บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

1. ข้าวเจ้าพันธุ์คลองหลวง 1 เป็นข้าวเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสง มีอายุประมาณ 118-125 วัน ค่อนข้างต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดหลังขาว ตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนได้ดี มีปริมาณอะมิโลสต่ำ (16-18 เปอร์เซ็นต์) มีคุณสมบัติของเมล็ด ใกล้เคียงกับข้าวดอกมะลิ 105 คือ มีรูปร่างเมล็ดตลอดจนข้าวที่หุงสุกนุ่ม เหนียว และหอมคล้ายขาวดอกมะลิ 105 (กรมวิชาการเกษตร, 2541; กรมวิชาการเกษตร, 2542)

2. ข้าวเหนียวพันธุ์แพร่ 1 เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวไม่ไวต่อช่วงแสง มีอายุประมาณ 120-130 วัน มีความต้านทานต่อโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง โรคใบหงิก และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล นับเป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่ปลูกได้ตลอดปี มีความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูของข้าวได้ดี (กรมวิชาการเกษตร, 2542)

สารเคลือบที่ใช้ในการเคลือบข้าว

1. แป้งข้าวเจ้า ชนิดโม่น้ำ ตราหมีคู่ จากบริษัทพรชัยอุตสาหกรรมชลบุรี
2. แป้งข้าวเหนียว ชนิดโม่น้ำ ตราหมีคู่ จากบริษัทพรชัยอุตสาหกรรมชลบุรี

นำแป้งทั้ง 2 ชนิด มาทำให้เกิดเป็นเจลใช้สำหรับเคลือบข้าวเพื่อเสริมไอโอดีนในเมล็ดข้าว

3. Methocel* A15 (food grade, modified cellulose) เป็น methylcellulose จากบริษัท Dow Chemical ที่ได้รับการรับรองจากองค์การ FDA และได้รับการตรวจสอบแล้วว่ามี methoxyl, ความหนืด (viscosity) และการสูญหายในขณะทำแห้ง ดังตารางที่ 3.1 (Dow Chemical, 1999)

Methocel ละลายได้ดีในน้ำเย็น การละลายน้ำมีภาวะที่เหมาะสมในการใช้ คือ ผสม Methocel* A15 กับสาร ingredients อื่นๆ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 7 (อัตราส่วน อย่างต่ำเป็น 1 ต่อ 3) จากนั้นเติมของผสมลงในน้ำเย็น (อุณหภูมิต่ำกว่า 13 องศาเซลเซียส) ที่มีการกวน และคนอย่างต่อเนื่องประมาณ 20 นาที หรือจน Methocel ละลายหมด (Dow Chemical, 1999)

ตารางที่ 3.1 Specification of Methocel* A15 (Dow Chemical, 1999)

Feature	Units	Results	Limits	
			Minimum	Maximum
Methoxyl	%	30.4	27.5	31.5
Viscosity	cPs	15	12	18
Loss on Drying	%	1.7	-	5.0

4. Methocel* F50 (Premium grade) เป็น Hydroxypropyl methylcellulose ที่ละลายในน้ำ ของบริษัท Dow Chemical ที่ได้รับการรับรองจากองค์การ FDA และได้รับการตรวจสอบแล้วว่ามี methoxyl, hydroxypropoxyl, ความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) และการสูญหายในขณะทำแห้ง ดังตารางที่ 3.2 (Dow Chemical, 2000)

เทคนิคการเตรียมสารละลาย คือ ผสม Methocel* F50 กับสาร ingredients อื่นๆ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 7 (อัตราส่วน อย่างต่ำเป็น 1 ต่อ 3) จากนั้นเติมของผสมลงในน้ำเย็น (อุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส) ที่มีการกวน และคนอย่างต่อเนื่องประมาณ 20 นาที หรือจน Methocel ละลายหมด (Dow Chemical, 2000)

ตารางที่ 3.2 Specification of Methocel* F50 (Dow Chemical, 2000)

Feature	Units	Results	Limits	
			Minimum	Maximum
Methoxyl	%	28.6	27.0	30.0
Hydroxypropoxyl	%	6.3	4.0	7.5
Apparent Viscosity	cPs	49	40	60
Loss on Drying	%	1.5	-	5.0

นำสารพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดมาละลายน้ำโดยใช้น้ำปราศจากไอออน (deionized water) และเอทธานอล 95% ให้เป็นสารละลายเจล (ดัดแปลงจากวิธีของ Peil et al., 1982) ใช้เคลือบข้าวเพื่อเสริมไอโอดีนในเมล็ดข้าว

I21560081X

แหล่งของไอโอดีนที่ใช้ในการทดลอง

1. โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI) ใช้สำหรับเสริมไอโอดีนในข้าวโดยการจัดการเสริมไอโอดีนในระดับแปลงเพาะปลูกข้าว

2. โปตัสเซียมไอโอเดท (KIO_3) (food grade) จากกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ใช้สำหรับเสริมไอโอดีนในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบด้วยสารพอลิเมอร์

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน และโปรตีน

กรดบอริก (H_3BO_3)	AR grade
เมธิลเรด ($C_{13}H_{15}N_3O_2$)	AR grade
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	AR grade
กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)	AR grade
สารเร่งปฏิกิริยา (Selenium reagent mixture)	AR grade
กรดเกลือ (HCl)	AR grade

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน

โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI)	AR grade
โปตัสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3)	AR grade
ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4 .7H_2O$)	AR grade
โปตัสเซียมไทโอไซยาเนต (KSCN)	AR grade
โซเดียมไนไตร์ท ($NaNO_2$)	AR grade
แอมโมเนียมเฟอริกซัลเฟต ($NH_4Fe(SO_4)_2.12H_2O$)	AR grade
กรดไนตริก (Nitric acid)	AR grade

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการบดตัวอย่างข้าว

เครื่องบด centrifugal ball mill (FRITSCH รุ่น pulverisette 6)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของข้าวเสริมไอโอดีน

เครื่องชั่งหยาบ ทศนิยม 2 ตำแหน่ง Santorious รุ่น BP3100S (Germany)

เครื่องชั่งหยาบ ทศนิยม 3 ตำแหน่ง Santorious รุ่น BP310S (Germany)

เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง Santorious รุ่น A200S (Germany)

เครื่องวัดสี Minolta Chroma Meter CR 300 Series รุ่น CT310 (Japan)

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง UV-Visible 240 Shimadzu spectrophotometer

เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge) KUBOTA 5200 (แสดงในภาคผนวก ก รูปที่ ก.1)

เครื่องผสมสารเคมี Thermolyne type 37600 Mixer

เครื่องผสมอาหาร (KENWOOD)

เครื่องทำแห้ง Fluidized bed dryer (แสดงในภาคผนวก ก รูปที่ ก. 2)

ตู้อบลมร้อน (WTB binder)

เตาเผา Fisher Scientific Isotemp Muffle furnace (แสดงในภาคผนวก ก รูปที่ ก. 3)

ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน (Kjeldatherm and Vapodest 1, Gerhardt, KT85)

เครื่องผสม Hand Homogenizer Ystral Gmbhd-7801 รุ่น X1020
(แสดงในภาคผนวก ก รูปที่ ก. 4)

โถดูดความชื้น (Desiccator)

นาฬิกาจับเวลา

เครื่องแก้ว และปิเปต

ขอบเขตงานวิจัย

<u>ส่วนที่ 1</u>

เนื่องจากในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเสริมจุลธาตุไอโอดีนในข้าว ซึ่งเกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินผลที่สำคัญ คือ ปริมาณไอโอดีนที่มีอยู่ในข้าวหลังจากการเสริม ดังนั้นความถูกต้อง และความแม่นยำของการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน ซึ่งเป็นจุลธาตุปริมาณน้อย (ไมโครกรัม) และมักจะไม่มีการตรวจวิเคราะห์กันทั่วไปในอาหาร จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่องานวิจัยนี้ ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงต้องทำการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในตัวอย่างนมที่ทราบปริมาณไอโอดีนที่แน่นอนก่อน เพื่อเป็นการฝึกฝนให้เกิดความชำนาญของผู้วิจัยเอง และเพื่อให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำของการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในข้าวต่อไป

วิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน

- แบบ Macro scale เทียบกับแบบ Micro scaleโดยใช้ตัวอย่างคือ Standard Reference Material 1549
- แบบ Macro scale ใช้ตัวอย่างน้ำนมตรา Alacta-NF และสารละลาย KIO_3 ที่ทราบปริมาณไอโอดีนที่แน่นอน (หาความถูกต้อง และความแม่นยำของการวิเคราะห์)
- แบบ Macro scale ใช้ตัวอย่างน้ำนมตรา Alacta-NF ที่เติมสารละลาย KIO_3 ซึ่งทราบปริมาณไอโอดีนที่แน่นอน (หา%Recovery ของการวิเคราะห์)

<u>ส่วนที่ 2</u> ศึกษาความเป็นไปได้ของการจัดการการเสริมจุลธาตุในระดับแปลงเพาะปลูก

ตัวอย่างข้าว 2 พันธุ์ (ข้าวกล้องและข้าวสาร)

เสริมไอโอดีนจากการปลูก

↓

บดละเอียดด้วยเครื่อง ball mill

↓

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น, ไนโตรเจน, โปรตีน และไอโอดีน

<u>ส่วนที่3</u> ศึกษาการเสริมจุลธาตุไอโอดีนในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบด้วยสารพอลิเมอร์

ข้าว 2 พันธุ์

(ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว)

↓

เคลือบด้วยเจลพอลิเมอร์ผสม KIO_3

แปรชนิดและความเข้มข้นของสารเคลือบ

↓

ข้าวเคลือบเสริมไอโอดีน

↓

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น, ไอโอดีน, %Recovery ของไอโอดีนหลังการล้างข้าว,

วัดสีของข้าว (L, a, b) และ การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน

3.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนแบบ Macro scale เทียบกับ Micro scale

ทดลองวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนแบบ Macro scale เทียบกับ Micro scale ตามวิธีของ Moxon และ Dixon (1980) โดยใช้ปริมาณตัวอย่างและสารเคมีจำนวนมาก เทียบกับการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนที่ใช้หลักการเดียวกัน แต่ใช้ปริมาณตัวอย่างและสารเคมีจำนวนน้อย ตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนเทียบกัน คือ Standard Reference Material 1549 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของ National Institute of Standards and Technology (NIST) U.S. Department of Commerce, Gaithersburg U.S.A. เป็นนมผงชนิด non-fat milk มีไอโอดีน 3.38$\pm$0.02 μg /g (Fischer และคณะ, 1986) ซึ่งในการวิเคราะห์ใช้ตัวอย่าง 0.1105 กรัม ดังนั้นปริมาณไอโอดีนต่อตัวอย่าง 1 กรัม เท่ากับ 373.49 ng/g โดยเปรียบเทียบขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนทั้ง 2 วิธี ดังรูปที่ 3.1 (รายละเอียดของการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน แบบ Macro scale แสดงในภาคผนวก ค)

แบบ Macro Scale

1. การเตรียมตัวอย่างอาหาร

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 1 กรัม ในถ้วยกระเบื้อง

↓

เติม 30% K_2CO_3 1 ml และ 10% $ZnSo_4$ 1 ml

↓

คนตัวอย่างให้เข้ากัน

↓

อบที่อุณหภูมิ 100±5 °C จนตัวอย่างแห้ง

↓

นำมาเผาจนอุณหภูมิเป็น 550°C จับเวลาเผาต่อ 90 นาที จนครบแล้วปิดเตา*

↓

ตั้งตัวอย่างไว้ในเตาเผาอีกประมาณ 1 ชม.

↓

นำออกมาทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

↓

เติม 10% $ZnSO_4$ 1 ml

↓

คนตัวอย่างให้เข้ากัน

↓

นำตัวอย่างเข้าอบจนแห้งที่ 100 ±5 °C

↓

เผาอีกครั้งที่สภาวะเดิม(*)จนได้เถ้าที่สมบูรณ์(เถ้าสีเทา-ขาว)

↓

นำไปสกัดไอโอดีนออกจากเถ้า

แบบ Micro Scale

1. การเตรียมตัวอย่างอาหาร

ชั่งตัวอย่างอาหาร 0.2 กรัมในหลอดทดลองขนาดเล็ก

↓

เติม 30% K_2CO_3 1 ml และ 10% $ZnSo_4$ 1 ml

↓

ผสมด้วยเครื่อง Vortex

↓

นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 °C (~ 22 ชม.)

