหนักกระป๋องอลูมิเนียม

M_2 = น้ำหนักกระป๋องอลูมิเนียมและน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง

M_3 = น้ำหนักกระป๋องอลูมิเนียมและน้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้ง

3.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเจดาล วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธี Kjeldahl Method ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (2000) ซึ่งการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ ค่าไนโตรเจนที่ได้เป็นไนโตรเจนจากโปรตีน และสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (ยกเว้นไนเตรต) เมื่อนำมาคำนวณค่าที่ได้จึงเป็นค่าโปรตีนหยาบ

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

บดเมล็ดข้าวโพดให้ละเอียดแล้วร่อนด้วยตะแกรงขนาด 100 เมซ ทำการชั่งแป้งที่ผ่านการร่อนแล้วปริมาณตัวอย่างละ 1.50 กรัม ใส่ Kjeldahl tube จากนั้นเติมสารเร่งปฏิกิริยา 10 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยเครื่อง Kjeldahltherm ซึ่งใช้อุณหภูมิในการย่อย 400°C จนตัวอย่างเป็นสีเขียวใส ปล่อยให้เย็น แล้วนำ Kjeldahl tube เข้าเครื่องกลั่น เติมน้ำกลั่นลงไป 40 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนที่เกิดขึ้น เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 32 ลงไป 50 มิลลิลิตร หรือจนตัวอย่างกลายเป็นสีดำ รองรับสารึ่กลั่นด้วยสารละลายกรดบอริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด สารละลายที่ได้จะมีสีม่วงอ่อน กลั่นตัวอย่างประมาณ 4 นาทีหรือจนไอของ NH_3 ถูกกลั่นจนหมด หยุดกลั่น จากนั้นนำสารละลายในขวดรองรับที่เปลี่ยนจากสีม่วงอ่อนกลายเป็นสีเขียวอ่อนมาไตเตรทด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเปลี่ยนสีจากสีเขียวอ่อนเป็นสีม่วงอ่อน

การคำนวณ

นำปริมาณสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริค ที่ใช้ในการไตเตรตไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน แล้วคูณกับ Kjeldahl factor ได้เป็นค่าโปรตีน

$$\% \text{ ไนโตรเจน (Total Nitrogen)} = \frac{(A-B)\times C\times 0.014\times 100}{D}$$

$$\% \text{ โปรตีน (Crude protein)} = \% N\times 6.25$$

A = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริค 0.1 นอร์มอล ที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่าง

B = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริค 0.1 นอร์มอล ที่ใช้ไตเตรตกับ blank

C = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริค

D = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลส ด้วยวิธี iodine-blue colorimetry แล้ววัดความเข้มสีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ดัดแปลงจากวิธีของ Juliano (1971)

เครื่องมือ

1. สเปกโตโฟโตมิเตอร์ (UV/VIS spectrophotometer) รุ่น SPE CORD 40
2. เครื่องชั่งความละเอียดถึง 0.0001 กรัม
3. ครื่องปั่นกวนระบบแม่เหล็ก (magmetic stirrer) พร้อมแท่งแม่เหล็ก
4. เครื่องบดตัวอย่าง
5. ขวดแก้วปริมาตร (volumemetric flask) ขนาดความจุ 100 มิลลิลิตร
6. Auto pipette ยี่ห้อ Gilson ขนาด 1,000 µl และ 10 ml

สารเคมี

1. เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol : C2H5OH) 95%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide : NaOH)
3. กรดเกลเชียลอะซิติก (glacial acitic acid : CH3COOH)
4. ไอโอดีน (iodine : I2)
5. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (potassium iodide : KI)
6. อะไมโลส (potato amylose) มีความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 95%

วิธีเตรียมสารละลาย

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 นอร์มัล (N) ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 80 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรสารให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ปั่นกวนสารละลายให้เข้ากัน

สารละลายกรดเกลเชียลอะซิติกเข้มข้น 1 นอร์มัล (N) ดูดสารละลายกรดเกลเชียลอะซิติกมา 60 มิลลิลิตร ละลายลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้สารเป็น 1,000 มิลลิลิตร ปั่นกวนสารให้เข้ากัน

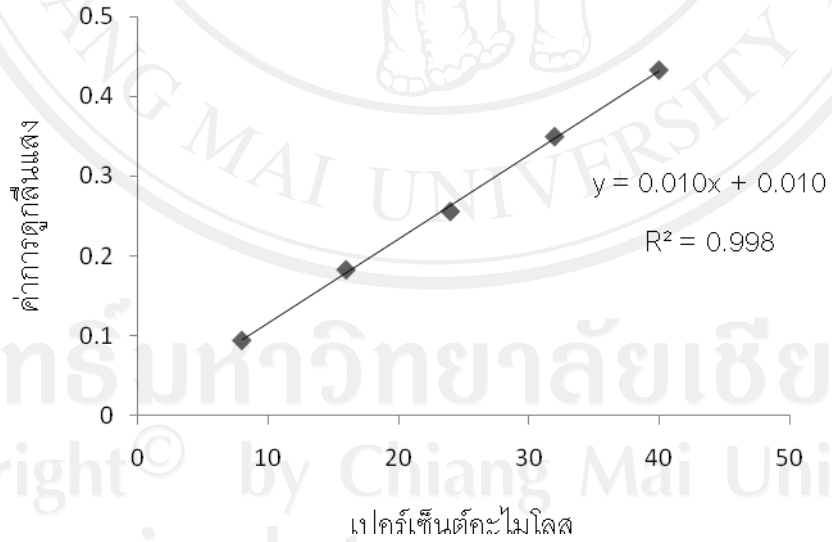
สารละลายไอโอดีน ชั่งไอโอดีน 0.2000 กรัม และโพแทสเซียมไอโอไดด์ 2.0000 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 80 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตรสีชาขนาดความจุ 100 มิลลิลิตร ปั่นกวนให้ไอโอดีนละลาย (ใช้เวลานานในการละลายไอโอดีน ควรเตรียมไว้ล่วงหน้า) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์

การสร้างกราฟมาตรฐาน

ชั่งอไมโลสบริสุทธิ์ Amylose type III from potato จำนวน 0.04 กรัม ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติม ethanol 95% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าขวดให้อไมโลสละลายเข้ากันดี หลังจากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 9 มิลลิลิตร ปั่นกวนสารให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที ปรับปริมาตรสารให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐาน เมื่อได้สารละลายมาตรฐานแล้วเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 100 ml จำนวน 5 ขวด แต่ละขวดเติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 70 ml เติมสารละลายกรดเกลเชียลอะซิติกจำนวน 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 และ 2.0 ml ตามลำดับ เติมสารละลายไอโอดีนลงไปในแต่ละขวดปริมาตร 2 ml จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ลงไป 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 ml ตามลำดับ ซึ่งเทียบเท่ากับอไมโลสร้อยละ 8, 16, 24, 32 และ 40 ตามลำดับ ปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น ปั่นกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับ blank ที่เตรียมโดยเติมสารละลายกรดเกลเชียลอะซิติก ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายไอโอดีนปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 620 nm



ภาพที่ 3.3 กราฟมาตรฐานระหว่างเปอร์เซ็นต์อะไมโลสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

บดตัวอย่างเม็ดข้าวโพดที่ต้องการทดสอบด้วยเครื่องบดเมล็ดให้ละเอียด ร่อนด้วยตะแกรงร่อน (Seive) ขนาด 100 mesh ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการร่อนจนเป็นแป้งละเอียดแล้วจำนวน 1 กรัม ใส่ขวดปริมาตร 100 ml อย่าให้แป้งติดบริเวณคอขวดแก้ว เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆเพื่อเกลี่ยแป้งให้กระจายออกจากกัน เติมโซเดียวไฮดรอกไซด์ 9 มิลลิตร ปั่นกวนด้วย magmetic stirrer เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลตร เก็บไว้ เตรียมขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลตรอีกชุด เติมน้ำกลั่นลงไปในขวดประมาณ 50 มิลลิลิตร ดูดสารละลายเกลเชียลอะซิติกมา 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายไอโอดีนลงไป 2 มิลลิลิตร ดูดสารจากที่เตรียมเก็บไว้ข้างต้นมา 5 มิลลิลิตร ทำการปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปั่นกวนสารให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับ blank ที่ความยาวคลื่น 620 nm ตั้งโปรแกรมเครื่องให้วิเคราะห์เทียบกับค่ามาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์ไว้ตั้งแต่ต้น เครื่องจะแปลงผลเป็นค่าเปอร์เซ็นต์อไมโลส นำค่าที่ได้มาทำการปรับปริมาณอมิโลสในแป้งข้าวโพดที่วิเคราะห์ได้ให้เป็นที่ระดับความชื้น ร้อยละ 14.0 จากสูตร

$$\text{ปริมาณอมิโลสในข้าวโพดที่ความชื้นร้อยละ 14.0} = \frac{A \times 86}{100}$$

3.3.5 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความหนืดของน้ำแป้ง

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านความหนืดของแป้งข้าวโพดตรวจวัดด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) รุ่น RVA-4D จากบริษัท Newport Sciencetific, Warriewood, NSW, Australia. ในการทดสอบกับตัวอย่างแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างในการเตรียมการวิเคราะห์ ในข้าวโพดนั้นมีข้อบ่งชี้กำหนดให้เตรียมการ โดยการทดสอบความชื้นในตัวอย่างก่อนการทดลอง เพื่อนำไปคำนวณการใช้น้ำและปริมาณของตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ โดยเทียบความชื้นให้อยู่ในระดับที่ 14%

$$M_2 = (100\text{-}14) \times M_1/(100\text{-}W_1)$$

$$W_2 = 25.0 + (M_1\text{-}M_2)$$

M_1 = น้ำหนักของข้าวโพดที่ถูกกำหนดไว้โดย Newport Scientific คือ 3 กรัม (g)

M_2 = น้ำหนักของตัวอย่างที่ถูกต้อง (g)

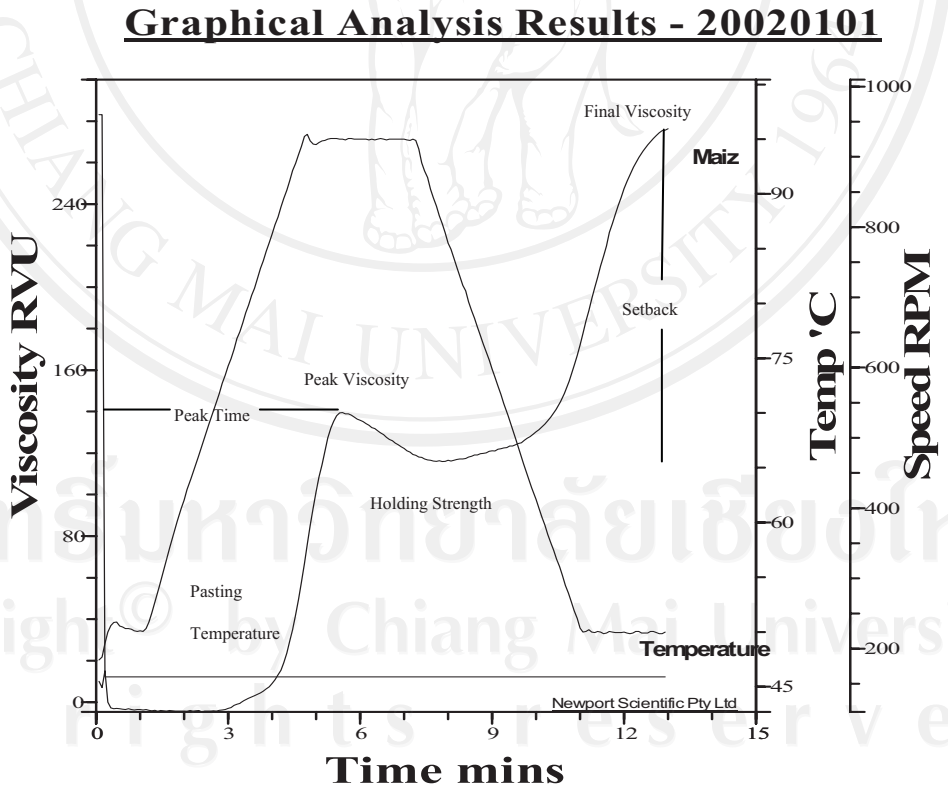
W_1 = ความชื้นของตัวอย่าง (%)

W_2 = ปริมาตรของน้ำที่ใช้วิเคราะห์ในแต่ละตัวอย่าง (ml)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บดเมล็ดข้าวโพดให้เป็นแป้งละเอียด นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมซ (mesh) ปริมาณแป้งที่ใช้ขึ้นอยู่กับการคำนวณตามสูตรข้างต้น ใส่ในกระป๋องจำเพาะสำหรับเครื่อง RVA เทน้ำกลั่นลงในกระป๋องแล้วใช้ใบกวนที่เข้าชุดกับกระป๋อง กวนตัวอย่างเพื่อไม่ให้จับเป็นก้อนที่ผิวน้ำหรือติดกับใบกวน นำกระป๋องที่ใส่ใบกวนเข้าเครื่อง RVA และกดมอเตอร์ลงเพื่อให้เครื่องทำงาน เครื่องจะทำงานอัตโนมัติโดยความเร็วรอบของใบกวนในช่วง 10 วินาทีแรกเท่ากับ 960 rpm และลดระดับความเร็วรอบลงเป็น 160 rpm จนกระทั่งเครื่องทำงานเสร็จ ส่วนอุณหภูมิของเครื่อง RVA จะมีการเปลี่ยนแปลงตามขั้นตอนดังนี้

- อุณหภูมิเริ่มต้น 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
- อุณหภูมิต่อมา เพิ่มขึ้นเป็น 95 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 4.42 และจะคงที่เป็นเวลา 2.30 นาที
- อุณหภูมิสุดท้าย ลดลงเป็น 50 องศาเซลเซียส ในนาทีที่ 11 และคงที่ตลอดจนเวลาครบ 13 นาที ซึ่งสิ้นสุดการทำงานของเครื่อง โดยเครื่องจะหยุดอย่างอัตโนมัติ



ภาพที่3.4 ตัวอย่างกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ความหนืดของแป้งด้วยเครื่อง RVA

ค่าต่างๆที่สามารถอธิบายได้จากกราฟมีดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- Pasting temperature: อุณหภูมิที่ค่าความหนืดเริ่มเพิ่มขึ้น 2 Rapid Visco Unit (RVU) ภายในเวลา 20 วินาที มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส (°C)
- Peak viscosity: ค่าความหนืดสูงสุดของแป้งสุกเมื่อให้ความร้อนกับสารละลายแป้งจนถึงอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส มีหน่วยเป็น Centipoises (cP)
- Final viscosity: ค่าความหนืดสุดท้ายของการทดลอง มีหน่วยเป็น Centipoises (cP)
- Breakdown: ความแตกต่างระหว่างค่า Peak viscosity กับค่า Holding strength
- Setback from trough: ความแตกต่างระหว่างค่า Final viscosity กับค่า Peak viscosity มีหน่วยเป็น Centipoises (cP)

3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SXW และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปัจจัย (อุณหภูมิและระยะเวลาการให้ RF) ด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยต่อด้วย Least Significant Difference (LSD) โดยทดสอบระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง treatment กับ Control ด้วย Paired T-test

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved