

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

ขอบเขตงานวิจัย

ส่วนที่ 1 ความถูกต้อง (accuracy) และความแม่นยำ (precision) ของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่งน้ำนม

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวและแป้งข้าว ซึ่งเกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินผลที่สำคัญคือ ปริมาณธาตุเหล็กที่มีในเมล็ดข้าวและแป้งข้าวหลังจากการเสริมธาตุเหล็ก ดังนั้นความถูกต้องและความแม่นยำของการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กจึงมีความสำคัญต่องานวิจัยนี้ ด้วยเหตุนี้จึงต้องทำการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็ก โดยใช้ตัวอย่างน้ำนมที่มีการระบุปริมาณธาตุเหล็ก เพื่อตรวจสอบความถูกต้องและความแม่นยำก่อนทำการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวและแป้งข้าวต่อไป ในการทดลองได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่งน้ำนมตรา Alacta-NF เพื่อหาความถูกต้องและความแม่นยำ และทำการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่งน้ำนมตรา Alacta-NF ที่มีการเติมสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulfate) ที่ทราบปริมาณธาตุเหล็กที่แน่นอน เพื่อหา %Recovery ของการวิเคราะห์

ส่วนที่ 2 การเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบด้วยเจลแป้งข้าว

งานวิจัยในส่วนนี้เป็นการศึกษาเพื่อประเมินพันธุ์ข้าวและชนิดของเหล็กที่เหมาะสมสำหรับการเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบด้วยเจลแป้งข้าว ขั้นตอนการวิจัยแสดงในรูปที่ 3.1

ส่วนที่ 3 การเสริมธาตุเหล็กในแป้งข้าวและผลิตภัณฑ์จากแป้งเสริมธาตุเหล็ก

งานวิจัยในส่วนนี้เป็นการศึกษาเพื่อประเมินชนิดของเหล็กที่เหมาะสมสำหรับการเสริมธาตุเหล็กในแป้งข้าวเจ้า โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บ และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากแป้งเสริมธาตุเหล็ก ขั้นตอนการวิจัยแสดงในรูปที่ 3.2

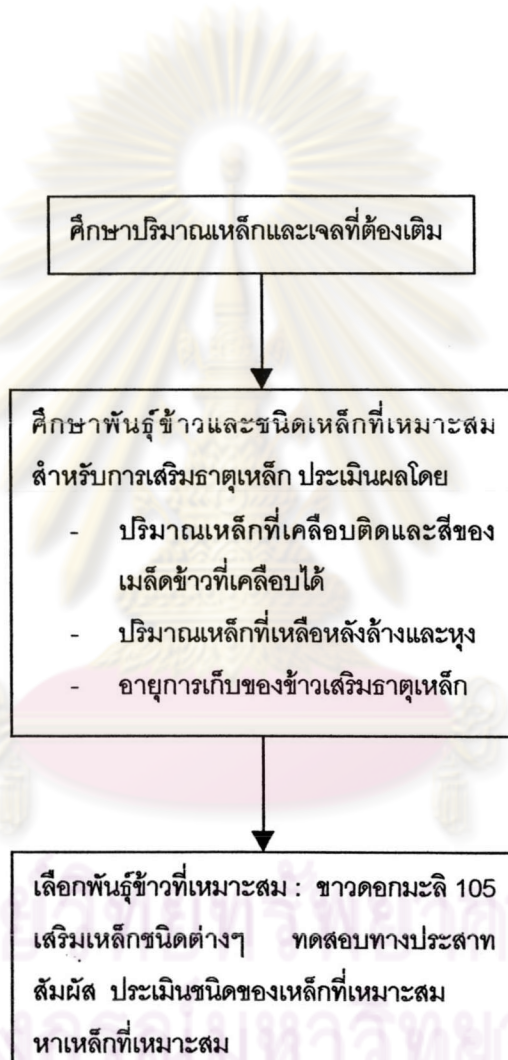
ส่วนที่ 4 การเสริมธาตุเหล็กร่วมกับไอโอดีนในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบด้วยเจลแป้งข้าว

ทำการศึกษาการเสริมธาตุเหล็กร่วมกับไอโอดีนในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบด้วยเจลแป้งข้าว โดยใช้พันธุ์ข้าวและชนิดเหล็กที่เหมาะสมในการเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวจากส่วนที่ 2 และใช้ไอโอดีนในรูปของโพแทสเซียมไอโอเดต (potassium iodate) โดยเติมลงในเจลแป้งข้าวพร้อม

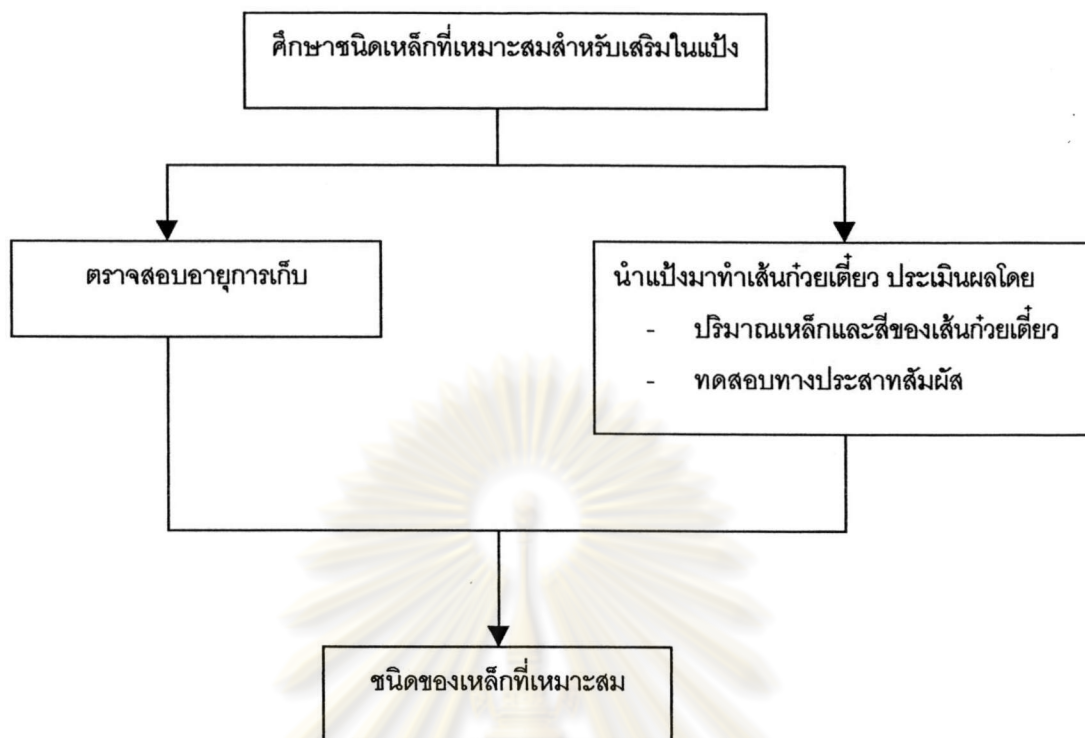
กับการเติมเหล็ก ก่อนนำไปเคลือบ นำข้าวที่เคลือบได้มาวิเคราะห์หาความชื้น ปริมาณเหล็ก ปริมาณไอโอดีน และวัดสีด้วยเครื่อง colorimeter

ส่วนที่ 5 ประสิทธิภาพการดูดซึม (bioavailability) ของข้าวเสริมไอโอดีน

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาอัตราการดูดซึมของไอโอดีนจากข้าวเสริมไอโอดีนโดยวิธีรับประทานในผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพดีจำนวน 10 ราย เป็นเพศชาย 5 ราย และเพศหญิง 5 ราย อายุระหว่าง 20-59 ปี



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการวิจัยเพื่อประเมินพันธุ์ข้าวและชนิดของเหล็กสำหรับการเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการวิจัยเพื่อหาชนิดของเหล็กที่เหมาะสมสำหรับการเสริมธาตุเหล็กในแป้งข้าวเจ้า

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่างน้ำนม

3.1.1 ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก

ตัวอย่างน้ำนมคือนรูปชนิดธรรมดาพร้อมดื่มยูเอชที รสจืด ตรา Alacta-NF ปริมาตรสุทธิ 180 มิลลิลิตร List No. 9897-22 โดยมีปริมาณธาตุเหล็กตามข้อมูลทางโภชนาการที่ระบุไว้ข้างกล่องคิดเป็นร้อยละ 20 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน เหมาะสำหรับเด็กวัย 1 ขวบขึ้นไป เด็กวัยเรียนและทุกคนในครอบครัว ซึ่งตามข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย (RDA) (กรมอนามัย, 2532) กำหนดว่า เด็กอายุ 1-3 ปี ต้องการธาตุเหล็กจำนวน 10 มิลลิกรัมต่อวัน ดังนั้นในน้ำนม 1 กล่อง จะมีธาตุเหล็กเท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อ 180 มิลลิลิตร นำตัวอย่างน้ำนมมาวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กจำนวน 8 ข้าง โดยย่อยตัวอย่างแบบ wet digestion (AOAC, 1995) แล้ววัดปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ยี่ห้อ

Varian รุ่น SpectrAA 300 ที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร (รายละเอียดการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กและการเตรียมสารละลายมาตรฐานแสดงในภาคผนวก ค) เพื่อหาความถูกต้องและความแม่นยำ โดยใช้ดัชนีที่วัดความแม่นยำในรูปของสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก โดยคำนวณจากสูตรดังนี้

$$\begin{aligned} \% \text{ความถูกต้อง} &= \frac{\text{ปริมาณเหล็กที่วัดได้}}{\text{ปริมาณเหล็กที่มีอยู่จริง}} \times 100 \\ \% \text{CV}^* &= \frac{\text{SD}}{\text{Mean}} \times 100 \end{aligned}$$

*CV คือ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of variation) หรือ Relative standard deviation

3.1.2 %Recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก

ตัวอย่างน้ำนมคั้นรูปชนิดธรรมชาติพร้อมดีมยูเอชที รสจืด ตรา Alacta-NF ปริมาตรสุทธิ 180 มิลลิลิตร List No. 9897-22 โดยมีปริมาณธาตุเหล็กตามข้อมูลทางโภชนาการที่ระบุไว้ข้างกล่องคิดเป็น 2 มิลลิกรัมต่อ 180 มิลลิลิตร มาเติมสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต โดยคิดเทียบให้มีปริมาณเหล็กที่เติมในน้ำนมเท่ากับ 0.0196 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 3.53 มิลลิกรัมต่อ 180 มิลลิลิตร แล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณเหล็กทั้งหมดในตัวอย่างจำนวน 8 ขั้ว และหา %Recovery ของการวิเคราะห์โดยคำนวณจากสูตรดังนี้

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{ปริมาณเหล็กที่พบ}^*}{\text{ปริมาณเหล็กที่เติม}} \times 100$$

*ปริมาณเหล็กที่พบ คือ ปริมาณเหล็กทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้หลังจากการเติมสารละลายเหล็ก ลบด้วยปริมาณเหล็กที่มีอยู่แล้วในตัวอย่าง

3.2 การเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบด้วยเจลแบ่งข้าว

ในงานวิจัยนี้ได้เสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวให้มีปริมาณธาตุเหล็ก 2 ใน 3 ของ RDA ซึ่งปริมาณธาตุเหล็กที่ควรได้รับประจำวันอยู่ในช่วง 6-15 มิลลิกรัม (กรมอนามัย, 2532) โดยคิดที่ 15 มิลลิกรัม และปริมาณข้าวสารเฉลี่ยที่บริโภคเท่ากับ 308 กรัมต่อวัน (Florentino และ Pedro,

1998) โดยคิดที่ประมาณ 300 กรัมต่อวัน ดังนั้นปริมาณเหล็กที่ต้องการให้มีในข้าวเสริมธาตุเหล็ก คิดเป็น $2/3 \times 15$ เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อข้าว 300 กรัม หรือ 3.33 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม

3.2.1 ศึกษาองค์ประกอบในข้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

วัตถุดิบข้าวที่ใช้ในงานวิจัยคือ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวกล้องงอกสกัด นำมาวิเคราะห์หาความชื้น ปริมาณเหล็ก และวัดค่าสีในระบบ Hunter Lab ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าสีที่วัดได้มาคำนวณดัชนีความขาว (white index) ตามวิธีของ Chen, Lu และ Lii (1999) ดังนี้

$$\text{ดัชนีความขาว} = 100 - \sqrt{(100-L)^2 + a^2 + b^2}$$

3.2.2 การเตรียมเจลแป้งข้าวเพื่อใช้เป็นสารเคลือบ

ในงานวิจัยได้ใช้ข้าวที่ต้องการเสริมธาตุเหล็กมาบดโดยใช้เครื่องบดแป้ง (stone mill) แล้วนำข้าวที่บดละเอียดมาร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 100 mesh (Pratama et al., 1997) นำแป้งส่วนที่ร่อนผ่านตะแกรงร่อนมาใช้เตรียมสารละลายน้ำแป้งให้มีความเข้มข้นร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) (ชุตติมา อัครเสถียร, 2543) จากนั้นนำสารละลายแป้งมาให้ความร้อนและคนอย่างต่อเนื่องจนสารละลายมีอุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส ให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3.2.3 การเคลือบข้าวเสริมธาตุเหล็ก (ดัดแปลงจากวิธีของ Peil et al., 1982)

ซึ่งสารละลายเจลแป้งข้าวที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.2 แล้วเติมสารประกอบเหล็กลงในเจลแป้งข้าว ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเทใส่เมล็ดข้าวที่อยู่ในหม้อเคลือบ (coating pan) ที่หมุนได้ด้วยความเร็ว 40 รอบต่อนาที เปิดเครื่องเคลือบให้ข้าวผสมกับเจลแป้งข้าวเป็นเวลา 1 นาที แล้วเป่าด้วยลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส จนข้าวมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 14 เคลือบเมล็ดข้าวซ้ำอีกครั้งตามวิธีข้างต้น โดยใช้เจลแป้งข้าวเพียงอย่างเดียวเพื่อเป็นการปิดชั้นเคลือบ

3.2.4 ปริมาณที่เหมาะสมของธาตุเหล็กและเจลแป้งข้าวที่ใช้ผลิตข้าวเสริมธาตุเหล็ก

ในการผลิตข้าวเสริมธาตุเหล็กนั้น จะมีการสูญเสียธาตุเหล็กไประหว่างการผสมข้าวและเจลแป้งข้าว ดังนั้นจึงต้องศึกษาหาปริมาณธาตุเหล็กที่เติมและปริมาณเจลแป้งข้าวที่เหมาะสมเพื่อให้ข้าวเสริมธาตุเหล็กที่ได้มีปริมาณธาตุเหล็ก 3.33 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม (2 ใน

3 ของ RDA) โดยทดลองใช้ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และสารประกอบเฟอร์ริสซัลเฟต วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด 2x3 ทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Cochran และ Cox, 1992) โดยแปรการทดลองดังนี้

ก.ปริมาณธาตุเหล็กที่เติม จากการศึกษาของ Peil et al. (1982) ที่ทดลองเคลือบธาตุเหล็กและสารอาหารชนิดอื่นบนเมล็ดข้าว โดยเติมเหล็กจำนวน 4,000 มิลลิกรัมต่อปอนด์ พบว่ามีปริมาณเหล็กที่เคลือบติดบนเมล็ดข้าว 2,590 มิลลิกรัมต่อปอนด์ หรือเท่ากับร้อยละ 64.66 ดังนั้นในการทดลองเบื้องต้นของงานวิจัยนี้ได้ทดลองเติมเหล็กลงไปเพิ่มจากปริมาณที่ต้องการให้เคลือบติดบนเมล็ดข้าวอีกร้อยละ 40 พบว่าปริมาณธาตุเหล็กที่เคลือบติดบนเมล็ดข้าวมีมากกว่าปริมาณที่ต้องการ ดังนั้นจึงได้ทดลองหาปริมาณเหล็กที่เหมาะสม โดยลดปริมาณเหล็กที่ต้องเติมลง 2 ระดับ คือ

- ระดับที่ 1 เท่ากับ 120% ของ 2 ใน 3 RDA คำนวณได้ตามสูตรดังนี้
(ปริมาณเหล็กที่ต้องการ - ปริมาณเหล็กที่มีในข้าว) \times (120/100)
ดังนั้นปริมาณธาตุเหล็กที่ต้องเติมเท่ากับ $(3.333-0.281) \times 120/100$ คิดเป็น 3.659 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม
- ระดับที่ 2 เท่ากับ 130% ของ 2 ใน 3 RDA ปริมาณเหล็กที่ต้องเติมเท่ากับ $(3.333-0.281) \times 130/100$ คิดเป็น 3.965 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม

ข.ปริมาณเจลที่ใช้ต่อปริมาณข้าว จากการทดลองเคลือบข้าวเบื้องต้น โดยใช้ปริมาณเจลต่อข้าวเป็น 20:100 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) (ฐติมา อัสวเสถียร, 2543) พบว่า เมล็ดข้าวที่เคลือบได้มีรอยร้าวและแตกหักมาก เนื่องจากต้องใช้เวลาในการทำแห้งเป็นเวลานาน ดังนั้นในการทดลองนี้ได้ลดปริมาณเจลที่ใช้ต่อปริมาณข้าวเป็น 3 ระดับ คือ 5:100 10:100 15:100 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

ทำการประเมินผลโดย

(1) วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 44-15A (1995) แสดงดังภาคผนวก ข

(2) วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในข้าวหลังเคลือบ โดยใช้วิธีการย่อยตัวอย่างแบบ wet digestion (AOAC, 1995) แล้ววัดปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร แสดงดังภาคผนวก ค

3.2.5 ปริมาณเหล็กและองค์ประกอบอื่นของข้าวเสริมธาตุเหล็ก

จากผลการศึกษานหาปริมาณเหล็กและปริมาณเจลที่เหมาะสมสำหรับการเคลือบข้าว (ข้อ 3.2.4) นำตัวอย่างข้าวสารตัวอย่างละ 1,500 กรัม มาเสริมธาตุเหล็กโดยการเคลือบด้วยเจลแบ่งข้าวตามข้อ 3.2.2 และ 3.2.3 โดยแปรการทดลองดังนี้

ก. พันธุ์ข้าวที่ใช้ คือ ข้าวดอกมะลิ 105 และก่ำดอยสะเก็ด

ข. ชนิดของสารประกอบเหล็กที่ใช้ 3 ชนิดคือ เพอร์ริสซัลเฟต (FS) เพอร์ริกไฟโรฟอสเฟต (FP) และ ไอร์รอนไกลซีน (IG) รายละเอียดของสารประกอบเหล็กดูในภาคผนวก ก

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด 2x3 ทดลอง 3 ซ้ำ ประเมินผลโดย

(1) วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 44-15A (1995) แสดงดังภาคผนวก ข

(2) วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในข้าวหลังเคลือบ โดยใช้วิธีการย่อยตัวอย่างแบบ wet digestion (AOAC, 1995) แล้ววัดปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร แสดงดังภาคผนวก ค

(3) วัดค่าสีในระบบ Hunter Lab ด้วยเครื่องวัดสี Minolta-CR300 ในแต่ละซ้ำจะวัดสี 4 จุด แล้วคำนวณดัชนีความขาว

(4) วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในข้าวหลังล้าง (วิธีการล้างข้าวตามวิธีของ Hettiarachchy, Gnanasambandam และ Lee, 1996 แสดงดังภาคผนวก จ) โดยใช้วิธีการย่อยตัวอย่างแบบ wet digestion (AOAC, 1995) แล้ววัดปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer แสดงดังภาคผนวก ค

(5) วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในข้าวหลังหุง โดยใช้วิธีการย่อยตัวอย่างแบบ wet digestion (AOAC, 1995) แล้ววัดปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer แสดงดังภาคผนวก ค

3.2.6 ทำการศึกษาอายุการเก็บของข้าวเสริมธาตุเหล็ก

นำตัวอย่างข้าวเสริมธาตุเหล็กมาบรรจุในถุง cast polypropylene (CPP) หนา 60 ไมโครเมตร แล้วนำมาเก็บที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 เดือน ปัจจัยที่ศึกษาคือ พันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ ชนิดของเหล็ก 3 ชนิด และระยะเวลาการเก็บ ประเมินผลโดย

(1) วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 44-15A (1995) แสดงดังภาคผนวก ข

(2) วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในข้าวเคลือบ โดยใช้วิธีการย่อยตัวอย่างแบบ wet digestion (AOAC, 1995) แล้ววัดปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร แสดงดังภาคผนวก ค

(3) วัดค่าสี Lab ด้วยเครื่องวัดสี Minolta-CR300 ในแต่ละซ้ำทำการวัดสี 4 จุด แล้วคำนวณดัชนีความขาว

จากข้อ (1)-(3) สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุก 1 เดือน จำนวน 10 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด $2 \times 3 \times 10$ ทดลอง 2 ซ้ำ

(4) วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) (วิธีการสกัดไขมันดัดแปลงจาก Yasumatsu และ Moritaka, 1964; Vasanthan และ Hoover, 1992 ส่วนวิธีวิเคราะห์ใช้วิธีของ Low และ Ng, 1987 แสดงดังภาคผนวก ง) สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุก 2 เดือน จำนวน 6 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด $2 \times 3 \times 6$ ทดลอง 2 ซ้ำ

จากผลที่ได้จากการศึกษาปริมาณเหล็กและองค์ประกอบอื่นของข้าวเสริมธาตุเหล็ก รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บ (ข้อ 3.2.5 -3.2.6) นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Cochran และ Cox, 1992) ประเมินพันธุ์ข้าวและชนิดของสารประกอบเหล็กที่เหมาะสมในการเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว

3.2.7 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวเสริมธาตุเหล็ก

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทางด้านสี กลิ่น และรสชาติของข้าวขาวดอกมะลิ 105 หุงสุกที่เคลือบด้วยเฟอร์รัสซัลเฟต (FS) เฟอร์ริกไพโรฟอสเฟต (FP) ไอร์รอนไกลซีน (IG) และมีข้าวขาวดอกมะลิ 105 หุงสุกที่ไม่ได้เคลือบธาตุเหล็กเป็น control โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน และใช้แบบทดสอบชนิด Quantitative Descriptive Analysis โดยการให้คะแนนในช่วง 1-9 (ดัดแปลงจาก งามชื่น คงเสรี, สุนันทา วงศ์ปิยชน และพูลศรี สว่างจิต, 2542) ตัวอย่างแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ฉ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Cochran และ Cox, 1992) ประเมินชนิดของสารประกอบเหล็กที่เหมาะสมในการเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว

3.3 การเสริมธาตุเหล็กในแป้งข้าวเจ้า

ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองเสริมธาตุเหล็กในแป้งข้าวเจ้า ให้มีปริมาณธาตุเหล็กอย่างน้อย 4.41 มิลลิกรัมต่อแป้ง 100 กรัม อ้างอิงตาม U.S. CFR 137.165 (1992) ซึ่งเป็นปริมาณธาตุเหล็กที่เสริมในแป้งสาลี โดยนำแป้งมาผสมกับสารประกอบเหล็ก แล้วนำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 70 mesh จำนวน 4 ครั้ง ปริมาณธาตุเหล็กที่ต้องเติมคำนวณได้ตามสูตรดังนี้ (ดัดแปลงจาก Ranum, 1980)

$$A = 1.15 (R - Fe_x + S)$$

โดย A = ปริมาณเหล็กที่ต้องเติมในแป้ง
 R = ปริมาณเหล็กที่ต้องการ
 Fe_x = ปริมาณเหล็กเฉลี่ยที่มีอยู่แล้วในแป้ง
 S = standard deviation ของ Fe_x
 1.15 = ปริมาณเหล็กที่เติมลงในแป้งเพิ่มอีกร้อยละ 15

ซึ่งตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นแป้งข้าวเจ้าชนิดโม่น้ำ ตราช้างสามเศียร ซึ่งมีปริมาณเหล็กเฉลี่ย 1.025 มิลลิกรัมต่อแป้ง 100 กรัม และ $S = 0.076$ ดังนั้น

$$A = 1.15 (4.41 - 1.025 + 0.076) = 3.980 \text{ มิลลิกรัมต่อแป้ง 100 กรัม}$$

ในการวิจัยได้แปรชนิดของสารประกอบเหล็กที่ใช้คือ เฟอร์รัสซัลเฟต (FS) เฟอร์ริกไฟโรฟอสเฟต (FP) และไอร์ออนไกลซีน (IG) โดยมีแป้งที่ไม่ได้เสริมธาตุเหล็กเป็น control

3.3.1 อายุการเก็บของแป้งข้าวเจ้าเสริมธาตุเหล็ก

นำตัวอย่างแป้งเสริมธาตุเหล็กมาเก็บที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 เดือน ประเมินผลโดย

(1) วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 44-15A (1995) แสดงดังภาคผนวก ข

(2) วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในแป้ง โดยใช้วิธีการย่อยตัวอย่างแบบ wet digestion (AOAC, 1995) แล้ววัดปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer แสดงดังภาคผนวก ค

(3) วัดค่าสี Lab ด้วยเครื่องวัดสี Minolta-CR300 ในแต่ละซ้ำทำการวัดสี 4 จุด แล้วคำนวณดัชนีความขาว

จากข้อ (1)-(3) สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุก 1 เดือน จำนวน 10 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด 4x10 ทดลอง 2 ซ้ำ

(4) วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) (วิธีการสกัดไขมันดัดแปลงจาก Yasumatsu และ Moritaka, 1964; Vasanthan และ Hoover, 1992 ส่วนวิธีวิเคราะห์ใช้วิธีของ Low และ Ng, 1987 แสดงดังภาคผนวก ง) สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุก 2 เดือน จำนวน 6 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด 4x6 ทดลอง 2 ซ้ำ

3.3.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของแป้งเสริมธาตุเหล็ก

ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของแป้งทางด้านสี กลิ่นของแป้งที่เก็บไว้ 0 5 และ 9 เดือน โดยให้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน และใช้แบบทดสอบชนิด Quantitative Descriptive Analysis โดยการให้คะแนนในช่วง 1-5 รายละเอียดคะแนนของแต่ละคุณลักษณะ แสดงในภาคผนวก ฉ (ดัดแปลงจาก Harrison et al., 1976) วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial with Complete Block ขนาด 4x3

3.3.3 การประเมินคุณภาพของเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ผลิตจากแป้งข้าวเจ้าเสริมธาตุเหล็ก

3.3.3.1 กรรมวิธีการผลิตก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้ง

ทำการผสมแป้งข้าวเจ้าที่ไม่ได้เสริมธาตุเหล็กและแป้งที่เสริมเฟอร์รัสซัลเฟต เฟอร์ริกไพโรฟอสเฟต หรือไอร์ออนไกลซีน กับน้ำให้มีความเข้มข้นร้อยละ 30-40 นำน้ำแป้งไปเทให้เป็นแผ่นบางพร้อมกับให้ความร้อนด้วยไอน้ำเพื่อให้แป้งสุกเป็นเวลาประมาณ 1-2 นาที จากนั้น ผึ่งแผ่นแป้งที่สุกแล้วเพื่อลดความชื้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง จึงนำไปตัดให้เป็นเส้น ก่อนตัดให้ทาน้ำมันพืชที่แผ่นแป้งเพื่อไม่ให้เส้นติดกัน จากนั้นนำไปผึ่งแดดให้แห้ง 3-4 ชั่วโมง

3.3.3.2 องค์ประกอบของเส้นก๋วยเตี๋ยวเสริมธาตุเหล็ก

นำเส้นก๋วยเตี๋ยวที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.3.1 มาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณเหล็ก และวัดค่าสี (Lab) แล้วคำนวณดัชนีความขาว ทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.3.3.3 ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเส้นก๋วยเตี๋ยวทางด้านสี กลิ่น และรสชาติ โดยให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน และใช้แบบทดสอบชนิด Quantitative Descriptive Analysis โดยการให้คะแนนในช่วง 1-4 สำหรับวิธีการเตรียมตัวอย่างเส้นก๋วยเตี๋ยว

ก่อนนำมาทดสอบอ้างอิงตาม มอก. 959-2533 ส่วนตัวอย่างแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ข
วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design

จากผลการศึกษาอายุการเก็บและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของแป้งเสริมธาตุเหล็ก รวมทั้งคุณภาพของเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ทำจากแป้งเสริมธาตุเหล็ก (ข้อ 3.3.1-3.3.3) นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Cochran และ Cox, 1992) ประเมินชนิดของสารประกอบเหล็กที่เหมาะสมสำหรับการเสริมธาตุเหล็กในแป้งข้าว

3.4 การเสริมธาตุเหล็กและไอโอดีนในเมล็ดข้าวโดยการเคลือบด้วยเจลแป้งข้าว

ในขั้นตอนนี้ได้ทดลองเสริมเหล็กและไอโอดีน ให้มีปริมาณเหล็ก 3.33 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม (จากการทดลองในข้อ 3.2) และปริมาณไอโอดีน 50 ไมโครกรัมต่อข้าว 100 กรัม (ชุดิมา อัครเสถียร, 2543) ชนิดของเหล็กและไอโอดีนที่ใช้คือ เฟอร์ริซัลเฟตและโพแทสเซียมไอโอเดต สารเคลือบที่ใช้คือ เจลแป้งข้าวเจ้าความเข้มข้นร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้ในอัตราส่วน เจลแป้งข้าวต่อข้าวคือ 5:100 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) สำหรับวิธีการเตรียมเจลแป้งข้าวและวิธีการเคลือบใช้วิธีเดียวกับการเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว ข้อ 3.2.2-3.2.3 โดยเติมสารประกอบเหล็กและสารละลายโพแทสเซียมไอโอเดตลงในเจลแป้งข้าว ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปเคลือบ แต่ไม่ต้องเคลือบข้าวด้วยเจลแป้งข้าว นำข้าวที่เคลือบแล้วมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณเหล็ก ปริมาณไอโอดีน วัดค่าสี (Lab) แล้วคำนวณดัชนีความขาว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.5 ประสิทธิภาพการดูดซึม (bioavailability) ของข้าวเสริมไอโอดีน

ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการดูดซึมไอโอดีนของข้าวที่เสริมไอโอดีนเพียงอย่างเดียวโดยใช้วิธีรับประทาน ในผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพดีจำนวน 10 ราย เป็นเพศชาย 5 ราย และเพศหญิง 5 ราย

3.5.1 กรรมวิธีการผลิตข้าวเสริมไอโอดีน

ในการผลิตข้าวเสริมไอโอดีนนี้ได้ทดลองเคลือบไอโอดีนในรูปของโพแทสเซียมไอโอเดต ให้มีปริมาณไอโอดีนในข้าว 50 ไมโครกรัมต่อข้าว 100 กรัม (ชุดิมา อัครเสถียร, 2543) สารเคลือบที่ใช้คือ เจลแป้งข้าวเจ้าความเข้มข้นร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สำหรับวิธีการเตรียมเจลแป้งข้าว ปริมาณเจลที่ใช้และวิธีการเคลือบใช้วิธีเดียวกับการเสริมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว

ข้อ 3.2.2-3.2.3 โดยเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอเดตลงในเจลแบ่งข้าว ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปเคลือบ แต่ไม่ต้องเคลือบข้าวด้วยเจลแบ่งข้าว

3.5.2 คุณสมบัติของผู้เข้าร่วมโครงการ

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

1. มีการทำงานอย่างต่อเนื่องเป็นปกติ และไม่เป็นคอปอก
2. อายุระหว่าง 20-59 ปี
3. ไม่ตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร
4. ไม่มีโรคประจำตัวที่ร้ายแรง เช่น โรคเบาหวาน ไขมันในเลือดสูง โรคหัวใจ โรค

ตับ โรคไต

5. ไม่ใช้ยาใดๆ ที่อาจมีผลต่อ iodine metabolism และการทำงานของต่อมไทรอยด์

3.5.3 วิธีการศึกษา

1. ก่อนทำการศึกษาอาสาสมัครทุกรายที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการต้องได้รับการซักประวัติ และตรวจร่างกายว่าเป็นผู้มีสุขภาพร่างกายแข็งแรง และต้องได้รับการตรวจเลือดหาระดับการทำงานของต่อมไทรอยด์ (thyroid function test, TFT: TSH, FT3 และ FT4) ว่าอยู่ในระดับปกติ

2. คัดเลือกอาสาสมัครที่ผ่านการตรวจร่างกายว่ามีสุขภาพแข็งแรงและมีระบบการทำงานของต่อมไทรอยด์เป็นปกติ เป็นเพศชาย 5 คน เพศหญิง 5 คน

3. ให้อาสาสมัครรับประทานอาหารและน้ำที่จัดเตรียมไว้ให้ทั้ง 3 มื้อ รวมอาหารว่างอีก 2 มื้อ โดยไม่รับประทานอาหารและน้ำจากที่อื่นๆ เป็นเวลา 5 วัน สำหรับอาหารที่จัดให้ในวันที่ 1 ถึง 5 นั้นเหมือนกัน ยกเว้นในวันที่ 3 ของการศึกษอาสาสมัครจะได้รับประทานข้าวเสริมไอโอดีน (มีไอโอดีน 50 ไมโครกรัมต่อข้าวดิบ 100 กรัม) แทนข้าวที่ไม่ได้เสริมไอโอดีน

4. ตลอดทั้ง 5 วัน (จันทร์ ถึง ศุกร์) จะมีการเก็บปัสสาวะตลอดทั้ง 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนและครีเอตินิน โดยวิธีการเก็บปัสสาวะมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.1 วันที่ 1 และ 2 เวลา 06.00 น. เก็บปัสสาวะครั้งแรก หลังจากนั้นเก็บปัสสาวะทุกครั้งที่มีการถ่ายปัสสาวะ (ตามสะดวก) จนครบ 24 ชั่วโมง

4.2 วันที่ 3 เวลา 06.00 น. เก็บปัสสาวะครั้งแรก หลังจากนั้นเก็บปัสสาวะทุก 4 ชั่วโมง (06.00, 10.00, 14.00 ... 06.00 น.) จนครบ 24 ชั่วโมง อาสาสมัครต้อง

นอนค้างที่ Metabolic study ward ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายใต้การดูแลของเจ้าหน้าที่ของสถาบันฯ

4.3 วันที่ 4 และ 5 เวลา 06.00 น. เก็บปัสสาวะครั้งแรก หลังจากนั้นเก็บปัสสาวะทุกครั้งที่มีการถ่ายปัสสาวะ (ตามสะดวก) จนครบ 24 ชั่วโมง

5. ในวันจันทร์ของสัปดาห์ถัดไป ทำการตรวจเลือดหาระดับการทำงานของต่อมไทรอยด์ของอาสาสมัครทุกรายซ้ำอีกครั้ง

สรุปรายละเอียดการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สรุปรายละเอียดการศึกษาประสิทธิภาพการดูดซึมของข้าวเสริมไอโอดีน

TFT (thyroid function test) ก่อนทำการศึกษาประมาณ 1 สัปดาห์			
วันที่	ข้าวไม่เสริมไอโอดีน	ข้าวเสริมไอโอดีน	ปัสสาวะ 24 ชม
1	/		/
2	/		/
3		/	/*
4	/		/
5	/		/
TFT (thyroid function test) หลังทำการศึกษา			

* เก็บปัสสาวะทุก 4 ชั่วโมง และอาสาสมัครต้องนอนค้างที่ Metabolic study ward ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย