

### บทปฏิบัติการที่ 3

#### เรื่อง

#### การศึกษาความข้นหนืดของแป้งสุก

#### และปริมาณอะมิโลสในข้าว

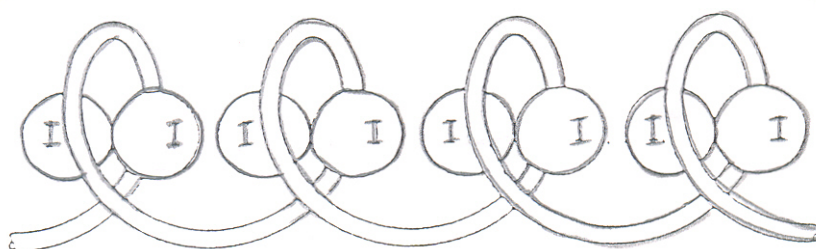
ความข้นหนืดของแป้งสุก (Gel Consistency : GC) เป็นการศึกษาความข้นหนืดของเจลแป้ง โดยการต้มแป้งกับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.2 นอร์มัล ในหลอดทดลอง นำเจลของแป้งที่ใสแล้วมาทำให้เย็น แล้ววางหลอดทดลองในแนวราบ วัดระยะทางที่แป้งไหลไปในระยะเวลา 1 ชั่วโมง ได้เป็นค่า GC ถ้าเจลของแป้งไหลได้ระยะทางน้อยกว่า 40 มิลลิเมตร แสดงว่าเจลของแป้งแข็ง หรือมีความข้นหนืดมาก ข้าวชนิดนี้เมื่อหุงสุกจะมีลักษณะแข็ง (ตารางที่ 3.1) ส่วนใหญ่ใช้ในการเปรียบเทียบลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวในกลุ่มที่มีอะมิโลสสูงเหมือนกัน

#### ตารางที่ 3.1 ความสัมพันธ์ของลักษณะเจลของแป้งสุกและค่า GC

ลักษณะเจลของแป้งสุก (Gel Consistency)	ค่า GC หรือ ระยะทางที่เจลไหล (มิลลิเมตร)
แข็ง (Hard)	26-40
ปานกลาง (Medium)	41-60
อ่อน (Soft)	61-100

อะมิโลส (amylose) เป็นโพลีเมอร์สายตรง โดยโมโนเมอร์ คือ กลูโคสจะเรียงต่อกันเป็นเส้นตรงด้วยพันธะแอลฟา 1,4 กลูโคซิดิก ปริมาณอะมิโลสขึ้นอยู่กับชนิดของแป้ง เช่น แป้งข้าวโพด มีอะมิโลสประมาณ ร้อยละ 28 ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณอะมิโลสในแป้ง

อะมิโลสสามารถทำปฏิกิริยากับไอโอดีนและสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ บิวทานอล กรดไขมัน ฟีนอล สารลดแรงตึงผิว และไฮโดรคาร์บอน ได้สารประกอบเชิงซ้อนซึ่งไม่ละลายน้ำ โดยอะมิโลสจะอยู่ในรูป helix coil ล้อมรอบสารประกอบอินทรีย์เหล่านี้ ดังภาพ



ภาพที่ 3.1 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอะมิโลสกับไอโอดีน

สารประกอบเชิงซ้อนของอะมิโลสและไอโอดีนจะให้สีน้ำเงิน ซึ่งสามารถนำมาใช้วิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสได้โดยวิธีการวัดสี (Colorimetric methods) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสได้ก็สามารถบอกปริมาณอะมิโลเพกตินโดยการหักลบกัน เนื่องจากปริมาณอะมิโลสและอะมิโลเพกตินรวมกันจะเท่ากับหรือมากกว่าร้อยละ 99 ของน้ำหนักแห้งของแป้ง

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความเข้มข้นของแป้งข้าวสุก
2. เพื่อจำแนกชนิดของข้าว
3. เพื่อศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลส
4. เพื่อศึกษาปริมาณอะมิโลสในข้าวชนิดต่างๆ

## การศึกษาความข้นหนืดของแป้งสุก (Gel Consistency)

### วัสดุอุปกรณ์

1. ข้าวสารพันธุ์ต่างๆ
2. เครื่องบดละเอียด (hammer mill)
3. ตะแกรง ขนาด 100 เมช
4. หลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิเมตร
5. หลุกแก้วปิดปากหลอด
6. เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer)
7. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
8. น้ำแข็ง

### สารเคมี

1. ไทมอลบลู 0.025% ในเอทานอล 95% (ethanol 95% with thymol blue 0.025% (w/v))
2. โพลแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.2 นอร์มัล

### วิธีการ

1. ชั่งแป้งข้าวที่ได้จากการบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรง 100 เมช ปริมาณ 0.10 กรัม ในหลอดทดลอง
2. เติมไทมอลบลู 0.025% ในเอทานอล 95% 0.2 มิลลิลิตร และโพลแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.2 นอร์มัล
3. ปั่นให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าสาร นานประมาณ 1 นาที แล้ววางหลอดทดลองในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (100 °ซ) ปิดปากหลอดด้วยหลุกแก้ว
4. ต้ม 8 นาที นำไปปั่นอีกครั้ง แล้วแช่ในน้ำเย็นที่มีน้ำแข็งนาน 20 นาที

5. นำไปวางในแนวราบบนกระดาษ 30 นาที
6. วัดค่าระยะทางที่แป้งไหลไป เปรียบเทียบกัน
7. จำแนกประเภทข้าวดังนี้
  - 7.1 very flaky rices with high gel consistency (length : less than 40 mm.)
  - 7.2 flaky rices with medium gel consistency (length : 40-60 mm.)
  - 7.3 soft rices with low gel consistency (length : over 60 mm.)
8. รายงานผลการทดลอง สรุป และ วิเคราะห์

### การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในข้าว

#### วัสดุอุปกรณ์

1. ข้าวสารพันธุ์ต่างๆ
2. เครื่องบดละเอียด (hammer mill)
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
4. Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิเมตร 8 ใบ
5. ปิเปต 1, 5, 10 มิลลิเมตร อย่างละ 2 อัน
6. UV Spectrophotometer

#### สารเคมี

1. เอทานอล 95%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล
3. กรดอะซิติก 1 นอร์มัล
4. สารละลายไอโอดีน (ไอโอดีน 2 กรัม และโพแทสเซียมไอโอไดด์ 20 กรัม ละลายในน้ำ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร)
5. อะมิโลสบริสุทธิ์

## วิธีการ

1. ชั่งแป้งข้าวที่ได้จากการบดละเอียดแล้ว 100 มิลลิกรัม (ความละเอียด 100 เมช) ใส่ใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร
2. เติมเอทานอล 95% 1 มิลลิลิตร หมุน flask เบาๆ ให้แป้งกระจายตัว
3. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล ปริมาณ 9 มิลลิลิตร
4. ต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (น้ำเดือด) 10 นาที ทำให้เย็น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยน้ำกลั่น
5. นำสารละลายแบ่งมาทำปฏิกิริยาให้เกิดสี โดยดูดน้ำแป้งมา 5 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric Flask 100 มิลลิลิตรซึ่งมี กรดอะซิติก 1 นอร์มัล ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และ สารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร
6. ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที
7. ทำแบลนด์ด้วยสารเคมี ตามขั้นตอน ข้อ 2-6
8. ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที
9. อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร
10. เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงจากกราฟมาตรฐาน เพื่อให้ทราบปริมาณอะมิโลสของตัวอย่างดังกล่าว

## การทำกราฟมาตรฐาน (Standard Curve)

1. ชั่งอะมิโลสบริสุทธิ์ 40 มิลลิกรัม ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์อะมิโลสในตัวอย่าง ตั้งแต่ข้อ 2-4
2. ปิเปตสารละลายอะมิโลสมาตรฐาน ใส่ใน Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ
3. เติมกรดอะซิติก 1 นอร์มัล ปริมาณ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ
4. เติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร
5. ปรับปริมาตร เป็น 100 มิลลิลิตรโดยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ 20 นาที
6. อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร
7. นำค่าการดูดกลืนแสงมาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับร้อยละของปริมาณอะมิโลส

**ผลการทดลอง**

**ผลการศึกษาค่าความชื้นหนืดของแป้งสูก**

**ตารางที่ 3.2** ค่า Gel consistency ของแป้งข้าวเจ้าตัวอย่าง

ข้าวสารพันธุ์ .....

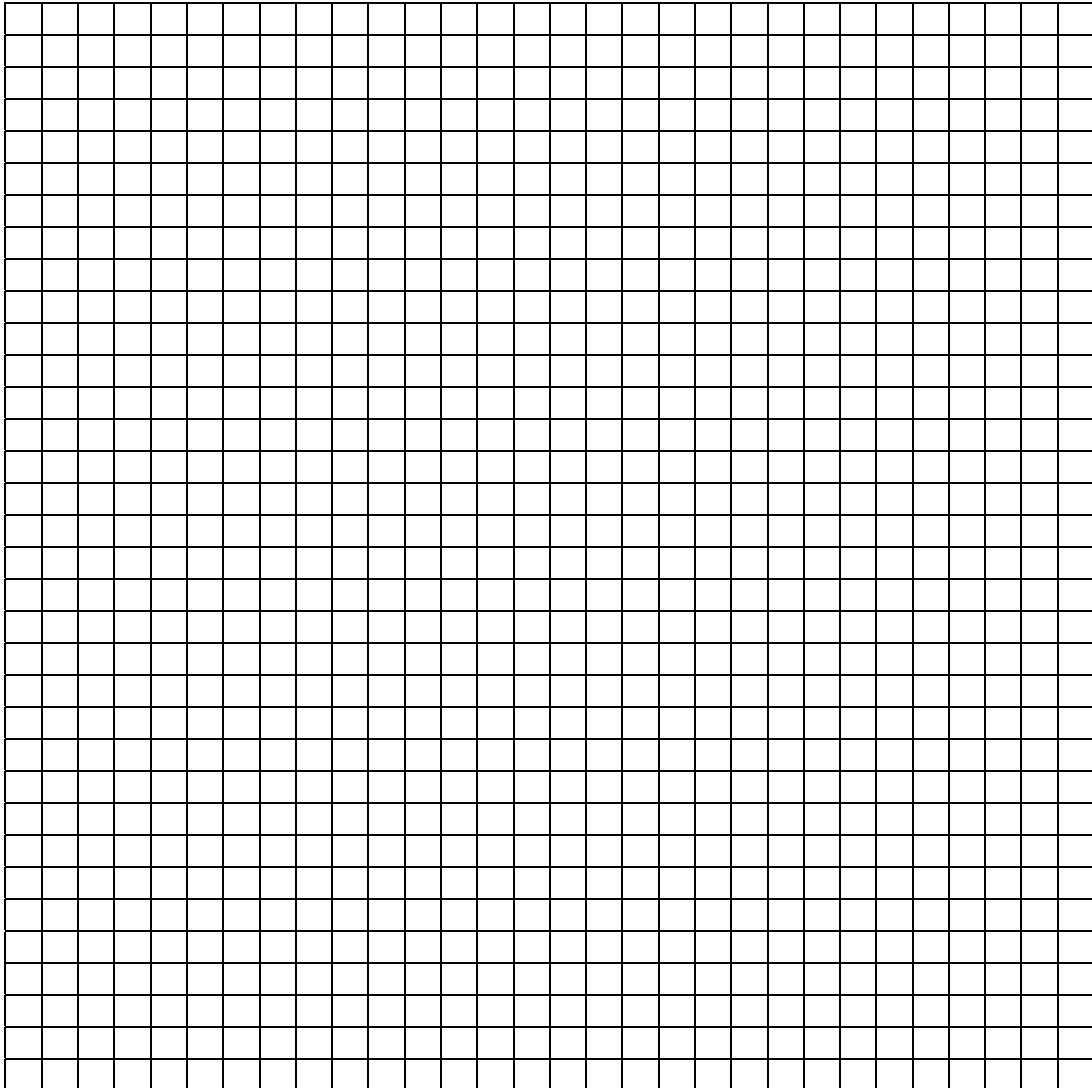
หลอดที่	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ไป (มิลลิเมตร)
1	
2	
3	
เฉลี่ย	

ลักษณะเจลของแป้งสูกเป็นแบบ .....

**ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในข้าว**

**ตารางที่ 3.3** ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอะมิโลสมาตรฐาน

ร้อยละของอะมิโลส	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร
8	
16	
24	
32	
40	



**ภาพที่ 3.2** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณอะมิโลส

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร ที่อ่านได้ มาเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงจากกราฟมาตรฐาน เพื่อให้ทราบปริมาณอะมิโลสของตัวอย่างดังกล่าว

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำแป้งตัวอย่าง เท่ากับ.....

ร้อยละของอะมิโลสในแป้งข้าวเจ้าที่อ่านได้จากกราฟ เท่ากับ.....

**วิจารณ์ผลการทดลอง**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

**สรุปผลการทดลอง**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....