บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

รำข้าวอินทรีย์ (หอมมะลิ 105) ชนิดรำละเอียดแบบไขมันเต็ม (Full-fat) จากบริษัท อรุมัต จำกัด เลขที่ 279/1 ม. 8 ต.เมืองชุม อ.เวียงชัย จ.เชียงราย 57210 โทร: 053-174184, 053-174185

ตัวอย่างอ้างอิงสำหรับการเปรียบเทียบ

3.1.1.1 น้ำนมถั่วเหลืองทางการค้าผสมจมูกข้าวญี่ปุ่น (สูตรน้ำตาลน้อย)

3.1.1.2 น้ำนมถั่วเหลืองปรุงสำเร็จชนิดผงทางการค้า

3.1.2 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 สารเคมีสำหรับการทดลอง

ขั้นตอน
การศึกษาความคงตัว
1. เอนไซม์อะไมเลส E.C. 3.2.1.1 (Bacillus licheniformis-Type XII) และเอนไซม์เซลลูเลส E.C. 3.2.1.4 (Aspergillus niger) จากบริษัท เอส.เอ็ม. เคมีคอล ซัพพลาย จำกัด กรุงเทพฯ 10310
2. สารกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์ ได้แก่ กัวร์กัม (E-number 412) โลคัสบีนกัม (E-number 410) แซนแทนกัม (E-number 415) เพกทิน (E-number 440) และคาร์ราจีแนน (E-number 407) จากบริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด จ.เชียงใหม่ 50200
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี
1. โพแทสเซียม ซัลเฟต (CAS number 417 บริษัท UNIVAR)
2. คอปเปอร์ ซัลเฟต เพนตะไฮเดรต (CAS number A2221 บริษัท Ajax finechem)
3. กรดซัลฟูริก (CAS number 7664-93-9 บริษัท RCI Labscan)
4. สารละลายบอริคแอซิด (CAS number 10043-35-3 บริษัท RCI Labscan)
5. ปิโตรเลียมอีเทอร์ (CAS number 8032-32-4 บริษัท RCI Labscan)
6. อะซีโตน (CAS number 50-21-5 บริษัท RCI Labscan)
การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ
1. สารละลายกรดแกลลิก (CAS number 931-67-0 บริษัท SIGMA-ALDRICH)
2. สาร Folin-Ciocalteu phenol reagent (CAS number 8008-63-7 บริษัท BDH Prolabo)
3. สาร 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (CAS number 1898-66-4 บริษัท Sigma Aldrich)
4. สารละลาย 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid (โทรล็อก) (CAS number 53188-07-1 บริษัท Sigma Aldrich)
5. โซเดียมคาร์บอเนต (CAS number 10025-77-1 บริษัท Merck)
6. เมทานอล (CAS number 81214 บริษัท RCI Labscan)

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

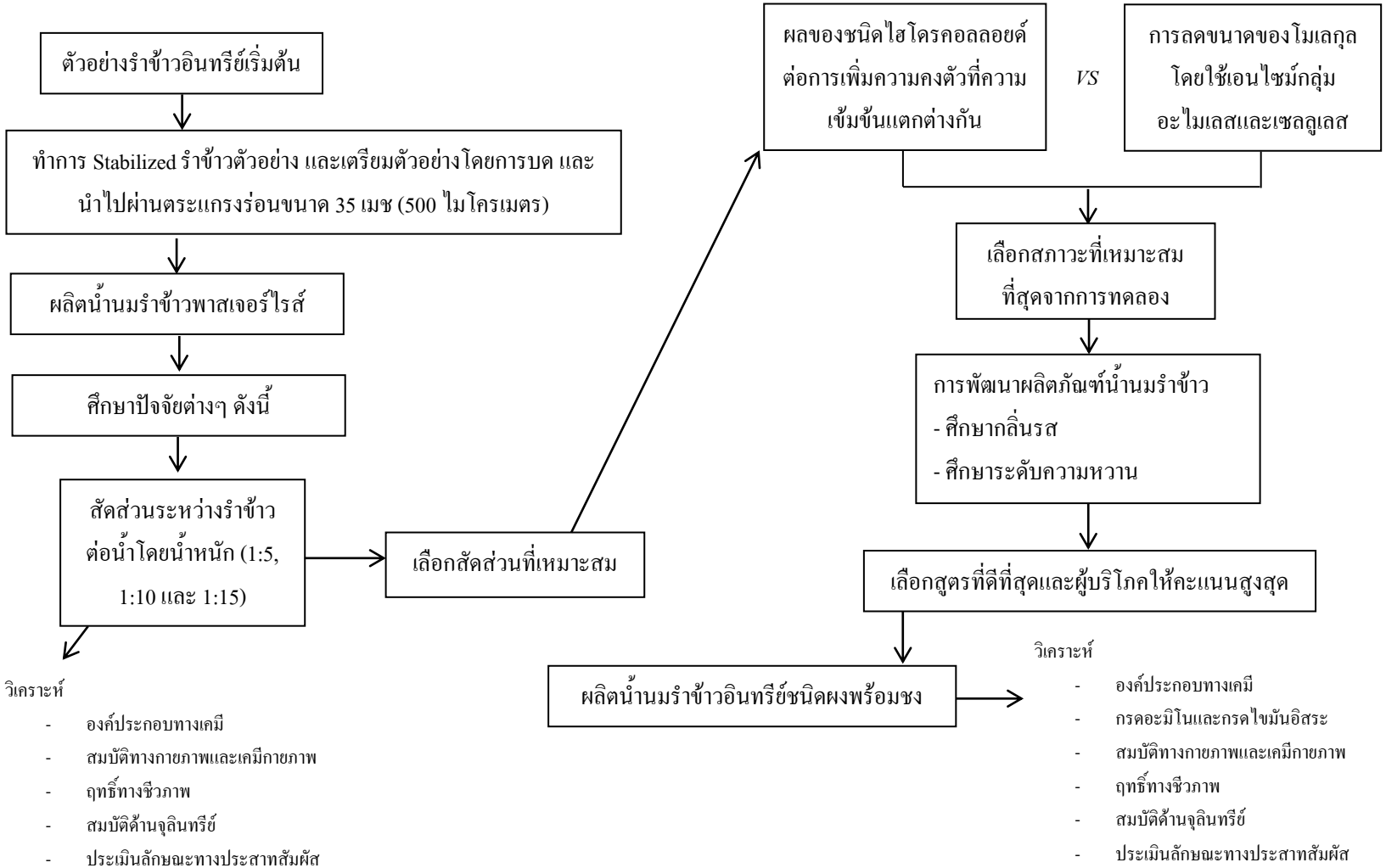
ขั้นตอน
การศึกษาสมบัติทางด้านจุลินทรีย์
1. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเปปโตน จากบริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด จ.เชียงใหม่ 50200
2. ผงวุ้น (Agar) จากบริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด จ.เชียงใหม่ 50200
3. Petrifilm สำหรับตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic count plate) จากบริษัท 3M ประเทศไทย จำกัด
4. Petrifilm สำหรับตรวจปริมาณ *E.coli* / Coliform จากบริษัท 3M ประเทศไทย จำกัด
5. Petrifilm สำหรับตรวจปริมาณ Yeast และ Mold จากบริษัท 3M ประเทศไทย จำกัด
6. Petrifilm สำหรับตรวจปริมาณ *Staphylococcus aureus* จากบริษัท 3M ประเทศไทย จำกัด
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth Agar สำหรับตรวจปริมาณ *Bacillus cereus* จากบริษัท ยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด จ.เชียงใหม่ 50200

3.1.3 วัสดุและอุปกรณ์

ตารางที่ 3.2 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับการทดลอง

รายการ	รุ่น/ยี่ห้อ	บริษัท/ประเทศผู้ผลิต
เครื่องทำสารละลายคอลลอยด์	ASAKO, YJTM85D-2P	China
อ่างควบคุมอุณหภูมิ	WNE 22	Memmert, Schwabach, Germany
เครื่องกวนแบบแม่เหล็กพร้อมเตาให้ความร้อน	Unimag/Apex	Scott Instrument, GMBH Germany
เครื่องกวนแบบแม่เหล็กพร้อมเตาให้ความร้อน	MR301/Heidolph	Scott Instrument, GMBH Germany
เครื่องวัดการดูดกลืนแสง	S22	Biochrom, Cambridge, USA
ตู้ควบคุมอุณหภูมิ	Excellence	Memmert, Schwabach, Germany
ตู้แช่เย็น	Tiara /Misubhishi	Misubhishi, Thailand
ตู้แช่เยือกแข็ง	P2003	Sanyo, Bangkok
เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิได้	JJ-4001	Thermo electron corp, China
เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง	J-301	Beckman Coulter, USA
เครื่องวัดสี	Hunter Lab	Virginia , USA
เครื่องวัดความหนืด	Brookfield engineering labs Inc.	Middleboro, Ma 02346, USA
เครื่องชั่งความละเอียด 2 ตำแหน่ง	Adventurer ARC 120	Ohaus Corp. ,USA
เครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่ง	ED224S Sartorius	Sartorius AG , Germany
เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง	pH 510	Eutech Instrument, Singapore
เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer)	JCM/SDE-10 MInilab	บจก.นาถพัฒน์

3.2 วิธีการทดลอง



3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างรำข้าวอินทรีย์ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด และแยกขนาดโดยผ่านตะแกรงร่อนขนาด 35 เมช (500 ไมโครเมตร) บรรจุลงถุงโพลีเอทธิลีนแบบสุญญากาศ และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้นในการผลิตน้ำนมรำข้าวและการทดลองขั้นต่อไป (ตัวอย่างรำข้าวเริ่มต้นจะนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใย และคาร์โบไฮเดรต ก่อนนำไปผลิตน้ำนมรำข้าว)

3.2.2 การผลิตน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์

นำรำข้าวที่ผ่านการทำให้คงตัวแล้วมาแปรรูปเป็นเครื่องดื่มน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ โดยมีปัจจัยในการศึกษาดังนี้

3.2.2.1 ศึกษาสัดส่วนของรำข้าวผงต่อน้ำที่ใช้ในการผลิตน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ ดังนี้ 1:5, 1:10 และ 1:15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นเลือกสัดส่วนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเพื่อศึกษาในปัจจัยต่อไป โดยพิจารณาจากสมบัติด้านต่างๆ (กายภาพ เคมี ความคงตัว และลักษณะทางประสาทสัมผัส) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างทางการค้า (น้ำนมถั่วเหลือง)

3.2.2.2 ศึกษาความคงตัวของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ด้วยวิธีการต่างๆ ดังนี้คือ ความคงตัวของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์จะพิจารณาและสังเกตจากการไม่แยกชั้นของน้ำนมรำข้าวระหว่างรำข้าวกับน้ำที่ใช้ในการผลิต

1. การศึกษาผลของชนิดไฮโดรคอลลอยด์ต่อการเพิ่มความคงตัวของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ โดยเลือกใช้ไฮโดรคอลลอยด์ต่างชนิดกันได้แก่ กัวร์กัม โลคัสบีนกัม แซนแทนกัม เพกทิน และคาร์ราจีแนน ในความเข้มข้นแตกต่างกันที่ร้อยละ 0, 0.05, 0.1, 0.3 และ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ จากนั้นเลือกความเข้มข้นของไฮโดรคอลลอยด์ที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากสมบัติด้านความคงตัวของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ (ไม่เกิดการแยกชั้นของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์)

2. การลดขนาดของโมเลกุลของแป้งและเซลลูโลสโดยใช้เอนไซม์กลุ่มอะไมเลสผสมกับเซลลูเลสอัตราส่วน 1:1 (ยูนิตต่อยูนิต) (You & Izydorczyk, 2007) โดยดัดแปลงบางส่วนการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ที่ระดับ 0, 50, 100, 300 และ 500 ยูนิตต่อลิตร เลือกความเข้มข้นของเอนไซม์ผสมที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากสมบัติด้านความคงตัวของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ โดยสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์อะไมเลสและเซลลูเลสจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Lim, Macdonald, & Hill,

2003; Pierre, Maache-Rezzoug, Sannier, Rezzoug, & Maugard, 2011) หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ผสมทั้งสองชนิดที่โดยนำไปต้มให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที

เปรียบเทียบสมบัติด้านความคงตัวของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ที่ได้จากผลการใช้เอนไซม์ผสมระหว่างอะไมเลสและเซลลูเลส (1:1, ยูนิตต่อยูนิต) และการใช้ไฮโดรคอลลอยด์ต่างชนิดกัน เลือกวิธีการใดวิธีการหนึ่งที่ให้ค่าความคงตัวของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ (เป็นเนื้อเดียวกันหรือไม่เกิดการแยกชั้น) ของน้ำนมรำข้าวใกล้เคียงกับตัวอย่างทางการค้าที่นำมาเปรียบเทียบมากที่สุด เพื่อนำไปใช้เป็นสูตรตั้งต้นสำหรับการผลิตและพัฒนาน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์และการทดลองขั้นต่อไป

3.2.2.3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์กลิ่นรสต่างๆ

1. ศึกษากลิ่นรสของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ โดยนำสูตรน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้ามาปรุงแต่งรสชาติด้วย รสดั้งเดิม (ตัวอย่างควบคุม) รสวนิลา และรสช็อคโกแลต โดยใช้ผงช็อคโกแลตร้อยละ 5 ของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และกลิ่นรสวนิลาร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากนั้นเลือกชนิดของรสชาติของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์โดยพิจารณาจากค่าความชอบโดยรวมจากการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส (9 ระดับความเข้มของคะแนน) ของผู้ทดสอบชิมที่ให้คะแนนสูงสุด เพื่อนำไปศึกษาในหัวข้อต่อไป

2. ศึกษาระดับความหวานของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ โดยใช้สูตรน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ที่ได้จากขั้นตอนก่อนหน้ามาปรับระดับความหวานโดยใช้น้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันคือร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 น้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นเลือกระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้ปรับความหวานโดยพิจารณาจากค่าความชอบโดยรวมจากการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส (9 ระดับความเข้มของคะแนน) ของผู้ทดสอบชิมที่ให้คะแนนสูงสุด เพื่อนำไปศึกษาในหัวข้อต่อไป

สำหรับกระบวนการผลิตน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ทำได้โดยนำรำข้าวต่อน้ำในแต่ละปัจจัยศึกษาผ่านเครื่องทำคอลลอยด์ (Colloids mill machine, ASAKO, YJTM85D-2P, China) เพื่อให้รำข้าวมีขนาดเล็กลงและสามารถแขวนลอยอยู่ในรูปสารละลายได้ (ดัดแปลงวิธีการทำจาก Faccin et al. (2009) ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จนรำข้าวและน้ำผสมรวมกันเป็นอย่างดี จากนั้นนำไปกรองผ่านผ้าขาวบาง (3 ชั้น) จำนวน 1 ครั้งและ นำไปต้มให้ความร้อนที่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ (72 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 วินาที ก่อนนำไปบรรจุลงขวดพลาสติกโพลีโพพิลีนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วขนาด 150 ซีซี ปิดฝาขวดแล้วผนึกฝาด้วยพาราฟิล์มที่ใช้สำหรับห้องปฏิบัติการเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก จากนั้นทำให้เย็นโดยนำไปเก็บรักษา

ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปตรวจสอบคุณภาพและวิเคราะห์สมบัติด้านต่างๆ ของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ต่อไป

3.2.3 การวิเคราะห์และตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวพาสเจอไรส์

3.2.3.1 ร้อยละผลผลิต (Wang, Hettiarachchy, Qi, Burks, & Siebenmorgen, 1999)

นำน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์หลังจากผ่านกระบวนการผลิตแล้ว มาคำนวณหาร้อยละผลผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยคำนวณตามสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = \frac{\text{นมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ (กรัม)}}{\text{รำข้าวเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100 \quad \text{------- สมการที่ 1}$$

3.2.3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางเคมี

1. ตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหาปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า และปริมาณเส้นใย ด้วยวิธีการของ AOAC (2000) โดยหาความชื้นด้วยการอบตัวอย่างที่ อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl method โดยใช้ค่า Conversion factor เป็น 5.95 สำหรับเปลี่ยนค่าปริมาณไนโตรเจนเป็นปริมาณโปรตีน วิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธีซอกห์เลท (Extractable lipid: Soxhlet method) วิเคราะห์เส้นใย (Crude fiber) ด้วยวิธีการย่อยด้วยกรดและด่าง วิเคราะห์ปริมาณเถ้าโดยการเผาตัวอย่างด้วยเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตด้วยวิธีการหาความแตกต่างจากองค์ประกอบอื่นๆ ในตัวอย่างน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์

2. ตรวจวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ISO 14502-1 (2005))

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างน้ำนมรำข้าวที่พัฒนาขึ้นโดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน ปิเปตตัวอย่างน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายโฟลิน 2.5 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงไปผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ร้อยละ 7.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงไปในแต่ละหลอดทดลองแล้วผสมให้เข้ากัน นำสารละลายที่ได้จากการผสมทุกอย่างแล้วไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Blank ทำการวัดค่า 3 ครั้ง รายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างน้ำนมรำข้าวในรูปของค่าความเข้มข้นของสารฟีนอลิกในตัวอย่างเทียบกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

3. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยเครื่อง pH meter ตามวิธีของ Sadler (2010) เทน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ประมาณ 20-30 มิลลิลิตร ลงในภาชนะ (บีกเกอร์) สำหรับการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของผลิตภัณฑ์ และรายงานผลการทดลองเป็นค่า pH ที่ได้โดยจะทำการวัดค่า 3 ครั้ง

4. วัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solid: TSS)

นำตัวอย่างน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ไปวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยเครื่อง Hand refractometer (0-32^{o}Brix) และรายงานผลในหน่วยขององศาบริกซ์ (^{o}Brix) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

5. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดของผลิตภัณฑ์

ปริมาณกรดทั้งหมดจะทำการหาค่าตามวิธีของ Sadler (2010) ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ลงไป จากนั้นหยด 2-3 หยดของสารละลายฟีนอฟทาลีน และนำไปไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จนถึงจุดยุติ (เปลี่ยนเป็นสีชมพู) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (คำนวนโดยใช้กรดแลคติคในการเทียบหาปริมาณกรดทั้งหมดในผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์)

6. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของผลิตภัณฑ์

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์จะตรวจวิเคราะห์ตามวิธีการของ Jame (1995) โดยสรุปคร่าวๆ ดังนี้ ชั่งตัวอย่างประมาณ 50 กรัมใส่ลงในขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Carrez I และ Carrez II ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร เจือจางโดยปรับปริมาตรให้ถึง 250 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองและนำส่วนที่กรองได้ (50 มิลลิลิตร) ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคอริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ลงไป เขย่าให้เข้ากันและนำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ตั้งให้เย็นและปรับให้เป็นกลางโดยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ 40 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นไตรเตรตเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ด้วยวิธีการของ Lane และ Eynon

3.2.3.3 สมบัติด้านกายภาพ

1. วัดค่าสีโดยเครื่องวัดสี Color Quest XE (Hunter Lab, Virginia) รายงานผลเป็นค่า L^*, a^*, b^*, ΔE และค่าความขาว (Whiteness) ของผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์

เทตัวอย่างน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ลงในภาชนะสำหรับวัดค่าสีในปริมาณที่เหมาะสม โดยใช้เครื่อง Color Quest XE (Hunter Lab, Virginia) ในการวัดสีของผลิตภัณฑ์เพื่อหาค่า L^* (ความสว่าง) a^* (สีแดง) b^* (สีเหลือง) ΔE (ความแตกต่างของสีจากตัวอย่างที่ใช้เทียบ คือ น้ำนมถั่วเหลืองทางการค้า) และค่าความขาวของผลิตภัณฑ์ (Whiteness) การทดลองจะทำการวัดค่าซ้ำ 3 ครั้งเพื่อความถูกต้องและแม่นยำของผลการทดลอง

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{--------- สมการที่ 2}$$

โดย $\Delta L^* = L^*_{\text{ตัวอย่าง}} - L^*_{\text{มาตรฐาน}}$

$\Delta a^* = a^*_{\text{ตัวอย่าง}} - a^*_{\text{มาตรฐาน}}$

$\Delta b^* = b^*_{\text{ตัวอย่าง}} - b^*_{\text{มาตรฐาน}}$

$$\text{ความขาว} = 100 - \sqrt{(100-L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{--------- สมการที่ 3}$$

2. วัดค่าความหนืดของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์โดยเครื่อง Brookfield viscometer (Brookfield engineering labs Inc. Middleboro, Ma 02346, U.S.A, Model LDVD-III+ Serial 67844)

ตัวอย่างน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์จะนำไปวัดค่าความหนืดโดยมีการดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Faccin et al. (2009) โดยเครื่อง Brookfield viscometer Model LDVD-III+ Serial 67844 และหัว Probe ที่ใช้สำหรับการวัดคือ UL Adapter spindle (UL-0) No.00 วัดค่าความหนืดของนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ที่ได้ที่อุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียส แล้วรายงานผลค่าความหนืดเป็นหน่วยของเซนติพอยด์ (cP) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

3. วัดความคงตัว (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ด้วยเทคนิคการจัดเรียงตัวแล้วตกตะกอน (Coagulation technique) (Yu & Raghavan, 2009)

เทน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ประมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ในกระบอกตวงปริมาตร (Cylinder) จากนั้นนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลการทดลองโดยบันทึกปริมาณของตะกอนรำข้าวที่ตกลงมาหรือแยกชั้นของในแต่ละวัน จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาความคงตัวตามสมการดังนี้

$$\text{ความคงตัว (ร้อยละ)} = ((10_a - \text{ปริมาณตะกอน}) / 10) \times 100 \quad \text{--------- สมการที่ 4}$$

โดย 10_a คือ ปริมาตรของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุม

4. วัดขนาดของอนุภาคและการกระจายตัว (Particle size distribution: PSD)

วัดขนาดของอนุภาคที่แขวนลอยและกระจายตัวอยู่ในน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ โดยการวัดขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคด้วยวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างแบบเปียก (Hydro 2000MU) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ Particle size and distribution analyzer (ยี่ห้อ Malvern รุ่น Mastersize 2000) ตามวิธีการของ Wang-Li, Cao, Buser, Whitelock, Parnell, and Zhang (2013) โดยดัดแปลงบางส่วน เตรียมตัวอย่างให้อยู่ในรูปสารแขวนลอยปริมาณ 700 มิลลิลิตร ในการวิเคราะห์ต่อครั้ง โดยใช้ความสัมพันธ์ของการเลี้ยวเบนของแสงเลเซอร์ที่ส่องผ่านตัวอย่าง โดยมีแสงเลเซอร์สีแดงและสีน้ำเงินเคลื่อนที่ผ่านกลุ่มตัวอย่าง (แสงสีแดงมีความยาวคลื่น 632.82 นาโนเมตร ใช้วัดอนุภาคขนาดใหญ่ และแสงสีน้ำเงินมีความยาวคลื่น 473.00 นาโนเมตร ใช้วัดอนุภาคขนาดเล็ก) จากนั้นจะมีตัวดีเทคเตอร์รับแสงจากการเลี้ยวเบน และวิเคราะห์ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคและบันทึกค่าเฉลี่ยการกระจายตัวของขนาดอนุภาคด้วยการประมวลผลของเครื่องวัดการกระจายตัวของขนาดอนุภาคผ่านคอมพิวเตอร์ การคำนวณหาขนาดของอนุภาคจะมีความสัมพันธ์ของการเลี้ยวเบนของแสงดังนี้

$$\sin\theta = \frac{1.22\lambda}{t} \qquad \text{------- สมการที่ 5}$$

โดย θ คือ มุมของการเลี้ยวเบน

t คือ ขนาดอนุภาค

λ คือ ความยาวคลื่นแสงที่กระทบอนุภาค

3.2.3.4 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (Molyneux, 2004)

การวัดการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างน้ำนมรำข้าวโดยใช้สารละลายโทรล็อก (Trolox stock solution) เป็นสารมาตรฐาน ปิเปตตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดการทดลอง จากนั้นปิเปตสารละลาย DPPH 1,950 ไมโครลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 เป็น Blank ทำการวัดค่า 3 ครั้ง รายงานผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในรูปของค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างเทียบกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

3.2.3.5 สมบัติทางด้านจุลินทรีย์

นำน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ (สูตรที่ดีที่สุดจากการศึกษาแต่ละปัจจัยข้างต้นในน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ที่เลือกมาทำเป็นชนิดผงพร้อมชง) และน้ำนมรำข้าวชนิดผงพร้อมชง ตรวจ

วิเคราะห์สมบัติทางด้านจุลินทรีย์โดยอ้างอิงวิธีการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์จาก 3M Petrifilm™ โดยเตรียมตัวอย่างน้ำนมรำข้าวทั้งสองชนิดดังนี้

เตรียมตัวอย่างที่ต้องการตรวจ (ประมาณ 10 กรัม) ผสมกับสาระลายเปปโตน 90 มิลลิลิตร เจือจางที่ 1:10, 1:100, 1:1000 และ 1:10000 ตามลำดับ จากนั้นปิเปตตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงบนแผ่นทดสอบเชื้อ Petrifilm ของแต่ละชนิดที่ใช้ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นกดตัวอย่างให้เต็มแผ่นวงกลมบน Petrifilm ตรวจเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้

1. วิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) (AOAC, 2002) 986.33

บ่มที่อุณหภูมิ 32 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง ตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์จากแผ่น petrifilm เพาะเชื้อ บันทึกผลและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง (CFU/ml)

2. วิเคราะห์หาปริมาณ *Escherichia coli* / Coliform (AOAC, 2002) 991.14

บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง สำหรับการตรวจสอบ *Coliform* ในขณะที่การตรวจสอบ *Escherichia coli* จะบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง บันทึกผลและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง (CFU/ml)

3. วิเคราะห์หาปริมาณ *Staphylococcus aureus* (AOAC, 2002) 2003.07

บ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ตรวจสอบโคโลนีและบันทึกผลโดยเลือกนับโคโลนีที่มีสีดำขอบขาวและแวว ใสรอบโคโลนีมีบริเวณใส (Clear zone) บันทึกผลและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง (CFU/ml)

4. วิเคราะห์หาปริมาณ Yeast และ Mold (AOAC, 2002) 997.02

บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน บันทึกผลโดยนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น (3 วันสำหรับ Yeast และ 5 วันสำหรับ Mold) รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง (CFU/ml)

5. วิเคราะห์หาปริมาณ *Bacillus cereus* (BAM, 2002)

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ข้างต้นประมาณ 0.1 มิลลิลิตร เทลงจานเพาะเชื้อ Mannitol egg yolk polymyxin agar (MYP) เกลี่ยตัวอย่างด้วยวิธีการ Spread plate ให้ทั่วบนจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง สังเกตลักษณะรอบๆ โคโลนีจะขุ่น โดยโคโลนีจะมีสีชมพู บันทึกผลแล้วนำมาทดสอบยืนยันขั้นต่อไป จากนั้นเขี่ยเชื้อที่มีลักษณะ

สงสัยลงใน Nutrient agar slant นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง บันทึกผลและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง (CFU/ml)

3.2.3.6 ประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส

การทดสอบทางประสาทสัมผัสจะดำเนินการตามวิธีของ Stone และ Sidel (1985) โดยมีการดัดแปลงบางส่วน สรุปสั้นๆ ดังนี้ เตรียมตัวอย่างน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ประมาณ 30 มิลลิลิตร เทลงในแก้วภาชนะสำหรับการทดสอบชิม ตัวอย่างที่ทำการทดสอบชิมจะมีรหัส 3 ตัว กำกับไว้กับตัวอย่าง โดยจะมีตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่มีในท้องตลาด (Commercial product) ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ที่ศึกษามากที่สุด (น้ำนมถั่วเหลือง) นำมาทดสอบชิมเปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ด้วย หลังจากที่ผู้ทดสอบชิมทำการประเมินลักษณะของผลิตภัณฑ์แล้ว ผู้ทดสอบจะทำการประเมินโดยให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (Nine-point hedonic scale) ต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ สี กลิ่นรส รสชาติ ความหวาน ลักษณะปรากฏ และความชอบโดยรวม ของผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ในแบบประเมินที่จัดเตรียมไว้ให้

หลังจากศึกษาปัจจัยที่กำหนดไว้ในการผลิตน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ (สัดส่วนของรำข้าวต่อน้ำที่ใช้ในการผลิต ความคงตัวของน้ำนมรำข้าวด้วยการเติมไฮโดรคอลอยด์ต่อการเพิ่มความคงตัว และการลดขนาดของโมเลกุลของแป้งและเซลลูโลสโดยใช้เอนไซม์กลุ่มอะไมเลสผสมกับเซลลูเลส และการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวกลิ่นรสต่างๆ) และวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์เรียบร้อยแล้ว จากนั้นเลือกโดยใช้เกณฑ์ของสภาวะที่ดีที่สุดของการศึกษาในแต่ละปัจจัย และการให้คะแนนความชอบโดยรวมจากผู้บริโภคที่สูงที่สุดจากการผลิตน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ เพื่อนำมาแปรรูปผลิตเป็นน้ำนมรำข้าวชนิดผง และตรวจวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ ของน้ำนมรำข้าวชนิดผงพร้อมชงต่อไป

3.2.4 การผลิตน้ำนมรำข้าวผง

นำน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์สูตรที่มีสมบัติดีที่สุด (มีความคงตัวสูงที่สุด และมีคะแนนความชอบโดยรวมของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์สูงที่สุด) จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ในการผลิตน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์ก่อนหน้าโดยไม่ต้องปรับสูตร เข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer: JCM/SDE-10 Minilab) ด้วยวิธีการของ Jinapong, Suphantharika, and Jamnong (2008) โดยมีการดัดแปลงบางส่วน ใช้ปั๊ม Peristaltic และ Atomized ให้เป็นละอองขนาดเล็กโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วในการหมุน 3,000 รอบต่อนาที (0.04 บาร์ความดันอากาศ) ในทิศทางเดียวกันของระบบการไหลของอากาศ อุณหภูมิของอากาศที่ไหลเข้าอยู่ที่ 180 ± 2 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของอากาศที่ไหลออกจะถูกรักษาระดับอุณหภูมิไว้ที่ 80 ± 2 องศาเซลเซียส โดยการเปลี่ยนแปลง

อัตราการนำเข้าตัวอย่างเพื่อทำแห้งอยู่ในช่วง 26-33 มิลลิลิตรต่อนาที จากนั้นเก็บรวบรวมผงที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยจากกรวยภาชนะที่รองรับผลิตภัณฑ์ผงของเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย และนำตัวอย่างที่ได้ไปใช้สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพต่อไป

3.2.5 การวิเคราะห์และตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมรำข้าวชนิดผง

3.2.5.1 ร้อยละผลผลิต (Wang et al., 1999)

นำนมรำข้าวชนิดผงที่ได้จากกระบวนการทำแห้งให้เป็นผงแล้วไปคำนวณหาร้อยละผลผลิตของผลิตภัณฑ์โดยคำนวณตามสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละผลผลิต} = \frac{\text{น้ำนมรำข้าวชนิดผง (กรัม)}}{\text{รำข้าวเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100 \quad \text{------- สมการที่ 6}$$

3.2.5.2 วิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางเคมี

1. ตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีหาปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า และปริมาณเส้นใย ด้วยวิธีการของ AOAC (2000) ตามวิธีการทดสอบก่อนหน้า

2. ตรวจวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างด้วยวิธีการทดสอบก่อนหน้า

3. วิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity)

ตรวจวัดปริมาณน้ำอิสระด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity) (NOVASINA) โดยชั่งน้ำนมรำข้าวชนิดผงใส่ในถ้วยพลาสติกสำหรับตรวจวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระประมาณ 3 กรัม จากนั้นนำเข้าเครื่องวิเคราะห์และอ่านค่าปริมาณน้ำอิสระจากเครื่องวิเคราะห์จนค่าคงที่ ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

4. ตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยเครื่อง pH meter

นำนมรำข้าวชนิดผงประมาณ 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร จากนั้นวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือค่า pH แล้วทำการบันทึกผล การทดลองจะทำซ้ำกัน 3 ครั้งเพื่อความถูกต้องตามวิธีการทดสอบก่อนหน้า

5. ตรวจวัดปริมาณกรดทั้งหมด

การวัดปริมาณกรดทั้งหมดของผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวชนิดผงจะวัดตามวิธีของ Sadler (2010) ที่กล่าวไว้เช่นเดียวกับการทดสอบก่อนหน้า

6. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ในตัวอย่างน้ำนมรำข้าวชนิดผง โดยเครื่องวิเคราะห์วิตามินและแร่ธาตุต่าง (HPLC / ICP-OES) ด้วยวิธีการของ AOAC (2012) 942.23

สำหรับการวิเคราะห์วิตามินต่างๆ ดังนี้ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 (ไนอะซิน) วิตามินอี และวิธีการของ AOAC (2005) 984.27, 999.10 สำหรับการวิเคราะห์แร่ธาตุต่างๆ ประกอบด้วย แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และสังกะสี

7. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน

ตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณกรดอะมิโนในน้ำนมรำข้าว ดังต่อไปนี้ ไกลซีน อะลานีน วาลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน เมไธโอนีน โปรลีน ฟีนิลอะลานีน ทริปโตแฟน เซรีน ทรีโอนีน แอสพาราจีน กลูตามีน ไทโรซีน ซีสเตอีน ไลซีน อาร์จีนีน ฮิสติดีน กรดแอสปาร์ติก และกรดกลูตามิก ด้วยวิธีการของ AOAC (2000) 994.12, 988.15 โดยสรุปดังนี้ ละลายผงน้ำนมรำข้าว ตัวอย่างปริมาณ 10 ไมโครกรัม ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตรและบอเรทบัฟเฟอร์ pH 9.3 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 30 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน กรองด้วยตัวกรองไนลอน จากนั้นวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยใช้เครื่อง GC-MS (ใช้กรดอะมิโนมาตรฐาน 20 ชนิดในการเปรียบเทียบ)

8. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระ

ตรวจวิเคราะห์กรดไขมันอิสระและปริมาณในผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวผงโดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์กรดไขมันอิสระ (GC-FID) อ้างอิงตามวิธีการของ AOAC (2012) 996.06 ชั่งตัวอย่างประมาณ 10 มิลลิกรัม จากนั้นใช้สารละลายเมทานอล-โบรอนฟูออไรด์ ในการสกัดไขมัน โดยจะทำให้อยู่ในรูปของสารละเหย Fatty Acid Methyl Esters (FAME) สภาวะการวิเคราะห์ใช้คอลัมพ์แบบ capillary column 100m x 0.25 mm i.d., 0.2 µm (Supelco), Agilent 6890N, USA อุณหภูมิในการนำเข้าตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร และตรวจวัดเป็น 250 องศาเซลเซียส อัตราการไหลเข้าของไฮโดรเจนและอากาศเป็น 40 และ 450 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ จากนั้นนำมาเทียบกับสารมาตรฐานของกรดไขมันอิสระ (SupelcoTM 37 Component FAME Mix) เพื่อตรวจหาชนิดและปริมาณของกรดไขมันอิสระในน้ำนมรำข้าวชนิดผง

3.2.5.3 สมบัติทางกายภาพ

1. ตรวจวัดค่าความหนาแน่นรวม (Bulk density) (Prakash & Ramanatham, 1995)

ชั่งตัวอย่างน้ำนมรำข้าวชนิดผง 2 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในกระบอกตวงขนาด 25 มิลลิลิตร เคาะกระบอกตวงเบาๆ และอ่านค่าปริมาตรที่คงที่ที่วัดได้ และนำมาคำนวณตามสมการ รายงานผลการวิเคราะห์ค่าความหนาแน่นรวมในหน่วย กรัมของน้ำนมรำข้าวชนิดผงต่อปริมาตรของน้ำนมรำข้าวชนิดผง

ความหนาแน่นรวม (กรัม/มิลลิลิตร) = น้ำหนักตัวอย่าง ------- สมการที่ 7
ปริมาตรที่ได้จากกระบอกตวง

2. ตรวจวัดค่าสีโดยเครื่องวัดสี Color Quest XE (Hunter Lab, Virginia) รายงานผลเป็นค่า L^*, a^*, และ b^* เช่นเดียวกับการทดสอบก่อนหน้า

3. ตรวจวัดการละลายและการพองตัว

การพองตัวและการละลายของน้ำนมรำข้าวชนิดผงจะตรวจวัดตามวิธีของ Ahamed (1996) โดยมีการดัดแปลงบางส่วน ชั่งตัวอย่างน้ำนมรำข้าวชนิดผงประมาณ 1 กรัม (Ws) ใส่ลงในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร จากนั้นใส่ลงในหลอดทดลองสำหรับการปั่นเหวี่ยง (หลอดที่นำมาจะถูกบันทึกน้ำหนักที่แน่นอนไว้ก่อนแล้ว) หลอดจะถูกตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 700g เป็นเวลา 20 นาที (4 องศาเซลเซียส) แล้วแยกส่วนที่ใสออก จากนั้น 10 มิลลิลิตร ของส่วนใสจะถูกเทลงในจานทดลองที่บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนไว้ก่อนหน้านี้ นำตัวอย่างที่อยู่บนจานทดลองไปทำแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงและส่วนที่เหลือจะนำไปคำนวณความแตกต่างของน้ำหนัก (R) จากนั้นชั่งน้ำหนักของหลอดทดลองสำหรับปั่นเหวี่ยง และคำนวณความแตกต่างของน้ำหนักตัวอย่างในหลอดหลังจากการปั่นเหวี่ยง (Wc) การพองตัว (SP) และดัชนีการละลาย (SI) โดยคำนวณตามสมการดังต่อไปนี้

การพองตัว (กรัม/กรัม) = Wc / Ws ------- สมการที่ 8

การละลาย (ร้อยละ) = (R / Ws) x 100 ------- สมการที่ 9

3.2.5.4 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ตรวจวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในตัวอย่างน้ำนมรำข้าวชนิดผงด้วยวิธีการทดสอบก่อนหน้า

3.2.5.5 สมบัติทางด้านจุลินทรีย์

ตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำนมรำข้าวชนิดผงโดยอ้างอิงวิธีการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจาก 3M Petrifilm™ เช่นเดียวกับการทดสอบก่อนหน้าในน้ำนมรำข้าวพาสเจอร์ไรส์

3.2.5.6 ประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส

การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมรำข้าวชนิดผงจะดำเนินตามวิธีการของ Stone และ Sidel (1985) เช่นเดียวกับการประเมินก่อนหน้า แต่มีการดัดแปลงบางส่วนดังนี้ นำ

ตัวอย่างน้ำนมรำข้าวชนิดผง 20 กรัม เทลงในแก้วภาชนะสำหรับการทดสอบชิม ชงด้วยน้ำเดือด 150 มิลลิลิตร จากนั้นประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยจะมีตัวอย่างชุดควบคุมที่มีวางจำหน่าย (Commercial product) เป็นเครื่องดื่มน้ำนมถั่วเหลืองชนิดผงที่มีลักษณะใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวชนิดผงของการศึกษามากที่สุดและเตรียมตัวอย่างก่อนทดสอบชิมเช่นเดียวกับน้ำนมรำข้าวชนิดผง โดยผู้ประเมินจะทำการประเมินให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (Nine-point hedonic scale) ต่อลักษณะของ สี กลิ่น รสชาติ ความหวาน ลักษณะปรากฏ การละลาย ความชอบโดยรวม และการยอมรับของผลิตภัณฑ์น้ำนมรำข้าวชนิดผงลงในแบบประเมินที่จัดเตรียมไว้ให้

3.2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำมาวิเคราะห์ผลและรายงานผลในรูปของค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± SD) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างค่าเฉลี่ยที่ความแปรปรวนหลายระดับของ Duncan (Duncan's multiple's range test) เปรียบเทียบความแปรปรวนที่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สำเร็จรูปทางสถิติ SPSS 16.0 (SPSS 16.0 for window, SPSS Inc, Chicago, IL)