

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลส (apparent amylose content) โดยวิธีมาตรฐาน

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลสในข้าวสารจำนวน 3 พันธุ์ คือ หอมมะลิ 105 กข 23 และ กข13 โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ข) ได้ผลดังแสดงในตาราง 4.1

ตาราง 4.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลสในตัวอย่างข้าวสาร

สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์อมิโลส
หอมมะลิ105	14.43 ± 0.0007
กข23	21.98 ± 0.0014
กข13	33.30 ± 0.0014

จากการรายงานของกรมวิชาการเกษตร ปี 2545 ข้าวสายพันธุ์หอมมะลิ105 มีอมิโลสอยู่ในช่วง 13-18% สายพันธุ์กข23 อยู่ในช่วง 22-26% และสายพันธุ์กข13 อยู่ในช่วง 30-33% ซึ่งจากการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ให้ค่าเปอร์เซ็นต์อมิโลสอยู่ในช่วงของข้าวแต่ละสายพันธุ์ คือ ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 มีปริมาณอมิโลส 14.43% กข 23 มี 21.98% และกข13 มี 33.30%

4.2 สภาพที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างสำหรับใช้กับชุดทดสอบ

4.2.1 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการต้มสกัดอมิโลสจากตัวอย่างข้าวสารในน้ำเดือด

ก. เปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์กับระยะเวลาในการต้ม

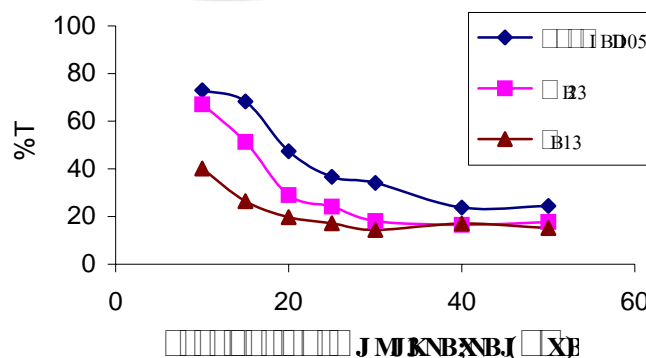
ในการทดลองได้ใช้ข้าวสารทั้ง 3 พันธุ์ คือหอมมะลิ 105 กข 23 และ กข13 ซึ่งทราบปริมาณอมิโลสที่แน่นอนจากผลการทดลองข้อ 4.1 มาต้มในน้ำเดือดที่ระยะเวลา 10,15, 20, 25, 30, 40 และ 50 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลสโดยการทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน อมิโลส-ไอโอดีน (amylose-iodine complex) (Julino *et al.*, 1972) และนำมาวัดค่าเปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์ด้วยชุดทดสอบที่ประกอบขึ้น เพื่อศึกษาระยะเวลาในการต้มสกัด

อมิโลส ที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างปริมาณอมิโลสกับเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแทนซ์ที่ดีที่สุด ซึ่งได้ผลดังตาราง 4.2 และ ภาพ 4.1

ตาราง 4.2 เปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์ของข้าวสารพันธุ์หอมมะลิ105, กข23 และกข13 ที่ใช้เวลาในการต้มสกัดปริมาณอมิโลส 10-50 นาที

เวลา (นาที)	เปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์ (%T)		
	หอมมะลิ105	กข23	กข13
10	72.97 ^{a, A} ± 2.50	67.12 ^{a, A} ± 1.19	40.13 ^{a, B} ± 4.10
15	68.31 ^{a, A} ± 0.53	51.23 ^{b, B} ± 1.02	26.47 ^{b, C} ± 0.99
20	47.33 ^{b, A} ± 3.28	28.99 ^{c, B} ± 2.05	19.71 ^{c, C} ± 0.54
25	36.59 ^{c, A} ± 1.76	24.12 ^{d, B} ± 0.58	17.22 ^{c, C} ± 0.39
30	34.14 ^{c, A} ± 1.76	18.13 ^{e, B} ± 0.60	14.34 ^{c, B} ± 0.24
40	23.77 ^{d, A} ± 2.53	16.51 ^{e, B} ± 0.06	17.02 ^{c, B} ± 0.07
50	24.36 ^{d, A} ± 0.71	17.78 ^{e, B} ± 0.55	15.22 ^{c, C} ± 0.12

- หมายเหตุ 1. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง (อักษรตัวพิมพ์เล็ก) โดยวิธี DMRT ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และ ns หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่าง
2. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวนอน (อักษรตัวพิมพ์ใหญ่) โดยวิธี DMRT ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และ ns หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่าง



ภาพ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการต้มสกัดอมิโลสกับเปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์ของข้าวสารพันธุ์หอมมะลิ105 กข23 และกข13

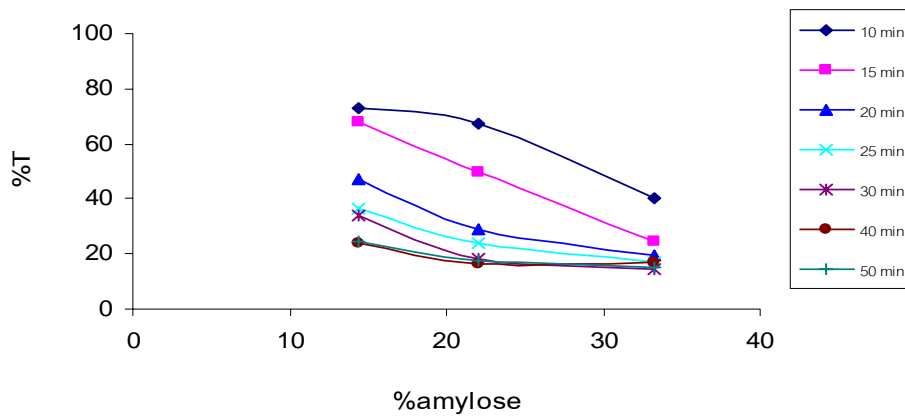
ค่าเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแทนซ์ เป็นค่าที่บ่งบอกถึงการวัดปริมาณแสงที่ผ่านออกจากเซลล์ ดังนั้นถ้าสารละลายที่บรรจุอยู่ในเซลล์มีความเข้มข้นมาก แสงที่ผ่านออกมาก็จะน้อย ค่าที่วัดได้ก็จะน้อยตามไปด้วย ในการวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลส ได้ใช้ปฏิกิริยาทางเคมี ระหว่างอมิโลสกับ ไอโอดีน ซึ่งอมิโลสมีความสามารถจับกับไอโอดีนได้ ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนอมิโลส-ไอโอดีน (amylose-iodine complex) ที่มีสีน้ำเงิน (งามชื่น, 2545) ดังนั้นความเข้มของสีน้ำเงินจะขึ้นอยู่กับปริมาณอมิโลส หากมีปริมาณสูงก็จะเพิ่มความสามารถในการจับกับไอโอดีน และทำให้มีความเข้มของสีมากขึ้น

จากความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการต้มสกัดอมิโลสกับเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแทนซ์ (ภาพ 4.1) พบว่า ระยะเวลาในการต้มสกัดอมิโลสจะแปรผกผันกับเปอร์เซ็นต์ ทรานสมิตแทนซ์ กล่าวคือเมื่อระยะเวลาที่ใช้ในการต้มสกัดเพิ่มมากขึ้น เปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแทนซ์จะมีค่าลดลง เนื่องจากอมิโลสในข้าวสามารถละลายออกมาได้มากขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการต้ม จากตาราง 4.2 จะเห็นได้ว่า ข้าว กข13 จะให้ค่าเฉลี่ยที่ 20-50 นาทีไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าอมิโลสสามารถละลายออกมาได้มากที่สุดที่ระยะตั้งแต่ 20 นาที เพราะหลัง 20 นาทีเป็นต้นไปค่าเปอร์เซ็นต์ ทรานสมิตแทนซ์ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนข้าว กข23 อมิโลสจะใช้เวลาในการละลายออกมามากสุดที่ 30 นาที และข้าวหอมมะลิ 105 ใช้เวลา 40 นาที สังเกตเห็นได้ว่าข้าวแต่ละสายพันธุ์จะใช้ ระยะเวลาในการต้มสกัดเพื่อให้อมิโลสละลายออกมาได้มากที่สุดแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณ อมิโลสเป็นหลักเพราะอมิโลสเป็นตัวกำหนดลักษณะของข้าวสุก ถ้าอมิโลสน้อยข้าวสุกจะมี ลักษณะนุ่ม เหนียว เกาะตัวกัน ดังนั้นในขณะที่ต้มสกัดอมิโลสข้าวจะมีลักษณะเกาะตัวกันทำให้ไป ขัดขวางการละลายในน้ำเดือดของอมิโลส เป็นผลให้ต้องใช้ระยะเวลานานกว่าข้าวที่มีอมิโลสสูง กว่าข้าวที่มีอมิโลสสูงลักษณะของข้าวสุกจะร่วน แฉง ไม่เกาะกัน การต้มสกัดก็จะใช้เวลาน้อยกว่า นอกจากนี้จะเห็นได้ว่า ข้าวสารทั้ง 3 พันธุ์ มีแนวโน้มของค่าเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแทนซ์ลดลงไป ในรูปแบบเดียวกัน ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับปริมาณอมิโลสของข้าวแต่ละพันธุ์ ข้าวหอมมะลิ 105 ให้ค่า เปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแทนซ์โดยรวมมากกว่า กข23 และ กข13 เนื่องจากมีปริมาณอมิโลสน้อยกว่า

การพิจารณาว่าระยะเวลาใดที่เหมาะสมในการต้มสกัดอมิโลส พิจารณาจากการ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ระยะเวลาต่างกัน (ในตารางที่ 4.2 ดูตามแนวนอน) จะเห็นได้ว่าที่ระยะเวลา 15, 20, 25 และ 50 นาที ให้ค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันเป็น 3 กลุ่ม แต่เนื่องจากการพิจารณาว่าที่ระยะเวลาใดเหมาะสมนั้นยังใช้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจมาพิจารณาร่วมด้วย โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจจะต้องมีค่าที่ใกล้เคียง 1 มากที่สุด สามารถหาได้โดยดูจาก ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างปริมาณอมิโลสในการต้มสกัดกับระยะเวลาต่างๆ

ข. การหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, r^2) ของปริมาณอมิโลสในการต้มสกัดที่ระยะเวลาต่างๆ

จากภาพ 4.2 เป็นการนำข้อมูลเดิมจากตาราง 4.2 มาสร้างกราฟใหม่ เพื่อแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์อมิโลสของข้าวสารทั้ง 3 พันธุ์ กับเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแทนซ์ที่ระยะเวลาต่างๆ ในการต้มสกัดอมิโลสของข้าวแต่ละพันธุ์ และเพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการต้มสกัดอมิโลสได้ในน้ำเดือด ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากความสัมพันธ์เชิงเส้นที่มีค่า r^2 ใกล้เคียงกับ 1 มากที่สุด จากภาพ 4.2 จะสังเกตเห็นได้ว่า ระยะเวลาในการต้มสกัดอมิโลสที่ 15 นาที มีความสัมพันธ์เชิงเส้นมากที่สุด และมีค่า r^2 เท่ากับ 0.9993 (ตาราง 4.3) ดังนั้นจึงถือได้ว่าเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการต้มสกัดอมิโลสในน้ำเดือด



ภาพ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์อมิโลสของข้าวสารพันธุ์หอมมะลิ105, กข23 และกข13 กับเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแทนซ์ ที่ระยะเวลาในการต้มสกัดอมิโลส 15, 20, 25, 30, 40 และ 50 นาที

ตาราง 4.3 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ระยะเวลาต่างๆ ในการต้มสกัดอมิโลส

เวลา(นาที)	สมการเส้นตรง	r^2
10	$y = -1.7911x + 101.69$	0.9430
15	$y = -2.2773x + 100.38$	0.9993
20	$y = -1.4127x + 64.84$	0.9116
25	$y = -0.9936x + 49.06$	0.9240
30	$y = -0.9930x + 45.28$	0.8053
40	$y = -0.3263x + 26.68$	0.5843
50	$y = -0.4642x + 29.91$	0.8736

4.2.2 ปริมาณของไอโอดีนที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยากับสารละลายข้าว

เนื่องจากการทำปฏิกิริยาให้เกิดสีน้ำเงิน โดยใช้ไอโอดีนทำปฏิกิริยากับสารละลายที่ต้มสกัดจากข้าวสารนั้น จำเป็นที่จะต้องใช้ปริมาณของไอโอดีนที่เกินพอ เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์และได้ค่าที่ถูกต้อง ดังนั้นในการทดลองจึงใช้ปริมาณของไอโอดีนที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 1, 2, 3 และ 4 มิลลิลิตร และเลือกข้าวที่มีปริมาณอมิโลสสูงที่สุดมาทำการทดลอง คือ ข้าวพันธุ์กข13 ได้ผลดังตาราง 4.4

ตาราง 4.4 เปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์ ของข้าวพันธุ์กข13 ที่ใช้ไอโอดีนปริมาตรต่างๆ ในการทำปฏิกิริยาให้ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน

ไอโอดีน (มิลลิลิตร)	เปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์ (%T)
1.00	37.22 ^d ± 0.21
2.00	31.99 ^a ± 0.13
3.00	32.56 ^b ± 0.38
4.00	34.26 ^c ± 0.25

หมายเหตุ : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง โดยวิธี DMRT ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และ ns หมายถึงค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่าง

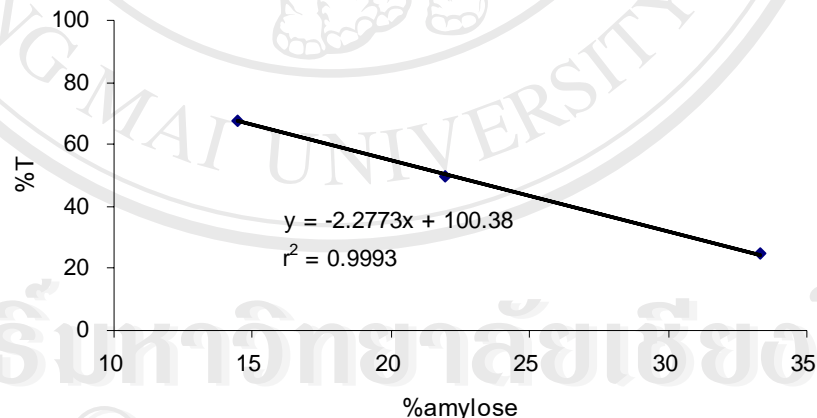
จากตาราง 4.4 จะสังเกตเห็นได้ว่าปริมาณไอโอดีนที่ 2 มิลลิลิตร ให้ค่าเปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์น้อยที่สุดคือ 31.99 ± 0.13 และค่าเปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อปริมาณไอโอดีนเพิ่มมากขึ้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าปริมาณไอโอดีนที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ให้ความเข้มข้นของสีน้ำเงินลดลงหรือจางลง เนื่องจากปริมาณของไอโอดีนมากเกินความจำเป็นที่จะใช้ในการทำปฏิกิริยากับอมิโลส และเมื่อนำสารละลายไปวัดค่าเปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์ จะทำให้ได้ค่ามากขึ้นหรือแสงผ่านสารละลายได้มากขึ้น ส่วนปริมาณไอโอดีนที่ 1 มิลลิลิตร ให้ค่าเปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์สูงที่สุด เนื่องจากปริมาณไอโอดีนยังไม่เพียงพอที่จะใช้ในการทำปฏิกิริยากับอมิโลส ทำให้ได้ความเข้มข้นของสีน้ำเงินน้อย และเมื่อนำสารละลายไปวัดค่าเปอร์เซนต์ทรานสมิตแทนซ์ จะทำให้ได้ค่ามากขึ้นหรือแสงผ่านสารละลายได้มากขึ้นเช่นเดียวกัน ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าปริมาณของไอโอดีนที่เหมาะสมที่สุดคือที่ 2 มิลลิลิตร

4.2.3 ผลการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับใช้กับชุดทดสอบ

การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับใช้กับชุดทดสอบที่สร้างขึ้นทำได้โดย การหาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างเปอร์เซ็นต์อมิโลสที่เป็นค่าจริงซึ่งหาโดยวิธีมาตรฐานกับเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตเทนซ์ที่ได้จากชุดทดสอบ ได้ผลดังตาราง 4.5 และภาพ 4.3 ซึ่งจะเห็นได้ว่ากราฟมาตรฐานสำหรับใช้กับชุดทดสอบที่สร้างขึ้น มีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างเปอร์เซ็นต์อมิโลสกับเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตเทนซ์ และมีค่า r^2 เท่ากับ 0.9993

ตาราง 4.5 เปอร์เซนต์อมิโลสและเปอร์เซนต์ทรานสมิตเทนซ์ของข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์

สายพันธุ์	เปอร์เซนต์อมิโลส	เปอร์เซนต์ทรานสมิตเทนซ์ (%T)
หอมมะลิ105	14.43 ± 0.0007	67.90 ± 1.43
กข23	21.98 ± 0.0014	49.69 ± 0.97
กข13	33.30 ± 0.0014	24.80 ± 0.94



ภาพ 4.3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างเปอร์เซนต์อมิโลสกับเปอร์เซนต์ทรานสมิตเทนซ์

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการวัดของชุดทดสอบ

4.3.1 การทดสอบความแม่นยำ (precision) ของชุดทดสอบ

ในการทดสอบความแม่นยำของชุดทดสอบ ได้ทำการทดลอง 10 ซ้ำ เพื่อหาปริมาณอมิโลสในข้าวสารทั้ง 3 พันธุ์ (จากข้อ 4.1) โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้หาไว้ก่อนหน้านี้ (ข้อ 4.2) และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณจากกราฟมาตรฐานของชุดทดสอบ ทำการวิเคราะห์ผลโดยการหาค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (CV) ได้ผลดังตาราง 4.6

ตาราง 4.6 ผลการทดสอบความแม่นยำของชุดทดสอบ

สายพันธุ์ของข้าว	CV (%)	เปอร์เซ็นต์อมิโลส
หอมมะลิ 105	4.41	14.56 ± 0.45
กข 23	1.92	22.26 ± 0.31
กข13	1.24	33.19 ± 0.29

จะเห็นได้ว่า ข้าวหอมมะลิ105 ให้ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปรค่อนข้างสูง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสภาวะในการเตรียมตัวอย่างนี้ไม่เหมาะสมกับข้าวหอมมะลิ105 ทั้งนี้อาจเนื่องจากข้าวหอมมะลิ 105 เป็นข้าวที่มีอมิโลสต่ำ ซึ่งคุณสมบัติข้าวสุกของข้าวประเภทนี้ คือ นุ่ม เหนียว และเกาะตัวกันเป็นก้อน ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้อมิโลสไม่สามารถละลายออกมาได้อย่างเต็มที่ในขณะที่ต้มในน้ำเดือด ดังนั้น ทำให้ผลการทดลองในแต่ละครั้งมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง และอาจเนื่องจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดความเข้มแสงซึ่งใช้เป็นโซลาเซลล์ ใช้ทำหน้าที่รับแสงที่มาจากหลอดและหลอดกระแสไฟ จากนั้นจึงตรวจวัดกระแสไฟฟ้าที่ได้ด้วยมัลติมิเตอร์ แต่กำลังไฟที่โซลาเซลล์ผลิตมีกำลังไฟฟ้าน้อยเกินไป จึงทำให้ผลที่ได้มีความคลาดเคลื่อน ดังนั้นควรจะมีส่วนที่เป็นตัวขยายสัญญาณไฟอีกครั้งก่อนที่จะเข้าเครื่องตรวจวัดกระแสไฟฟ้า

4.3.2 การทดสอบความถูกต้อง (accuracy) ของการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์อมิโลส

การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์อมิโลส โดยทำเปรียบเทียบระหว่างวิธีมาตรฐานที่ใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ กับวิธีที่ใช้ชุดทดสอบที่สร้างขึ้น ตัวอย่างที่ใช้มี 5 ตัวอย่าง คือ ข้าวชัยนาท1, ข้าวขาวตาแห้ง17, ข้าวสุพรรณบุรี1, ข้าวเหลืองประทิว123 และข้าวหอมปทุมธานี1 ได้ผลดังตาราง 4.7

ตาราง 4.7 ผลการทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์มิลโคสโดยใช้ชุดทดสอบเทียบ
กับวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่างข้าวสาร	เปอร์เซ็นต์มิลโคส	
	วิธีมาตรฐาน	ชุดทดสอบ (test kit)
ข้าวชยันนาท1 ^{ns}	28.25 ± 0.0001	29.01 ± 5.88
ข้าวขาวตาแห้ง17 ^{ns}	27.61 ± 0.0001	29.52 ± 3.55
ข้าวสุพรรณบุรี1 ^{ns}	30.09 ± 0.0002	31.64 ± 3.21
ข้าวเหลืองประทิว123 ^{ns}	32.17 ± 0.0006	33.83 ± 4.43
ข้าวหอมปทุมธานี1 ^{ns}	19.86 ± 0.0011	25.12 ± 8.37

หมายเหตุ : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวนอน โดยวิธี t-test ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และ ns หมายถึงค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่าง

จากผลการทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์มิลโคสโดยใช้ชุดทดสอบเทียบกับวิธีมาตรฐาน จะสังเกตเห็นได้ว่า ค่าเปอร์เซ็นต์มิลโคสที่ได้จากชุดทดสอบมีค่าสูงกว่าวิธีมาตรฐาน ยิ่งตัวอย่างที่มีค่ามิลโคสน้อย (ต่ำกว่า 20%) ยิ่งให้ค่าที่แตกต่างมาก ดังนั้น ชุดทดสอบนี้จึงเหมาะกับตัวอย่างข้าวสารที่มีปริมาณมิลโคสอยู่ในช่วงปานกลาง (20-24%) และสูง (25-34%) แต่ถึงอย่างไร การหาปริมาณมิลโคสของทั้งสองวิธียังคงให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05