ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารละลาย

การเตรียมสารละลาย

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 นอร์มัล (N)

1) ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 80.0 กรัม

2) เตรียมน้ำกลั่นประมาณ 800 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 1,000 มิลลิลิตร

3) ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดเกลเซียลอะซิติกเข้มข้น 1 นอร์มัล (N)

1) ดวงสารละลายกรดเกลเซียลอะซิติกปริมาตร 30 มิลลิลิตร

2) เตรียมน้ำกลั่นประมาณ 800 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 1,000 มิลลิลิตร

3) ละลายกรดเกลเซียลอะซิติก ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

3. สารละลายไอโอดีน

1) ชั่งไอโอดีน 0.2000 กรัม และโพแทสเซียมไอโอไดด์ 2.000 กรัม ละลายให้เข้ากันโดยใช้น้ำน้อยที่สุด

2) เตรียมน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตรสีชาขนาดความจุ 100 มิลลิลิตร

3) ละลายและโพแทสเซียมไอโอไดด์ ด้วยน้ำกลั่นทิ้งไว้ข้ามคืนในที่มืด หรือจนไอโอดีนละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

4) เก็บสารละลายไอโอดีนในภาชนะทึบแสง

4. สารละลายแอมโมเนียบัฟเฟอร์ pH 9

1) ดวงสารละลายแอมโมเนียไฮดรอกไซด์ (ammonium hydroxide) ความเข้มข้นร้อยละ 28 ปริมาตร 570 มิลลิลิตร

2) เตรียมน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรขนาดความจุ 1000 มิลลิลิตร

3) ละลายแอมโมเนียไฮดรอกไซด์ จากนั้นเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ (ammonium chloride) 67.5 กรัม ละลายให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนเกือบครบ 1000 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข
การแปลผลข้อมูลทางสถิติ

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	method & trt1	6	.192	.716
Pair 2	method & trt2	6	.531	.278
Pair 3	method & trt3	6	-.217	.680
Pair 4	method & trt4	6	.125	.814
Pair 5	method & trt5	6	-.073	.891
Pair 6	method & trt6	6	-.460	.359
Pair 7	method & trt7	6	-.261	.617
Pair 8	method & trt8	6	-.519	.291
Pair 9	method & trt9	6	-.700	.122

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	std	23.8556	9	4.14913	1.38304
	chart	23.5556	9	3.68853	1.22951

Paired Samples Correlations

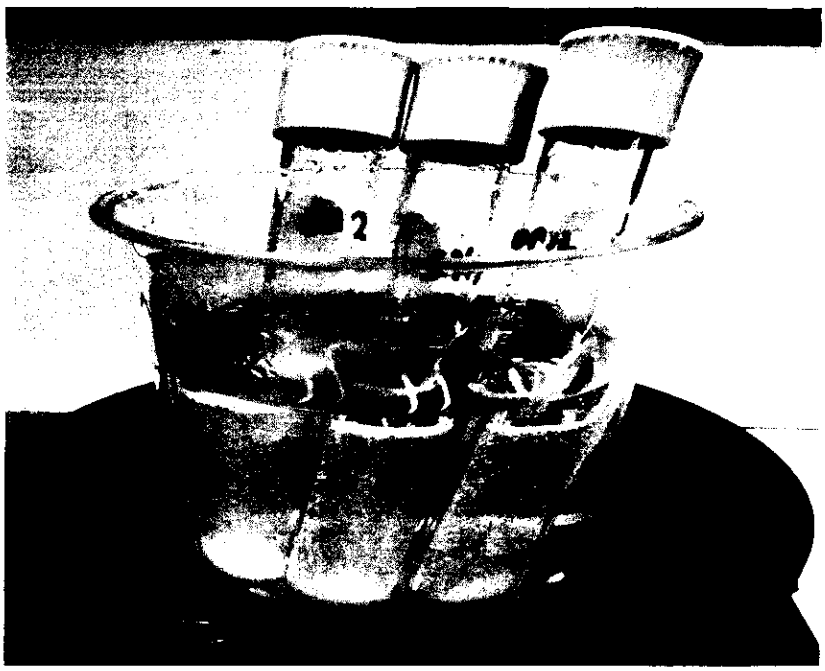
		N	Correlation	Sig.
Pair 1	std & chart	9	.997	.000

Paired Samples Test

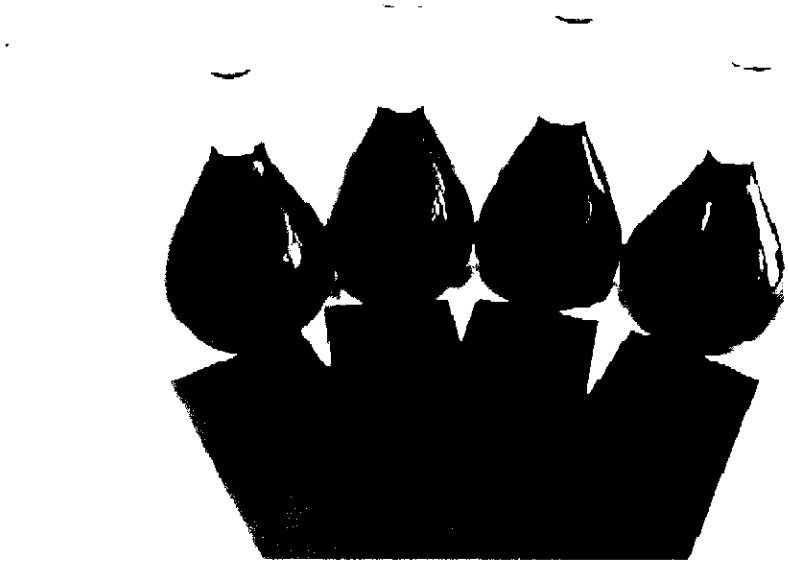
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
Pair 1	std - chart	.30000	.54083	.18028	-.11572	.71572	1.664	8	.135

ภาคผนวก ค
ภาพแสดงชุดตรวจสอบ และขั้นตอนการปฏิบัติ

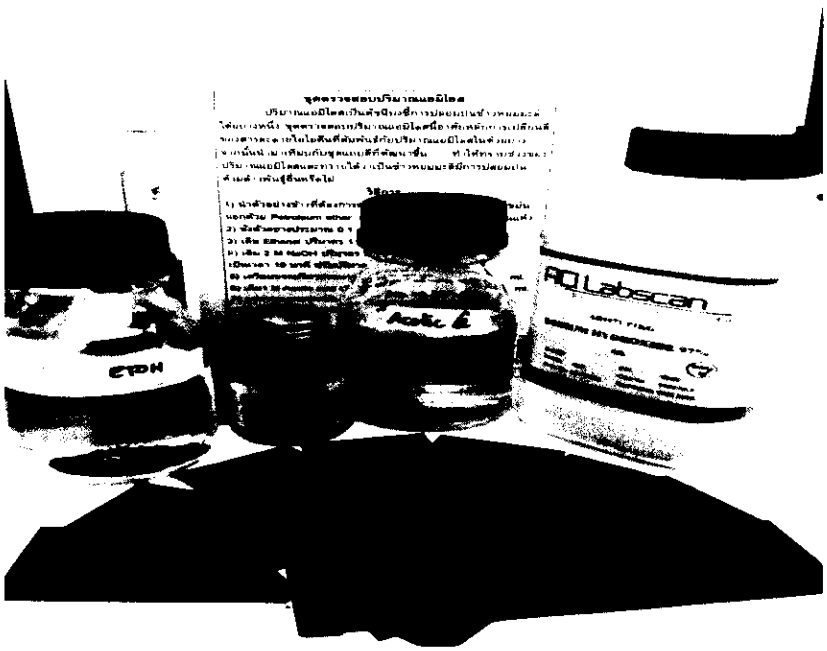
ภาพ ก การเตรียมตัวอย่าง



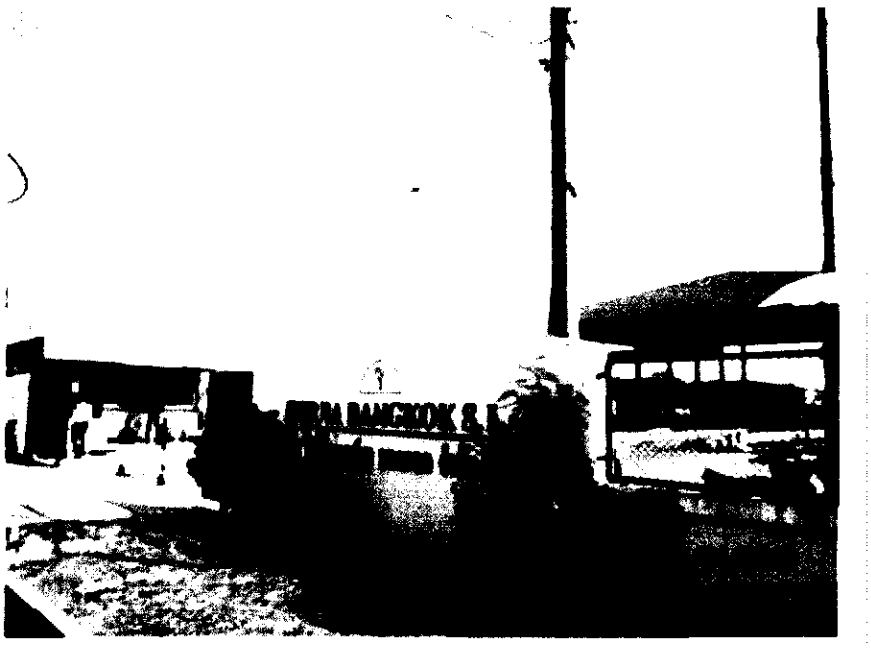
ภาพ ข การต้มสกัดแอมิโลส



ภาพ ค การเทียบสีตัวอย่างกับแถบสี



ภาพ ง ชุดตรวจสอบแอมิโลส



ภาพ จ บริษัท เอลล์บา บางกอก จำกัด ผู้ประกอบการที่ร่วมโครงการ

ภาคผนวก ง
การนำเสนอผลงานวิจัย

ที่ ศธ ๐๕๑๓.๒๐๑๐๓ (๓)/ ๖๔๕๘

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน
๑ ถ.มาลัยแมน อ.กำแพงแสน
จ.นครปฐม ๗๓๑๔๐