↓

นำไปเผาโดยเริ่มจากอุณหภูมิห้องจนถึง 550°C ใช้เวลา 90 นาทีและอยู่ที่ 550°C เป็นเวลา 1 ชม.**

↓

นำหลอดออกทันทีที่ครบ 1 ชม. และทิ้งให้เย็น

↓

เติม 5% $ZnSo_4$ 2 ml

↓

Sonicated 30 นาที และผสมด้วย Vortex อีกครั้ง

↓

อบที่ 100°C (~ 18 ชม)

↓

เผาต่อเหมือนการเผาครั้งแรก(**)จนได้เถ้าสีขาว/เทา

↓

นำไปสกัดไอโอดีนออกจากเถ้า

<u>รูปที่ 3.1</u> ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนแบบ Macro Scale และ Micro Scale

แบบ Macro Scale (ต่อ)

2. การสกัด I_2 ออกจากเถ้า

นำเถ้าที่เผาสมบูรณ์มาละลายน้ำกลั่นอุ่น
(40-50°C) ปริมาตร 50 ± 0.5 ml

↓

คนเถ้าให้ละลายในน้ำกลั่น

↓

เทสารละลายเถ้าในหลอดเซนตริฟิวส์

↓

เหวี่ยงแยกสารละลายออกจากเถ้า
ที่ 3000 rpm. เป็นเวลา 10 นาที

↓

สารละลายส่วนใส

3. ขั้นตอนการวิเคราะห์

ปิเปตสารละลายตัวอย่างส่วนใส
สารละลายไอโอดีนมาตรฐานและ
สารละลาย Blank มาอย่างละ 4 ml

↓

เติมน้ำ DDW 1 ml, KSCN 1 ml และ FAS 2 ml

↓

ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex Mixer

↓

เติม $NaNO_2$ หลอดละ 1 ml

↓

ผสมสารให้เข้ากันทิ้งไว้ 20 นาที

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีเมื่อครบ 20 นาที
ที่ความยาวคลื่น 450 nm.

แบบ Micro Scale (ต่อ)

2. การสกัด I_2 ออกจากเถ้า

นำหลอดที่มีเถ้ามาเติมGlass bead และเติม DDW 3 ml
(DDW = deionized distilled water)

↓

นำไป incubate ใน water bath 50 °C 10 นาที

↓

นำมา Sonicated 10 นาที และผสมด้วย Vortex 10นาที

↓

นำหลอดไปเหวี่ยงแยกที่ 1000 rpm. 10 นาที

↓

สารละลายส่วนใส

3. ขั้นตอนการวิเคราะห์

ปิเปตสารละลายตัวอย่างส่วนใส
สารละลายไอโอดีนมาตรฐานและ
สารละลาย Blank มาอย่างละ 1 ml

↓

เติมน้ำ DDW 0.85 ml, KSCN 0.25 ml และ NaCl 0.25 ml

↓

ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex Mixer

↓

เติม FAS 0.5 ml

↓

incubate ใน water bath 32 °C 10 นาที
และเติม $NaNO_2$ หลอดละ 0.25 ml

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีเมื่อครบ 20 นาที
ที่ความยาวคลื่น 450 nm.

รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนแบบ Macro Scale และ Micro Scale (ต่อ)

3.1.2 การทดลองหาความถูกต้องและความแม่นยำในการวิเคราะห์ไอโอดีนแบบ Macro scale

นำสารละลาย KIO_3 ที่มีความเข้มข้นของไอโอดีนเป็น 40 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และน้ำนมคืนรูปชนิดธรรมดาพร้อมดื่ม UHT รสจืด ตรา Alacta-NF ปริมาตรสุทธิ 180 มิลลิลิตร มีปริมาณไอโอดีนตามข้อมูลทางโภชนาการที่ระบุไว้ข้างกล่องคิดเป็นร้อยละ 30 ของปริมาณที่แนะนำต่อวัน และเหมาะสำหรับเด็กวัย 1 ขวบขึ้นไป รวมถึงเด็กวัยเรียนและทุกคนในครอบครัว ซึ่งตามข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย กระทรวงสาธารณสุข (2532) กำหนดว่า เด็กอายุ 1-3 ปี ต้องการไอโอดีน 70 ไมโครกรัมต่อวัน ดังนั้นในนม 1 กล่อง จะมีปริมาณไอโอดีนเท่ากับ 21 ไมโครกรัม ถ้าน้ำนมปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะมีปริมาณไอโอดีนเท่ากับ 11.67 ไมโครกรัม นำมาวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนตัวอย่างละ 10 และ 20 ซ้ำ ตามลำดับ เพื่อหาความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ไอโอดีน โดยคำนวณจากสูตรดังนี้คือ

$$\%\text{ความถูกต้อง} = \frac{\text{ปริมาณไอโอดีนที่วัดได้}}{\text{ปริมาณไอโอดีนที่มีอยู่จริง}} \times 100$$

$$\text{ความแม่นยำ (\%CV*)} = \frac{SD \times 100}{Mean}$$

* CV = Coefficient of variation หรือ Relative standard deviation

3.1.3 การทดลองหา %Recovery ของการวิเคราะห์ไอโอดีนแบบ Macro scale

นำน้ำนมคืนรูปชนิดธรรมดาพร้อมดื่ม UHT รสจืด ตราAlacta-NF ปริมาตรสุทธิ 180มิลลิลิตร โดยมีปริมาณไอโอดีนตามข้อมูลทางโภชนาการที่ระบุไว้ข้างกล่องคิดเป็น 11.67 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มาเติมสารละลาย KIO_3 ที่มีความเข้มข้นของไอโอดีนเป็น 40 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนทั้งหมดในตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ และหา %Recovery ของการวิเคราะห์ไอโอดีน โดยคำนวณจากสูตรดังนี้คือ

$$\%\text{Recovery} = \frac{\text{ปริมาณไอโอดีนที่วัดได้}}{\text{ปริมาณไอโอดีนที่เติม}} \times 100$$

ปริมาณไอโอดีนที่พบ = ปริมาณไอโอดีนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้หลังจากการเติมไอโอดีนลบด้วยปริมาณไอโอดีนที่มีอยู่แล้วในตัวอย่าง

3.2 ศึกษาความเป็นไปได้ของการจัดการเสริมจุลธาตุในระดับแปลงเพาะปลูก

ทำการวิเคราะห์คุณภาพทางโภชนาการด้านปริมาณไนโตรเจน โปรตีน และไอโอดีนของข้าวที่เสริมจุลธาตุในระดับแปลงเพาะปลูก จากแปลงปฏิบัติการศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยวางแผนการทดลองแบบ Split Split Plot Design จำนวน 3 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลอง 3x4 ตารางเมตร ระยะปลูก 25 x 25 เซนติเมตร กำหนดให้

Main – plot เป็นข้าว 2 พันธุ์ได้แก่ พันธุ์ คลองหลวง 1 และ พันธุ์แพร่ 1 (V_1 และ V_2)

Sub-plot เป็นอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 3 อัตรา ได้แก่

N_1 = อัตราปุ๋ยไนโตรเจน 0 กิโลกรัมไนโตรเจน ต่อ ไร่

N_2 = อัตราปุ๋ยไนโตรเจน 16 กิโลกรัมไนโตรเจน ต่อ ไร่

N_3 = อัตราปุ๋ยไนโตรเจน 32 กิโลกรัมไนโตรเจน ต่อ ไร่

Sub-sub-plot เป็นช่วงระยะการฉีดพ่นสารโปตัสเซียมไอโอไดด์ ในอัตรา 0.1 กรัมเปอร์เซ็นต์ โดยแบ่ง treatment ตามระยะการฉีดพ่นออกเป็น 3 treatment คือ

T_1 = ไม่ได้รับการฉีดพ่นโปตัสเซียมไอโอไดด์

T_2 = เริ่มฉีดพ่นโปตัสเซียมไอโอไดด์เมื่อข้าวเข้าสู่ระยะแตกหน่อจนถึงก่อนระยะผสมเกสร

T_3 = เริ่มฉีดพ่นโปตัสเซียมไอโอไดด์เมื่อข้าวเข้าสู่ระยะกำเนิดช่อรวงถึงก่อนระยะผสมเกสร

ตัวอย่างข้าวที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางโภชนาการเป็นข้าวกล้อง และข้าวสาร โดยนำตัวอย่างข้าวกล้องและข้าวสารมาบดละเอียด และเก็บตัวอย่างข้าวที่จะวิเคราะห์ในถุงพลาสติกกันความชื้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ประเมินผลโดย

- วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 44-15A (1995) แสดงดังภาคผนวก ข
- วิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีน แสดงดังภาคผนวก ค โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD 450nm) ที่ลดลงของ iron thiocyanate ดัดแปลงจากวิธีของ Moxon และ Dixon (1980)
- วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและโปรตีน (N x 5.95) ด้วย Kjeldahl method ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 46-13 (1995) หรือ AOAC 960.52 (1995) และคำนวณปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Juliano (1972) แสดงดังภาคผนวก ง

หมายเหตุ วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ไนโตรเจน โปรตีน และไอโอดีนของข้าว 2 พันธุ์ ทั้งข้าวกล้องและข้าวสาร ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ครั้ง

3.3 ศึกษาการเสริมจุลธาตุไอโอดีนในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบเมล็ดข้าวด้วยสารพอลิเมอร์

ข้าวที่ใช้ในการเสริมไอโอดีนในเมล็ดข้าวจะเป็นพันธุ์เดียวกันกับที่ใช้ในการเสริมไอโอดีนโดยการปลูก คือ ข้าวเจ้าพันธุ์คลองหลวง 1 และข้าวเหนียวพันธุ์แพร่ 1 ซึ่งทั้ง 2 พันธุ์ที่ใช้เป็นข้าวชนิดขัดขาว (ข้าวสาร) โดยการทดลองนี้แปรชนิดของสารเคลือบ 3 ชนิด คือ เจลแป้งข้าวเจ้า เจลแป้งข้าวเหนียว และสารละลายเจลพอลิเมอร์พวก methylcellulose (Methocel* A15) ร่วมกับ hydroxypropylmethylcellulose (Methocel* F50) ของบริษัท Dow Chemical และแปรความเข้มข้นของสารเคลือบ 3 ความเข้มข้น คือ 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) (ตารางที่ 3.3)

โดยทั่วไปกระบวนการผลิตข้าวเสริมวิตามินและเกลือแร่ จะใช้การเคลือบสารอาหารหลายๆชนิดที่มีปริมาณความเข้มข้นของสารอาหารสูงเคลือบลงบนผิวเมล็ดข้าวสาร และข้าวที่ผ่านกระบวนการเคลือบสารอาหารที่มีปริมาณความเข้มข้นสูงนี้เรียกว่า ข้าวพรีมิกซ์ จากนั้นจึงนำเอาข้าวพรีมิกซ์ไปผสมกับข้าวสารที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการเสริมวิตามินและเกลือแร่ ในอัตราส่วนของข้าวพรีมิกซ์ต่อข้าวสารปกติ คือ 1 ต่อ 200 เพื่อให้ได้สารอาหารต่างๆครบตามที่กำหนดของข้าวเสริมวิตามินและเกลือแร่ของสหรัฐอเมริกา (Furtur et al., 1945; Bramall, 1986) และเผื่อสำหรับการสูญเสียจากกระบวนการผลิตอีกร้อยละ 20 (Ott, 1988) แต่ในงานวิจัยนี้จะกำหนด

ปริมาณไอโอดีนที่เสริมในข้าวให้เท่ากันทุกการทดลองโดยเสริมไอโอดีนในรูปสารละลาย KIO_3 ซึ่งคำนวณความเข้มข้นของไอโอดีนตามน้ำหนักสูตรให้มีความเข้มข้นของไอโอดีนเป็น 1 ใน 3 ของข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันตามที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด คือ 150 ไมโครกรัมต่อวัน ดังนั้นความเข้มข้นของไอโอดีนที่เสริมในข้าวสารดิบจำนวน 100 กรัม คิดเป็น 1/3 X 150 เท่ากับ 50 ไมโครกรัม

3.3.1 การเตรียมสารเคลือบพวกเจลแป้งข้าวเจ้าและเจลแป้งข้าวเหนียว

ทำโดยเตรียมสารละลายน้ำแป้งทั้ง 2 ชนิด ให้มีความเข้มข้นของสารละลายแป้งเป็น 1, 3 และ 5 % (w/w) จำนวน 100 กรัม จากนั้นนำสารละลายแป้งทุกการทดลองมาให้ความร้อน และคนสารละลายอย่างต่อเนื่องจนสารละลายมีอุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส ให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 10 นาที และตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาเติมสารละลาย KIO_3 ที่มีความเข้มข้นของไอโอดีน 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงไป 2.5 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม Hand homogenizer ที่ความเร็วระดับ 5 นาน 2 นาที

3.3.2 การเตรียมสารเคลือบพวกสารละลายเจลพอลิเมอร์ (ดัดแปลงจากวิธีของ Peil et al., 1982)

สารละลายเจลพอลิเมอร์ประกอบด้วย สารพอลิเมอร์ 2 ชนิด คือ methylcellulose (Methocel*A15) และ hydroxypropylmethylcellulose (Methocel*F50) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 และใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำ และเอทธานอลผสมกัน ในอัตราส่วน 7 ต่อ 3 ซึ่งสารพอลิเมอร์ และตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 สารพอลิเมอร์และตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายเจล	สารพอลิเมอร์ (g)		ตัวทำละลาย (g)	
% (w/w)	Methocel* F50	Methocel* A15	น้ำ	เอทธานอล
1	0.5	0.5	70	30
3	1.5	1.5	70	30
5	2.5	2.5	70	30

เตรียมสารเคลือบโดยละลาย methylcellulose (Methocel*A15) และ hydroxypropylmethylcellulose (Methocel*F50) ในน้ำและเอทธานอลที่อุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส และคนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาเติมสารละลาย KIO_3 ที่มีความเข้มข้นของไอโอดีน 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงไป 2.5 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม Hand homogenizer ที่ความเร็วระดับ 5 นาน 2 นาที

3.3.3 **การเคลือบข้าว** (ดัดแปลงจากวิธีของอารี องค์วิเศษไพบูลย์, 2534; ลินดา พงศ์ผาสุก, 2537)

ชั่งข้าวสาร 100 กรัม เทลงในเครื่องผสม ค่อยๆเทสารเคลือบเสริมไอโอดีนลงไป 20 กรัม พร้อมกับเปิดเครื่องผสมที่ความเร็วระดับ 2 นาน 1 นาที ปาดข้าวมารวมกันและผสมที่ความเร็วระดับ 2 อีกครั้งนาน 1 นาที นำข้าวเคลือบไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเป่าด้วยลมร้อน (fluidized bed dryer) โดยต่อเครื่องพ่นลมกับท่อของคอลัมน์ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.7 cm. และมีความสูง 40 cm. ลมร้อนที่ใช้เป่ามีความเร็วลม 5 เมตรต่อวินาที อุณหภูมิขณะเป่า 40-45 องศาเซลเซียส เป่าข้าวเป็นเวลา 10 นาที จนข้าวมีความชื้นต่ำกว่า 14 เปอร์เซ็นต์ ประเมินผลโดย

- วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 44-15A (1995) แสดงดังภาคผนวก ข
- วิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในข้าวหลังเคลือบ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของ iron thiocyanate ดัดแปลงจากวิธีของ Moxon และ Dixon (1980) แสดงดังภาคผนวก ค
- วิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนในข้าวหลังการล้าง (วิธีการล้างข้าวตามวิธีของ Hettiarachchy, et. al., 1996 แสดงดังภาคผนวก จ) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของ iron thiocyanate ดัดแปลงจากวิธีของ Moxon และ Dixon (1980) แสดงดังภาคผนวก ค
- วัดค่าสี L, a, b ด้วยเครื่องวัดสี Minolta-CR 300 โดยแต่ละซ้ำวัดสี 5 จุด

วางแผนการทดลองแบบ Symmetric Factorial Design จำนวน 3X3 ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) (Cochran and Cox, 1957) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10 วิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.3.4 ประเมินคุณภาพของข้าวเคลือบหุงสุกทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพของข้าวเคลือบหุงสุกทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบชิมกึ่งฝึกฝนจำนวน 15 คน และใช้แบบทดสอบชนิด Quantitative Descriptive Analysis with Scoring test ตัวอย่างแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ฉ วางแผนการทดลองแบบ Factorial randomized complete block ขนาด 3X3 เพื่อศึกษาผลของสารเคลือบที่ใช้ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส ความเกาะตัว และความชอบรวมของข้าวเคลือบหุงสุก