



บทที่ 2

เครื่องมือ วัสดุ และวิธีการ

เครื่องมือ

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV/VIS Spectrophotometer)
2. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy, SEM)
3. เครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer)
4. เครื่องวิเคราะห์หาความชื้น (Moisture analyzer)
5. เครื่องคนสารไฟฟ้าแม่เหล็กชนิดให้ความร้อนได้ (Magnetic Hot plate stirrer)
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่สามารถปั่นเหวี่ยงได้ที่ประมาณ 1,500 g (~3,000 rpm)
7. อ่างเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaking water bath) ตั้งให้เคลื่อนที่ในแนวเส้นตรงที่ 100 รอบต่อนาที (เทียบเท่าความเร็ว 200 ครั้งต่อนาที) ระยะการเคลื่อนที่ 35 mm อุณหภูมิ 37°C
8. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50±0.1°C
9. เครื่องปั่นผสมอาหาร
10. เครื่องผสมวอร์เทกซ์
11. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
12. เครื่องชั่งวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
13. ปัมสุญญากาศ
14. ตู้อบลมร้อน
15. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 5-40°C
16. เตาเผาอุณหภูมิสูง
17. เตาไฟฟ้า
18. ชุดกลั่นตัวทำละลาย
19. pH meter - pHScan™ WP2, Eutech Instruments, USA
20. Bucher funnel และ Suction flask ขนาด 2000 มิลลิลิตร
21. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) ขนาด 0-100°C
22. แท่งแม่เหล็ก ขนาด 5x15 mm
23. นาฬิกาจับเวลา
24. ไมโครปิเปต
25. ไมโครปิเปตชนิดแรงดันบวก (positive displacement pipetter)
26. ถ้วยเผา
27. Desiccator



28. โกร่งและลูกโกร่ง

สารเคมีและวัสดุ

1. ตัวอย่างพืช
 - เนื้อกล้วยน้ำว้าดิบ (*Musa* spp.)
 - หัวมันกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.)
 - เม็ดเดือย (*Coix lacryma-jobi*)
 - เมล็ดขนุน (*Artocarpus heterophyllus*)
 - หัวมันสาธุ (*Maranta arundinacea* L.)
2. ชุดทดสอบแป้งต้านทานการย่อย Resistant Starch Assay Kit (Megazyme, Ireland)
3. โซเดียมเมทาไบซัลไฟด์
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์
5. อะมิโลสมมาตรฐาน
6. กรดไฮโดรคลอริก
7. กรดอะซิติก
8. เอทานอล
9. ไอโอดีน
10. โปแตสเซียมไอโอไดด์
11. กระดาษกรอง
12. บีกเกอร์ ขวดแก้วรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร กระบอกตวง หลอดทดลอง ขนาดต่างๆ
13. หลอดแก้วทดลอง ขนาด 16x125 mm ชนิดมีฝาเกลียว
14. หลอดแก้วทดลอง ขนาด 16x100 mm
15. ถังพลาสติกสำหรับเป็นถังน้ำ-น้ำแข็ง
16. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100, 200, 500, 1000, 2000 mL
17. ถังมือ อะลูมิเนียมฟอยด์ และอื่นๆ
18. น้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

1. การคัดเลือก และเตรียมแป้งดิบจากวัตถุดิบที่เป็นแหล่งของแป้งที่ไม่ใช่เชิงพาณิชย์
 - 1.1 พืช/ส่วนของพืชที่ใช้ในการศึกษา 5 ชนิด ประกอบด้วย
 - เนื้อกล้วยดิบ (*Musa* spp.)
 - หัวมันกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.)
 - เม็ดเดือย (*Coix lacryma-jobi*)



- เมล็ดขนุน (*Artocarpus heterophyllus*)
- หัวมันสาคุ (*Maranta arundinacea* L.)

1.2 การสกัดแยกฟลาวแบ่งดิบจากวัตถุดิบพืช

ฟลาวแบ่งจากเนื้อกล้วยดิบ จะใช้วิธีการลอกเปลือกกล้วยดิบแล้วนำเนื้อด้านในมาหั่นเป็นแผ่นบางๆ นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C นาน 24-48 ชั่วโมง จนแห้ง แล้วนำมาปั่นเป็นผงก่อนใช้ในการสกัดแยกแบ่งต่อไป ส่วนการแยกฟลาวแบ่งจากพืชชนิดอื่นจะดำเนินการดังนี้

- นำตัวอย่างพืชที่หั่นเป็นชิ้นหรือแช่น้ำไว้ 24 ชั่วโมง แล้วมาปั่นผสมกับสารละลายโซเดียมโบรไซด์ไฟด์ 0.5% ในอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างพืชต่อสารละลายโซเดียมโบรไซด์ไฟด์เท่ากับ 200 กรัม : 1 ลิตร นาน 10 นาที
- กรองกากออกโดยใช้ผ้าขาวบาง นำกากที่เหลือมาทำการปั่นและกรองซ้ำอีก 1 ครั้ง เก็บ filtrate ที่ได้ และวางทิ้งไว้ค้างคืน
- เทสารละลายส่วนบนทิ้ง และนำตะกอนด้านล่างมาทำการกรองโดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำการเก็บแบ่ง
- นำแบ่งที่ได้มาแผ่ลงบนภาตอะลูมิเนียม แล้วนำไปอบภายในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60°C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้แห้ง
- นำแบ่งที่แห้งแล้วมาบด และนำไปผ่านร่อนขนาด 40 และ 80 mesh ตามลำดับ เพื่อให้ได้ผงฟลาวสีขาวขนาดเล็ก แล้วเก็บไว้ในภาชนะบรรจุปิดสนิท

1.3 การสกัดแบ่งดิบออกจากฟลาว

- ชั่งฟลาวแบ่งน้ำหนักประมาณ 200 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร
- เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 M ปริมาตร 600 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งบนเครื่องคนสารด้วยแม่เหล็ก เปิดเครื่องให้คนอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 5 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลานำส่วนผสมที่ได้มากรองผ่านตะแกรงลวดที่มีขนาดรู 75 ไมครอน
- ทำซ้ำขั้นตอน 2 และ 3 อีก 2 ครั้ง หลังจากนั้น ตั้งส่วนผสมที่ได้ทิ้งไว้ค้างคืน เพื่อให้เม็ดแบ่งตกตะกอนเทสารละลายส่วนบนทิ้งไป
- ล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำปราศจากอ็อกซิเจนครั้งละ 600 มล. จำนวน 3 ครั้ง แล้วแช่ตะกอนที่ได้ด้วยน้ำปราศจากอ็อกซิเจนปริมาตร 600 มล.
- ปรับพีเอชให้ได้เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 M ตั้งส่วนผสมที่ได้ให้ตกตะกอนแล้วจึงทิ้งสารละลายส่วนบนพร้อมทั้งตะกอนส่วนบนที่มีสีคล้ำทิ้ง



- นำแป้งที่สกัดได้มาล้างด้วยน้ำปราศจากอีออนอีก 8 ครั้ง ครั้งละ 600 มล. แล้วตั้งส่วนผสมที่ได้ให้ตกตะกอนแล้วจึงทิ้งสารละลายส่วนบน
- นำแป้งที่ได้ใส่ในภาชนะสะอาด นำไปอบที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำแป้งแห้งที่ได้มาบดแล้วนำมาผ่านร่อนเบอร์ 60 ก่อนเก็บในภาชนะที่มีฝาปิดสนิท
- อบผงแป้งที่ได้ในตู้อบอุณหภูมิ $40-60^{\circ}\text{C}$ จนกระทั่งมีความชื้นน้อยกว่า 13% แล้วจึงนำไปบดด้วยโกร่งและลูกโกร่ง แล้วนำไปผ่านร่อนขนาด 70 mesh เก็บผงแป้งที่ได้ในถุงพลาสติกปิดสนิทที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งใช้

2. การวิเคราะห์หาปริมาณอะมิโลสในแป้งดิบ

การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสใช้วิธีการ Colorimetry ที่ดัดแปลงจากรายงานของ Juliano (1971) โดยมีรายละเอียดการวิเคราะห์ตามขั้นตอน ดังนี้

2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานของอะมิโลส

- ชั่งสารมาตรฐานอะมิโลสให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.
- เติมน้ำทำละลายผสม 1 มล. เอทานอล 95% และ 9 มล. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N
- นำขวดปรับปริมาตรไปแช่ในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 10 นาที เขย่าให้อะมิโลสละลายจนหมด แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
- ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล.
- ปิเปตสารละลายมาตรฐานจากข้อ 1.4 ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. ตามลำดับ ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล. 5 ใบ เติมสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มล. ลงในแต่ละขวด ตามลำดับ ตามด้วยสารละลาย KI/I_2 ปริมาตร 2 มล. ในแต่ละขวด
- เขย่าผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตรส่วนผสมในแต่ละขวดด้วยน้ำกลั่น
- นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 620 nm นำค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐานกับค่าความเข้มข้นสารมาตรฐานอะมิโลส 4, 8, 12, 16 และ 20 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในตัวอย่าง

- ชั่งตัวอย่างแป้งประมาณ 0.07 g ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.



- เดิมเอทานอล 95% 1 มล. และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N จำนวน 9 มล.
- นำขวดปรับปริมาตรไปแช่ในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล.
- บีบเปิดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มล. ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มล.
- เดิมสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 1 มล. ตามด้วย สารละลาย KI/I₂ ปริมาตร 2 มล.
- เขย่าผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตรส่วนผสมในแต่ละขวดด้วยน้ำกลั่น
- นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 620 nm
- นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณอะมิโลสในแป้งดิบ วิเคราะห์โดยใช้วิธีการ Colorimetry

3. การหาปริมาณแป้งต้านทานการย่อย (RS) ในแป้งดิบที่สกัดได้

โดยใช้ชุดทดสอบ Resistant Starch Assay Kit (Megazyme, Ireland) (AOAC 2002.02; AACC 32-40)

Resistant starch assay kit (Megazyme International)

ขวดที่ 1	Amyloglucosidase
ขวดที่ 2	Pancreatic α -amylase
ขวดที่ 3	GOPOD reagent buffer
ขวดที่ 4	GOPOD reagent enzyme
ขวดที่ 5	D-glucose standard solution
ขวดที่ 6	Resistant starch control

การเตรียม

Reagent #1 (R-1) : Sodium maleate buffer (100 mM, pH 6.0)

Reagent #2 (R-2) : Sodium acetate buffer (1.2 M, pH 3.8)

Reagent #3 (R-3) : Sodium acetate buffer (100 mM, pH 4.5)

Reagent #4 (R-4) : Potassium hydroxide solution (2M)

Reagent #5 (R-5) : Aqueous ethanol (50% v/v)

Solution #1 (S-1) : Amyloglucosidase ใช้จากขวดที่ 1 โดยตรง

Solution #1A (S-1A) : Dilute AMG (300 U/mL) บีเบดสารจากขวดที่ 1 ปริมาตร 2.0 mL ด้วยบีเบดแรงดันบวก ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL เติม R-1 (0.1M sodium maleate buffer) 20 mL (หรือปรับปริมาตรรวมเป็น 22 mL) แบ่งเก็บในขวด PP ขวดละ 5 mL ที่ -20°C

Solution #2 (S-2) : Pancreatic α -amylase solution ต้องเตรียมก่อนการใช้ทุกครั้ง กระจายผงสารจากขวดที่ 2 ปริมาณ 1 กรัม ใน R-1 ปริมาตร 100 mL คนผสมเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม S-1A ปริมาตร 1 mL ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 g นาน 10 นาที ค่อยๆ รินส่วนสารละลายมาใช้

Solution #3 (S-3) : เจือจางสารละลายเข้มข้นในขวดที่ 3 โดยใช้ น้ำกลั่น ให้มีปริมาตร 1 L นำไปใช้เตรียม S-4 (GOPOD reagent) ทันที

Solution #4 (S-4) : GOPOD reagent แบ่ง S-3 ปริมาตร 20 mL มาละลายสารในขวดที่ 4 แล้วถ่ายลงในภาชนะกันแสงที่มี S-3 ส่วนที่เหลือ ห่อภาชนะด้วยแผ่นอะลูมิเนียมอีกครั้ง แบ่งเก็บสารละลายนี้เป็นส่วน ส่วนละประมาณ 80 mL เก็บในช่องแช่แข็ง ได้นาน 1 ปี และสีของสารละลายต้องอยู่ระหว่างเหลืองอ่อนถึงชมพูอ่อน หรือมีค่าการดูดกลืนแสงไม่เกิน 0.05 เมื่อเทียบกับน้ำกลั่น

Solution #5 (S-5) : D-Glucose standard solution (1.0 mg/mL) ใช้จากขวดที่ 5 โดยตรง

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย

A. การไฮโดรไลซ์และการทำละลายแป้งที่ไม่ใช่แป้งต้านทานการย่อย

(Hydrolysis and solubilization of non-resistant starch)

1. ชั่งตัวอย่าง 100 ± 5 mg ให้ได้น้ำหนักที่ถูกต้อง ลงในหลอดทดลองที่มีฝาเกลียว (Corning culture tube 16x125 mm) เคาหลอดเบาๆ เพื่อให้ผงตัวอย่างตกไปที่ก้นหลอด
2. เติม S-2 ปริมาตร 4.0 mL ลงในแต่ละหลอด
3. ปิดฝาหลอดให้แน่น ปั่นผสมบนเครื่อง vortex และจัดวางหลอดในแนวนอนบนเครื่องเขย่าในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ให้ปลายหลอดหันไปทางด้านเขย่าออก
4. ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C และรอบการเขย่าต่อเนื่องที่ 200 รอบต่อนาที (เทียบเท่าการตั้งค่าเครื่องที่ 100 - ไป+กลับ) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงเต็ม
5. นำหลอดออกจากอ่างควบคุมอุณหภูมิ เช็ดภายนอกหลอดให้แห้ง เปิดฝาหลอดเกลียวออก แล้วเติมเอทานอล 99% ปริมาตร 4.0 mL เขย่าผสมอย่างรุนแรงบนเครื่อง vortex
6. นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 g (ประมาณ 3,000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที
7. รินสารละลายส่วนเหนือตะกอนออก จากนั้นเติม R-5 (50% EtOH) ปริมาตร 8 mL เขย่าผสมให้เข้ากันและนำไปปั่นเหวี่ยงอีกที่ 1,500 g นาน 10 นาที
8. เทส่วนสารละลายเหนือตะกอนออก และทำซ้ำข้อ 7 อีกครั้ง

B. การวัดปริมาณแป้งต้านทานการย่อย



1. ใส่แท่งแม่เหล็กขนาดเล็กลงในหลอดทดลอง เดิม R-4 (2M KOH) ปริมาตร 2 mL ขณะปั่นหมุน นำหลอดไปใส่ในอ่างน้ำ+น้ำแข็ง และปั่นบนเครื่องปั่นหมุนแม่เหล็กนาน 20 นาที เพื่อให้ตะกอนตัวอย่างกระจายตัว
2. เดิม R-2 (1.2M sodium acetate pH 3.8) ปริมาตร 8 mL ลงในแต่ละหลอด โดยยังมีการปั่นคนอย่างต่อเนื่อง จากนั้นเติม S-1 (AMG 1:3300 U/mL) ปริมาตร 0.1 mL ลงในหลอดทันที ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50°C
3. แช่หลอดในอ่างเป็นเวลา 30 นาที โดยนำออกมาปั่นเขย่าบนเครื่อง vortex เป็นระยะ
4. สำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณแป้งต้านทานการย่อยน้อยกว่า 10% ปั่นเหวี่ยงหลอดตัวอย่างที่ 1,500 g เป็นเวลา 10 นาที
5. บีบสารละลาย 0.1 mL ใส่ในหลอดแก้ว (16x100 mm) เดิม S-4 ปริมาตร 3.0 mL แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50°C นาน 20 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm โดยใช้ reagent blank (RB) เป็น blank

Reagent Blank (RB) : ผสม R-3 ปริมาตร 0.1 mL กับ S-4 ปริมาตร 3.0 mL

D-Glucose standard : ผสม S-5 ปริมาตร 0.1 mL กับ S-4 ปริมาตร 3.0 mL

4. การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ของแป้งดิบโดยใช้เทคนิคและเครื่องมือต่างๆ เช่น

- ลักษณะปรากฏทั่วไป
ตรวจสอบลักษณะปรากฏทางกายภาพภายนอก ลักษณะผง สี ความพองฟู การไหลเบื้องต้น
- ปริมาณความชื้น
นำตัวอย่างแป้งน้ำหนักประมาณ 5 กรัม ใส่ลงบนจานชั่งของเครื่องวัดค่าความชื้น ตั้งค่าอุณหภูมิสุดท้ายที่ 105°C แล้วกดปุ่มเริ่มต้น เครื่องจะบันทึกน้ำหนักเริ่มต้นที่แน่นอน จากนั้นจะค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิให้กับตัวอย่าง พร้อมกับบันทึกการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก เมื่อน้ำหนักของตัวอย่างคงที่หรืออุณหภูมิถึงค่าอุณหภูมิสุดท้ายที่ตั้งไว้ เครื่องจะคำนวณค่าความชื้นในตัวอย่างในรูปแบบน้ำหนักที่สูญเสียเมื่อทำให้แห้ง (loss on drying, LOD)
- ลักษณะพื้นผิวและรูปร่างแกรนูลภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนสแกนนิ่ง (SEM)
การศึกษาลักษณะพื้นผิว ขนาด และรูปร่างของแกรนูลของเม็ดแป้ง ดำเนินการโดยใช้เครื่อง SEM รุ่น JSM-5910LV (JEOL instrument, USA) ที่มี large field detector สภาวะการศึกษาที่ใช้คือค่า acceleration voltage ที่ 10-15 kV ภายใต้ low vacuum mode (0.7-0.8 torr) ภาพถ่าย SEM ของแป้งดิบบันทึกที่กำลังขยาย 500-3500 เท่า ขึ้นกับชนิดของตัวอย่าง



- รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction)
การบันทึกรูปแบบการหักเหรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction patterns) ของแป้งดิบใช้เครื่อง Siemens D-500 X-ray diffractometer ใน reflection mode ภาพการหักเห (diffractogram) ถูกบันทึกที่ค่า Bragg Angle (2θ) = $10-40^\circ$ โดยใช้อัตราการ scan ที่ 2.5° ต่อนาที
- Differential Scanning Calorimetry (DSC)
ประเมินสมบัติด้านอุณหภูมิจำลองใช้เครื่อง differential scanning calorimeter (DSC-7, Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง $30-100^\circ\text{C}$ ที่อัตรา 10°C/นาท โดยใช้ตัวอย่างผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:3 (w/w) และใช้ pan เปลาเป็นตัวอย่างอิง บันทึกอุณหภูมิที่แสดงการเกิด transitions ต่างๆ ได้แก่ onset (T_{onset}), peak (T_{peak}) และ end (T_{end}) และคำนวณช่วงอุณหภูมิการเกิด transition ($T_{end} - T_{onset}$, ΔT) ค่า Enthalpy (ΔH) คำนวณโดยการอินทิเกรตพื้นที่ใต้กราฟ และแสดงค่าในหน่วยจูลต่อหน่วยน้ำหนักแป้งแห้ง
- การละลายและการพองตัวในน้ำ
ซึ่งตัวอย่าง 0.1 กรัม ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงที่ทราบน้ำหนัก จำนวน 5 หลอด เติมน้ำกลั่น 10 มล. ลงในแต่ละหลอดเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1% w/v ปั่นหรือเขย่าผสมให้เข้ากันประมาณ 1 นาที โดยใช้เครื่อง Vortex mixer นำตัวอย่างทุกหลอดไปให้ความร้อนโดยการแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 50, 60, 70, 80 และ 90°C ตามลำดับ โดยเขย่าผสมอย่างสม่ำเสมอ เมื่อครบ 10 นาที นำหลอดทดสอบออกมาแช่ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ค่อยๆ เทหรือดูดส่วนของเหลวใสด้านบนออกใส่ในถ้วยเผาที่ชั่งน้ำหนักไว้ก่อนหน้า แล้วนำไปอบจนได้น้ำหนักคงที่ที่ 120°C น้ำหนักที่เหลืออยู่ในถ้วยเผาใช้ในการคำนวณร้อยละของการละลายน้ำ ส่วนน้ำหนักของเพสต์ปั่นเหวี่ยงที่เหลือหลังจากแยกส่วนของเหลวแล้ว ใช้ในการคำนวณค่าการพองตัวในน้ำ
- Bulk และ Tapped density
หาค่า Bulk และ Tapped density ของตัวอย่าง ตามขั้นตอน ดังนี้
 1. นำผงแป้งปริมาตรประมาณ 50 ml มาชั่งให้ได้น้ำหนักแน่นอน (M กรัม)
 2. ค่อยๆ เทผงแป้งที่ชั่งแล้วลงในกระบอกตวงขนาด 100 ml เคาะกระบอกตวง 3 ครั้งกับพื้นไม้โดยให้ก้นของกระบอกตวงสูงจากพื้น 1 นิ้ว และการเคาะแต่ละครั้งห่างกัน 2 วินาที อ่านปริมาตรของผงแป้งในกระบอกตวง (V_b มิลลิลิตร)



3. เเคะกระบอกตวงต่อไปอีก 500 ครั้ง โดยใช้เครื่องเคาะอัตโนมัติ (jolting volumeter) หรือ จนไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรของผงยาในกระบอกตวงนั้นจึงหยุด อ่านปริมาตรของผงยาอีกครั้งหนึ่ง (V_t มิลลิลิตร)

$$\text{คำนวณค่า Bulk density} = \frac{M}{V_b} \text{ กรัม/มล.}$$

$$\text{Tapped density} = \frac{M}{V_t} \text{ กรัม/มล.}$$

- Compressibility Ratio (%CR)

นำค่า Bulk density และ Tapped density ที่ได้จากการหาความหนาแน่นของผงแบ่งมา

คำนวณค่า %CR ตามสูตร

$$\% CR = \frac{(\text{Tapped density} - \text{Bulk density})}{\text{Tapped density}} \times 100$$

- Hausner Ratio

ค่า Hausner ratio คำนวณได้จากค่า Bulk density และ Tapped density ตามสูตร

$$\text{Hausner ratio} = \frac{\text{Tapped density}}{\text{Bulk density}}$$