๑๘ ตุลาคม ๒๕๕๕

เรื่อง ตอบรับการร่วมประชุมวิชาการ

เรียน คุณจรรยา แสงเขียว

ด้วยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ได้จัดสัมมนาวิชาการและประชุมวิชาการ ครั้งที่ ๙ ระหว่างวันที่ ๖-๗ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๕ ในงานเกษตรกำแพงแสน ประจำปี ๒๕๕๕ ภายใต้คำขวัญ "ตามรอยพระยุคลบาท เกษตรศาสตร์กำแพงแสน" เพื่อให้อาจารย์ นักวิจัย นิสิต นักศึกษา ในระดับอุดมศึกษา ตลอดจนภาคเอกชนได้มีโอกาสเผยแพร่ผลงานทางวิชาการสู่สาธารณะและทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างผลงานวิจัย การแลกเปลี่ยนความคิดเห็น และประสบการณ์เชิงวิชาการที่นำไปสู่การใช้ประโยชน์นั้น

ตามที่ท่านได้เสนอผลงานเข้าร่วมประชุมวิชาการครั้งที่ ๙ ระหว่างวันที่ ๖-๗ ธันวาคม ๒๕๕๕ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม นั้น บัดนี้ คณะกรรมการฝ่ายสัมมนาวิชาการและจัดประชุมวิชาการ ขอแจ้งให้ทราบว่า ผลงานของท่านได้ผ่านการพิจารณาและตอบรับการเข้าร่วมประชุมวิชาการดังกล่าว โดยท่านสามารถตรวจสอบกำหนดการ และสถานที่ในการนำเสนอผลงานทางวิชาการได้ที่ เว็บไซต์ http://researchconference.kps.ku.ac.th/ ภายในวันศุกร์ที่ ๒๓ พฤศจิกายน ๒๕๕๕

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(รองศาสตราจารย์สมบัติ ขิณะวงศ์)
รองอธิการบดีวิทยาเขตกำแพงแสน
ปฏิบัติราชการแทนอธิการบดีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กองบริการการศึกษา (กำแพงแสน)
โทร. (๐๓๔) ๒๘๑๐๙๕-๖
โทรสาร. (๐๓๔) ๒๘๑๐๙๕ ต่อ ๑๑๒

การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9

ชุดตรวจสอบการปลอมปนข้าวหอมมะลิ

The test kit for determination of contaminated Hom Mali rice

จรรยา แสงเขียว[1] และ คงศักดิ์ ศรีแก้ว[1]

Janya Sangkhiaw[1] and Khongsak Srikaeo[1]

บทคัดย่อ

ปริมาณแอมิโลสเป็นดัชนีบ่งชี้การปลอมปนข้าวหอมมะลิได้อย่างหนึ่ง งานวิจัยนี้พัฒนาชุดตรวจสอบสำหรับตรวจสอบการปลอมปนของข้าวหอมมะลิ โดยอาศัยหลักการเปลี่ยนสีของสารละลายไอโอดีนที่สัมพันธ์กับปริมาณแอมิโลสในตัวอย่าง จากผลการวิจัยพบว่าชุดตรวจสอบที่เหมาะสมประกอบด้วยขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง โดยนำข้าวหอมมะลิที่อาจมีการปลอมปนมาบดให้ละเอียด จากนั้นนำมากำจัดไขมันออกด้วยการล้างด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ก่อนที่จะนำไปทำให้เกิดสีกับสารละลายไอโอดีน แล้วนำมาเทียบกับแถบสีมาตรฐานที่พัฒนาขึ้น ก็จะทำให้ทราบช่วงของปริมาณแอมิโลสและทราบได้ว่าเป็นข้าวหอมมะลิที่มีการปลอมปนด้วยข้าวพันธุ์อื่นหรือไม่ งานวิจัยนี้ได้นำชุดตรวจสอบดังกล่าวไปทดสอบการใช้งานจริง พบว่าสามารถจำแนกตัวอย่างข้าวที่มีการปลอมปนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ABSTRACT

Amylose is one of the indicators to examine the purity of Hom Mali Rice. This research developed the test kit for determination of contaminated Hom Mali Rice. The test kit is based on the iodine's color which is changed in according to amylose content. It was found that the suitable test kit composed of sample preparation which included preparing milled rice before they were subject to lipid removal by washing with ether. Iodine solution was used to develop the color of samples. The colors of the samples were compared with the established color bands and the levels of contaminations could be judged. The test kit has been evaluated and it was found to be effective.

Key Words : Hom Mali rice, Test kit, Amylose

e-mail address : jsangkhiaw@hotmail.com

[1]คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

Faculty of Food and Agricultural Technology, Pibulsongkham Rajabhat University, Pitsanulok 65000.

คำนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและเป็นอาหารหลักของคนไทย โดยข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เป็นข้าวที่ได้รับความนิยมทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากมีลักษณะเฉพาะตัวคือมีกลิ่นหอมเมื่อนำไปหุงเป็นข้าวสุกจะมีลักษณะนิ่มและค่อนข้างเหนียวจึงเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคส่งผลให้มีปริมาณการส่งออกสูงและมีราคาแพง ดังนั้นจึงมีผู้ค้าบางรายนำข้าวชนิดอื่นที่มีราคาถูกกว่ามาปลอมปนเพื่อเพิ่มน้ำหนักและนำไปขายในราคาที่สูง ในการปลอมปนข้าวนั้นมีผลทำให้คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลง ปริมาณแอมิโลสเป็นดัชนีตัวหนึ่งที่บ่งชี้คุณภาพของข้าวหอมมะลิ โดยข้าวที่ต่างพันธุ์กันจะมีปริมาณแอมิโลสที่แตกต่างกัน ซึ่งปริมาณแอมิโลสเป็นสมบัติเฉพาะของข้าวแต่ละพันธุ์ โดยในปี 2549 กระทรวงพาณิชย์ได้กำหนดให้ข้าวหอมมะลิมีปริมาณแอมิโลสอยู่ในช่วงร้อยละ 13.0 และไม่เกินร้อยละ 18.0 ที่ระดับความชื้นร้อยละ 14.0 ดังนั้นข้าวหอมมะลิที่มีปริมาณแอมิโลสแตกต่างจากในช่วงดังกล่าวจึงมีโอกาสที่จะเป็นไปได้ว่ามีการปลอมปนของข้าวพันธุ์อื่นๆ เข้าไป

การตรวจสอบข้าวหอมมะลิสำหรับอุตสาหกรรมขนาดกลางและขนาดย่อมโดยทั่วไป มักจะใช้วิธีการทางประสาทสัมผัสโดยการนำมาหุงและทดสอบชิม ซึ่งต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ นอกจากนั้นยังใช้วิธีการสลายเมล็ดข้าวในด่างซึ่งใช้เวลานานและจำเป็นต้องอาศัยการตัดสินใจจากผู้เชี่ยวชาญ หากสามารถทำการตรวจสอบปริมาณแอมิโลสร่วมด้วยก็จะช่วยให้โรงงานสามารถควบคุมคุณภาพข้าวหอมมะลิได้ดีขึ้น โดยเฉพาะการป้องกันการปลอมปนข้าวพันธุ์อื่น ๆ ที่มีราคาถูกกว่าลงไปในข้าวหอมมะลิ โดยข้าวที่นิยมนำมาปลอมปนแก่ข้าวพันธุ์ชัยนาท1 ปทุมธานี1 และพิษณุโลก2 โดยมีรายงานวิจัยที่ทำการศึกษาการปลอมปนข้าวหอมมะลิพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ด้วยข้าวพันธุ์ปทุมธานี1 และชัยนาท1 ที่สัดส่วน 80:20 70:30 60:40 และ 50:50 จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี ได้แก่ปริมาณ แอมิโลส แอมิโลเพคติน โปรตีน ไขมัน เถ้า สี ขนาดเมล็ด และทำการประเมินด้านเนื้อสัมผัส ผลพบว่าปริมาณแอมิโลสเท่านั้นที่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อมีการปลอมปนของข้าวชนิดอื่น (ศิริธร ศิริอมรพรรณ, 2548) ซึ่งผลดังกล่าวยืนยันว่าปริมาณแอมิโลสเป็นดัชนีที่สามารถช่วยบ่งบอกคุณภาพของข้าวหอมมะลิ และมีศักยภาพในการบ่งชี้การปลอมปนของข้าวหอมมะลิด้วยข้าวพันธุ์อื่นได้

อย่างไรก็ตามการตรวจสอบหาปริมาณแอมิโลส สามารถทำได้โดยวิธีการทำให้เกิดสีระหว่างแอมิโลสกับไอโอดีน (colorimetric methods) และยังสามารถวิเคราะห์ได้โดยอาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงพลังงานจากการสลายตัวหรือรวมตัวของแอมิโลสและลิพิดคอมเพล็ก (Sievert and Holm., 1993) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบได้โดยการใช้ความแตกต่างของสัดส่วนของจำนวน non - reducing end groups ในแอมิโลสและแอมิโลเพคตินหรือที่เรียกว่า Con A method (Gibson et al., 1997) เป็นต้น โดยแต่ละวิธีมีข้อจำกัดที่แตกต่างกัน โดยวิธีการเปลี่ยนแปลงทางพลังงานต้องใช้เครื่อง DSC สำหรับวิธี Con A มีการใช้สารเคมีหลายชนิดและมีวิธีการซับซ้อน การวิเคราะห์ปริมาณแอมิโลสด้วยวิธีของ Juliano (1971) โดยการทำให้เกิดสีกับไอโอดีนนั้นเป็นวิธีการหนึ่งซึ่งนิยมใช้กันในปัจจุบันเนื่องจากวิเคราะห์ง่ายและรวดเร็ว แต่มีข้อจำกัดคือต้องใช้เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ซึ่งในโรงงานอุตสาหกรรมขนาดกลางและขนาดย่อมทั่วไปอาจไม่มีเครื่องมือดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการพัฒนาชุดตรวจสอบหาปริมาณแอมิโลสโดยการพัฒนาเป็นแถบสีวัดปริมาณแอมิโลส โดยมุ่งเน้นการนำไปใช้สำหรับหาปริมาณแอมิโลสในข้าวหอมมะลิที่อาจมีการปลอมปนด้วยข้าวพันธุ์อื่น ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่ไม่ต้องใช้เครื่องมือทาง

วิทยาศาสตร์ที่มีราคาแพง อีกทั้งยังสามารถตรวจสอบได้รวดเร็วเหมาะสำหรับใช้เพื่อการควบคุมคุณภาพในอุตสาหกรรมซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมการผลิตข้าวของไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ชัยนาท1 ชัยนาท2 และพิษณุโลก2 ได้รับจากศูนย์วิจัยข้าวจังหวัดพิษณุโลก และจากโรงสีที่เข้าร่วมโครงการ ซึ่งตัวอย่างข้าวขาวพันธุ์ดอกมะลิ105 เป็นตัวอย่างมาตรฐานที่ผ่านการตรวจสอบ DNA จากหน่วยงานภาคเอกชน นำข้าวจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ชัยนาท1 ชัยนาท2 และพิษณุโลก2 มาผสมกันในสัดส่วน 1 : 1 : 1 จากนั้นนำมาจำลองการปลอมปนโดยการผสมลงในข้าวขาวดอกมะลิ105 ในอัตราส่วนข้าวขาวดอกมะลิ105 ต่อข้าวปลอมปนเท่ากับ 95 : 5 90 : 10 85 : 15 80 : 20 75 : 25 70 : 30 65 : 35 และ 60 : 40 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำมาตรวจสอบหาปริมาณแอมิโลสโดยใช้วิธีการมาตรฐานด้วยการทำให้เกิดสีกับไอโอดีน (Juliano, 1971)

2. ทำการพัฒนาชุดตรวจสอบโดยหาวิธีการที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง เพื่อให้ตัวอย่างสามารถทำปฏิกิริยาเกิดสีที่ชัดเจนโดยสามารถแยกความแตกต่างของสีได้ด้วยสายตา และต้องเป็นวิธีที่สะดวก ถูกต้อง ง่ายและสามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยศึกษาการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดไขมันออกโดยนำตัวอย่างข้าวมาบดให้ละเอียดและสกัดไขมันออกด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ครั้งละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นนำไปทำให้เกิดสีกับสารละลายไอโอดีน การสกัดแอมิโลเพคตินออกบางส่วนด้วยวิธีการตกตะกอน โดยนำตัวอย่างข้าวมาเติมเอธานอลเพื่อตกตะกอนสตาร์ชแยกตะกอนด้วยการปั่นเหวี่ยงนำตะกอนที่ได้มาละลายด้วยไอโซเอมิลแอลกอฮอล์และบิวทานอล ทำการแยกเอาส่วนของแอมิโลเพคตินที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายออกโดยตกตะกอนด้วยเมธานอลและปั่นเหวี่ยงแยกส่วนของตะกอนออก นำส่วนใสไปทำให้เกิดสีกับสารละลายไอโอดีน (รุ่งทิวา วันสุขศรี และคณะ, 2547) และการใช้สารละลายแอมโมเนียมบัฟเฟอร์ pH 9 แทนกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 นอร์มอล (Juliano , 2012)

3. การพัฒนาแถบสี โดยนำตัวอย่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่ปลอมปนด้วยข้าวพันธุ์อื่น มาทำให้เกิดสีกับสารละลายไอโอดีนตามวิธีการที่เลือก มาทำการตรวจวัดค่าสีด้วยโปรแกรม ColorSchemer Studio และ OPenRGB (Michael et al., 2011) จากนั้นนำค่าสีที่ได้สร้างเป็นแถบสีและจัดเรียงด้วยโปรแกรม Photoshop CS

4. นำชุดแถบสีไปทดสอบประสิทธิภาพการใช้งาน โดยใช้ตัวอย่างข้าวขาวดอกมะลิ105 ที่ปลอมปนด้วยข้าวพันธุ์อื่นมาทำการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 2 จากนั้นนำมาทำให้เกิดสีกับสารละลายไอโอดีนแล้วประมาณค่าแอมิโลสของตัวอย่างจากแถบสีที่พัฒนาขึ้น จากนั้นเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธีการหาแอมิโลสโดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ตามวิธีการของ Juliano (1971)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. จากการทดสอบหาปริมาณแอมิโลสในตัวอย่างข้าวจำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ชัยนาท1 ชัยนาท2 และพิษณุโลก2 พบว่ามีปริมาณแอมิโลส เท่ากับร้อยละ 16.66 ± 0.52 29.83 ± 0.98 32.01 ± 0.24 และ 31.63 ± 0.43 ตามลำดับ และเมื่อนำข้าวขาวดอกมะลิ105 มาปลอมปนด้วยข้าวผสมจาก 3 พันธุ์ ได้แก่ข้าวพันธุ์ชัยนาท1 ชัยนาท2 และพิษณุโลก2 ในอัตราส่วนที่ได้อธิบายไปแล้วข้างต้น พบว่าปริมาณแอมิโลสจะเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณการปลอมปนที่เพิ่มขึ้นโดยปริมาณแอมิโลสเฉลี่ยเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 19.08 ± 0.32 เป็นร้อยละ 28.76 ± 0.47

Table 1 Amylose contents of contaminated Thai Hom Mali Rice mixed with other rice varieties

Khaw Dawk Mali 105 : Mixed other rice varieties	Amylose contents (%)
95 : 05	19.08 ± 0.32[a]
90 : 10	20.43 ± 0.16[b]
85 : 15	21.90 ± 0.26[c]
80 : 20	22.85 ± 0.48[d]
75 : 25	23.96 ± 0.50[e]
70 : 30	25.15 ± 0.67[f]
65 : 35	26.46 ± 0.99[g]
60 : 40	28.76 ± 0.47[h]

[a-h] Different superscript letters within column indicate values are significant different at the level of $p<0.05$

2. จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง เพื่อสร้างแถบสีสำหรับตรวจสอบหาปริมาณแอมิโลส พบว่าการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดไขมันออก ทำได้สะดวก และทำให้มองเห็นสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาได้ชัดเจน เนื่องจากการมีไขมันในแป้งข้าวจะทำให้เกิดการรวมตัวของไขมันกับแอมิโลสในแป้งข้าว เกิดเป็นสารเชิงซ้อนของแอมิโลส - ไขมัน (amylose - lipid complex) ซึ่งไม่ละลายน้ำทำให้แอมิโลสจับกับสารละลายไอโอดีนได้ไม่เต็มที่ การสกัดไขมันออกจากตัวอย่างจึงช่วยลดการรบกวนของไขมัน ทำให้โมเลกุลของแอมิโลสจับกับสารละลายไอโอดีนได้ดีขึ้น ทำให้สารละลายที่ได้มีสีแตกต่างกันชัดเจนตามปริมาณแอมิโลสที่มีอยู่ ส่วนการสกัดแอมิโลเพคตินออกบางส่วนเป็นวิธีที่มีหลายขั้นตอนทำให้ใช้เวลานาน สำหรับการใช้สารละลายแอมโมเนียมบัฟเฟอร์ pH 9 แทนกรดแอซิติกความเข้มข้น 1 นอร์มอล นั้นพบว่าสีของสารละลายที่ได้จากปฏิกิริยาไม่มีความแตกต่างกันมากนัก

จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอมิโลสที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างทั้ง 3 วิธีและปริมาณแอมิโลสจากวิธีของ Juliano (1971) นั้นพบว่าวิธีการสกัดไขมันให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มากที่สุด

(R^2 = 0.99) ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดไขมันออกก่อนน่าจะเหมาะสมที่สุดเนื่องจากให้ค่าปริมาณแอมิโลสใกล้เคียงกับวิธีของ Juliano (1971)

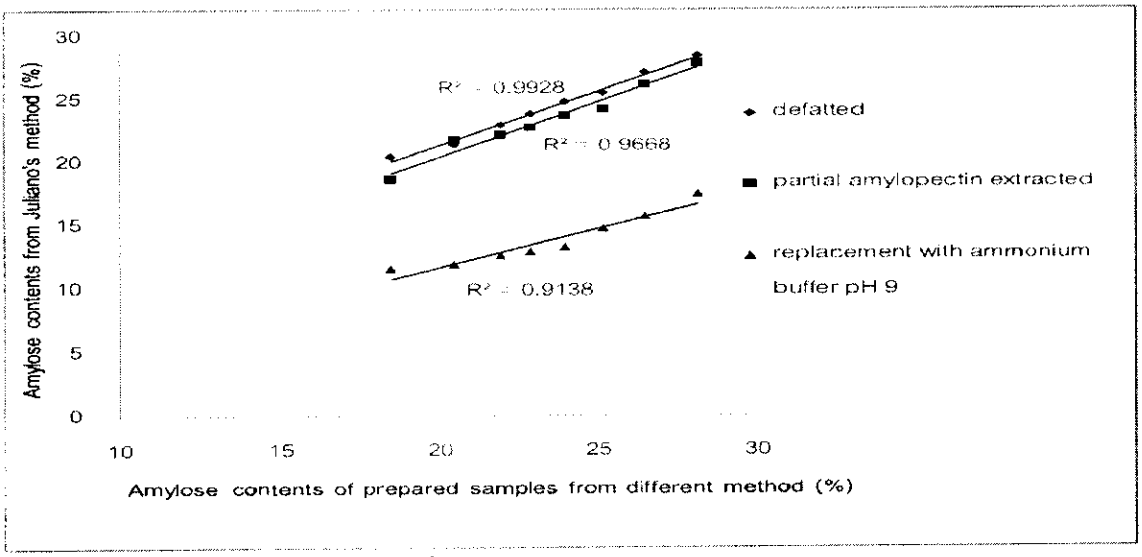


Figure 1 Coefficient of determination (R^2) of amylose contents from Juliano's method and prepared sample from different method.

3. จากการนำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่เลือกจากข้อ 2 มาทำให้เกิดสีกับสารละลายไอโอดีน จากนั้นตรวจวัดค่าสีในระบบ RGB ด้วยโปรแกรม ColorSchemer Studio และ OPenRGB โดยสารละลายดังกล่าวถูกบันทึกภาพในสภาวะที่มีการควบคุมแสงให้สม่ำเสมอ ป้องกันการรบกวนของแสงจากภายนอก จากนั้นนำค่าสีที่ได้มาสร้างเป็นแถบสีซึ่งจัดเรียงด้วยโปรแกรม Photoshop CS แสดงดัง Figure 2 โดยผลของสีจากการสังเกตด้วยตาสามารถแบ่งช่วงของแถบสีได้เป็น 3 ช่วงโดยสีเปลี่ยนจากช่วงแถบสีเทาดำ (ปริมาณแอมิโลสต่ำ ตั้งแต่ร้อยละ 14–18) ซึ่งไม่มีการปลอมปนด้วยข้าวพันธุ์อื่น ไปจนถึงช่วงแถบสีน้ำเงิน (ปริมาณแอมิโลสสูง ตั้งแต่ร้อยละ 26) ซึ่งมีการปลอมปนด้วยข้าวพันธุ์อื่นในปริมาณร้อยละ 30 ขึ้นไป

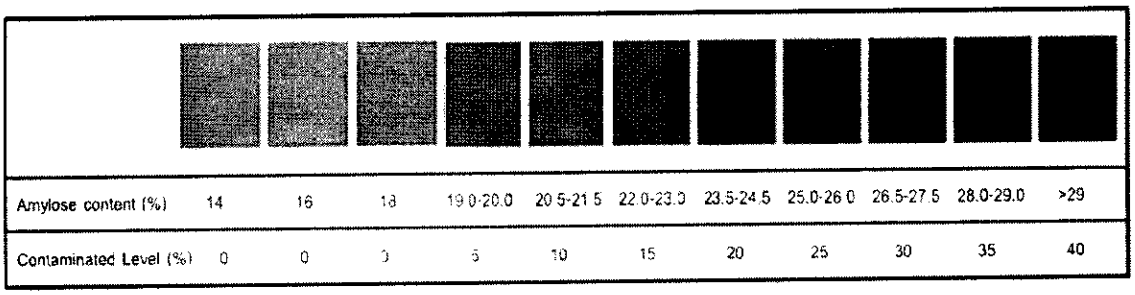


Figure 2 Color chart for determination of contaminated Hom Mali rice

4. จากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้งานของชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น โดยจำลองการปลอมปนในข้าวขาวดอกมะลิ105 ด้วยข้าวพันธุ์อื่นๆ นำมาเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดไขมันออกโดยใช้วิธีการของชุดตรวจสอบ จากนั้นมาทำให้เกิดสีกับสารละลายไอโอดีน รายงานผลเป็นปริมาณแอมิโลสเปรียบเทียบจากแถบสีที่พัฒนาขึ้นตาม Figure 2 กับการหาแอมิโลสตามวิธีการของ Juliano (1971) โดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ พบว่าให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยปริมาณแอมิโลสมีความสัมพันธ์กับระดับการปลอมปน (Figure 3) ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าชุดตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพในการนำไปใช้งาน

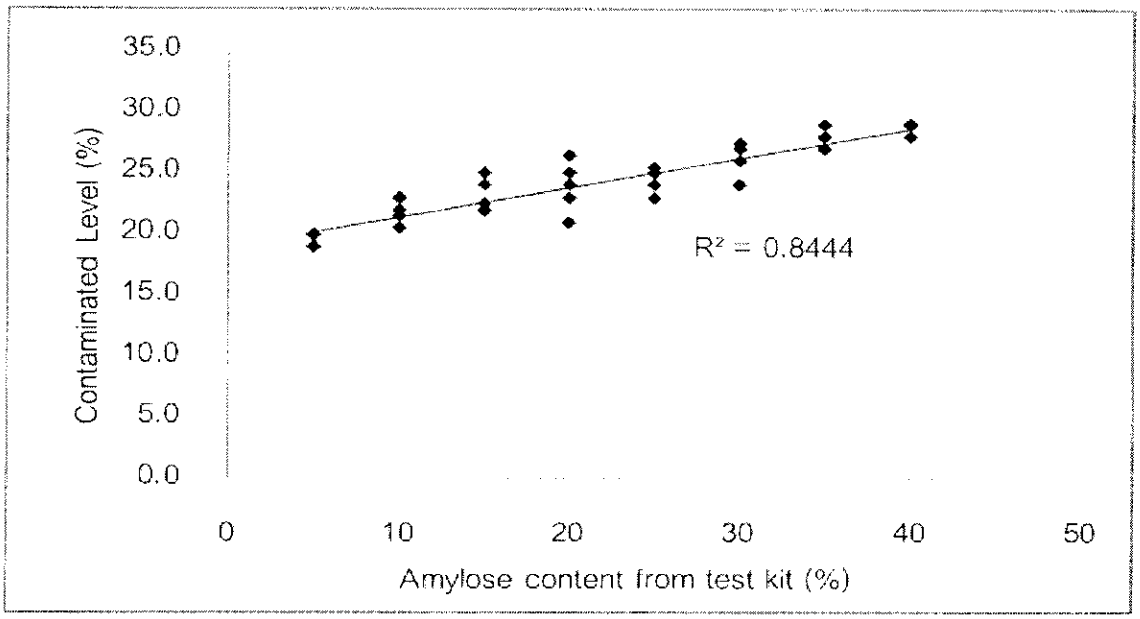


Figure 3 Relationship between amylose content and contaminated level

สรุป

งานวิจัยนี้พัฒนาชุดตรวจสอบการปลอมปนของข้าวหอมมะลิอย่างง่าย โดยอาศัยหลักการเปลี่ยนสีของสารละลายไอโอดีนที่สัมพันธ์กับปริมาณแอมิโลสในตัวอย่าง ได้ชุดตรวจสอบซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดไขมันออกด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ จากนั้นทำให้เกิดสีกับสารละลายไอโอดีนเทียบสีที่ได้กับแถบสีที่พัฒนาขึ้น ทำให้ทราบปริมาณแอมิโลสที่แตกต่างไปจากข้าวหอมมะลิที่ไม่มีการปลอมปน ซึ่งผลการทดสอบประสิทธิภาพการใช้งาน พบว่ามีประสิทธิภาพในการจำแนกปริมาณแอมิโลสได้ โดยในการตรวจสอบการปลอมปนในข้าวหอมมะลิตามมาตรฐานของไทยใช้วิธีการสลายเมล็ดข้าวในด่าง (กระทรวงพาณิชย์, 2549) การย้อมสี การนำมาหุงและทดสอบชิม (งามชื่น, 2547) แต่อย่างไรก็ตามวิธีการที่แม่นยำคือการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DNA (สุภาวดี, 2550) ชุดตรวจสอบที่พัฒนาได้จากงานวิจัยนี้จึงเป็นทางเลือกอย่างหนึ่งในการวิเคราะห์เพื่อการควบคุมคุณภาพ โดยอาจใช้เสริมกับการวิเคราะห์ตามมาตรฐานสำหรับโรงสีหรือโรงงานอุตสาหกรรมที่ต้องการตรวจสอบการปลอมปนของข้าวหอมมะลิ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สัญญาเลขที่ MRG545S060) ประจำปี 2554

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงพาณิชย์. 2549. ประกาศกระทรวงพาณิชย์ เรื่อง กำหนดให้ข้าวหอมมะลิไทยเป็นสินค้ามาตรฐานและมาตรฐานสินค้าข้าวหอมมะลิ.

งามชื่น คงเสรี. 2547. **คุณภาพและการตรวจสอบข้าวหอมมะลิไทย**. กรมวิชาการเกษตร. สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม : 41-61.

รุ่งทิวา วันสุขศรี จุฑามาศ สินศุข นิติ เติมเวศยานนท์ สุนีย์ โชตินีนาท เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ วิไล สันติโสภาศรี และกล้าณรงค์ ศรีรอต. 2547. **สมบัติโครงสร้างของสตาร์ชข้าวไทย 1 : โครงสร้างระดับโมเลกุลของอะมิโลเพคติน**. ในเรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 : สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ : 648-656.

ศิริธร ศิริอมรพรรณ. 2548. รายงานการวิจัยเรื่อง **การวิเคราะห์การปลอมปนของข้าวชนิดอื่นในข้าวหอมมะลิโดยใช้เทคนิคแคลปิลลารีอิเลคโตรโฟรีซีสและการยอมรับทางประสาทสัมผัส**. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

สุภาวดี ง้อเหรียญ หทัยรัตน์ อุไรรงค์ ณัฐหทัย เอพาณิช รุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล และขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์. 2550. **การใช้เทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อการพิสูจน์พันธุ์ข้าวไทยสายพันธุ์ใหม่**. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร.

Gibson, T.S. Solah, V. and McCleary, B.V. 1997. A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with concanavalin A. Journal of Cereal Science. 25 : 111 – 119.

Juliano, B.O. 1971. A simplified assay for milled rice amylose. Cereal Science Today. 16(10) : 334 – 338.

Juliano B.O., Tuaño A. P. P., Monteroso D. N., Aoki N., Mestres C., Duldulao J. B. A., and Bergonio K. B. 2012. Replacement of Acetate with Ammonium Buffer to Determine Apparent Amylose Content of Milled Rice. Cereal Foods World Journal. 57(1) : 1 - 40.

Michael Ronoubigouwa., Ambouroue Avaro., Zhongli Pan., Tomohiko Yoshida. and Yoshiharu Wada. 2011. Two Alternative Methods to Predict Amylose Content of Rice Grain by Using Tristimulus CIE Lab Values and Developing a Specific Color Board of Starch-iodine Complex Solution. Plant Production Science. 14(2) : 164 - 168.

Sievert, D. Holm, J. 1993. Determination of amylose by differential scanning calorimetry. Starch / Starke. 45:136-139.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ - สกุล	นางสาวจรรยา แสงเขียว
วัน เดือน ปีเกิด	31 ธันวาคม 2524
สถานที่เกิด	47 หมู่ 6 ตำบลศีรษะจรเข้น้อย อำเภอบางเสาธง จังหวัดสมุทรปราการ 10540
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	75 / 98 หมู่ 1 หมู่บ้านจุฬาลักษณ์ ตำบลท่าทอง อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2537	โรงเรียนวัดศรีวารีน้อย
พ.ศ. 2543	โรงเรียนเทพศิรินทร์ร่มเกล้า
พ.ศ. 2547	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมแปรรูปอาหาร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2556	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก