

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัตถุดิบ

- 1.1 ปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ (บริษัทวัชรวรรณ กรีนฟาร์ม อ.ดอกคำใต้ จ.พะเยา)
- 1.2 หางนมผง (Skimmed milk powder) (ร้าน Miss Ice cream)
- 1.3 นมสดรสจืด (ยี่ห้อ meiji)
- 1.4 น้ำตาลทราย (บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด)
- 1.5 สแตบิไลเซอร์ และอิมัลซิไฟเออร์ (S/E) เป็นสูตรทางการค้า จากโรงเรียนสอนทำไอศกรีม Miss Ice cream
- 1.6 เดกโตรส (โรงเรียนสอนทำไอศกรีม Miss Ice cream)
- 1.7 มอลโตเดรกตริน (โรงเรียนสอนทำไอศกรีม Miss Ice cream)
- 1.8 วิปปิ้งครีม (ยี่ห้อ Anchor)
- 1.9 เกลือ (ยี่ห้อ ประุงทิพย์)

2. สารเคมี

2.1 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH)

- 2.1.1 ดีพีพีเอช DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical, assay 90%) (Sigma Chemical Co.)
- 2.1.2 เอทานอล (Ethanol) AR grade (QRèC, New Zealand)
- 2.1.3 โพลินซีโอแคลทู (Folin - Ciocalteu' phenol reagent) (Fluka, USA)
- 2.1.4 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) (Na_2CO_3) (Fluka Chemical)
- 2.1.5 กรดแกลลิก (gallic acid) (Fluka Chemical)
- 2.1.6 โทรลอกซ์ (Trolox) (Sigma Chemical Co.)

2.2 การวิเคราะห์โปรตีน

- 2.2.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) 98% Analytical grade, RCI Labscan, ประเทศไทย
- 2.2.2 กรดบอริก (Boric acid) (Analytical grade, Ajax Finechem, Australia)
- 2.2.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) Analytical grade, RCI Labscan, ประเทศไทย
- 2.2.4 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper(II)sulfate pentahydrate) Analytical grade, QRëC, New Zealand
- 2.2.5 โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate) Technical grade, Carlo Erba Reagents, Italy
- 2.2.6 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) Analytical grade, Ajax Finechem, Australia
- 2.2.7 โบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green) Analytical grade, Ajax Finechem, Australia
- 2.2.8 เมทิลเรด (Methyl red) Analytical grade, Panreac, Spain

2.3 การวิเคราะห์ไขมัน (Crude fat)

- 2.3.1 ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) Analytical grade, J.T.Baker, USA.

2.4 การวิเคราะห์เส้นใยหยาบ (Crude fiber)

- 2.4.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) 98% Analytical grade, RCI Labscan, ประเทศไทย
- 2.4.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) Analytical grade, Merck, Germany
- 2.4.3 อะซิโตน (Acetone) Analytical grade, RCI Labscan, ประเทศไทย

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

3.1.1 เครื่องวัดค่าสี (Handy Colorimeter, NR3000/Nippon denshoku/Japan)

3.1.2 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield, RV Spindle set, Brookfield Engineering Labs.Inc., USA)

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

3.2.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert 40, Germany)

3.2.2 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน BÜCHI Digestion Unit K-435 (BÜCHI Labortechnik AG, Switzerland)

3.2.3 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน (Soxtec 2050 Auto extraction unit, Swizerland)

3.2.4 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์เส้นใย (Crude fiber) (Fibertec™ System M2, Swizerland)

3.2.5 เตาเผา (Muffle furnace, Tactical 308, Gallenkamp, UK)

3.2.6 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer, Thermo Scientific, USA)

3.2.7 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge, Z 206 A, Hermle Labortechnik, Germany)

3.2.8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, WB 22, Memmert GmbH+Co.KG., Germany)

3.2.9 เครื่องกวนสารแบบแม่เหล็ก (Magnetic stirrer, RCT Basic, IKA® WERKE, Malaysia)

3.2.10 เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (รุ่น Percisa 240A, Switzerland)

3.2.11 เครื่องวัดกรด-ด่าง (pH meter, รุ่น 860033 ยี่ห้อ spher Scientific, USA)

3.2.12 เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex mixer, VX100, Labnet International, Inc., USA)

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการผลิตไอศกรีม

- 3.3.1 เครื่องปั่นเยือกแข็งไอศกรีม (Nemox, gelato Chef 5L Automatic, Italy)
- 3.3.2 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (GT4100, Ohaus, USA)
- 3.3.3 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ (Thermocouple)
- 3.3.4 ตู้แช่เย็น (Refrigerator, SJ D55G GY, Sharp)
- 3.3.5 ตู้แช่แข็ง (Freezer, SF-C65, Sanyo, ประเทศไทย) อุณหภูมิ -20 ± 1

องศาเซลเซียส

- 3.3.6 ภาชนะและอุปกรณ์เครื่องครัว

3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ตรวจสอบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม

- 3.4.1 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ (Thermocouple)
- 3.4.2 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Ohaus, Model GT4100, USA)
- 3.4.3 อุปกรณ์สำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

4. วิธีการทดลอง

4.1. การศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่อินทรีย์

4.1.1 ศึกษาชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่

นำปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ มาบดด้วยเครื่องปั่น blender ให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 mesh จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายทั้งหมด 6 ระบบ ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล ร้อยละ 10, 20, 30, 40 และ 50

โดยใช้อัตราส่วนระหว่างข้าว ต่อตัวทำละลายเป็น 1: 3 สกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใส ในขวดแก้วสีชาแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าต่างๆ

4.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญต่าง ๆ ของสารสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่อินทรีย์

โดยนำสารสกัดที่ได้จากข้อ 4.1.1 มาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ได้แก่

1) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

นำสารสกัดข้าวที่เตรียมได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu reagent method ดัดแปลงจากวิธีของ Maizura *et al.* (2011) โดยนำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับ 10% Folin ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 4 นาที จากนั้นเติม 5% Na_2CO_3 ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร บ่มไว้ 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่าง 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) หรือ (mg Gallic acid equivalents (GAE)/100g dry weight basis)

2) ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH

โดยนำสารสกัดข้าวที่เตรียมได้มาทำการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ดัดแปลงจาก Zhang *et al.* (2015) โดยนำสารสกัดข้าว ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับ DPPH ความเข้มข้น 200 mM ปริมาตร 2 มิลลิลิตร บ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 μM รายงานผลเป็นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (มิลลิโมลสมมูลของ Trolox ต่อตัวอย่าง 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) หรือ mM Trolox equivalents (TE) / 100 g dry weight)

3) ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธี pH- differential

การวัดปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธี pH- differential ดัดแปลงมาจาก นเรศ บางศิริ (2557) โดยเจือจางสารสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ (pH1.0) และสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท (pH 4.5) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 และ 700

นาโนเมตร ให้ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 0.2-0.8 คำนวณและรายงานผลเป็นปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมของไซยานิดิน-3 กลูโคไซด์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน ซึ่งจะแสดงในรูปของ cyanidin-glucoside

$$\text{Anthocyanin (mg/L)} = A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000 / \epsilon \times l$$

โดย $A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$

MW= 499.2 gmol⁻¹ (cyanidin-3-glucoside)

DF = dilution factor

ϵ = molar extinction coefficient ; 26,900 l.mol⁻¹.cm⁻¹, cyanidin-3-glucoside,

l = ความกว้างของคิวเวต (cm)

จากนั้นคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยพิจารณาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH และปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด จากนั้นทำการสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่โดยใช้ตัวทำละลายที่คัดเลือกได้ ในระดับขยายขนาด เพื่อให้ได้สารสกัดปริมาณมาก เพื่อนำสารสกัดที่ได้ไปใช้ในขั้นตอนการการทำแห้งโดยการแช่เยือกแข็ง freeze dry เพื่อให้ได้สารสกัดผงแอนโทไซยานิน

4.2 การศึกษาการทำแห้งของสารสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่

โดยนำสารสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ทำในระดับขยายขนาด เพื่อให้ได้สารสกัดปริมาณมาก มาระเหยตัวทำละลายออก โดยการระเหยภายใต้ภาวะสุญญากาศ จากนั้นนำสารสกัดไปทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) จากนั้นนำสารสกัดผงแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพต่าง ๆ เช่นเดียวกับขั้นตอนในข้อ 4.1.1 และนำสารสกัดผงแอนโทไซยานิน ไปศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมต่อไป

4.3 ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดผงแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ในไอศกรีม

4.3.1 ศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไอศกรีมผสมสารสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่

สูตรพื้นฐานในการผลิตไอศกรีมชนิดซอฟเฟ้นสูตรที่ดัดแปลงจาก พรหล้า ชาวเขียว (2549) โดยเติมสารสกัดแอนโทไซยานินในปริมาณต่างๆ 4 ระดับ ได้แก่ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1.0 และ 1.5 (น้ำหนักสารสกัด/น้ำหนักของส่วนผสมไอศกรีม) ลงในขั้นตอนการปั่นส่วนผสม โดยส่วนผสมในการผลิตไอศกรีม แสดงดังตารางที่ 3.1 วิธีการผลิตไอศกรีม มีดังนี้ โดยนำส่วนผสมเป็นของแข็งได้แก่ หางนมผง, น้ำตาลทราย, เดกโตรส, มอลโตเดกซ์ทริน และเกลือ ผสมให้เข้ากันในชามผสม นำสารให้ความคงตัว และอิมัลซิไฟเออร์ (S/E) ผสมในชามน้ำร้อนที่ตั้งไฟ ให้มีอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส คนให้เข้ากันอย่างรวดเร็วจน S/E ละลาย ยกออกจากเตา จากนั้นนำวัตถุดิบที่เป็นของเหลว ได้แก่ นมสด และ วิปปิ้งครีมมาผสมให้เข้ากัน เติมวัตถุดิบที่เป็นของแข็งลงไปคนจนละลายดี จึงนำส่วนผสมไปปั่นในเครื่องปั่นผสมอาหารความเร็วสูงนาน 2 นาที เพื่อให้ส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกันและเป็นการโฮโมจิไนส์ไอศกรีมเหลวที่ได้ แล้วพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 นาที จึงลดอุณหภูมิการผสมอย่างรวดเร็ว จากนั้นนำส่วนผสมไอศกรีมเหลวดังกล่าวบ่มที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำไอศกรีมเหลวที่ผ่านการบ่มมาปั่นในเครื่องปั่นไอศกรีมเป็นเวลา 40 นาที ควบคุมอุณหภูมิห้องที่ใช้ปั่นไอศกรีมที่ 25 องศาเซลเซียส บรรจุไอศกรีมที่ได้ลงในกล่องพลาสติกมีฝาปิด นำไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาตรวจสอบคุณภาพด้านต่าง ๆ

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมในการผลิตไอศกรีมที่เติมสารสกัดแอนโทไซยานินจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่

ส่วนผสม	ไอศกรีมสูตรควบคุม (control)	ไอศกรีมผสมสารสกัดจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ ร้อยละ 0.5	ไอศกรีมผสมสารสกัดจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ ร้อยละ 1.0	ไอศกรีมผสมสารสกัดจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ ร้อยละ 1.5
น้ำตาลทราย (กรัม)	80	80	80	80
S/E (กรัม)	4	4	4	4
น้ำร้อน (กรัม)	105	105	105	105
หางนมผง (กรัม)	60	60	60	60
Dextrose (กรัม)	10	10	10	10
Maltodextrin (กรัม)	40	40	40	40
นมสด (กรัม)	600	600	600	600
สารสกัดผงจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่ (กรัม)	-	5	10	15
วิปิ้งครีม (กรัม)	100	100	100	100
เกลือ (กรัม)	1	1	1	1
รวม (กรัม)	1000	1000	1000	1000

4.3.2 การวิเคราะห์คุณภาพของไอศกรีมด้านต่างๆ

4.3.2.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของไอศกรีม

(1) ค่าความหนืด

โดยวัดค่าความหนืดของส่วนผสมภายหลังการบ่ม ด้วยเครื่อง Brookfield Digital Viscometer (ดัดแปลงตามวิธีของ Chang *et al.*, 1995) โดยวัดความหนืดของส่วนผสมไอศกรีมเหลวหลังผ่านการบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 4 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยเครื่องวัดความหนืด ใช้หัวหมุนเบอร์ 1 อ่านค่าที่ได้หลังมอเตอร์หมุน 30 วินาที ควบคุมอุณหภูมิเหลวที่ 20 ± 1 องศาเซลเซียส วัดสิ่งทดลองละ 2 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

(2) ค่า pH

(3) ค่าสี L, a*, b*

(4) ค่าอัตราการขึ้นฟู (Overrun) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Rizk, 2014)

การวัดค่าอัตราการขึ้นฟู (Overrun) ของไอศกรีมโดยกำหนดปริมาตรคงที่ ซึ่งน้ำหนักไอศกรีมเหลวในถ้วยแก้วขนาดความจุ 30 ลูกบาศก์มิลลิเมตร บนเครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักไอศกรีมเหลว หลังจากปั่นเป็นไอศกรีม ซึ่งน้ำหนักไอศกรีมที่บรรจุในถ้วยแก้วใบเดิม บันทึกค่าน้ำหนักไอศกรีมที่ได้ นำข้อมูลไปคำนวณค่าโอเวอร์รันดังต่อไปนี้

โอเวอร์รัน (เปอร์เซ็นต์) = $(\text{น้ำหนักไอศกรีมเหลว} - \text{น้ำหนักไอศกรีม}) \times 100 / \text{น้ำหนักไอศกรีม}$

*วัดสิ่งทดลองละ 2 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

(5) ค่าอัตราการละลาย (ดัดแปลงจากวิธีของ Rizk, 2014)

การวัดอัตราการละลาย โดยบรรจุไอศกรีมลงในถ้วยพลาสติกให้น้ำหนัก 50 ± 5 กรัม นำไอศกรีมไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดอัตราการละลายที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 1 องศาเซลเซียส โดยวางไอศกรีมบนตะแกรงลวดเบอร์ 4 รองรับไอศกรีมที่ละลายด้วยปิ๊กเกอร์ขนาด 250 มิลลิเมตร เริ่มวัดอัตราการละลายเมื่อไอศกรีมมีอุณหภูมิ -10 ± 0.1 องศาเซลเซียสที่ระดับความลึก 1 เซนติเมตร จากผิวหน้าไอศกรีม โดยวัดจากแท่งวัดอุณหภูมิ (thermocouple) จากนั้นชั่งน้ำหนัก ไอศกรีมที่ละลายทุก 10 นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง คำนวณน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายคิดเทียบน้ำหนัก 100 กรัม ดังสมการข้างล่าง จากนั้นนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟกับเวลา (นาที) เพื่อหาความชัน รายงานหน่วยอัตราการละลายเป็น กรัมต่อนาที วัดสิ่งทดลองละ 2 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

น้ำหนักไอศกรีมที่ละลายต่อ 100 กรัม = $\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลาย} \times 100 / \text{น้ำหนักไอศกรีมเริ่มต้น}$

4.3.2.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของไอศกรีม

(1) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolics Content) (เหมือนในข้อ 4.1.1)

โดยทำการสกัดไอศกรีม โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 80 ในการสกัด ปริมาณไอศกรีม : ตัวทำละลายเป็น 1 : 5 โดยนำไอศกรีมปริมาณ 10 กรัม ผสมในเอทานอล ร้อยละ 80 ปริมาณ 50 กรัม ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดมาเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 5,000

rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใส ในขวดแก้วสีชาแล้วเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolics Content) (วิธีเหมือนในข้อ 4.1.1)

(2) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Radicals scavenging) โดยวิธี DPPH scavenging activity assay (โดยนำสารสกัดไอศกรีมจากข้อ 4.3.2.2 มาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Radicals scavenging) โดยวิธี DPPH เหมือนในข้อ 4.1.1)

4.3.2.3 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยให้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน ชิมและให้คะแนนความชอบต่อคุณลักษณะด้านสี กลิ่น รสชาติ ความเรียบเนียน เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยใช้ 9 - Point Hedonic scale ให้คะแนนตั้งแต่ 1-9 (1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด 9 คือ ชอบมากที่สุด)

จากนั้นทำการคัดเลือกไอศกรีมสูตรที่มีปริมาณสารสำคัญสูง ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Radicals scavenging) และพิจารณาจากคะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

4.3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

นำไอศกรีมสูตรควบคุม และไอศกรีมผสมสารสกัดจากปลายข้าวไรซ์เบอร์รี่สูตรที่คัดเลือกได้ โดยคัดเลือกสูตรที่มีปริมาณสารสำคัญสูง ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และพิจารณาจากคะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส เพื่อนำไอศกรีมที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น, ไขมัน (ด้วยวิธี Soxhlet), โปรตีน (ด้วยวิธี Kjeldahl) , เส้นใยหยาบ (ด้วยวิธี Soxhlet), ปริมาณเถ้า (โดยวิธีของ AOAC., 2007) (ภาคผนวก ก) และคาร์โบไฮเดรต (% คาร์โบไฮเดรต = 100 - (% ความชื้น + % โปรตีน + % ไขมัน + % เส้นใยหยาบ + % เถ้า)

4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทุกการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Designs (CRD) ส่วนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ในทุกการทดลอง เปรียบเทียบ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วยวิธี ANOVA (Analysis of Variance) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95