บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัตถุดิบ

1.1 ข้าวไรซ์เบอร์รี่ เก็บเกี่ยวในระยะเม่า และระยะแก่ (จากนาข้าว ต.หนองขาม อ.หนองหญ้าไซ จ.สุพรรณบุรี)

1.2 นมผงขาดมันเนย (ร้านสอนทำไอศกรีม Miss Ice cream)

1.3 น้ำตาลทราย (บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด)

1.4 ชาเขียวญี่ปุ่นชนิดผง (จากบริษัท Maruzen foods (Thailand), จำกัด)

1.5 ผงโกโก้ (ยี่ห้อ Plein Arome, ประเทศเบลเยี่ยม)

2. สารเคมี

2.1 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH)

2.1.1 ดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl radical, assay 90%, DPPH) (Sigma Chemical Co.)

2.1.2 เอทานอล (Ethanol) AR grade (QRëC, New Zealand)

2.1.3 โฟลินซิโอแคลทู (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 ปิโตรเลียมอีเทอร์ (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

2.5 สารก่อโฟม

2.5.1 เมโทเซล (Methocel) (บริษัท รวมเคมี 1986 จำกัด)

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)

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการอบแห้งแบบโฟม-แมทและการผลิตเครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูป

3.3.1 เครื่องปั่นทำน้ำธัญพืชแบบอัตโนมัติ (ยี่ห้อ (philips)

3.3.2 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (GT4100, Ohaus, USA)

3.3.3 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ (Thermocouple)

3.3.4 ภาชนะและอุปกรณ์เครื่องครัว

3.3.5 เครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dryer)

3.3.6 เครื่องตีผสม (ยี่ห้อ Kitchen Aids)

3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ตรวจสอบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.4.1 อุปกรณ์สำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

4. วิธีการทดลอง

1.การศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกัน

1.1 การปลูกข้าว

ปลูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ในฤดูทำนาปี โดยเกษตรกรปลูกข้าวที่ ต.หนองขาม อ.หนองหญ้าไซ จ.สุพรรณบุรี โดยเริ่มปลูกข้าววันที่ 12 สิงหาคม 2559 รวมอายุข้าว 140 วัน บวกลบผลผลิตต่อไร่ 500-700 กิโลกรัมต่อไร่ ข้าวอายุ 30 วัน ให้น้ำสม่ำเสมอ เริ่มให้จุลินทรีย์ทางน้ำควบคุมน้ำอย่าให้ขาดเพื่อป้องกันวัชพืช ข้าวอายุ 60 วันเริ่มให้ปุ๋ยทางใบ ฉีดน้ำส้มควันไม้ไล่แมลง และฉีดฮอร์โมนต่าง ๆ ภายใน 75-80 วัน ข้าวอายุ 85 วันข้าวเริ่มตั้งท้อง ลำต้นเริ่มกลม ดูแลให้น้ำสม่ำเสมอ ช่วง 100-120 วัน เป็นช่วงสร้างน้ำนมข้าวและเปลี่ยนเป็นแป้งเต็มเมล็ดต่อมาก็เป็นช่วงเม่าและแก่ไปตามลำดับ ช่วง 123-130 วันให้ดูสภาพอากาศเพื่อรอเก็บเกี่ยว ควรรอให้รวงข้าวแห้ง 70-80% ถึงจะเก็บเกี่ยวได้

ระยะการเก็บเกี่ยวข้าวที่ใช้ในการทดลอง มี 2 ช่วงคือ

1.ช่วง 120-130 วัน เป็นช่วงข้าวกำลังเม่า ยังไม่แก่เต็มที่

2. ช่วง 130-140 วัน เป็นช่วงข้าวแก่เต็มที่

1.2 การศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

1.2.1 การสกัดตัวอย่างข้าว

นำข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ระยะการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกัน 2 ระยะ ได้แก่ ระยะเม่าและระยะข้าวแก่เต็มที่ มาบดด้วยเครื่องปั่นของแห้ง (blender) ให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 เมซ (mesh) จากนั้นนำมาสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 50 โดยใช้อัตราส่วนระหว่างข้าว ต่อตัวทำละลายเป็น 1: 3 โดยใช้ข้าวที่บดแล้ว 300 กรัม เติมเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ตั้งสกัดในตู้เขย่า ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นทำการกรอง นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบของข้าวที่มีลักษณะข้นหนืด เก็บไว้ในขวดสีชาแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ต่อไป

1.2.2 การศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าว

1.2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ ระยะการเก็บเกี่ยวต่าง ๆ ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu assay (ดัดแปลงจากวิธีของ Maizura *et al*., 2011) โดยเตรียมความเข้มข้นของสารสกัด 1 mg/mL จากนั้นปิเปตต์สารสกัดมา 25 μL แล้วเติม Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 125 μL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 นาที แล้วนำมาเติม Na_2CO_3 (5%w/w) ปริมาตร 100 μL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader) ทำการทดลอง 3 ครั้ง (triplicate) เทียบกับสารมาตรฐาน โดยใช้สาร gallic acid (ความเข้มข้น 0.05-0.1 mg/mL) เป็นสารมาตรฐาน และนำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการของกราฟมาตรฐานของแกลลิก แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดในรูปแบบมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม (gallic acid equivalents, GAE/g extract)

1.2.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content)

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากข้าว ด้วยวิธี aluminium chloridemethod (ดัดแปลงตามวิธีของ Meda *et al*., 2005) เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) เข้มข้น 2% (w/v) ปริมาตร 100 μL ผสมกับสารสกัด (ความเข้มข้น 1.0 mg/mL) ปริมาตร 100 μL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader) ทำการทดลอง 3 ครั้ง (triplicate) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์จากสมการของกราฟมาตรฐานของเควอร์เซติน (quercetin) (ความเข้มข้น 0.05-0.1 mg/mL) คำนวณในรูปมิลลิกรัมสมมูลของของเควอร์เซตินต่อสารสกัด 1 กรัม (quercetin equivalents, QE/g extract)

1.2.2.3 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (free radical scavenging activity)

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าว ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay (ดัดแปลงจากวิธีของ Itsarasook *et al*., 2017) โดยเตรียมสารสกัดหยาบจากข้าวให้มีความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5, 10 และ 20 mg/ml โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสารละลายสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 75 μL ผสมกับสารละลาย 0.2 mM DPPH ปริมาตร 150 μL เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 515 nm ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่า Free radical scavenging activity (%) โดยใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ครั้ง (triplicate)

$$\text{Free radical scavenging activity (\%)} = [(A_{control} - A_{sample})/ A_{control}] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารผสมระหว่างสารละลาย DPPH กับสารสกัด และ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

จากนั้นคำนวณหาค่าการกำจัดอนุมูลอิสระได้ 50% (half maximal effective concentration, EC_{50}) โดยใช้โปรแกรม Graph Pad Prism Graph Pad Software ประเทศสหรัฐอเมริกา)

1.2.3 การศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ระยะการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกัน

นำข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ระยะการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกัน 2 ระยะ ได้แก่ ระยะเม่า และระยะข้าวแก่ มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่

1.2.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ก)

1.2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Total crude protein, Kjeldahl method) (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ก)

1.2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธีซอกห์เลท (Extractable lipid, Soxhlet method) (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ก)

1.2.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Dry ashing) (AOAC. 2000) (ภาคผนวก ก)

1.2.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ (AOAC. 2000) (ภาคผนวก ก)

1.2.3.6 การคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต (% คาร์โบไฮเดรต = 100 - (% ความชื้น + % โปรตีน + % ไขมัน + % เส้นใยหยาบ + % เถ้า))

จากนั้นคัดเลือกข้าวที่ระยะการเก็บเกี่ยวที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง ไปใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

2. การศึกษาวิธีการทำข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงโดยวิธีการทำแห้งแบบโฟม-แมท

2.1 การเตรียมน้ำข้าวไรซ์เบอร์รี่

นำข้าวไรซ์เบอร์รี่ในระยะการเก็บเกี่ยวที่มีปริมาณสำคัญสูง ที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 1 มาใช้ในการทดลอง โดยในการเตรียมน้ำข้าวไรซ์เบอร์รี่ ได้ดัดแปลงจาก อมรรัตน์ สีสุกอง (2560) โดยนำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 70 กรัม ใส่น้ำ 1 ลิตร (อัตราส่วนข้าว : น้ำ ประมาณเท่ากับ 1:15) แล้วนำไปต้มให้ความร้อน และปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นทำน้ำธัญพืชอัตโนมัติ ใช้เวลาประมาณ 30 นาที จากนั้นนำน้ำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ได้มาวิเคราะห์ ค่าสี L, a* และ b* และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และนำน้ำข้าวไรซ์เบอร์รี่ไปใช้ในการศึกษาการทำแห้งแบบโฟม-แมทต่อไป

2.2 การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารก่อโฟม และระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเกิดโฟม

2.2.1 วิธีการเตรียมสารละลายเมโทเซล (วรรณิภา สมผุด, 2557)

วิธีการเตรียมสารละลายเมโทเซลมีขั้นตอน คือ เตรียมเจลของเมโทเซล โดยเตรียมสารละลายเมโทเซลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 ละลายผงเมโทเซล ลงในน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิ 90

องศาเซลเซียส โดยเมื่อผงเมโทเซลละลาย จะได้สารผสมสีขาวขุ่น จากนั้นนำไปเก็บในตู้เย็นทิ้งไว้เป็นเวลา 16 ชั่วโมงจะได้เจลที่มีลักษณะค่อนข้างใส ไม่มีสี และมีความหนืด เพื่อนำมาใช้ในขั้นตอนการตีโฟมต่อไป

2.2.2 การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารก่อโฟม และระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเกิดโฟม

ทำการทดลองเพื่อศึกษาปริมาณของสารก่อโฟม (ในที่นี้ใช้เมโทเซล เป็นสารก่อโฟม เนื่องจากได้ศึกษาจากงานวิจัยที่ผ่านมา และได้ทำการทดลอง preliminary มาก่อน พบว่า เมโทเซลเป็นสารก่อโฟมที่มีประสิทธิภาพดี) และศึกษาเวลาที่ใช้ในการตีโฟม โดยแปรผันปริมาณของสารก่อโฟม 3 ระดับ คือ ร้อยละ 3, 4 และ 5 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และแปรผันเวลาที่ใช้ในการตีโฟม 2 ระดับ คือ 10 และ 15 นาที ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์หาค่าโอเวอร์รัน (overrun) และความหนาแน่นของโฟม โดยนำน้ำข้าวไรซ์เบอร์รี่ มาตีผสมกับสารละลายเมโทเซล ในโถของเครื่องตีผสมอาหาร ตีโฟมด้วยหัวตีตะกร้อ เริ่มต้นตีด้วยความเร็วต่ำ เพื่อให้ส่วนผสมเข้ากัน จากนั้นปรับความเร็วในการตีเป็นระดับความเร็วสูง (ระดับเบอร์ 8) จะเกิดโฟมที่คงตัว จากนั้นนำโฟมที่ได้ในแต่ละสิ่งทดลองมาทำการวิเคราะห์สมบัติในการเกิดโฟม ดังนี้

2.2.2.1 ค่าโอเวอร์รันของโฟม (Overrun)

ด้วยวิธีการชั่งน้ำหนักของส่วนผสม ลบด้วยน้ำหนักของโฟม แล้วหารด้วยน้ำหนักของโฟม ซึ่งการชั่งน้ำหนักนั้นใช้ภาชนะที่มีปริมาตรเท่ากัน (อรทัย บุญทะวงศ์, 2547)

$$\text{โอเวอร์รัน (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น.น.ต่อหน่วยปริมาตรของส่วนผสม} - \text{น.น.ต่อหน่วยปริมาตรของโฟม}) \times 100}{\text{น.น.ต่อหน่วยปริมาตรของโฟม}}$$

2.2.2.2 ความหนาแน่นของโฟม

นำโฟมบรรจุลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ชั่งน้ำหนักแล้วให้เต็ม และปราศจากโพรงอากาศภายในถ้วย เกลี่ยโฟมที่ล้นบริเวณปากถ้วยด้วยพายยาง เช็ดบริเวณรอบบีกเกอร์

ไม่ให้มีเศษโฟมเหลืออยู่จากนั้นชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของบีกเกอร์ที่บรรจุโฟมและคำนวณตามสูตรดังนี้ (อรทัย บุญทะวงศ์, 2547)

ความหนาแน่นของโฟม (กรัม/มิลลิลิตร) = น้ำหนักโฟม / ปริมาตรบีกเกอร์

2.3 การศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพของข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงที่ได้จากการทำแห้งแบบโฟม-แมท

นำโฟมข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่มีการใช้ปริมาณของเมโทเซลที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ ร้อยละ 3, 4 และ 5 โดยน้ำหนัก โดยนำโฟมมาเกลี่ยบนแผ่นรองอบให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 ชั่วโมง จนโฟมข้าวไรซ์เบอร์รี่แห้ง แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาบดโดยใช้เครื่องปั่นของแห้ง (blender) จากนั้นบรรจุข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงที่ได้ในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วนำผลิตภัณฑ์ผงสำเร็จที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณคุณภาพทางกายภาพบางประการ ได้แก่ ดัชนีการดูดซับน้ำ (Water absorption index, WAI), ดัชนีการละลายน้ำ (Water solubility index, WSI), อัตราการคืนรูป (วินาที), ค่าสี L*, a* และ b* และ ค่าปริมาณน้ำอิสระ (Aw) โดยมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

2.3.1 ดัชนีการดูดซับน้ำ (Water absorption index, WAI) และดัชนีการละลายน้ำ (Water solubility index, WSI)

วิเคราะห์ดัชนีการดูดซับน้ำ และดัชนีการละลายน้ำตามวิธีของ Anderson et al. (1969) โดยชั่งตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง 0.5 กรัม ใส่ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงที่ทราบน้ำหนักแน่นอน เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วคน ตั้งไว้เป็นเวลา 20 นาที นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายส่วนใสลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนัก นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ แล้วชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณดัชนีการละลายน้ำ ส่วนหลอดหมุนเหวี่ยงพร้อมตะกอนส่วนที่เหลือในหลอดนำไปชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณค่าการดูดซับน้ำดังนี้

ดัชนีการละลายน้ำ = (น้ำหนักตัวอย่างส่วนที่ละลายน้ำหลังอบแห้ง / น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น) x 100

$$\text{ดัชนีการดูดซับน้ำ} = \frac{(\text{น้ำหนักหลอดหมุนเหวี่ยงพร้อมตะกอน} - \text{น้ำหนักหลอดหมุนเหวี่ยง})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

2.3.2 ระยะเวลาการคืนตัว (Rehydration Time)

นำข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงจำนวน 2 กรัม มาคืนตัวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ปริมาตร 40 มิลลิลิตร พร้อมใช้แท่งแก้วคน และจับเวลาจนกระทั่งข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงเกิดการคืนตัวอย่างสมบูรณ์ ประยุกต์จากวิธีการของ Goula and Adamopoulos (2005)

2.3.3 การหาความหนาแน่น (Bulk density)

ทำได้โดยการนำข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงเทลงในภาชนะที่ทราบปริมาตรแน่นอน เมื่อเทจนเต็มภาชนะแล้วใช้ไม้บรรทัดสแตนเลสปาดข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงส่วนเกินออกให้เรียบเสมอขอบบนของภาชนะ แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก จดบันทึกน้ำหนัก ทำการวัด 3 ซ้ำ คำนวณค่าความหนาแน่นได้จากสมการ

$$\text{ความหนาแน่น (กรัม/มิลลิลิตร)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่าง} + \text{น้ำหนักภาชนะ}) - (\text{น้ำหนักภาชนะ})}{\text{ปริมาตรภาชนะ}}$$

2.3.4 ค่าสี L*, a* และ b*

2.3.4 ปริมาณน้ำอิสระ (Aw)

2.4 การศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงที่ได้จากการทำแห้งแบบโฟม-แมท

นำข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงที่ได้จากการทำแห้งแบบโฟม-แมท ที่มีการใช้ปริมาณของเมโทเซลที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ ร้อยละ 3, 4 และ 5 โดยน้ำหนัก มาศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้

2.4.1 การสกัดตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง

ทำการสกัดข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 50 ในการสกัด ปริมาณข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง : ตัวทำลายเป็น 1 : 25 โดยนำข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงปริมาณ 2 กรัม ผสมในเอทานอล ร้อยละ 50 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดมาเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใส ในขวดแก้วสีชาแล้วเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity assay

2.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

นำสารสกัดข้าวข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงที่เตรียมได้จากข้อ 2.4.1 มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 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 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง และนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 µg/mL รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อตัวอย่าง 100 กรัมตัวอย่าง) หรือ (mg Gallic acid equivalents (GAE)/100g sample)

2.4.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH

โดยนำสารสกัดข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงที่เตรียมได้จากข้อ 2.4.1 มาวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ดัดแปลงจาก Zhang *et al*. (2015) โดยนำสารสกัดข้าว ปริมาตร 2 มิลลิลตร 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 กรัมตัวอย่าง หรือ mM Trolox equivalents (TE) / 100 g sample)

3. การศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูปจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง

นำผงข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธีการโฟม-แมท มาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูปจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง โดยดัดแปลงสูตรเครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูปจากสูตรทางการค้า ซึ่งมีส่วนผสมดังตารางที่ 3.1 ศึกษาการพัฒนากลิ่นรส โดยแบ่งเป็น 3 กลิ่นรส ได้แก่ รสธรรมชาติ รสชาเขียว และรสช็อกโกแลต จากนั้นทำการเตรียมเครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูปจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง และนำไปทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีให้คะแนนความชอบแบบ 9-point Hedonic Scale ต่อคุณลักษณะ กลิ่น สี รสชาติ ความมัน และความชอบโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน

ตารางที่ 3.1 สูตรการผลิตเครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูปจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง

ส่วนประกอบ (กรัม) (ใน 1 ซอง)	**เครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูป**		
	สูตรรสธรรมชาติ	**สูตรรสชาเขียว**	**สูตรรสช็อกโกแลต**
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง	9	7.2	7.2
น้ำตาล	9	9	9
นมผงพร่องมันเนย	6	6	6
ครีมเทียม	6	6	6
ชาเขียว	-	1.8	-
ช็อกโกแลต	-	-	1.8
รวม	30	30	30

หมายเหตุ วิธีชง ให้เติมน้ำร้อนปริมาตร 180 มิลลิลิตร

3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูปจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผง

นำเครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูปจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผงสูตรที่คัดเลือกได้จากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามข้อ 1.2.3

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

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