



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาสูตรน้ำนมข้าวสำหรับผู้สูงอายุ
Rice milk formulation for Elderly

ผศ.ดร. ภาวินี ดีแท้

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ การพัฒนาสูตรนํ้านมข้าวสำหรับผู้สูงอายุ

แหล่งเงิน เงินรายได้คณะอุตสาหกรรมเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2561 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 70,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2561 ถึง 1 ตุลาคม 2562

ผศ.ดร. ภาวินี ดีแท้ หัวหน้าโครงการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร

บทคัดย่อ

งานวิจัยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตนํ้านมข้าวพร้อมดื่มสำหรับผู้สูงอายุ ชั้นแรกทำการคัดเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีนข้าวพบว่าเอนไซม์อัลคาเลสและนิวเทรส มีระดับการย่อยสลายได้สูงที่สุดจึงนำ โปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้งสองไปพัฒนาผลิตภัณฑ์นํ้านมข้าว โดยทำการศึกษาสภาวะการผลิตนํ้านมข้าวที่เหมาะสมโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนองปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์ ความเร็วและเวลาในการโฮโมจิไนซ์ พบว่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความขม ความสาก และ สี มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพบว่าคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของนํ้านมข้าวที่ผลิตโดยใช้เอนไซม์นิวเทรสมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สภาวะที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบในการผลิตนํ้านมข้าวคือ ความเร็วในการโฮโมจิไนซ์ที่ 16000 rpm เวลา 20 นาที ปริมาณเอนไซม์นิวเทรสต่อโปรตีนข้าว 1:40 (กรัม/กรัม) สภาวะนี้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์นํ้านมข้าวที่มีคุณค่าทางโภชนาการเทียบเท่ากับนมวัวและมีปริมาณแคลเซียมสูงและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

คำสำคัญ : นํ้านมข้าว, โปรตีนข้าว, แป้งข้าว, การย่อยสลายโปรตีน, เอนไซม์นิวเทรส

Research Title: Rice milk formulation for Elderly

Researcher: Assist. Prof. Dr. Pawinee Deetae

Faculty: Agro-Industry Department: Industrial Fermentation Technology

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the optimal condition for the production of rice milk formulation for elderly. First, selection of enzyme for rice protein hydrolysis was carried out. Alcalase® and Neutrase® was selected as they yielded high degree of hydrolysis. Then the hydrolyzed rice proteins from these enzymes were used for the development of rice milk products. The optimal conditions for rice milk production was studied using the surface response methodology with enzyme content, speed and time of homogenization as studied factors. Result showed that the bitter taste, roughness and color were significantly difference ($p \leq 0.05$). Neutrase had higher acceptability score than Alcalase® ($p \leq 0.05$). The optimal condition for rice milk production was found to be at 16000 rpm 20 minute of homogenization and neutrase content per rice protein 1:40 (g/g). The rice milk produced from this condition had similar nutritional value as cow's milk and had high calcium content value with consumer acceptability.

Keywords: Rice milk, Rice protein, Rice starch, Degree hydrolysis, Neutrase®

กิตติกรรมประกาศ

ดิฉันขอขอบคุณ หน่วยงานแลบกลาง เจ้าหน้าที่ และ นักวิทยาศาสตร์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำ สนับสนุน ช่วยเหลือ อนุเคราะห์ สถานที่ สารเคมี และ อุปกรณ์ในการทำแลบวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (เลขที่สัญญา A118-61-010 ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2561)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VI
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 การแพ้นมวัว	3
2.2 โปรตีนข้าว	3
2.3 แป้งข้าวเจ้า	4
2.4 น้ำมัน ไขมัน และ ผลิตภัณฑ์	4
2.5 เอนไซม์	5
2.6 แคลเซียม	7
2.7 ไฮโดรคอลลอยด์	8
2.8 การแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อน	9
2.9 องค์ประกอบทางเคมีของนมวัว	10
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	12
3.1 การสำรวจตลาดผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากธัญพืชและพืชตระกูลถั่ว	12
3.2 การศึกษาปัจจัยและคัดเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนข้าว	12
3.3 การศึกษาการละลายของโปรตีนต่อกระบวนการในการผลิตนํ้านมข้าว โดยการวัดค่าดรชนี้การละลายนํ้า	13
3.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตนํ้านมข้าว	14
3.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและการทดสอบทางประสาทสัมผัส	14
3.6 การนำเอนไซม์และสภาวะที่เหมาะสมมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์จริง	15
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการวิจัย	17
4.1 การสำรวจตลาดผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากธัญพืชและพืชตระกูลถั่ว	17
4.2 การศึกษาข้อมูลจากการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนมข้าวในเบื้องต้น	17
4.3 การศึกษาปัจจัยและคัดเลือกเอโนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนข้าว	18
4.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตนํ้านมข้าวโดยทำการวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง	21
4.5 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยในการผลิต	24
4.6 การศึกษาช่วงการทดลองซ้ำจากการทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต	26
4.7 การผลิตนํ้านมข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลส์	27
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	28
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย	29
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก ผลผลิตงานวิจัย	33
ภาคผนวก ข ประวัตินักวิจัย	45



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 2.1	7
ลักษณะที่สำคัญของเกลือแคลเซียมที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร	
ตารางที่ 2.2	10
องค์ประกอบทางเคมีของนํ้านมวัว	
ตารางที่ 4.1	18
% Degree hydrolysis ที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อโปรตีนข้าว 1:200 (กรัม/กรัม) ระยะเวลาในการทำงานของเอนไซม์ 60 นาที และ โปรตีนข้าวมี pH เท่ากับ 5 6 และ 7 ตามลำดับ	
ตารางที่ 4.2	18
% Degree hydrolysis ที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อโปรตีนข้าว 1:200 (กรัม/กรัม) ระยะเวลาการทำงานของเอนไซม์ที่ 0 15 30 60 และ 120 นาที ตามลำดับ ที่ pH ของโปรตีนข้าวเท่ากับ 6	
ตารางที่ 4.3	19
ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสความชอบด้วยวิธีการให้คะแนน แบบ 9-point hedonic scale	
ตารางที่ 4.4	20
% Degree hydrolysis และ การละลายของโปรตีนข้าวที่ใช้อัตราส่วน ของเอนไซม์และกระบวนการในการผลิตนํ้านมข้าวแตกต่างกัน	
ตารางที่ 4.5	21
ปัจจัยและช่วงของปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตนํ้านมข้าว	
ตารางที่ 4.6	21
สภาวะที่ใช้ในการทดลองโดยการจัดแผนการทดลองแบบ CCD	
ตารางที่ 4.7	21
ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพโดยใช้สภาวะที่ใช้ในการทดลอง โดยการจัดแผนการทดลองแบบ CCD	
ตารางที่ 4.8	23
ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Intensity Analysis โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย	
ตารางที่ 4.9	26
การทดลองซ้ำด้านคุณลักษณะทางกายภาพด้านค่าสี และการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความขมและความสาก	
ตารางที่ 4.10	27
องค์ประกอบทางเคมีของนมวัว นมข้าวที่พัฒนาวิจัยในครั้งนี้ และนมข้าวที่มีขายในท้องตลาดในเมืองไทย (g/100ml)	

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 3.1 แสดงกระบวนการผลิตนมข้าวทั้งกระบวนการ	15
ภาพที่ 4.1 เปอร์เซ็นต้นมธัญพืชและพืชตระกูลถั่วที่มีขายในท้องตลาด	17
ภาพที่ 4.2 พื้นที่ความสัมพันธ์ระหว่างผลของเวลาในการโฮมจิไนซ์และเวลาในการโฮมจิไนซ์ต่อการทดสอบทางกายภาพด้านค่าสี a*	25
ภาพที่ 4.3 พื้นที่ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์และความเร็วในการโฮมจิไนซ์ต่อการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความขม	25
ภาพที่ 4.4 พื้นที่ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์และเวลาในการโฮมจิไนซ์ต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสด้านความสาก	26



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประชากรของโลกรวมถึงประเทศไทยเอง จะเป็นครั้งแรกในประวัติศาสตร์ก็ได้ ที่กลุ่มประชากรของผู้สูงอายุ มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดเมื่อเทียบกับประชากรในกลุ่มเด็กหรือในกลุ่มวัยทำงาน (United Nation, 2015) เนื่องจากสถานการณ์การขยายตัวของกลุ่มผู้สูงอายุเป็นไปทั่วโลกและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่จะต้องเริ่มศึกษาวิจัยและพัฒนาอาหารที่มีโภชนาการและลักษณะตรงตามความต้องการของผู้บริโภคกลุ่มดังกล่าว ประเทศไทยจัดว่าเป็นประเทศที่เป็นหนึ่งในผู้ผลิตอาหารส่งออกทั่วโลก การคิดค้นพัฒนาอาหารเพื่อผู้สูงอายุจึงเป็นสิ่งจำเป็นและหลีกเลี่ยงไม่ได้ ทั้งนี้เพื่อเป็นการดูแลประชากรกลุ่มผู้สูงอายุในประเทศไทยเองและยังเป็นการเพิ่มผลิตภัณท์ในท้องตลาด เพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจการส่งออกของประเทศในอนาคตอีกด้วย

อุตสาหกรรมข้าว ประกอบด้วยการผลิตข้าว การแปรรูปข้าว และ อุตสาหกรรมต่อเนื่องที่ใช้ผลิตภัณท์ การแปรรูป นั่นถือว่าเป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจและสังคมของประเทศไทย เนื่องจากเกี่ยวข้องกับชาวนามากกว่า 3.7 ล้านคน จากเกษตรกรทั้งประเทศ 5.6 ล้านครัวเรือน หรือคิดเป็นร้อยละ 66 ของครัวเรือนเกษตรกรทั้งหมด อุตสาหกรรมข้าวส่งออกของประเทศไทยจัดว่าเป็นอันดับต้นของโลก ซึ่งสร้างรายได้และนำเงินตราเข้าประเทศปีละประมาณ 170,000 -200,000 ล้านบาท อย่างไรก็ตามปัจจุบันการส่งออกของอุตสาหกรรมข้าวของไทยลดลงเนื่องจากราคาต้นทุนที่สูงขึ้น และราคาใกล้เคียงกับประเทศอินเดียและเวียดนาม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) การนำข้าวหรือแป้งข้าวมาศึกษา คิดค้น และแปรรูปเป็นผลิตภัณท์ใหม่ๆ สามารถช่วยเพิ่มช่องทางทางการค้าเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรที่ปลูกข้าว และ เพิ่มมูลค่าให้กับอุตสาหกรรมข้าวไทย

จากการสำรวจตลาดลงพื้นที่สำรวจในห้างสรรพสินค้าทั้ง 5 แห่ง ได้แก่ สยามพารากอน เซ็นทรัลเวสต์โรบินสัน top supermarket และ Food land ในเขตกรุงเทพฯ พบว่าในประเทศไทยมีปริมาณผลิตภัณท์นมจากธัญพืชหลากหลายชนิด โดยพบผลิตภัณท์ น้ำนมจากถั่วเหลืองมากที่สุด ร้อยละ 54.8 ของผลิตภัณท์ที่สำรวจ ผลิตภัณท์น้ำนมจากอัลมอนต์ ร้อยละ 16.7 ของผลิตภัณท์ที่สำรวจ และผลิตภัณท์น้ำนมจากข้าวร้อยละ 23.8 ของผลิตภัณท์ที่สำรวจ ซึ่งองค์ประกอบในน้ำนมข้าวส่วนใหญ่ประกอบด้วย น้ำประมาณร้อยละ 80 และมีการเติมโปรตีนจากถั่วเหลือง แต่ไม่พบผลิตภัณท์น้ำนมข้าวที่มีคุณประโยชน์เทียบเท่า น้ำนมวัว ซึ่งจากการศึกษาตลาดของน้ำนมที่ไม่ได้มาจากน้ำนมวัวพบว่ามี ความหลากหลายและมีแนวโน้มสูงขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยต้องการพัฒนาผลิตภัณท์น้ำนมข้าวจากแป้งข้าวที่มีคุณสมบัติทางสารอาหารเทียบเท่ากับน้ำนมวัว ความสำเร็จของการศึกษาครั้งนี้จะทำให้ได้ผลิตภัณท์ใหม่ เหมาะสำหรับผู้แพ้น้ำตาลแลคโตส แพ้โปรตีนในนมวัว บุคคลทั่วไปหรือแม้แต่ผู้สูงอายุ ใช้เป็นพื้นฐานในการต่อยอดเพื่อไปพัฒนาเป็นผลิตภัณท์โยเกิร์ตเพื่อผู้สูงอายุต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1.2.1 การพัฒนาสูตรนมจากแป้งข้าวเจ้าที่มีคุณสมบัติทางสารอาหารเทียบเท่ากับนมวัว
- 1.2.2 การศึกษาคุณสมบัติลักษณะทางเคมี กายภาพ และ คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม เครื่องดื่มที่ได้ผู้บริโภคร้องต้องยอมรับ

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การพัฒนาสูตรนมจากแป้งข้าวเจ้าที่มีคุณสมบัติทางสารอาหารเทียบเท่ากับนมวัวจากนั้นศึกษาคุณสมบัติลักษณะทางเคมี กายภาพ และ คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มรวมถึงการยอมรับของผู้บริโภค

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

การพัฒนาสูตรนมข้าวจากแป้งข้าว เพื่อให้มีปริมาณสารอาหารใกล้เคียงกับนม จากนั้นนำนมสูตรนมข้าวที่ได้มาศึกษาค่าทางเคมี กายภาพ ค่าความหนืด และ ค่าทางประสาทสัมผัส และศึกษาการยอมรับจากผู้บริโภค

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลงาน	ระบุรายละเอียดให้ชัดเจนระบุรายละเอียดให้ชัดเจน เช่น ฐานข้อมูลที่จะเผยแพร่/ชื่อวารสาร/ประชุมวิชาการ/ชื่อผลงาน เป็นต้น	จำนวนที่คาดว่าจะได้	ปีที่คาดว่าจะสำเร็จ
1. การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ			
ระดับนานาชาติ			
การประชุม / สัมมนา ระดับนานาชาติ (International Conference)	เสนอผลงาน Poster หรือ Oral ในงานประชุม	1	2561
2. การผลิตบัณฑิต			
ป.ตรี/โท/เอก	บัณฑิตระดับ ป. ตรี	1	2561
	บัณฑิตระดับ ป. โท	1	2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

2.1 การแพ้นมวัว

การแพ้นมวัว สามารถเกิดขึ้นได้ทุกเพศทุกวัยไม่ว่าจะเป็นเด็กหรือผู้ใหญ่ ซึ่งการแพ้นมวัวในเด็กมีสาเหตุมาจากทารกมีการเกิดก่อนกำหนด หรือ ทารกได้รับนมจากแม่น้อยลง โรคแพ้นมวัว มี 2 สาเหตุสำคัญ คือ 1. การแพ้โปรตีนในนมวัว และ 2. การแพ้น้ำตาลแลคโตสที่มีอยู่ในนมวัว

การแพ้โปรตีนในนมวัว คือ การที่ร่างกายเกิดปฏิกิริยาผิดปกติต่อสารโปรตีนชนิด α s1- α s2- β - และ k-casein ที่มี ในนมวัว (1) ผู้แพ้โปรตีนในนมวัวจะมีอาการหายใจลำบาก ผื่นขึ้นตามผิวหนัง คลื่นไส้ และ อาเจียน โดยจะพบการแพ้โปรตีนในนมวัวจากทั่วโลกอยู่ที่ร้อยละ 3 ของทารกที่เกิดใหม่ ซึ่งขณะนี้ประเทศไทยมีทารกเกิดใหม่ปีละ 700,000 คน ดังนั้นจะมีทารกที่แพ้โปรตีนในนมวัวอยู่ที่ตัวเลขประมาณ 20,000 กว่าคนต่อปี (2)

การแพ้น้ำตาลแลคโตส หรือ การบกพร่องเอนไซม์แลคเตส ผู้แพ้น้ำตาลแลคโตสจะมีอาการท้องเสีย ปวดท้อง แน่นท้อง รวมทั้งผายลม โดยเกิดจากร่างกายไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสที่มีในนมได้ จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารนำน้ำตาลชนิดนี้ไปใช้และเกิดการสร้างกรดและแก๊ส (3) ซึ่งจะพบการแพ้น้ำตาลแลคโตสได้ในผู้ใหญ่ร้อยละ 65 ถึง 70 ของผู้ใหญ่ทั่วโลก (4) สำหรับประเทศไทยได้ มีการศึกษาการแพ้น้ำตาลแลคโตส ปี 2547 ในผู้ใหญ่อายุ 21 ถึง 31 ปี จำนวน 45 คนพบว่า มีผู้ย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ไม่หมด ถึงร้อยละ 51 (5) และจากการรวบรวมข้อมูลในปี 2017 พบว่าการแพ้น้ำตาลแลคโตสพบได้ถึง 100% ในเวียดนาม จีน และ ญี่ปุ่น จากข้อมูลดังกล่าวนี้ทำให้ทราบว่าภาวะการแพ้น้ำตาลแลคโตสของประเทศไทยน่าจะสูงกว่าร้อยละ 51

2.2 โปรตีนข้าว

โปรตีนที่มีในข้าวสามารถแบ่งกลุ่มได้ตามคุณสมบัติของการละลาย เมล็ดข้าวประกอบด้วยโปรตีนกลูเตนิน เป็นส่วนใหญ่ มีมากถึง 60-80% ของโปรตีนทั้งหมด ส่วนที่เหลือจะประกอบด้วย โปรตีน อัลบูมิน มีปริมาณ 4-22% โกลบูลิน มี 5-13% และ โพรลามีน มี 1-5% โปรตีนในรำข้าวประกอบด้วย โปรตีนโกลบูลิน อัลบูมิน กลูเตนิน และ โพรลามีน ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 15-36% 24-37% 11-38% 2-6% (6-8) ตามลำดับ ซึ่งจากองค์ประกอบเหล่านี้ ทำให้โปรตีนในข้าวส่วนใหญ่ไม่มีความสามารถในการละลายน้ำ **โปรตีนอัลบูมิน** มีความสามารถในการละลายได้ในน้ำได้ดีและสามารถจับตัวกันเป็นก้อนได้ เมื่อมีการให้ความร้อน โดยอัลบูมินเป็นโปรตีนที่สามารถย่อยและถูกดูดซึมได้ง่าย สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในร่างกายได้มากที่สุด อัลบูมินเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10-200 กิโลดาลตัน (9-11) ซึ่งแตกต่างจากอัลบูมินในรำข้าวซึ่งมีโปรตีนน้อยกว่า 100 กิโลดาลตัน โดยจุดของ Isoelectric ของโปรตีนคือ pH 4.1 และ 6.4 (12-13)

โปรตีนโกลบูลิน มีความสามารถในการละลายได้ดีในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เป็นโปรตีนที่อุดมไปด้วย cysteine และ methionine โดยโปรตีนชนิดนี้มีจุดของ Isoelectric อยู่ที่ pH 4.3 5.85-7.27 และ 7.9

โปรตีนโพรลามีน มีความสามารถละลายได้ในเอทานอลเข้มข้น โดยโพสิเปปไทด์ของโพรลามีน มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 12 และ 17 kDa ซึ่งประกอบไปด้วย glutamic acid glycine alanine และ arginine (14)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพรลามีน 13-kDa จะประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ เช่น valine glutamine และ leucine ซึ่งแตกต่างกับ โพรลามีน 16 kDa และ 10 kDa ที่จะประกอบด้วย กำมะถัน เช่น cysteine และ methionine (15-16) นอกจากนี้โพรลามีนของเมล็ดข้าวยังมีปริมาณของ glutamic acid และ isoleucine สูงสุด ทั้งนี้ยังมี threonine, cysteine, glycine, histidine, arginine, lysine, และ methionine (17-18) ซึ่งปริมาณของ acid amides ที่มาก และ ปริมาณของ polar amino acids ที่ต่าง นี้ จึงเป็นสาเหตุหนึ่งของความสามารถในการละลายของโพรลามีนในน้ำด่าง ซึ่งจุดไอโซอิเล็กทริกของ โพรลามีน อยู่ที่ pH 6.0–6.5

โปรตีนกลูเตนิน โปรตีนของเมล็ดข้าวส่วนใหญ่ อยู่ในรูปของกลูเตนินซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 45 ถึง 150 kDa และมี isoelectric อยู่ที่ pH 4.8, 5.7 – 6.8 และ 8.0 – 8.7 (18-20)

โปรตีนจากรำข้าว เป็นที่ทราบกันดีว่ามีคุณสมบัติเป็น hypoallergenic เนื่องจากโปรตีนรำข้าวปราศจาก แลคโตส กลูเตน นอกจากนี้โปรตีนจากรำข้าวมีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ ลดความดันโลหิต ป้องกัเบาหวาน ต่อด้านมะเร็ง และ ลดคอเลสเตอรอล

2.3 แป้งข้าวเจ้า (21-22)

แป้งข้าวเจ้า เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรรูปของข้าว โดยจะมี 2 ลักษณะ ได้แก่ ฟลาวข้าว และ สตาร์ชข้าว โดยฟลาวข้าว คือ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการนำข้าวหักจากกระบวนการสีข้าวมาทำการโม่ หรือบด ซึ่งทำให้ ฟลาวข้าวประกอบไปด้วยสารอาหารต่างๆ มากมาย คือ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เส้นใย โปรตีนรวมทั้งแร่ธาตุต่างๆ ส่วนสตาร์ชข้าว คือ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการนำฟลาวข้าวผ่านกระบวนการที่ทำให้มีลักษณะเป็นสตาร์ชบริสุทธิ์โดยการกำจัดองค์ประกอบทางเคมีอื่นที่มีที่การอยู่รวมกันกับสตาร์ชออกไป องค์ประกอบหลักที่มีความสำคัญที่สามารถพบได้ในเมล็ดข้าว คือ โพลีแซ็กคาไรด์ ไขมัน รวมทั้งโปรตีน องค์ประกอบเหล่านี้ล้วนมีผลต่อคุณภาพของเมล็ดข้าว ซึ่งจากการนำข้าว ไปผ่านกระบวนการแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น สตาร์ช ซึ่งมีองค์ประกอบของอะมิโลสและอะมิโลเพกติน ในสัดส่วนที่มีความแตกต่างกันนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของข้าว สายของอะมิโลสและอะมิโลเพกตินที่เชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจน จะทำให้เกิดเป็นเม็ดแป้งขึ้นเมื่อทำการละลายแป้งในน้ำ พร้อมกับทำการให้ความร้อน โมเลกุลของน้ำจะแทรกตัวเข้าทำลายพันธะไฮโดรเจนที่อยู่ในแป้ง ซึ่งทำให้เม็ดแป้งเกิดการพองตัวขึ้น เมื่อให้ความร้อนอย่างต่อเนื่องแป้ง จะเกิดการพองตัวมากขึ้น จนเกิดการทำลายส่วนของโครงสร้างผลึกของเมล็ดแป้ง จนเมื่อถึงอุณหภูมิที่เป็นจุดวิกฤต เม็ดแป้งที่มีการพองตัวมาก จะเกิดการแตกของเม็ดแป้งขึ้น โดยปรากฏการณ์นี้จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ และไม่มีที่พลิกกลับได้ เรียกกระบวนการนี้ว่า การเกิดเจลลาติโนเซชัน ซึ่งจะให้แป้งมีลักษณะใส และมีความหนืด ซึ่งปริมาณความร้อน และอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการเจลลาติโนเซชันนั้น สามารถแสดงได้ถึงความแข็งแรง และโครงสร้างของแป้งซึ่งเป็นผลมาจากองค์ประกอบทางโครงสร้างที่มีความแตกต่างกัน

2.4 น้ำมัน ไขมัน และ ผลิตภัณฑ์ (23-24)

ไขมันและน้ำมันที่ใช้สำหรับการประกอบอาหารและใช้ในอุตสาหกรรมอาหารนั้นสามารถผลิตได้มาจากวัตถุดิบ 3 แหล่ง ได้แก่

2.4.1. น้ำมันและไขมันจากพืช เป็นแหล่งไขมันในการบริโภคที่มีความสำคัญที่สุดเนื่องจากมีปริมาณการเลือกใช้ในอาหารสูงบางชนิดเป็นไขมันที่มีลักษณะแข็งแต่ส่วนใหญ่ก็มีลักษณะเป็นของเหลวโดยวัตถุดิบที่นำมาผลิตนั้นมีสมบัติและปริมาณของไขมันที่มีความแตกต่างกันเนื่องมาจากมีระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกัน

2.4.2. ไขมันจากสัตว์ทะเล ได้จากไขปลาวาฬ หรือน้ำมันตับปลาค็อด

2.4.3. ไขมันจากสัตว์ ได้จาก โค กระบือ หมู ในส่วนของไขมันเนยได้จากน้ำมันวัว

น้ำมันรำข้าว คือ น้ำมันสกัดจากรำข้าวสาลีหรือรำข้าวหนึ่ง โดยน้ำมันรำข้าวอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ทั้ง โปรตีน กลีเซอรอล และ ไขมัน ในรำข้าวมีปริมาณไขมัน 15.0-19.7 กรัม มีกรดไขมันประกอบไปด้วย กรดโอเลอิก 40-50% กรดลิโนเลอิก 20-42% และ กรดปาล์มมิติก 12-18% น้ำมันรำข้าวมีวิตามินอีสูง มีสารไฟโตสเตอรอลที่มีคุณสมบัติลดคอเลสเตอรอล การต้านการอักเสบ เพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็ง น้ำมันรำข้าวอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี นอกจากนี้รำข้าวยังมีคุณสมบัติโดดเด่นกว่าน้ำมันที่สกัดจากพืชชนิดอื่น คือ มีสารแกมมาออร์ซิซานอล และ โทโคไตรอีนอล ซึ่งสามารถช่วยลดคอเลสเตอรอลในเลือดและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ

2.5 เอนไซม์ (25-29)

เอนไซม์ คือ โปรตีนที่มีหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาทางเคมีที่มีภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต การทำงานของเอนไซม์จะมีความจำเพาะต่อชนิดของสารตั้งต้นที่จะทำการเปลี่ยนให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ อัตราความเร็วของการเกิดปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์นั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความเข้มข้นของสารตั้งต้น ความเข้มข้นของเอนไซม์ พีเอช และ อุณหภูมิ

2.5.1 แหล่งของเอนไซม์จากธรรมชาติ

เอนไซม์จากพืช มีหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น เอนไซม์อะไมเลสจากข้าวมอลต์ โดยปกติในข้าวมอลต์นั้นมีเอนไซม์อยู่มากโดยเฉพาะเอนไซม์ไกลโคไซด์ไฮโดรเลส โปรตีเอส อะไมเลส และ ฟอสฟาเตส ซึ่งเอนไซม์อะไมเลสจากข้าวมอลต์นั้นส่วนมากถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมของการทำขนมปัง นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเหล้า เบียร์ หรือ อาหารสำหรับเด็กอ่อน เอนไซม์เพกทินเอสเทอเรสจากพืช พืชที่พบเอนไซม์ดังกล่าว ได้แก่ มะเขือเทศ ฝรั่ง หรือส้ม ซึ่งเอนไซม์เพกทินเอสเทอเรส นี้มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตไวน์หรือน้ำผลไม้อย่างมาก เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่สามารถทำให้ไวน์หรือน้ำผลไม้มีความใสมากขึ้น

เอนไซม์จากจุลินทรีย์ จุลินทรีย์พวกยีสต์ รา รวมทั้งแบคทีเรีย เป็นแหล่งที่ดีที่สุดในการเตรียมเอนไซม์ เพื่อนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสามารถเพาะเลี้ยงได้ในปริมาณมาก สามารถผลิตและมีเทคนิคในการควบคุมปัจจัยที่มีความเหมาะสมที่สามารถทำให้เอนไซม์มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการ ยกตัวอย่างเช่น เอนไซม์ Alcalase เป็นเอนไซม์ที่มาจากจุลินทรีย์ *Bacillus licheniformis* สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานที่ดีที่สุด คือที่ pH 8 บ่มที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เอนไซม์ Flavourzyme เป็นเอนไซม์ที่มาจากจุลินทรีย์ *Aspergillus oryzae* สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำงาน คือที่ pH 8 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

เอนไซม์จากสัตว์ เช่น เอนไซม์เพปซินและเรนิน ที่สามารถพบได้จากกระเพาะลูกวัวอ่อน หรือ เอนไซม์โคโมทริพซินและเอนไซม์ทริพซิน ที่สามารถพบได้จากตับอ่อนของหมู ซึ่งเอนไซม์ชนิดดังกล่าวนี้ สามารถปนกันแล้วอยู่ในรูปของเอนไซม์ผสมที่เรียกว่า แพนครีเอติน ซึ่งสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเจลาตินได้ นอกจากนี้เอนไซม์โคโมซินและเรนินที่สกัดได้จากกระเพาะลูกวัวอ่อน ยังสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการทำเนยแข็ง

การใช้ประโยชน์ของเอนไซม์ในกระบวนการแปรรูปอาหาร

ปัจจุบันได้มีการนำเอนไซม์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารมากขึ้น เนื่องจากเอนไซม์สามารถช่วยลดระยะเวลารวมทั้งค่าใช้จ่ายในการผลิต และ ปลอดภัยต่อผู้บริโภค การใช้ประโยชน์ของเอนไซม์ในอุตสาหกรรมอาหารมีข้อดี คือ

1. เอนไซม์เป็นโปรตีน จึงไม่ทำอันตรายต่อผู้บริโภค
2. ปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ ในแต่ละครั้งมีปริมาณน้อย
3. เอนไซม์ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิต่ำซึ่งเป็นการลดพลังงานที่ใช้ในการผลิตได้
4. เอนไซม์ทำงานได้ในช่วงพีเอชที่มีความเป็นกลาง
5. สามารถใช้ความร้อนซึ่งเป็นกระบวนการที่ง่ายในการหยุดหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์
6. เอนไซม์สามารถทำงานได้อย่างรวดเร็วและมีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น

โปรตีนไฮโดรไลเซท คือ โปรตีนที่ได้จากการย่อยโดยการตัดสายพอลิเปปไทด์เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นโดยใช้สารเคมีหรือเอนไซม์ เพื่อเป็นการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการและสมบัติของโปรตีน เช่น สมบัติการละลาย เป็นต้น การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตแบ่งได้ 2 วิธี

1. การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารเคมี เป็นการย่อยโปรตีนสารละลายกรดหรือเบส แต่เป็นวิธีที่ควบคุมการระเหยของสารละลายได้ยากและคุณภาพของโปรตีนต่ำลง
2. การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ คือ ใช้เอนไซม์โปรติเอสตัดพันธะเปปไทด์เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้น ข้อดีของการย่อยด้วยเอนไซม์คือ ไม่จำเป็นต้องใช้ปริมาณเอนไซม์มาก เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นสูง สามารถย่อยได้ในสภาวะที่ไม่รุนแรง และอัตราการย่อยสลายค่อนข้างสูง แต่การย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสอาจทำให้เกิดสารประกอบที่มีรสขม เนื่องจากการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนหมู่ที่ไม่ชอบน้ำในโมเลกุลของโปรตีน

เอนไซม์โปรติเอส สามารถแบ่งได้ตามลักษณะการตัดของพอลิเปปไทด์ ได้ 2 ประเภท คือ

เอกโซเปปติเดส เป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์จากด้านปลายสายของเปปไทด์ จึงได้เปปไทด์เป็นแบบ hydrophilic ส่งผลให้ไม่เกิดรสขม เอกโซเปปติเดสสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

Aminopeptidases เป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์จากปลายสายด้าน N-terminal ของสายเปปไทด์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตมาจากแบคทีเรียและรา เช่น *Aspergillus oryzae*, *Bacillus licheniformis*

Carboxypeptidases เป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะเปปไทด์จากปลายสายด้าน C-terminal ของสายเปปไทด์

เอ็นโดเปปติเดส เป็นการตัดพันธะเปปไทด์จากภายในสายโปรตีน สามารถแบ่งได้ตามกลไกการทำงานที่บริเวณเร่งและจำเพาะต่อเอนไซม์ ได้ 4 กลุ่มใหญ่ serine peptidase บริเวณเร่ง คือ serine และ histidine residue กลไกการเร่งปฏิกิริยาขึ้นกับหมู่ Hydroxyl ของ serine residue เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ โคโมทริพซิน และทริพซิน Cysteine peptidase เป็นเอนไซม์ที่มีคาร์บอกซิลของกรดอะมิโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

aspartic acid หรือ glutamic acid อยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ตัวอย่างเอนไซม์กลุ่มนี้ ได้แก่ ปาเปน และบรอมีเลน Aspartic peptidase เกิดปฏิกิริยาจำเพาะได้ดีกับกรดอะมิโนที่มีโครงสร้างเป็น aromatic amino acid เอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ เรนิน และ เปปซิน Metallo peptidase เป็นเอนไซม์ที่มีอะตอมของโลหะอยู่ในโครงสร้างซึ่งมักเป็นพวกสังกะสี เร่งปฏิกิริยาได้ดีกับพันธะเปปไทด์ตรงตำแหน่งที่กรดอะมิโน lysine เอนไซม์กลุ่มนี้ ได้แก่ sepia proteinase และ collagenase

2.6 แคลเซียม (30-32)

แคลเซียม เป็นแร่ธาตุที่สามารถพบได้มากในร่างกายมนุษย์ โดยแคลเซียมในร่างกายประมาณร้อยละ 99 จะสามารถพบได้ที่ฟันและกระดูกในรูปของแคลเซียมไตรฟอสเฟต นอกนั้นจะอยู่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อและของเหลวในร่างกาย ซึ่งจะทำหน้าที่ในการจับกับโปรตีนในเลือดและอีกส่วนหนึ่งจะลอยตัวอยู่ในน้ำเลือด ในช่วงของวัยเด็กจะมีอัตราการดูดซึมแคลเซียมเพื่อนำไปใช้ในการสร้างกระดูกสูง ซึ่งแตกต่างจากคนในวัยสูงอายุที่มีอัตราการดูดซึมแคลเซียมจากกระดูกไปใช้ที่อวัยวะอื่น ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับกระดูกขึ้นในวัยผู้สูงอายุ การคัดเลือกชนิดของเกลือแคลเซียมที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารนั้นควรต้องพิจารณาจากคุณสมบัติต่างๆ ที่ส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ เช่น รสชาติ การละลาย ปริมาณแคลเซียม ความสามารถในการดูดซึมของร่างกาย รวมทั้งราคาของวัตถุดิบ ลักษณะของเกลือแคลเซียมที่ดี ควรจะต้องมีความสามารถค่าการดูดซึมในร่างกายที่สูง มีความสามารถในการเพิ่มมวลของกระดูกในร่างกายได้ รวมทั้งควรมีความปลอดภัย ราคาถูก และสามารถเข้าได้ดีกับอาหาร

2.6.1 ค่าการละลาย และปริมาณแคลเซียม การเติมแคลเซียมลงในอาหาร ปัจจัยหลักที่ต้องคำนึงถึง ได้แก่ ลักษณะการละลาย ค่าการละลาย รวมถึงผลของแคลเซียมที่ส่งผลต่ออาหาร เกลือของแคลเซียมที่มีลักษณะของค่าการละลายที่สูง เช่น แคลเซียมกลูโคเนต ค่าการละลาย 35 กรัมต่อลิตร หรือ แคลเซียมแลคเตต ค่าการละลาย 66 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะมีความสามารถในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ได้ในปริมาณที่มากขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างกับเกลือแคลเซียมที่มีปริมาณความเข้มข้นของแคลเซียมสูง เช่น แคลเซียมฟอสเฟต หรือแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งมีความสามารถของการละลายต่ำ จึงสามารถใส่ลงในผลิตภัณฑ์ได้น้อย นอกจากนี้ยังทำให้เกิดรสเค็มและรสชาติขมแก่ผลิตภัณฑ์

2.6.2 รสชาติ และเนื้อสัมผัส ความเข้มข้นของเกลือแคลเซียมสูง แคลเซียมจะมีลักษณะที่ไม่ละลายน้ำ เนื่องจากเกิดการตกตะกอนของเกลือแคลเซียม นอกจากนี้ยังส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ในด้านรสชาติ ลักษณะของเกลือแคลเซียมที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร แสดงดัง ตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ลักษณะที่สำคัญของเกลือแคลเซียมที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

ชนิด	การละลาย	รสชาติ	ความเข้มข้นของแคลเซียม (%)
แคลเซียมคาร์บอเนต	ต่ำ	เปรี้ยว	40
แคลเซียมฟอสเฟต	ต่ำ	จืด	17-38
แคลเซียมซิเตรท	ปานกลาง	เปรี้ยว	21
แคลเซียมแลคเตต	สูง	ไม่เด่นชัด	13
แคลเซียมกลูโคเนต	สูงมาก	ไม่เด่นชัด	9

ที่มา : Weaver (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 ต้นทุนการผลิตและปริมาณการใช้ เกลือแคลเซียมอินทรีย์จะมีราคาแพงกว่าเกลือแคลเซียมอนินทรีย์ นอกจากนี้เกลืออินทรีย์มีปริมาณแคลเซียมสูงกว่า ซึ่งการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์จึงใช้ในปริมาณน้อย

2.6.4 การดูดซึมของร่างกาย ปกติร่างกายของมนุษย์มีความสามารถในการดูดซึมแคลเซียมจากอาหารและสามารถนำไปใช้ในร่างกายได้ประมาณร้อยละ 10-30 โดยปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณการดูดซึมแคลเซียมของร่างกายนั้นสามารถขึ้นได้อยู่กับ ชนิดของแคลเซียมที่ทำการเลือกใช้ ซึ่งเกลืออินทรีย์ เช่น แคลเซียมแลคเตต ไตรแคลเซียมซิเตรท และแคลเซียมกลูโคเนต มีความสามารถในการที่ร่างกายของมนุษย์จะสามารถดูดซึมนำไปใช้ได้ดีกว่า ซึ่งมีความตรงกันข้ามกับเกลืออนินทรีย์ เช่น แคลเซียมคลอไรด์

2.7 ไฮโดรคอลลอยด์ (33)

ไฮโดรคอลลอยด์ คือ สารประกอบในกลุ่มประเภทพอลิแซ็กคาไรด์กัม ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีสายยาวและมีน้ำหนักโมเลกุลสูง โดยโมเลกุลอาจประกอบไปด้วยโมโนแซ็กคาไรด์หลายชนิดที่เรียกว่าเป็น เฮตอโรพอลิแซ็กคาไรด์ หรือ ประกอบไปด้วยโมโนแซ็กคาไรด์ชนิดเดียวกันทั้งหมดที่เรียกว่าเป็น โฮโมพอลิแซ็กคาไรด์

2.7.1 ชนิดของไฮโดรคอลลอยด์ สามารถจำแนกได้ 2 วิธีคือ

จำแนกตามแหล่งที่มา สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากธรรมชาติ ส่วนใหญ่สกัดมาจากส่วนต่างๆของพืช เช่น เมล็ด ราก และ ได้จากสาหร่ายทะเลหรือจากสัตว์ ไฮโดรคอลลอยด์ที่เป็นอนุพันธ์ของสารที่ได้จากธรรมชาติหรือดัดแปรสารจากธรรมชาติ และ ไฮโดรคอลลอยด์ที่เป็นสารสังเคราะห์

จำแนกตามลักษณะโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุล และ Functional หรือ reactive group ที่อยู่ในโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งอาจเป็นประจุลบ ไม่มีประจุ หรือเป็นกลาง

2.7.2 สมบัติทั่วไปของไฮโดรคอลลอยด์

การกระจายตัวในน้ำ

ไฮโดรคอลลอยด์ส่วนใหญ่มีความสามารถในการละลายในน้ำร้อนได้ดี แต่อาจมีบางชนิดที่ไม่สามารถละลายในน้ำร้อนได้แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ บางชนิดสามารถละลายได้ดีในน้ำเย็น เช่น กัมอะระบิก ซึ่งความสามารถในการละลายหรือการกระจายตัวในน้ำของไฮโดรคอลลอยด์ที่แตกต่างกันนี้ เรียกว่า Degree of solubility ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ส่งผล คือ อุณหภูมิ และ ความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์

ความหนืด

พอลิแซ็กคาไรด์กัม เมื่อละลายในน้ำจะทำให้ได้สารละลายที่มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น สารละลายของกัมแต่ละชนิดจะให้ลักษณะของความหนืดที่แตกต่างกัน ปัจจัยที่ส่งผลต่อความหนืดของสารละลายกัม ได้แก่ ธรรมชาติของพอลิแซ็กคาไรด์กัม อุณหภูมิของน้ำที่ใช้ละลาย ความเข้มข้นของสารละลายรวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการละลาย

การเกิดเจล

พอลิแซ็กคาไรด์กัมบางชนิด เช่น เพกทิน สตาร์ช และอาการ์ มีความสามารถเกิดเจลได้ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ดังเช่น เพกทินมีความสามารถในการเกิดเจลได้ในน้ำร้อนที่มี กรด และน้ำตาล ในอุตสาหกรรมจึงได้นำความสามารถนี้ไปปรับใช้ในอุตสาหกรรมของการผลิตเจลลี่และแยม

เจอไรซ์ด้วยระบบอุณหภูมิสูงเวลาสั้นมีความสามารถในการรักษาคุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพของอาหารได้ดีกว่าการพาสเจอไรซ์ด้วยระบบอุณหภูมิต่ำและใช้เวลานาน

2.8.2 การสเตอริไลซ์ คือวิธีการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงมากกว่าการพาสเจอไรซ์ หรือมากกว่า 100 องศาเซลเซียส มีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดทั้งเซลล์ปกติหรือสปอร์ของจุลินทรีย์ แต่ในอุตสาหกรรมการแปรรูปอาหารมีความจำเป็นต้องคำนึงถึงคุณภาพอาหารด้านต่างๆ เช่น สี กลิ่น รส และเนื้อสัมผัส ทั้งยังต้องคำนึงถึงคุณค่าทางโภชนาการ ดังนั้นจึงสามารถทำได้เพียงให้ความร้อนแก่อาหารที่เพียงพอต่อการทำลายจุลินทรีย์ชนิดก่อโรค จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย และทำให้ผู้บริโภคปลอดภัย เมื่อบริโภคอาหารที่เก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิปกติ หรืออุณหภูมิห้อง ซึ่งระดับปริมาณความร้อนที่ใช้ในระดับนี้เรียกว่า commercial sterilization โดยอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อนี้ ถือได้ว่าเป็นอาหารที่ปลอดภัย สามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาสั้น โดยไม่ต้องใช้การแช่เย็นซึ่งสามารถแบ่งการกระบวนการสเตอริไลซ์ ออกเป็น 2 แบบ ได้แก่ 1.การสเตอริไลซ์อาหารก่อนการบรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่ปลอดภัย (Aseptic processing) 2. การสเตอริไลซ์อาหารหลังจากปิดผนึกแล้ว (In-container sterilization)

2.9 องค์ประกอบทางเคมีของนมวัว (36-37)

น้ำนมมีลักษณะเป็นอาหารเหลว โดยมีองค์ประกอบของน้ำประมาณร้อยละ 78 มีส่วนของชั้นโครงสร้างเป็นแบบอิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ นอกจากนี้ยังมีสารอาหารชนิดอื่น เช่น น้ำตาลแลคโตส โปรตีน วิตามินและแร่ธาตุ ดังแสดงในตารางที่ 2.2 ปริมาณองค์ประกอบหลักต่างๆ ของน้ำนมมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์วัว อาหาร ฤดูกาล สภาพแวดล้อม รวมทั้งระยะเวลาในการให้นมหรือในการรีดนมวัว ค่า pH ของนมวัวทั่วไปจะอยู่ระหว่าง 6.5 ถึง 6.7 และจะพบค่า pH ที่ 6.6 มากที่สุด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมวัว

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (% น้ำหนัก)	
	ช่วง	เฉลี่ย
น้ำ	85.5-88.7	87.3
ของแข็งไม่รวมไขมัน	7.9-10.0	8.8
แลคโตส	3.8-5.3	4.6
โปรตีน	2.4-5.5	3.25
ไขมัน	2.4-5.5	3.9
เกลือแร่	0.53-0.80	0.65
กรดอินทรีย์	0.13-0.22	0.18
อื่นๆ	-	0.14

ที่มา : องค์ประกอบทางเคมีของนม Gösta Bylund, M.Sc. (Dairy Techn.) (1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วารยา บุษปรัสาร (2539) (38) ทำการศึกษาเรื่องเครื่องต้มโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่วทำการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ Neutrase โดยทำการศึกษาอุณหภูมิที่ใช้อยู่เป็น 45 50 55 60 องศาเซลเซียส และค่า pH เป็น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 จากนั้นศึกษาผลของเวลา และปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยเป็น 30 60 90 และ 120 นาที และอัตราส่วนเอนไซม์เจือจางที่อัตราส่วน 1 ต่อ 9 ซึ่งมีปริมาณเป็น 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5% พบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีค่า amino acid nitrogen สูงที่สุดคือ การใช้กากถั่วเหลือง ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Neutrase ในอัตราส่วน 2.5% ที่ pH 6 โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที และเมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซตนี้ไปศึกษาผลของอุณหภูมิ pH เวลา อัตราส่วน เช่นเดียวกับการทดลองในเบื้องต้น พบว่า ผลิตภัณฑ์มีค่า Degree of hydrolysis (% DH) สูงที่สุด คือผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการใช้เอนไซม์ปริมาณ 2.5% ที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที

Bimlesh Mann และคณะ (2014) (39) ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระของเวย์โปรตีนไฮโดรไลเซตในเครื่องดื่มนมโดยเวย์โปรตีนเข้มข้น ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 3 ชนิดได้แก่ flavouzyme, alcalase และ corolase PP พร้อมกับทำการหาระดับของ Degree of hydrolysis และ ฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าค่าของ Degree of hydrolysis (DH) ของเอนไซม์ corolase PP มีค่ามากที่สุด รองลงมา คือเอนไซม์ flavouzyme และ alcalase ตามลำดับ

Miroljub Barac และ คณะ (2554) (40) ทำการศึกษาผลของการไฮโดรไลซิส ต่อคุณสมบัติของโปรตีนถั่วไฮโดรไลเซตที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์เรนเนท โดยการแปรค่า pH เป็น 3 5 7 8 และแปรเวลาเป็น 15 30 และ 60 นาที พบว่าโปรตีนถั่วไฮโดรไลเซตที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เรนเนทนี้มีค่า Degree of hydrolysis ต่ำแต่จะสามารถละลายได้ดีขึ้นที่ค่า pH ช่วง 3.0-5.0

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การสำรวจตลาดผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากธัญพืชและพืชตระกูลถั่ว

ทำการลงพื้นที่สำรวจข้อมูลทางการตลาดของผลิตภัณฑ์จากห้างสรรพสินค้า 5 แห่ง ได้แก่ สยามพารากอน เซ็นทรัลเวิลด์ โรบินสัน Top supermarket และ Food land ในเขตกรุงเทพมหานคร จากนั้นทำการสรุปและวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มธัญพืชและพืชตระกูลถั่วในตลาดประเทศไทย ทั้งการผลิต การนำเข้าจากต่างประเทศพร้อมทั้งการรวบรวมข้อมูลและจัดทำแนวคิดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าว

3.2 การศึกษาปัจจัยและคัดเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนข้าว

3.2.1 การศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

ศึกษาและคัดเลือกชนิดเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอสได้แก่ Rennet Flavourzyme Alcalase Neutrase ที่สามารถทำให้โปรตีนข้าวละลายได้ดีที่สุด โดยการปรับ pH ที่ 5 6 และ 7 เพื่อคัดเลือกเอนไซม์ที่ทำงานได้ดีเหมาะสมกับค่า pH ของโปรตีนข้าว ทำการทดลองโดยชั่งโปรตีน 4 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ตามด้วยใส่เอนไซม์โปรติเอส Rennet Flavourzyme Alcalase Neutrase ในอัตราส่วนเอนไซม์ต่อโปรตีนข้าว 1 ต่อ 200 (กรัม/กรัม) ตามลำดับ ทำการให้ความร้อนที่เหมาะสมเพื่อให้เอนไซม์ทำงานเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นใช้ความร้อนอีกครั้งเพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 12000 xg นาน 15 นาที ทำการดูดส่วนใส 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติม 20% TCA 10 มิลลิลิตร เพื่อให้โปรตีนเกิดการตกตะกอน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12000 xg เป็นเวลา 15 นาที ดูดส่วนใส 1 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลอง ตามด้วย Alkali solution 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เมื่อครบ 10 นาที ทำการใส่สาร Folin 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้อีก 30 นาที จากนั้นนำไป วัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาแทนใน สมการ $y = mx + b$ ของกราฟมาตรฐาน นำค่า x ที่ได้หา %Degree of hydrolysis (%DH) จากสูตร

$$DH (\%) = (\text{Soluble protein content in } 10 \text{ g } \%TCA \text{ (mg)} / \text{Total protein content (mg)}) \times 100$$

3.2.2 การศึกษาระยะเวลาในการทำงานของเอนไซม์

ชั่งน้ำหนักโปรตีน 4 กรัม ลงในน้ำ 100 มิลลิลิตร โดยใส่เอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส ได้แก่ Rennet Flavourzyme Alcalase Neutrase เป็นอัตราส่วนเอนไซม์ต่อโปรตีน 1 ต่อ 200 (กรัม/กรัม) จากนั้นทำการให้ความร้อนที่เหมาะสมเพื่อเร่งการทำงานของเอนไซม์ โดยใช้เวลาในการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน คือ 0 15 30 และ 60 นาที จากนั้นทำตามวิธีที่ระบุไว้ดังข้อ 3.2.1

3.2.3 การศึกษาช่วงความเร็วในการโฮโมจิไนซ์ต่อการย่อยสลายของโปรตีนข้าว

ทดลองศึกษาความเร็วของการโฮโมจิไนซ์ที่ส่งผลต่อการย่อยสลายของโปรตีน โดยชั่งน้ำหนักโปรตีน 2 กรัม ลงในน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็ว 8000 12000 และ 16000 rpm นาน 20 นาที จากนั้นนำมาศึกษาหาค่า % Degree of hydrolysis ดังอธิบายข้อ 3.2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 การศึกษาผลของการสเตอริไลส์ต่อการย่อยสลายของโปรตีนข้าว

ทดลองศึกษากระบวนการสเตอริไลส์ ที่ส่งผลต่อการย่อยสลายของโปรตีน โดยชั่งน้ำหนักโปรตีน 2 กรัม ลงในน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปสเตอริไลส์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาศึกษาหาค่า % Degree of hydrolysis ดังอธิบายข้อ 3.2.1

3.2.5 การศึกษาผลของการโฮโมจิไนซ์และสเตอริไลส์ต่อการย่อยสลายของโปรตีนข้าว

ทดลองศึกษาผลของการโฮโมจิไนซ์และสเตอริไลส์ที่ส่งผลต่อการย่อยสลายของโปรตีน โดยชั่งน้ำหนักโปรตีน 2 กรัม ลงในน้ำ 50 มิลลิลิตร นำไปโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็ว 8000 12000 และ 16000 rpm นาน 20 นาที ตามด้วยสเตอริไลส์ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาศึกษาหาค่า % Degree of hydrolysis ดังอธิบายข้อ 3.2.1

3.2.6 การศึกษาการย่อยสลายโปรตีนข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการในการผลิตน้ำมันข้าว

ทดลองศึกษาการย่อยสลายของโปรตีนที่ไม่ผ่านกระบวนการผลิตน้ำมันข้าว โดยชั่งน้ำหนักโปรตีน 2 กรัม ลงในน้ำ 50 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงทันที จากนั้นนำมาศึกษาหาค่า % Degree of hydrolysis ดังอธิบายข้อ 3.2.1

3.2.7 การทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อคัดเลือกเอนไซม์

ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้รับการฝึกฝน จำนวน 30 คน โดยคัดเลือกเอนไซม์โปรตีเอสที่มีร้อยละการย่อยสลายของโปรตีนที่เหมาะสมมาใช้ในการผลิตน้ำมันข้าว จากนั้นนำมาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสซึ่งพิจารณาจากคุณลักษณะด้าน ความขม ความสาก และความชอบโดยรวม

3.3 การศึกษาการละลายของโปรตีนต่อกระบวนการในการผลิตน้ำมันข้าว โดยการวัดค่าดัชนีการละลายน้ำ (Water solubility index)

3.3.1 การศึกษาการละลายของโปรตีนข้าวโดยไม่ผ่านกระบวนการในการผลิตน้ำมันข้าว

ทดลองวัดค่าดัชนีการละลายน้ำของโปรตีนที่ผ่านการโฮโมจิไนซ์ โดยชั่งน้ำหนักโปรตีน 1 กรัมลงในน้ำ 25 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 3000 rpm นาน 15 นาที จากนั้นทำการเทส่วนใสทั้งหมดลงใน moisture can ที่ทราบน้ำหนัก นำไปอบแห้งและชั่งน้ำหนักจนมีน้ำหนักที่คงที่ จากนั้นคำนวณค่าดัชนีการละลายน้ำจากสูตร

$$\text{ร้อยละของการละลาย} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนที่ละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

3.3.2 การศึกษาผลของการสเตอริไลส์ต่อการละลายของโปรตีนข้าว

ศึกษาการละลายของโปรตีนที่ผ่านการสเตอริไลส์ โดยชั่งน้ำหนักโปรตีน 1 กรัมลงในน้ำ 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปสเตอริไลส์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 20 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงและนำมาศึกษา ร้อยละของการละลาย ดังอธิบายข้อ 3.3.1

3.3.3 การศึกษาผลของการโฮโมจิไนซ์และสเตอริไลส์ ต่อการละลายของโปรตีนข้าว

ทดลองวัดค่าดัชนีการละลายน้ำของโปรตีนที่ผ่านการโฮโมจิไนซ์ โดยชั่งน้ำหนักโปรตีน 1 กรัมลงในน้ำ 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็ว 8000 12000 และ 16000 rpm นาน 20 นาที ตามด้วย

สเตอร์ไลส์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 20 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงและนำมาศึกษาร้อยละของการละลาย ดังอธิบายข้อ 3.3.1

3.3.4 การศึกษาผลของการย่อยโปรตีนข้าวด้วยเอนไซม์ Neutralse ในอัตราส่วน 1:10 1:55 1:100
ทดลองวัดค่าการละลายน้ำของโปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Neutralse ในอัตราส่วน 1:10 1:55 1:100 โดยชั่งน้ำหนักโปรตีน 1 กรัมลงในน้ำ 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงและนำมาศึกษาร้อยละของการละลาย ดังอธิบายข้อ 3.3.1

3.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าว

ทำการวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Respond surface Methodology) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าวจากปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตน้ำนมข้าวทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์ 0.04 กรัม ถึง 0.4 กรัม ความเร็วในการโฮโมจีไนซ์ ระหว่าง 8000 rpm ถึง 16000 rpm และ ระยะเวลาในการโฮโมจีไนซ์ ระหว่าง 5 นาที ถึง 20 นาที จัดให้มีการวางแผนการทดลองแบบ CCD และมีการวิเคราะห์สมบัติทางด้านกายภาพของน้ำนมข้าว จากนั้นทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Respond surface Methodology) โดยการใช้โปรแกรม Design expert 7.0 สร้างสมการและกราฟเพื่อใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษาและสมบัติต่างๆ สร้างกราฟ contour plot เพื่อหาจุดที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าว โดยพิจารณาจากความขมและความสากที่มีค่าต่ำที่สุด

3.4.1 การศึกษาช่วงการทดลองซ้ำจากการทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต

การทดสอบทางประสาทสัมผัสเมื่อได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตจากโปรแกรมแล้ว ทำการผลิตน้ำนมข้าวตามสภาวะที่กำหนดแล้วนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Intensity Analysis ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้รับการฝึกฝนจำนวน 30 คน โดยการทดสอบคุณลักษณะด้านความขม ความสาก ความเนียน และความรู้สึกค้ำในปาก โดยมีคะแนนความเข้มตั้งแต่ 0 ถึง 10

3.5. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและการทดสอบทางประสาทสัมผัส

3.5.1 การวิเคราะห์ค่าสี

วัดค่าสีตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Hunter Lab (Color Quest XE) โดยทำการปรับมาตรฐานด้วยกระเบื้องสีขาวและสีดำก่อน ($L^* = 91.10$, $a^* = -1.12$, $b^* = 1.26$) จากนั้นทำการบรรจุตัวอย่างที่อยู่ในของรูปสารละลายลงในเซลล์แก้ว (Glass cell) โดยให้ระดับความสูงอยู่ที่ 3 ส่วน 4 ของเซลล์แก้ว เลือกระบบ CLE $L^* a^* b^*$ และตั้งค่าให้อ่านตัวอย่าง 3 ซ้ำ จากนั้นวางเซลล์แก้วลงบนช่องอ่านค่าสีบนเครื่องทำการอ่านค่าและบันทึกผล

3.5.2 การตรวจวัดค่าความหนืด

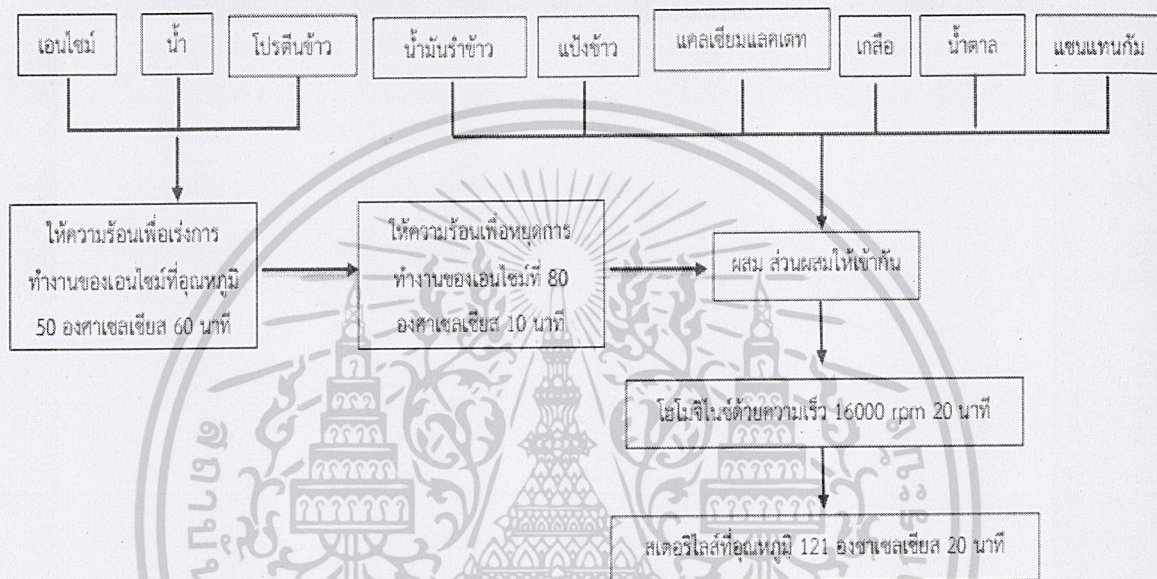
ทำการวัดความหนืดของน้ำนมโดยใช้ Brookfield R/S Plus Rheometer ซึ่งมีอุปกรณ์ คือ CC3-DG Spindle ประกอบด้วย Bob และ Cup ทำการวัดความหนืดแต่ละตัวอย่าง ให้ใช้อัตราเฉือนที่แตกต่างกัน คือ 6.60 13.2 19.8 26.4 และ 33.0 S-1 เพื่อความเสถียรของการวัดค่าความหนืด ให้ทำการบันทึกค่าความหนืด ทุก 1 นาที สำหรับแต่ละอัตราเฉือน

3.5.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Intensity Analysis โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้รับการฝึกฝนจำนวน 30 คน

3.6 การนำเอนไซม์และสภาวะที่เหมาะสมมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์จริง

นำเอนไซม์และสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่ทำให้โปรตีนเกิดการละลายได้ดีมาผสมกับสูตรนํ้านมข้าว โดยส่วนประกอบตามสูตรมาตรฐานดังนี้ โปรตีนข้าว 4 กรัม เอนไซม์ Neutrase 0.1 กรัม แป้งข้าว 6.1 กรัม และนํ้ามันรำข้าว 4 กรัม เกลือ 0.05 กรัม นํ้าตาล 4.5 กรัม แคลเซียมแลคเตท 1 กรัม แชนแทนกัม 0.2 กรัม และ นํ้า 96 กรัม มาทำการผลิตดัง ภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 แสดงกระบวนการผลิตนํ้านมข้าวทั้งกระบวนการ

3.6.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของนํ้านมข้าว

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธี Air Oven Method (AOAC, 2000) การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000) การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (86) โดยวิธี soxhlet (AOAC, 2000) การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (AOAC, 2000) การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000) การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 2000)

3.6.2 การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์

การตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม (Coliforms) วิเคราะห์เชื้อด้วย 3M™ Petrifilm™ E.coli / Coliform Count plate (EC) การตรวจแบคทีเรียชนิด สแตปฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) วิเคราะห์ด้วย 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count plate (STX) การตรวจ แบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร โดยใช้วิธี pour plate

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลจากการวิจัยนำมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance - ANOVA) จากนั้นวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range test ที่ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ด้วยโปรแกรม Minitab 18

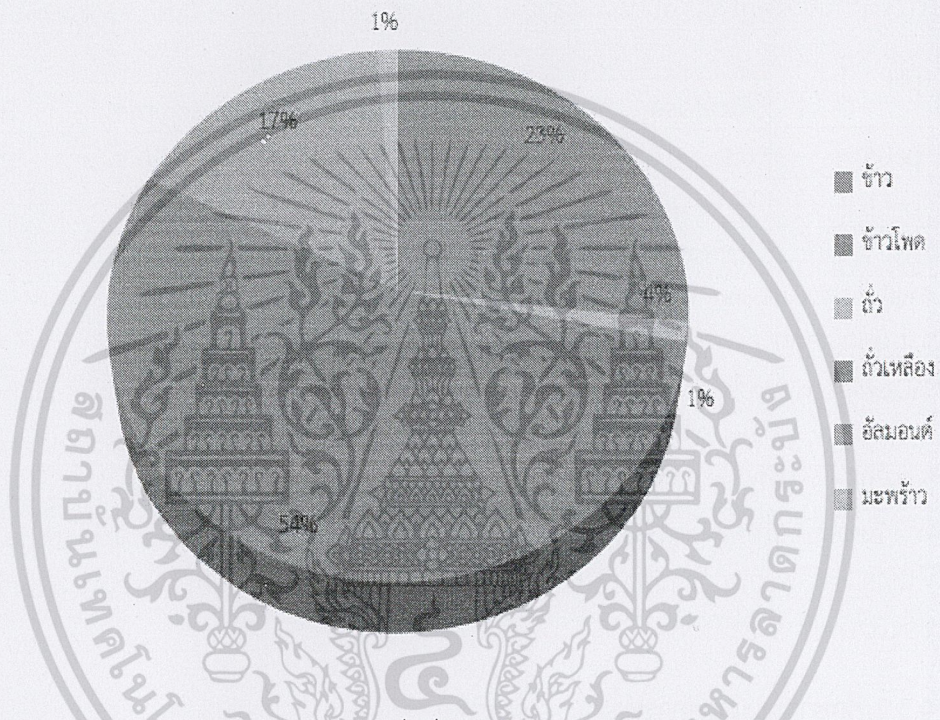


บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การสำรวจตลาดผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากธัญพืชและพืชตระกูลถั่ว

ทำการลงพื้นที่สำรวจข้อมูลทางการตลาดของผลิตภัณฑ์จากห้างสรรพสินค้า 5 แห่ง ได้แก่ สยามพารากอน เซ็นทรัลเวสต์ โรบินสัน Top supermarket และ Food land ในเขตกรุงเทพมหานคร พบว่ามีผลิตภัณฑ์จากธัญพืชและพืชตระกูลถั่ว 6 ชนิด โดยน้ำหนักจากถั่วเหลืองมีความหลากหลายมากที่สุด รองลงมาคือน้ำนมจากข้าว แสดงดัง ภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 เปอร์เซนต์ต้นมธัญพืชและพืชตระกูลถั่วที่มีขายในท้องตลาด

4.2 การศึกษาข้อมูลจากการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนมข้าวในเบื้องต้น

จากการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนมน้ำนมข้าวโดยใช้ โปรตีนข้าว แป้งข้าว และ น้ำมันรำข้าว เป็นองค์ประกอบนั้น ในเบื้องต้นพบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มดังกล่าว มีปัญหาในเรื่องของความสากและรสขมซึ่งเป็นผลโดยตรงมาจากโปรตีนข้าวที่ใช้มีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำ ถึงแม้จะใช้กระบวนการสเตอริไลซ์ในการผลิตส่งผลให้ไม่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค จึงเป็นที่มาของการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวโดยนำเอนไซม์โปรตีเอสมาประยุกต์ใช้เพื่อแก้ปัญหาในเรื่องของความสากและรสขมในผลิตภัณฑ์ โดยใช้สูตรพื้นฐานตามผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนมน้ำนมข้าวที่มีการศึกษาในเบื้องต้นมาก่อนหน้าองค์ประกอบประกอบด้วย แป้งข้าว 6.1 กรัม โปรตีนข้าว 4 กรัม น้ำตาล 4.5 กรัม เกลือ 0.05 กรัม น้ำมันรำข้าว 4 กรัม แชนแทนกรัม 0.2 กรัม และ แคลเซียมแลคเตท 1 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3. การศึกษาปัจจัยและคัดเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนข้าว

4.3.1 การศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

จากการศึกษาการย่อยสลายของโปรตีนข้าวที่ pH 5 6 และ 7 ด้วยเอนไซม์ Rennet Flavourzyme Alcalase และ Neutrase ทำให้ทราบว่า pH มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดัง ตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 % Degree hydrolysis ที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อโปรตีนข้าว 1:200 (กรัม/กรัม) ระยะเวลาในการทำงานของเอนไซม์ 60 นาที และ โปรตีนข้าวมี pH เท่ากับ 5 6 และ 7 ตามลำดับ

pH	% DH			
	Alcalase	Neutrase	Flavourzyme	Rennet
pH 5	0.9C±0.01	1.01C±0.003	1.19A±0.04	0.38A±0.02
pH 6	5.68B±0.37	3.62B±0.07	0.88C±0.03	0.30B±0.03
pH 7	8.79A±0.05	5.74A±0.14	1.02 B±0.02	0.29B±0.01

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลองพบว่า เอนไซม์ Alcalase และ Neutrase ที่ pH ของโปรตีนข้าวมีค่าเท่ากับ 7 มีค่าของ %Degree hydrolysis เท่ากับ 8.79 และ 5.74 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า โปรตีนข้าวที่ pH 5 ที่มี % Degree hydrolysis เท่ากับ 0.9 และ 1.01 ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามเอนไซม์ Rennet Flavourzyme ที่ pH โปรตีนข้าวเท่ากับ 5 มีค่าของ % Degree hydrolysis สูงกว่าที่ pH 7 กล่าวคือ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ส่งผลให้เอนไซม์มีความสามารถในการย่อยสลายได้ดี แต่เนื่องจากสภาวะของโปรตีนข้าวที่นำมาใช้ผลิตน้ำนมข้าวมีค่า pH เท่ากับ 6 ดังนั้นในการคัดเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมจึงทำการศึกษาที่ pH ของโปรตีนข้าวเท่ากับ 6

4.3.2 ศึกษาระยะเวลาการทำงานของเอนไซม์

จากการศึกษาระยะเวลาในการทำงานของเอนไซม์ Rennet Flavourzyme Alcalase และ Neutrase ดัง ตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 % Degree hydrolysis ที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อโปรตีนข้าว 1:200 (กรัม/กรัม) ระยะเวลาการทำงาน of เอนไซม์ที่ 0 15 30 60 และ 120 นาที ตามลำดับ ที่ pH ของโปรตีนข้าวเท่ากับ 6

Time	%DH			
	Alcalase	Neutrase	Flavourzyme	Rennet
0	2.84E±0.12	0.94D±0.02	0.58C±0.02	0.24C±0.00
15	3.49D±0.02	3.07C±0.01	0.67B±0.02	0.29C±0.01
30	4.57C±0.02	3.63B±0.04	0.7B±0.02	0.33B±0.01
60	5.68B±0.37	3.64B±0.07	0.88A±0.03	0.30B±0.03
120	6.33A±0.18	5.84A±0.12	0.92A±0.00	0.37A±0.01

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวคอลัมน์ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อระยะเวลาในการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นส่งผลให้ %Degree hydrolysis เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยที่เวลาในการทำงานของเอนไซม์ 120 นาที มีค่า %Degree hydrolysis สูงที่สุด

จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า pH และเวลาในการทำงานของเอนไซม์มีผลต่อความสามารถในการย่อยของโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อมี pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์จะทำให้ระดับการย่อยโปรตีนสูงขึ้น ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ H.-J. Zhang และคณะ ที่ศึกษาการละลายของโปรตีนถั่วเหลืองและโปรตีนข้าวที่ pH ต่างๆกัน ด้วยเอนไซม์ Alcalase พบว่าโปรตีนข้าวที่ pH มากกว่า 6 มีค่าของ %Degree hydrolysis สูงมากและจากงานวิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ ของ Amiza และคณะ (41) พบว่า Neutrase ทำงานได้ดีที่ pH 7 และจากการศึกษาเวลาในการทำงานของเอนไซม์ เมื่อเวลาการทำงานของเอนไซม์สูงมากขึ้น ส่งผลให้ระดับการย่อยโปรตีนสูงขึ้น ซึ่งเป็นไปตามงานวิจัย Meinschmidt และคณะ (42) ที่ศึกษาระยะเวลาในการทำงานของเอนไซม์ พบว่า เมื่อให้เวลาในเอนไซม์มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น

4.3.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อคัดเลือกเอนไซม์

ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสประเมินความชอบด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้รับการฝึกฝนจำนวน 30 คน โดยคัดเลือกเอนไซม์ที่มี %DH สูง จากการทดลองที่ 4.3.1 และ 4.3.2. พบว่า เอนไซม์ Alcalase และ Neutrase มี %DH สูงกว่าเอนไซม์ Rennet และ Flavourzyme จึงเลือกเอนไซม์ Alcalase และ Neutrase มาใช้ในการผลิตนํ้านมข้าวจากนั้นนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส ผลการทดลองแสดงดัง ตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสความชอบด้วยวิธีการให้คะแนนแบบ 9-point hedonic scale

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบ	
	Neutrase	Alcalase
สี	6.70±1.24	6.73±1.20
กลิ่น	6.20±1.47	5.97±1.75
รสหวาน	5.13±1.59	5.07±1.48
รสขม	5.23±1.85	5.00±1.60
ความเนียน	5.83±1.60	5.93±1.28
ความหนืด	5.27±1.62	5.3±1.42
ความสาก	4.93±1.87	4.73±1.76
ความรู้สึกร้างในปาก	4.97±1.79	5.17±1.74
ความชอบโดยรวม	5.77±1.68	5.63±1.43

จากผลการทดลองพบว่า เอนไซม์ Neutrase มีคะแนนความชอบในด้าน กลิ่น รสหวาน รสขม ความสาก และความชอบโดยรวม สูงกว่า เอนไซม์ Alcalase ส่วนคุณลักษณะในด้าน สี ความเนียน ความหนืด และ ความรู้สึกค้ำในปาก เอนไซม์ Alcalase มีคะแนนสูงกว่าเอนไซม์ Neutrase ซึ่งคุณลักษณะที่พิจารณา คือ ความขม ความสาก และความชอบโดยรวม จากคะแนนการประเมินความชอบทางประสาทสัมผัส เอนไซม์ Neutrase มีคะแนนสูงกว่า เอนไซม์ Alcalase ทั้ง 3 คุณลักษณะ จึงเลือกเอนไซม์ Neutrase ในการหา สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าว

4.3.6 การศึกษาผลของกระบวนการผลิตน้ำนมข้าวต่อการย่อยสลายของโปรตีนข้าว

จากผลการทดลองพบว่ากระบวนการผลิตที่แตกต่างกันส่งผลต่อความสามารถในการย่อยและการละลาย ของโปรตีนข้าวที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 % Degree hydrolysis และ การละลายของโปรตีนข้าว (%Solubility) ที่ใช้อัตราส่วน ของเอนไซม์และกระบวนการในการผลิตน้ำนมข้าวแตกต่างกัน

Condition		%DH	%Solubility
No process	-	0.26E±0.01	5.87H±0.1
Homogenization	Speed 8000 rpm, Time 20 minute	0.26E±0.00	6.07G±0.14
	Speed 12000 rpm, Time 20 minute	0.27E±0.00	6.09G±0.03
	Speed 16000 rpm, Time 20 minute	0.27E±0.00	6.16G±0.15
Sterilization	Temp. 121 C, Time 20 minute	0.51D±0.01	7.72F±0.43
Homogenization and Sterilization	Speed 8000 rpm, Time 20 minute	0.51D±0.02	8.12E±0.29
	Speed 12000 rpm, Time 20 minute	0.53D±0.01	8.49D±0.89
	Speed 16000 rpm, Time 20 minute	0.54D±0.01	8.51D±0.41
Neutrase	1:100 (0.04 g)	5.62C±0.19	18.75C±0.68
	1:55 (0.22 g)	7.04B±0.10	29.99B±0.56
	1:10 (0.4 g)	10.08A±0.25	35.26A±0.54

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรแตกต่างกันในแนวคอลัมน์ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

โปรตีนข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการต่างๆ และโปรตีนข้าวที่ผ่านกระบวนการโฮโมจิไนซ์ที่ความเร็ว 8,000 12,000 และ 16,000 เป็นระยะเวลา 20 นาที มีระดับการย่อยสลายที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทางตรงกันข้ามโปรตีนข้าวที่ผ่านกระบวนการสเตอริไลส์ส่งผลทำให้มีการย่อยสลาย (% Degree hydrolysis) และความสามารถในการละลาย (% solubility) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนสูงจะส่งผลให้พันธะของโปรตีนข้าวถูกทำลายโดยจะทำให้โครงสร้างของพันธะเกิดการคลายตัวหรืออ่อนตัวลง ส่งผลให้น้ำสามารถเข้าไปในโครงสร้างแทรกในโมเลกุลของโปรตีนได้ ซึ่งผลสอดคล้องกับ งานวิจัยของ Xiaohong Cao และคณะ ที่ศึกษาการละลายของโปรตีนในข้าวกล้องงอก โดยพบว่าความร้อนมีผลต่อการละลายของโปรตีน

จากการศึกษาการย่อยสลายและการละลายของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์ Neutrase ที่แปรอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโปรตีน เป็น 1:10 (0.4 กรัม) 1:55 (0.22 กรัม) และ 1:100 (0.04 กรัม) พบว่าอัตราส่วนของเอนไซม์มีผลต่อการย่อยสลายและการละลายของโปรตีนข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยที่อัตราส่วนหรือปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ต่อโปรตีนข้าวมีมาก ส่งผลให้มีโปรตีนข้าวมีการย่อยสลาย (% Degree hydrolysis) และการละลายของโปรตีนข้าว (% solubility) ได้สูง เนื่องจากเอนไซม์ Neutrase จะเข้าไปตัดพันธะเปปไทด์ ให้กลายเป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้น ทำให้โมเลกุลของโปรตีนสามารถละลายน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Meinschmidt และคณะ (42) ที่ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ต่อคุณสมบัติต่างๆ พบว่าปริมาณเอนไซม์มีผลต่อการย่อยสลาย (% Degree hydrolysis) ของโปรตีน

4.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าวโดยทำการวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Respond surface Methodology)

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าว โดยมี 3 ปัจจัย คือ อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโปรตีนข้าว ความเร็วและเวลาที่ใช้ในการโฮโมจิไนซ์ ดัง ตารางที่ 4.5 นำปัจจัยข้างต้นมาทำการวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ด้วยโปรแกรม RSM โปรแกรมวางแผนการทดลองได้ทั้งหมด 20 การทดลองดัง ตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.5 ปัจจัยและช่วงของปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าว

ปัจจัย	ช่วงของปัจจัย
ความเร็วในการโฮโมจิไนซ์ (rpm)	8000 – 16000
เวลาในการโฮโมจิไนซ์ (minute)	5 - 20
ปริมาณเอนไซม์ Neutrase (g)	0.4 - 0.04

ตารางที่ 4.6 สภาวะที่ใช้ในการทดลองโดยการจัดแผนการทดลองแบบ CCD

Run	ความเร็วในการโฮโมจิไนซ์ (rpm)	เวลาในการโฮโมจิไนซ์ (minute)	ปริมาณเอนไซม์ (g)
1	12000	12.50	0.22

2	16000	20.00	0.40
3	8000	20.00	0.04
4	12000	12.50	0.04
5	8000	20.00	0.40
6	12000	5.00	0.22
7	12000	12.50	0.22
8	16000	12.50	0.22
9	12000	12.50	0.22
10	12000	20.00	0.22
11	8000	5.00	0.04
12	12000	12.50	0.22
13	8000	5.00	0.40
14	12000	12.50	0.04
15	8000	12.50	0.22
16	16000	5.00	0.40
17	12000	12.50	0.22
18	12000	12.50	0.22
19	16000	5.00	0.04
20	16000	20.00	0.04

นำนมข้าวที่ได้ 20 การทดลองมาวิเคราะห์ ค่าสี L^* a^* b^* ค่าความหนืดและการทดสอบทางประสาทสัมผัสทางด้านความขม ความเนียน ความสาก และ ความรู้สึกค้างในปาก เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต ซึ่งได้ผลดัง ตารางที่ 4.7 และ ตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพโดยใช้สภาวะที่ใช้ในการทดลองโดยการจัดการแผนการทดลองแบบ CCD

Run	ความเร็วในการโฮโมจิไนซ์ (rpm)	เวลาในการโฮโมจิไนซ์ (minute)	ปริมาณเอนไซม์ (g)	Viscosity	Color L^*	Color a^*	Color b^*
1	12000	12.50	0.22	7.37	3.52	0.1	-0.03
2	16000	20.00	0.40	6.95	3.73	0.19	0.12
3	8000	20.00	0.04	6.75	3.02	0.46	0.25
4	12000	12.50	0.04	7.56	2.91	0.06	0.48
5	8000	20.00	0.40	7.75	2.43	0.64	0.14
6	12000	5.00	0.22	6.90	2.79	0.31	0.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7	12000	12.50	0.22	7.77	2.86	0.08	0.26
8	16000	12.50	0.22	7.93	1.8	0.18	-0.02
9	12000	12.50	0.22	7.44	2.71	0.31	0.06
10	12000	20.00	0.22	5.83	2.56	0.07	0.13
11	8000	5.00	0.04	7.13	1.98	1.37	0.3
12	12000	12.50	0.22	5.72	2.11	0.7	0.2
13	8000	5.00	0.40	6.83	2.09	1.4	-0.18
14	12000	12.50	0.04	7.76	1.68	0.68	-0.08
15	8000	12.50	0.22	7.96	1.96	1.24	-0.18
16	16000	5.00	0.40	6.95	1.88	0.73	-0.44
17	12000	12.50	0.22	6.61	1.71	0.69	-0.57
18	12000	12.50	0.22	7.22	1.78	0.93	-0.23
19	16000	5.00	0.04	7.84	1.51	0.71	-0.32
20	16000	20.00	0.04	7.65	1.91	0.05	0.05

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Intensity Analysis โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย

Run	ความเร็วในการโฮโมจีไนซ์ (rpm)	เวลาในการโฮโมจีไนซ์ (minute)	ปริมาณเอนไซม์ (g)	ความขม	ความเนียน	ความสาก	ความรู้สึกค้ำในปาก
1	12000	12.50	0.22	4.45	6.59	3.82	4.3
2	16000	20.00	0.40	6.49	6.58	3.26	3.78
3	8000	20.00	0.04	4.05	6.73	4.27	4.1
4	12000	12.50	0.04	5.95	6.5	3.16	3.94
5	8000	20.00	0.40	6.55	6.87	3.49	4.01
6	12000	5.00	0.22	3.86	6.73	3.47	4.05
7	12000	12.50	0.22	4.39	6.76	3.62	4.16
8	16000	12.50	0.22	4.41	6.53	3.68	4.09
9	12000	12.50	0.22	4.47	6.26	3.72	3.91
10	12000	20.00	0.22	4.85	6.27	3.88	4.56
11	8000	5.00	0.04	2.13	6.58	4.19	4.25
12	12000	12.50	0.22	4.67	6.64	3.91	4.16
13	8000	5.00	0.40	6.54	6.28	3.25	4.01
14	12000	12.50	0.04	2.65	6.59	4.12	4.39
15	8000	12.50	0.22	4.59	6.59	3.79	4.18
16	16000	5.00	0.40	6.75	6.53	2.98	3.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17	12000	12.50	0.22	4.33	6.39	3.72	4.06
18	12000	12.50	0.22	4.38	6.63	3.85	4
19	16000	5.00	0.04	2.24	6.08	4.05	4.06
20	16000	20.00	0.04	2.19	6.29	3.71	4.09

4.5. ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยในการผลิต

จากการวิเคราะห์สมบัติต่างๆและการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อหาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตและศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต ได้แก่ ความเร็ว เวลาในการโฮโมจีไนซ์ และอัตราส่วนของเอนไซม์ ซึ่งวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Respond surface Methodology) โดยใช้โปรแกรม Design expert 7.00 ซึ่งพิจารณาความเหมาะสมของโมเดลจากค่า p-value และ ค่าการตรวจสอบควรร้อยกว่า 0.05 แสดงว่า แบบจำลองนี้มีความเพียงพอในการฟิตข้อมูลและถือว่าเป็นข้อมูลที่เหมาะสมสามารถนำไปสร้างสมการทำนายสถานะที่เหมาะสมได้ จากค่าทางสถิติพบว่าปัจจัยในการผลิตทั้ง 3 ปัจจัยไม่มีผลต่อการผลิตน้ำนมข้าวทางด้านค่าความหนืด ค่าสี $L^* b^*$ และ ด้านคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสในด้านความเนียนและความรู้สึกค้างในปากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทางตรงกันข้ามมีผลต่อค่าสี a^* และ คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสทางด้านความขมและความสาก สมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ สำหรับค่า สี Color a^* (Y3), ความขม (Y5) และ ความสาก (Y7) ปัจจัยความเร็วในการโฮโมจีไนซ์ (rpm) (X1), ระยะเวลาในการโฮโมจีไนซ์ (X2) และ ปริมาณของเอนไซม์ (g) (X3) แสดงดังต่อไปนี้

$$Y_3 = 0.43 - 0.32x_1 - 0.31x_2 + 0.062x_3 + 0.059x_1 x_2 - 60250E-003x_1 x_3 + 0.034x_2 x_3 + 0.35x_1^2 - 0.17x_2^2 + 0.072x_3^2$$

$$Y_5 = 4.67 - 0.18x_1 + 0.26x_2 + 1.88x_3 - 0.28x_1 x_2 + 0.24x_1 x_3 - 0.27x_2 x_3 - 0.5x_1^2 - 0.65x_2^2 + 1.18x_3^2$$

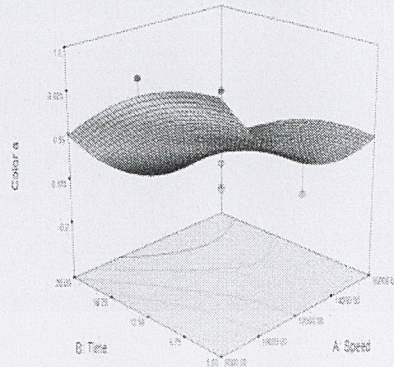
$$Y_7 = 3.70 - 0.13x_1 + 0.067x_2 - 0.38x_3 - 0.047x_1 x_2 + 0.025x_1 x_3 - 0.098x_2 x_3 + 0.15x_1^2 + 0.092x_2^2 - 0.32x_3^2$$

จากข้อมูลสามารถนำมาสร้างกราฟพื้นที่ผิวตอบสนองที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคู่ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการผลิตน้ำนมข้าวได้แก่ ด้านค่าสี a^* และ คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสด้านความขมและความสาก

4.5.1 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตน้ำนมข้าวในด้านค่าสี a^*

ความเร็วและเวลาในการโฮโมจีไนซ์ โดยใช้ปริมาณเอนไซม์ Neutrase ที่ 0.22 กรัม แสดงดังภาพที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาและความเร็วในการโฮโมจีไนซ์ส่งผลต่อคุณลักษณะทางด้านสี a^* ของน้ำนมข้าว โดยเมื่อระยะเวลาและความเร็วในการโฮโมจีไนซ์มากขึ้นส่งผลให้ค่าสี a^* มีค่าน้อยลง โดยสีของผลิตภัณฑ์อาจเกิดได้จากปริมาณกรดอะมิโนอิสระสูงขึ้นเนื่องจากการถูกย่อยสลายโปรตีนข้าวด้วยเอนไซม์ Neutrase และเมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนอาจเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด จากงานวิจัยของ Tamanna และคณะ (43) ศึกษาผลของกระบวนการสเตอริไลส์ต่อลักษณะคุณภาพอาหาร พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการสเตอริไลส์มีค่าสี $L^* a^*$ ลดลงจากเดิม ส่วนค่าสี b^* เพิ่มขึ้นจากเดิม จากการศึกษาผลของโฮโมจีไนซ์ต่อการย่อยสลายและการละลายของโปรตีนข้าวดัง ตารางที่ 4.4 พบว่า การโฮโมจีไนซ์มีผลต่อการเพิ่มการละลายของโปรตีนเล็กน้อย แต่ไม่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีน การโฮโมจีไนซ์มีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากการโฮโมจีไนซ์

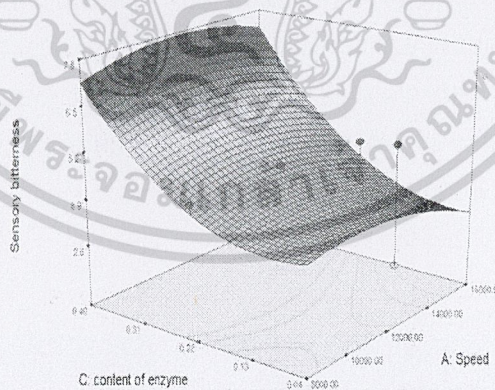
ทำให้เม็ดของไขมันเกิดการกระจายตัวและมีขนาดเล็กลง เมื่อจำนวนเม็ดไขมันเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการสะท้อนแสงเพิ่มขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ขาวขึ้น



ภาพที่ 4.2 พื้นที่ความสัมพันธ์ระหว่างผลของเวลาในการโฮโมจิไนซ์และเวลาในการโฮโมจิไนซ์ต่อการทดสอบทางกายภาพด้านค่าสี a^*

4.5.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตน้ำนมข้าวต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสด้านความขม

ปริมาณของเอนไซม์และความเร็วในการโฮโมจิไนซ์ โดยกำหนดเวลาในการโฮโมจิไนซ์ที่ 12.50 นาที จากภาพที่ 4.3 แสดงให้เห็น เมื่ออัตราส่วนปริมาณเอนไซม์มากขึ้นส่งผลให้น้ำนมข้าวมีความขมมากขึ้นด้วย ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ Neutrase มีความสามารถในการตัดพันธะแบบเอ็นโดเปปติเดสทำให้ได้กรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นที่มีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิกซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำส่งผลให้เกิดรสขม ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Meinschmidt และคณะ (42) คือปริมาณเอนไซม์แปรผันตรงกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความขม

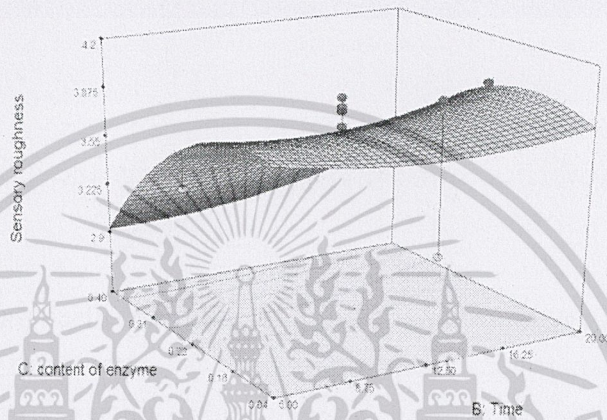


ภาพที่ 4.3 พื้นที่ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์และความเร็วในการโฮโมจิไนซ์ต่อการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตน้ำนมข้าวต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสด้านความสาก

ปริมาณของเอนไซม์และเวลาในการโฮโมจิไนซ์ โดยใช้ความเร็วในการโฮโมจิไนซ์ที่ 12000 rpm จาก ภาพที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าเมื่อปริมาณเอนไซม์ต่ำส่งผลให้ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความสากเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเอนไซม์มีความสามารถในการตัดพันธะเปปไทด์ให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้น ส่งผลให้โปรตีนข้าวเกิดการละลายในน้ำได้ดีขึ้น ความสากลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Meinschmidt และคณะ (42)



ภาพที่ 4.4 พื้นที่ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์และเวลาในการโฮโมจิไนซ์ต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสด้านความสาก

4.6 การศึกษาช่วงการทดลองซ้ำจากการทำนายสถานะที่เหมาะสมในการผลิต

จากการศึกษาหาปัจจัยและสถานะที่เหมาะสมโดยใช้การวิเคราะห์ผลทางสถิติ ด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Respond surface Methodology) ซึ่งโปรแกรมทำนายการทดลองที่เหมาะสมทั้งหมด 25 การทดลอง จากการสุ่มเลือกการทดลอง 3 การทดลอง เพื่อทำการทดลองซ้ำในด้านที่ส่งผลต่อปัจจัยในการผลิตน้ำนมข้าว ดัง ตารางที่ 4.9 พบว่าผลของการทดลองซ้ำมีค่าใกล้เคียงกับที่โปรแกรมทำนายไว้ แสดงว่าโมเดลที่เลือกใช้สามารถใช้ทำนายได้จริง

ตารางที่ 4.9 การทดลองซ้ำด้านคุณลักษณะทางกายภาพด้านค่าสี และการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความขมและความสาก

ตัวอย่าง	การทำนายของโปรแกรม			การทดลองซ้ำ		
	ความขม	ความสาก	ค่าสี	ความขม	ความสาก	ค่าสี
สูตร 1	2.61882	3.80658	-0.130956	2.78±2.07	3.92±1.81	-0.12333
สูตร 6	2.16359	3.76575	0.46956	2.49±1.18	3.83±1.37	0.416667
สูตร 17	2.6055	3.88176	-0.148284	2.81±1.48	4.04±1.35	-0.10667

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าว คือ ความเร็วในการโฮมจิไนซ์ 16000 rpm เวลาในการโฮมจิไนซ์ 20 นาที และ ปริมาณเอนไซม์ Neutrase ต่อโปรตีนข้าว 1:40 (กรัม/กรัม)

4.7 การผลิตน้ำนมข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลส์

4.7.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ตารางที่ 4.10 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของนมวัว นมข้าวที่ทำการศึกษานี้ และ นมข้าวที่มีขายในท้องตลาดในเมืองไทย จากผลการทดลองพบว่า น้ำนมข้าวสูตรที่พัฒนาในครั้งนี้มีปริมาณ โปรตีน 3.14% ไขมัน 3.28% ไฟเบอร์ 0.45% เถ๋า 0.44% คาร์โบไฮเดรต 5.84% และ แคลเซียม 157.3 มิลลิกรัม ซึ่งมีค่าทางโภชนาการเทียบเท่ากับนมวัว และมีค่าทางโภชนาการที่ดีกว่านมข้าวที่ขายตามท้องตลาดในเมืองไทย

ตารางที่ 4.10 องค์ประกอบทางเคมีของนมวัว นมข้าวที่พัฒนาวิจัยในครั้ง นี้ และนมข้าวที่มีขายในท้องตลาดในเมืองไทย (g/100ml)

องค์ประกอบทางเคมี	นมวัว ^a	น้ำนมข้าวสูตรพัฒนา	นมข้าวที่มีขายในท้องตลาดในเมืองไทย ^b
โปรตีน	2.9-5.0	3.14 ± 0.02	0.4-2.0
ไขมัน	2.5-6.0	3.28 ± 0.13	1.0-1.8
ไฟเบอร์	-	0.45 ± 0.03	0.0-4.4
เถ๋า	0.6-0.9	0.44 ± 0.02	-
ความชื้น	85.5-89.5	86.85 ± 0.04	52.0-86.0
คาร์โบไฮเดรต	3.6-5.5	5.84 ± 0.04	2.28-13.6
แคลเซียม (mg)	113-125	157.3	0.0-80.0

^a source nutrition value of cow's milk [39]. ^b Proximate analysis of rice milk. ^c rice milk commercial was explored from the market in Thailand

4.7.2 การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์

จากการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ชนิดโคลิฟอร์ม (Coliforms) จุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ชนิดสแตไฟโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) ไม่พบจุลินทรีย์ชนิดดังกล่าวในผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวที่ศึกษาวิจัย เนื่องจากผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยวิธีสเตอริไลส์ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ซึ่งเป็นการฆ่าเชื้อที่ทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ของเชื้อในผลิตภัณฑ์ ซึ่งผลสอดคล้องกับงานวิจัยของคณะ Ji-Hee Kim และคณะ (44) ที่ศึกษาความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่มีต่อแก้วข้าว พบว่าการฆ่าเชื้อด้วยวิธีสเตอริไลส์สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและเสนอแนะ

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนข้าวและการคัดเลือกเอนไซม์ด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยศึกษาเอนไซม์ Rennet Flavourzyme Alcalase และ Neutrase พบว่า เอนไซม์ Alcalase และ Neutrase มีระดับการย่อยสลายโปรตีนข้าวสูง ซึ่งทำงานได้ดีที่ pH 7 ระยะเวลาในการทำงานของเอนไซม์ 60 นาที และเมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าเอนไซม์ Neutrase ได้รับความชอบจากผู้ทดสอบมากกว่าเอนไซม์ Alcalase ในด้านความขม ความสาก และ ความชอบโดยรวม จึงเลือกใช้เอนไซม์ Neutrase ระยะเวลาในการทำงานเอนไซม์ 60 นาที มาย่อยสลายโปรตีนข้าว และทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมข้าวด้วยการวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง (Respond surface Methodology) โดยมีปัจจัย คือ ความเร็ว โหม่งเวลาในการโหม่ง และอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อโปรตีน ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมที่สุด คือ ความเร็วโหม่ง 16000 rpm เวลา 20 นาที และปริมาณเอนไซม์ Neutrase ต่อโปรตีนข้าว 1:40 (กรัม/กรัม) ส่งผลให้น้ำนมข้าวที่ได้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบในผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าว พบว่ามีปริมาณโปรตีน 3.14% ไขมัน 3.28% เส้นใย 0.45% เกล็ด 0.44% ความชื้น 86.85% คาร์โบไฮเดรต 5.84% และ แคลเซียม 157.3 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการเทียบเท่ากับน้ำนมวัว มีปริมาณแคลเซียมสูงเหมาะสำหรับเป็นเครื่องดื่มสำหรับผู้สูงอายุ

บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย

ผลผลิตงานวิจัยในครั้งนี้

1. นำเสนอผลงานวิจัยในรูปแบบ Poster presentation ในงานประชุมระดับนานาชาติ The 5th International Conference on Agricultural and Biological Sciences (ABS 2019).
2. ผลผลิตงานวิจัยได้รับการตอบรับเพื่อตีพิมพ์ผลงานใน Proceeding ฐาน Scopus
3. ผลิตนักศึกษาระดับปริญญาตรี 4 คน และระดับปริญญาโท 1 คน

ผลผลิตงานวิจัยที่ศึกษาในครั้งนี้ได้สูงเกินกว่าเป้าที่สัญญาใน proposal ทุนวิจัย คณะอุตสาหกรรมเกษตร รหัสนุท (A118-61-010) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. Wal JM. Bovine milk allergenicity. ANNALS OF ALLERGY, ASTHMA & IMMUNOLOGY. 2004 May 17; 93: p. 2-11.
2. จิรภิญโญ ศนพ. โรงพยาบาลสมิติเวช. [Online].; 2560 [cited 2562 กุมภาพันธ์ 18. Available from: <https://www.samitivejhospitals.com>.
3. อาจารย์สง่า ด. นม.เพื่อสุขภาพ. วารสารโภชนาการ Journal of Nutrition Association of Thailand 2551 มกราคม-มีนาคม 1; p. 9-17.
4. Bayless M, Brown, Paige M. Lactase Non-persistence and Lactose Intolerance. Current Gastroenterology Reports. 2017 May.
5. Jirapinyo P, Thamonsiri N, Chantaratin S, Wongarn R. Lactose intolerance in Thai adults. Journal of the Medical Association of Thailand. 2004 January.
6. Fabian C, Ju YH. A review on rice bran protein: Its properties and extraction methods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2011; 51(9): p. 816-827.
7. Hamada JS. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization. Cereal Chemistry. 1997; 74(5): p. 662-668.
8. Wang C, Li D, Xu F, Hao T, Zhang M. Comparison of two methods for the extraction of fractionated rice bran protein. Journal of Chemistry. 2014; p. 546345/1-546345/11.
9. Fabian C, Ju YH. A review on rice bran protein: Its properties and extraction methods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2011; 51(9): p. 816-827.
10. Mawal YR, Mawal JR, Ranjekar. Biochemical and immunological characterization of rice Albumin Bioscience Reports. 1987; 7(1): p. 1-9.
11. Wei C, Nguyen SD, Kim MR, Sok DE. Rice albumin N-terminal (Asp-His-His-Gln) prevents against copper ion-catalyzed oxidations. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007; 55(6): p. 2149-2154.
12. Hamada JS. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization. Cereal Chemistry. 1997; 74(5): p. 662-668.
13. Ju ZY, Rath HN. Extraction, denaturation and hydrophobic properties of rice flour proteins. Journal of Food Science; 66(2): p. 229-232.
14. Shyur L, Chen CS. Purification and characterization of rice prolamins. Botanical Studies. 1994; 35: p. 65-71.
15. Hibino T, Kidzu K, Masumura T, Ohtsuki K, T K. Amino acid composition of rice prolamin polypeptides. Agricultural and Biological Chemistry. 1989; 53(2): p. 513-518.
16. Mitsukawa , Konishi R, Uchiki M, Masumura T. Molecular cloning and characterization of a cysteine-rich 16.6-kDa prolamin in rice seeds. Bioscience Biotechnology and Biochemistry. 1999; 63(11): p. 1851-1858.

17. Hibino T, Kidzu K, Masumura T, Ohtsuki K, Tanaka K, Kawabata M. Amino acid composition of rice prolamin polypeptides. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1989; 53(2): p. 513-518.
18. Padhye VW, Salunkhe DK. Extraction and characterization of rice proteins. *Cereal Chemistry*. 1979; 56(5): p. 389-393.
19. Ju ZY, Rath HN. Extraction, denaturation and hydrophobic properties of rice flour proteins. *Journal of Food Science*. 2001; 66(2): p. 229-232.
20. Shyur LF, Zia, Chen CS. Purification and some properties of storage proteins in japonica rice. *Botanical Bulletin of Academia Sinic*. 1988; 29(2): p. 113-122.
21. Luh B. *Rice Utilization* New York; 1991.
22. รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, กล้านรงค์ ศรีรอต, เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, ไชยรัตน์ เพ็ชรชลาญรัตน์, รุ่งทิภา วันสุขศรี, บุญทิภา นิลจันทร์. การศึกษาคุณสมบัติของแป้งข้าวพันธุ์ต่างๆ ในประเทศไทยเพื่อเป็นกลยุทธ์การสร้างผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม กรุงเทพฯ: ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2546.
23. คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น้ำมันไขมันและผลิตภัณฑ์. In วนานวัช. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร.: สำนักพิมพ์มหาลัยเกษตรศาสตร์; 2543. p. 295-313.
24. ฉลวย ทับศรีม่วงพรวน. การศึกษาผลการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารนึ่งรำข้าวและจมูกข้าว P2PLUS. 2555; p. 1-55
25. ดร. นิธิยา รัตนพานนท์. เอนไซม์. In เคมีอาหาร.: โอ.เอส. พรีนติ้ง เฮาส์; 2549. p. 272-315.
26. Rani S, Pooja K, Pal GK. Exploration of rice protein hydrolysates and peptides with special reference to antioxidant potential: Computational derived approaches for bio-activity determination. *Trends in Food Science & Technology*. 2018 October; 80: p. 61-70.
27. Zakaria F, Safriani N, Muzaifa M. Production of protein hydrolysates from fish byproduct prepared by enzymatic hydrolysis. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society.*; 5(1): p. 36-39.
28. University of Reading. National center for biotechnology education. [Online].; 2018 [cited 2019 5 14]. <http://www.ncbe.reading.ac.uk/materials/enzymes/alcalase.html>.
29. สิริินภา ช่วงโอภาส. การทำให้บริสุทธิ์และศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์อัลคาไลน์โปรตีเอสจาก *Bacillus sp.* A39. 2550. p. 1-121.
30. สิริพันธ์ จุลรังคะ. แร่ธาตุ. In โภชนศาสตร์เบื้องต้น.: ศูนย์หนังสือมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2545. p. 161-167.
31. Calcium in food fortification strategies. *International Dairy Journal*. 1998 May; 8(5-6): p. 443-449.

32. วิจิตรา แดงปรก, ปิยวรรณ ศุภวิฑิตพัฒนา. โยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดเสริมแคลเซียมจากเปลือกไข่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้; 2550.
33. ดร.นิธิยา รัตนาปนนท์. บทที่ 7 ไฮโดรคอลลอยด์. In เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ: โอ.เอส. พรีนติ้ง เฮ้าส์; 2551. p. 189-227.
34. คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. การแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อน. In ภัครัชพันธุ์ ท, สัจจาอนันตกุล ธ, ตรงจิตภักดี ศ. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เล่ม 1: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2559. p. 171-182.
35. คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. การถนอมอาหารโดยใช้ความร้อน. In ภัครัชพันธุ์ ท. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร.: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2543. p. 115-130
36. Bylund G, Sc M. Composition of cows' milk. In Dairy processing handbook. Sweden: Tetra Pak Processing Systems; 1994. p. 13-36.
37. คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นม และผลิตภัณฑ์. In สุรพัฒน์ ส, ไวยะนันท์ น. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร.: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2543. p. 213-229.
38. วารยา บุขปรารัง. เครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่ว. 2539; p. 112.
39. Mann B, Kumari A, Kumar R, Sharma R, Prajapati K, Mahoboob S, et al. Antioxidant activity of whey protein hydrolysates in milk beverage system. Journal of Food Science and Technology. 2014 April.
40. Barać M, Čabrilo , Pešić , Stanojević , Pavličević M, Maćej O, et al. Functional Properties of Pea (*Pisum sativum*, L.) Protein Isolates Modified with Chymosin. International Journal of Molecular Sciences. 2011 December; 12
41. Amiza, A M, Liyana , Zaliha , H. Optimization of enzymatic protein hydrolysis conditions to obtain maximum angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity from Angel Wing Clam (*Pholas orientalis*) meat. Journal of Food Technology. 2016; p. 65-73.
42. Meinschmidt P, Sussmann D, Weisz US, Eisner P. Enzymatic treatment of soy protein isolates: effects on the potential allergenicity, technofunctionality, and sensory properties. Food Science Nutrition. 2016; p. 11-23.
43. Tamanna N, Mahmood N. Food Processing and Maillard Reaction Products: Effect on Human Health and Nutrition. International Journal of Food Science. 2015.
44. Kim JH, Chung HJ, Choi SH, Eun JB. Effect of retort sterilization on microbial safety and Quality characteristics of a rice cake. Food Sci Biotechnol. 2016; p. 1047-1052.

ภาคผนวก ก
ผลผลิตงานวิจัย



The 5th International Conference on
Agricultural and Biological Sciences (ABS 2019)

ACCEPTANCE NOTIFICATION

June 19th, 2019

Congratulations! We are extremely glad to inform you that your abstract:

PAPER ID: **ABS3203**

ARTICLE ENTITLED:

Optimization of process conditions for the development of rice milk by using response surface methodology

COMPLETE LIST OF AUTHORS:

Pansaporn Plengsaengsri¹, Taksaon Pimsuwan², Thanunya Wiriya-Aree², Jarupat Luecha², Sawaminee Nualkaekul¹ and Pawinee Deetae^{1*}

¹ Faculty of Agro-industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

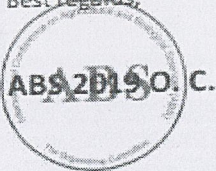
² Food Technology Program, Kanchanaburi Campus, Mahidol University Kanchanaburi 71150, Thailand

has been accepted by **ABS 2019** for Poster Presentation and abstract would be included in the abstract proceeding for academic exchanges. We are grateful for your contribution to ABS 2019. We also hope that you will contribute your excellent work to future ABS conferences.

For more information, please visit our website: www.absconf.org.

If you have any question, please feel free to contact us.

Best regards,



<http://www.absconf.org>

July 21st-24th, 2019

Macau, China

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
ผลผลิตงานวิจัย



The 5th International Conference on
Agricultural and Biological Sciences (ABS 2019)

ACCEPTANCE NOTIFICATION

June 19th, 2019

Congratulations! We are extremely glad to inform you that your abstract:

PAPER ID: ABS3203

ARTICLE ENTITLED:

Optimization of process conditions for the development of rice milk by using response surface methodology

COMPLETE LIST OF AUTHORS:

Pansaporn Plengsaengsri¹, Taksaon Pimsuwan², Thanunya Wiriya-Aree², Jarupat Luecha², Sawaminee Nualkaekul¹ and Pawinee Deetae^{1*}

¹ Faculty of Agro-industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

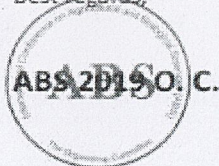
² Food Technology Program, Kanchanaburi Campus, Mahidol University Kanchanaburi 71150, Thailand

has been accepted by ABS 2019 for Poster Presentation and abstract would be included in the abstract proceeding for academic exchanges. We are grateful for your contribution to ABS 2019. We also hope that you will contribute your excellent work to future ABS conferences.

For more information, please visit our website: www.absconf.org.

If you have any question, please feel free to contact us.

Best regards,



<http://www.absconf.org>

July 21st-24th, 2019

Macau, China

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Optimization of process conditions for the development of rice milk by using response surface methodology.

Pansaporn Plengsaengsri¹, Taksaon Pimsuwan², Thanunya Wiriyai-Aree², Jarupat Luecha², Sawaminee Nuakkaekul¹ and Pawinee Deetae^{1*}

¹Faculty of Agro-industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.
²Food Technology Program, Kanchanaburi Campus, Mahidol University Kanchanaburi 71150, Thailand.
 *Corresponding author E-mail: pawinee_deetae@hotmail.com



Abstract

Rice milk is a dairy product alternative for who are allergic milk proteins, lactose and concern about cholesterol. Unlike cow's milk, rice milk contains little protein but has a higher carbohydrate content. The purpose of this research was to study the optimal condition to develop rice milk nutritionally equivalent to cow milk with consumer acceptability. In this study, we used rice protein concentrate, rice flour, rice bran oil, sugar and calcium lactate as ingredients. Firstly, the selection of enzymes for rice protein hydrolysis was carried out and neutrase had high degree of hydrolysis with the highest consumer acceptability (p<0.05). Response surface methodology (RSM) based on central composite design was then employed to investigate the optimum condition with three independent variables: enzyme: protein ratios, speeds and times of homogenization. Our results reveal that the experimental variables significantly affected the color and sensory attributes. The optimum condition for rice milk production was found to be 16000 rpm, 20 minute of homogenization and 1.40 (w/w). The milk produced from this condition had protein 3.14 %, fat 3.28%, fiber 0.45%, ash 0.44% moisture 86.85% and carbohydrate 5.84%, which was similar to the nutritional value of cow's milk. The developed product showed good nutritional and sensory characteristics and this could be used for the development of commercial rice milk beverage after conducting appropriate scale up and pilot plant study.

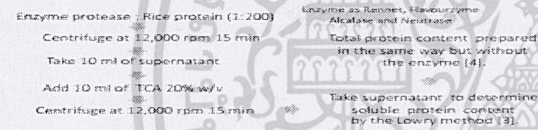
Introduction

Nowadays, there are some consumers that limit their intake of dairy products and have explored the other non-dairy alternatives including people with milk protein allergy, hypercholesterolemia, lactose intolerance, or veganism[1]. Rice milk product can be an alternative cereal beverage for consumer and also for those with health awareness. Rice based milk is one of the most popular beverages in Asian countries including Thailand. Unlike cow's milk, rice milk often present inferior nutritional substitutes of bovine milk. Rice milk is very rich in carbohydrate (9.4-14.2 g/100 ml) but contains small amounts of protein (0.1-0.8 g/100 ml) and fat (0.8-0.2 g/100 ml) and lacks of calcium and vitamins[2]. Consumption of rice milk as an alternative without suitable care can result in malnutrition, especially in the case of infants and toddlers. In this study we aimed to develop and improve nutritional of rice milk equivalent to cow's milk by using rice flour, rice protein, rice bran oil, and calcium lactate as ingredients. However, rice protein is less soluble in water and this affect on consumer acceptability. In this study, we screen enzyme suitable for rice protein hydrolysis then finding the optimum condition used to produce rice milk with nutrition equivalent to cow's milk.

Materials and Methods

I. Enzymatic screening for production rice protein hydrolyses.

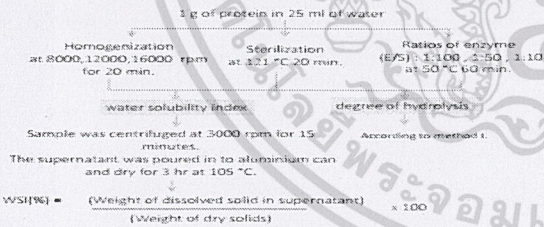
- Study factors affecting the degree of hydrolysis such as various pH (5, 6, 7) and reaction time (0, 15, 30, 60, 120 min)



$$DH(\%) = \frac{\text{soluble protein content in TCA 20\% w/v (mg)} \times 100}{\text{Total protein content (mg)}}$$

II. Factors affect on degree of hydrolysis and water solubility index of rice protein.

- The factors studied are homogenization, sterilization and enzymatic ratio



III. optimum condition for development of rice milk formulation

Central Composite Design was used to created experiments of three main variables with three level. There were 20 experiments. Independent variable parameters were speed of homogenize(X1), time of homogenize (X2), enzyme content(X3). Dependent variable parameters were apparent viscosity, color expressed as L*, a*, b* values and sensory analysis by intensity analysis.

Table 1. Independent variables and their levels used for central composite rotatable design.

Independent variables	Coded variable levels		
	-1	0	+1
Speed of homogenize (rpm)	8000	12000	16000
Time of homogenize (min)	5.00	12.50	20.00
Content of enzyme (g)	0.04	0.22	0.40

IV. Proximate analysis and calcium content of rice milk product

Using method of AOAC,2000

V. Statistical analysis

Using one-way (ANOVA) with 95% confidence level (MINITAB-16)

Results & Discussions

Table 2. Degree of hydrolysis (%DH) from different enzymes at different pH values with 1 hour of reaction time.

pH	%DH			
	Alcalase	Neutrase	Flavourzyme	Rennet
pH 5	0.9 ^a ±0.01	1.01 ^a ±0.003	1.19 ^a ±0.04	0.38 ^a ±0.02
pH 6	5.68 ^b ±0.37	3.62 ^b ±0.07	0.88 ^b ±0.03	0.30 ^a ±0.03
pH 7	8.29 ^c ±0.05	5.74 ^c ±0.14	1.02 ^b ±0.02	0.29 ^a ±0.01

Values that are not followed by the same letter within the same column are significantly different (P < 0.05). Alcalase and neutrase enzymes had higher degree of rice protein hydrolysis than Flavourzyme and rennet. The optimum pH for these enzyme was at pH 7.

Table 3. Degree of hydrolysis (%DH) from different enzymes at pH 6 with various reaction time.

Time (minutes)	%DH			
	Alcalase	Neutrase	Flavourzyme	Rennet
0	2.84 ^a ±0.12	0.94 ^a ±0.02	0.58 ^a ±0.02	0.24 ^a ±0.00
15	3.49 ^a ±0.02	3.07 ^a ±0.01	0.62 ^a ±0.02	0.29 ^a ±0.01
30	4.57 ^a ±0.02	3.63 ^a ±0.04	0.7 ^a ±0.02	0.33 ^a ±0.01
60	5.68 ^a ±0.37	3.64 ^a ±0.07	0.88 ^a ±0.03	0.30 ^a ±0.03
120	6.33 ^a ±0.18	5.64 ^a ±0.12	0.92 ^a ±0.00	0.37 ^a ±0.01

Values that are not followed by the same letter within the same column are significantly different (p<0.05). All the enzymes studied showed the highest degree of rice protein hydrolysis at 120 minutes of reaction time. Alcalase showed the highest degree of hydrolysis followed by neutrase, flavourzyme and rennet respectively. The longer reaction time and alkaline enzyme showed more effectively on the protein[3].

Table 4. Factors affect on the degree of hydrolysis (%DH) and water solubility index (%WSI) of rice protein.

Factors	Conditions	%DH	%WSI
Control	-	0.26 ^a ±0.03	5.82 ^a ±0.1
	8000 rpm, 20 min.	0.26 ^a ±0.00	6.07 ^a ±0.14
Homogenization	12000 rpm, 20 min.	0.27 ^a ±0.00	6.09 ^a ±0.03
	16000 rpm, 20 min.	0.28 ^a ±0.00	6.16 ^a ±0.15
Sterilization	Temp: 121 °C, 20 min	0.51 ^a ±0.01	7.27 ^a ±0.43
	8000 rpm, 20 min.	0.51 ^a ±0.02	8.12 ^a ±0.29
Homogenization and Sterilization	12000 rpm, 20 min.	0.55 ^a ±0.01	8.19 ^a ±0.09
	16000 rpm, 20 min.	0.54 ^a ±0.01	8.51 ^a ±0.41
Neutrase	1:100 (0.04 g)	5.62 ^b ±0.19	18.75 ^b ±0.68
	1:50 (0.22 g)	7.04 ^b ±0.10	20.99 ^b ±0.56
	1:10 (0.4 g)	10.08 ^b ±0.2	35.29 ^b ±0.54

Values that are not followed by the same letter within the same column are significantly different (p<0.05).

- Homogenization, sterilization and ratio of enzyme significantly influenced on degree of rice protein hydrolysis and solubility (p<0.05). The enzyme showed the highest impact on degree of rice protein hydrolysis followed by a combination of homogenization and sterilization. All factors had ability to break the peptide bond of rice protein to be free amino acid or short chain peptides causing protein more solubility[6,7].

Analysis of the relationship response surface graphs.

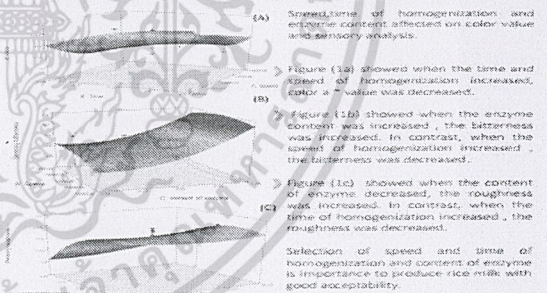


Figure 1. Response surface plots. (A) Speed of homogenize and time of homogenize on color. (B) Content of enzyme and content of enzyme on sensory analysis of bitterness. (C) Time of homogenize and content of enzyme on sensory analysis of roughness.

The optimum condition for rice milk production with good acceptability.

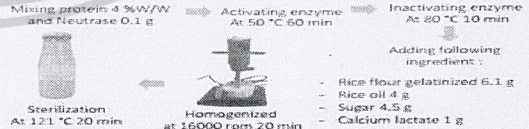


Table 5. Chemical composition of cow's milk, rice milk and rice milk commercial in Thailand (g/100ml).

Chemical composition	Cow's milk ^a	Rice milk formulated	rice milk beverages commercialized in Thailand ^b
Protein	2.9-5.0	3.14 ± 0.02	0.4-2.0
Fat	2.5-6.0	3.28 ± 0.13	1.0-1.8
Fiber	-	0.45 ± 0.03	0.0-4.4
Ash	0.6-0.9	0.44 ± 0.02	-
Moisture	85.5-89.5	86.85 ± 0.04	52.0-86.0
Carbohydrate	3.6-5.5	5.84 ± 0.04	2.28-13.6
Calcium (mg)	113-125	157.3	0.0-80.0

^a Source: nutritional value of cow's milk[8].
^b Nutrition value was surveyed from the market in Thailand.
 The nutritional of rice milk formulated is equivalent to cow's milk and higher than rice milk beverages commercialized in Thailand.

Conclusion

The optimum condition for rice milk production with good consumer acceptability was found to be at 16000 rpm, 20 minutes of homogenization and 1.40 (w/w) of enzyme to protein. This beverage had nutritional equivalent to cow's milk.

1. Bannat L, et al. Optimization of process conditions for developing rice milk product from protein. 1977 Doctor Ph.D. 2016 Nov;36:22-23.
 2. Vitha N, et al. The nutritional benefits of rice-based beverages in infancy and childhood. Nutrition Research Asia Education 2017 Dec;14: 27-32.
 3. Lavery D H, Rasmussen N, Jay A L, Rasmussen N. Protein measurements with the Folin-Ciocalteu reagent. J. Biol. Chem. 1966;241:197-202.
 4. Bannat L, et al. Nutritional Properties of Rice Protein Isolate. J. Food Science and Technology. Journal of Analytical Science, 2012 47:107-110.
 5. N. H. Haddad, et al. The effects of enzyme concentration, substrate and reaction time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein hydrolyzed rice protein. Journal of Food Sci. 2011 92:100-103.
 6. Pawan S, et al. Biological and functional properties of transgenic enzyme-modified egg protein by synthesis. Food Science & Nutrition (Wiley-Interscience) India 2013; 1(4): 21-24.
 7. Yang J, Li C, Cheng H, Chen L. Effects of high pressure homogenization on fat emulsion protein aggregation in relation to stability and rheological properties. Food Hydrocolloids. International Journal of Food Science & Technology, 2010 25:108-113.
 8. Giese Roland, M.Sc. 100% Comparison of cow milk. Dairy processing technology. Teikamp, Sweden : Teikamp Processing Systems, 2010.

เอกลีขันธ์ นิสิต นักศึกษา อาจารย์ และบุคลากรของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ขอขอบคุณผู้สนับสนุนโครงการนี้เป็นอย่างสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณอรรถวิทย์ นิสิต นักศึกษา และบุคลากรของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ให้การสนับสนุนโครงการนี้เป็นอย่างสูง

Optimization of process conditions for the development of rice milk by using response surface methodology

P Plengsaengsri¹, T Pimsuwan², T Wiriya-Aree², J Luecha², S Nualkaekul¹ and P Deetae^{1,3}

¹Faculty of Agro-industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

²Food Technology Program, Kanchanaburi Campus, Mahidol University Kanchanaburi 71150, Thailand

E-mail: pawinee_deetae@hotmail.com

Abstract. Rice milk is a dairy product alternative for who are allergic milk protein, lactose and concern about cholesterol. Unlike cow's milk, rice milk contains little protein but has a higher carbohydrate content. The purpose of this research was to study the optimal condition to develop rice milk nutritionally equivalent to cow milk with consumer acceptability. In this study, we used rice protein concentrate, rice flour, rice bran oil, sugar and calcium lactate as ingredients. Firstly, the selection of enzymes for rice protein hydrolysis was carried out and neutrase had high degree of hydrolysis with the highest consumer acceptability ($p < 0.05$). Response surface methodology (RSM) base on central composite design was then employed to investigate the optimum condition with three independent variables: enzyme: protein ratios, speeds and times of homogenization. Our results reveal that the experimental variables significantly affected the color and sensory attributes. The optimum condition for rice milk production was found to be 16000 rpm, 20 minutes of homogenization and 1:40 (w/w). The milk produced from this condition had protein 3.14 %, fat 3.28%, fiber 0.45%, ash 0.44% moisture 86.85% and carbohydrate 5.84%, which was similar to the nutritional value of cow's milk. The developed product showed good nutritional and sensory characteristics and this could be used for the development of commercial rice milk beverage after conducting appropriate scale up and pilot plant study.

1. Introduction

Cow's milk is one of the most consumed food relished by human population since ancient time due to its nutritional value and its convenience in satiating appetite. Nowadays, its consumption has raise concerned about the health awareness. Clinical researches have demonstrated that some components of cow's milk are allergy, hypercholesterolemia, lactose intolerance or coronary heart accomplice with health problems including milk protein diseases [1,2,3]. For these reasons, consumers have become more interested in non-dairy alternatives over cow's milk. In recent years, plant-based milks products such as soy milk, almond milk, coconut milk, rice milk and cashew milk have been lunched on markets by various food industries worldwide and rice milk is one of the most popular dairy free alternatives in Asian countries such as China, Japan, Vietnam and Thailand [4]. This beverage can be prepared by using milled broken rice or rice flour with water and communiton to a size range of 5-20 μm through homogenization [5]. Heating is applied during the milk process, mostly to ensure food safety and extend the shelf life of the product [6]. Rice based milk generally present inferior nutritional substitutes of

bovine milk, in which it is very rich in carbohydrate (9.4-14.2 g 100 ml⁻¹) but contains small amounts of protein (0.1-0.8 g 100 ml⁻¹) and fat (0.8-0.2 g 100 ml⁻¹) also lacks of calcium and vitamins [7]. Consumption of rice milk as an alternative's without suitable care can result in malnutrition, especially in the case of infants and toddlers [8].

Rice base milk alternative contains blend of rice protein concentrate, rice bran oil, sugar and calcium lactate can increase its nutritional value and could be equivalent to cow's milk nutrition. Rice protein is hypoallergenic and suitable for people allergic to cow or soy milks [9]. The use of rice protein ingredient in food and sports nutrition as an alternative to the more commonly used casein, whey and soy protein, is increasing but limit its applications to products that do not require high solubility of the protein ingredient such as meat analogues, baked goods, protein bars because rice protein is low solubility in water [10]. The functionality of rice protein may be improved by using enzyme hydrolysis. According to the study of Humiski *et al.* [11] protease enzymes such as an alcalase, flavourzyme, trypsin can be used to increase the solubility of pea proteins. The effect of enzymatic hydrolysis is dependent on various factors such as type of enzyme [12,13] treatment conditions (enzyme-substrate ratio, reaction temperature, time of enzyme action, characteristics of substrate [14]. Moreover, it has been found that using combination between homogenization and high temperature during milk production could increase protein solubility [15,16]. Response surface methodology (RSM) is a widely used mathematical and statistical method for modeling and optimizing a process, which requires minimum experimentation [17]. The purpose of this research was to evaluate the effect of enzymatic hydrolysis of rice protein concentrates on the solubility of the resulting hydrolysates and study the optimal condition to develop rice milk nutritionally equivalent to cow's milk with consumer acceptability.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Rice flour was purchased from a local supplier (Thai flour industry company limited, Thailand). Rice protein concentrate was obtained by Fenchem co. ltd and rice bran oil was obtained by Thai edible oil co., ltd (Thailand). Calcium lactate was purchased from Bkkchemi Co., Ltd. Rennet enzyme 2000 U/g was obtained by Finnakorn Chemical and Supply Co., Ltd. Flavourzyme 1000LAPU/g, Alcalase 2.4 AU-A/g and Neutrase 0.8AU-Nu/g were supplied by Brenntag Ingredients (Thailand) Co., Ltd. All other chemicals and reagents were of analytical grade.

2.2. Enzymatic screening for improved protein solubility

2.2.1. Hydrolysis of rice protein concentrate. Enzymatic hydrolysis of rice protein concentrate was studied by using the modified method of Barac *et al.* [18]. Four protease enzymes including rennet, flavourzyme, alcalase and neutrase were explored as the part of enzymatic screening. The factors affecting the degree of hydrolysis such as pH (5, 6, 7) and reaction time (0, 15, 30, 60, 120 minutes) were also investigated. Protein concentrate solution was prepared at 4% (w/w) then the pH was adjusted to 5, 6, 7 with 1 M NaOH or 1M HCl. The enzyme to substrate (E/S) ratio was 1:200 was later added to the solution. Incubated at 50 °C then inactivate the enzyme immediately at 80 °C for 10 min. The hydrolyzed proteins were immediately used for the determination of the degree of hydrolysis.

2.2.2. Degree of hydrolysis. Degree of hydrolysis (DH) was determined according to the method of Barac *et al.* [18]. The protein hydrolysate solution was centrifuged at 12000×g for 15 minutes. Then 10 ml of supernatant was taken to mix with 10 ml of 20% w/v trichloroacetic acid (TCA) and centrifuged at 12,000 g for 15 minutes. The soluble protein content of the supernatant was determined by the Lowry method [19] using bovine serum albumin as the standard. Total nitrogen was determined from 10 ml of suspension prepared in the same way as for enzymatic hydrolysis, but without the enzyme [20].

$$DH(\%) = (\text{soluble protein content in 20 \%w/v of TCA (mg)} / \text{total protein content (mg)}) \times 100$$

2.3. Manufacture of rice milk

First, preparing rice protein hydrolysates using 4 % (w/v) rice protein with 0.4-0.04 g of enzymes at the reaction temperature of 50°C then inactivating at 80°C for 10 minutes. Then the rice protein hydrolysate was mixed with the following ingredients: 6.1 g rice flour gelatinized (12 %w/v of rice flour gelatinized at 70 °C 5 minutes) according to Coda *et al.* [21], 4 g rice bran oil, 4.5 g sugar and 1g calcium lactate. Then homogenized at speed varying from 8000 rpm to 16000 rpm for 5 to 20 minutes. Each rice milk formulation was suggested by the mixture design based on a central composite design as shown in **Table 1**.

2.4. Experimental design

The optimum condition for development of rice milk formulation was determined by Central Composite Design with response surface methodology (RSM) using 3-level-3-factors in the Design-Expert (7.00) software. In the experimental design, it showed twenty formulations with six replications of the central point. Independent variable parameters were speed of homogenize (X_1), time of homogenize (X_2), enzyme content (X_3) and varied from -1 to +1 (**Table 1**). Dependent variable parameters were apparent viscosity, color expressed as L^* , a^* , b^* values and sensory analysis. The regression model was used to generate contour maps for optimization and explanation of parameters effecting rice milk properties.

Table 1. Independent variables and their levels used for Central Composite Rotatable Design.

Independent variables	Symbol	Coded variable levels		
		-1	0	+1
Speed of homogenize (rpm)	X_1	8000	12000	16000
Time of homogenize (min)	X_2	5.00	12.50	20.00
Content of enzyme (g)	X_3	0.04	0.22	0.40

The regression model equation for viscosity (Y_1), color L^* (Y_2), color a^* (Y_3), color b^* (Y_4), bitterness (Y_5), smoothness (Y_6), roughness (Y_7), aftertaste (Y_8) could be speculated as follows:

$$Y_n = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2$$

Where a dependent variable Y expressed response viscosity, color L^* , color a^* , color b^* , bitterness, smoothness, roughness, aftertaste. The β_0 , β_1 and β_2 expressed constant coefficients of the intercept, linear, quadratic and interaction terms, respectively. After study the optimum condition validation was carried out to check the validity of the predicted value suggested from RSM.

2.5. Apparent viscosity measurement

The apparent viscosity of rice milk was measured by viscometer (Brookfield DV-III Ultra programmable viscometer, MA, USA) with small sample adapter (spindle sc4-31) at sample size of 9 ml. Five different shear rates was used (6.60 13.2 19.8 26.4 and 33.0 S^{-1}). The results are presented in pascal-seconds (Pa.s) [22].

$$\tau = K\gamma^n$$

τ is shear stress (Pa), k is consistency coefficient in (Pa/s), γ' is shear rate (s^{-1}) and n is flow-behaviour index.

2.6. Color measurement

Color was measured using a hunter colorimeter (Color Quest II, Reston, USA). Samples were contained in optical glass cells 3.8 cm high and 6 cm diameter. Results were given in CIELAB system for

illuminant D 65 and a 10° angle of vision. Registered parameters were: L* (brightness), a* (red component), b* (yellow component) [23].

2.7. Sensory analysis

Sensory analysis of the hydrolytic rice protein concentrate solution as obtained from 2.2.1 was evaluated using 9 points hedonic scale (1 = "liked extremely", 5 = "neither liked nor disliked" and 9 = "disliked extremely") with 30 untrained panelists for bitterness, roughness and overall preference according to the method of Pokora M *et al.* [24]. For analysis each formulas of rice milk products from experiment design using intensity analysis modified method of Christine Wilson *et al* [25] by using ten-point scale (rating from 1 to 10) to rate each descriptor's intensity with 30 untrained panelists for bitterness, roughness, smoothness and aftertaste.

2.8. Proximate analysis

Calcium content and proximate analysis procedures for moisture, protein (N*6.25), fat, ash, fiber, carbohydrate of rice milk product was performed according to AOAC 2000 [26].

2.9. Statistical analysis

Analysis of variance (ANOVA) was carried out to analyze the differences between groups. Data was indicated as mean \pm SD and statistically significant differences were determined at $p \leq 0.05$. MINITAB release 16 (Minitab Inc., State college, USA) was used to carry out all statistical analyses.

3. Result and discussion

3.1. Enzymatic screening for improved rice protein solubility

3.1.1. Effect of pH on enzymatic hydrolysis. In this experiment, the enzyme to protein ratio was fixed at 1:200 g and the reaction time was set at 60 minutes. It was found that pH significantly influenced on enzymatic hydrolysis ($p \leq 0.05$) as shown in **Table 2**. Among the enzymes studied, alcalase showed the highest degree of rice protein hydrolysis, followed by neutrase, flavourzyme and rennet, respectively and pH 7 was the optimum condition. The obtained results were compatible with those reported by Zhang *et al.* [27] who studied the solubility of soy protein and rice protein at various pH with enzyme alcalase. They found that rice proteins at pH more than 6 had higher degree of hydrolysis and Amiza *et al.* [28] found that neutrase to hydrolysis mixture of angle wing clam flesh at pH 7 and long reaction time caused higher % Degree of hydrolysis

Table 2. Degree of rice protein hydrolysis from different enzymes at various pH.

pH	%DH			
	Alcalase	Neutrase	Flavourzyme	Rennet
pH 5	0.9 ^C \pm 0.01	1.01 ^C \pm 0.003	1.19 ^A \pm 0.04	0.38 ^A \pm 0.02
pH 6	5.68 ^B \pm 0.37	3.62 ^B \pm 0.07	0.88 ^C \pm 0.03	0.30 ^B \pm 0.03
pH 7	8.79 ^A \pm 0.05	5.74 ^A \pm 0.14	1.02 ^B \pm 0.02	0.29 ^B \pm 0.01

Values that are not followed by the same letter within the same column are significantly different ($P \leq 0.05$).

3.1.2. Effect of reaction time on enzymatic hydrolysis. In this experiment, the ratio of enzyme to protein was fixed at 1:200 and at pH 6. **Table 3** showed that when the reaction time increased, the % degree of hydrolysis increased significantly ($p \leq 0.05$). The enzyme reaction time of 120 minutes had the highest % Degree of hydrolysis. Haslaniza *et al.* [29] reported that a longer reaction time would allow enzyme to act more extensively on the protein, thus resulting in more % degree of hydrolysis.

Table 3. Degree of rice protein hydrolysis from different enzymes at various reaction time.

Time	%DH			
	Alcalase	Neutrase	Flavourzyme	Rennet
0	2.84 ^E ±0.12	0.94 ^D ±0.02	0.58 ^C ±0.02	0.24 ^C ±0.00
15	3.49 ^D ±0.02	3.07 ^C ±0.01	0.67 ^B ±0.02	0.29 ^C ±0.01
30	4.57 ^C ±0.02	3.63 ^B ±0.04	0.7 ^B ±0.02	0.33 ^B ±0.01
60	5.68 ^B ±0.37	3.64 ^B ±0.07	0.88 ^A ±0.03	0.30 ^B ±0.03
120	6.33 ^A ±0.18	5.84 ^A ±0.12	0.92 ^A ±0.00	0.37 ^A ±0.01

Values that are not followed by the same letter within the same column are significantly different ($P \leq 0.05$).

3.1.3. Sensory analysis for enzyme selection. Since enzyme alcalase and neutrase had a higher DH than rennet and flavourzyme from the previous experiments therefore we selected alcalase and neutrase enzymes for sensory analysis. neutrase enzymes had higher score in aroma, sweetness, bitterness, roughness and overall acceptance than alcalase. Therefore, neutrase enzyme was selected for the study of the optimum conditions for rice milk production.

3.2. Conditions for optimum responses

The experimental results using RSM with CCD were presented in **Table 4** and **5**. Three independent variables used were speed of homogenization (X_1), time of homogenization (X_2), and enzyme content (X_3) with three levels for each variable. While the dependent variables were the apparent viscosity, color expressed as L^* , a^* , b^* values and sensory analysis

Table 4. Central composite design for optimizing condition to rice milk production and responses of physical properties.

Run number	Variable levels			Response variables			
	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4
1	0	0	0	7.37	3.52	0.1	-0.03
2	+1	+1	+1	6.95	3.73	0.19	0.12
3	-1	+1	-1	6.75	3.02	0.46	0.25
4	0	0	-1	7.56	2.91	0.06	0.48
5	-1	+1	+1	7.75	2.43	0.64	0.14
6	0	-1	0	6.90	2.79	0.31	0.34
7	0	0	0	7.77	2.86	0.08	0.26
8	+1	0	0	7.93	1.8	0.18	-0.02
9	0	0	0	7.44	2.71	0.31	0.06
10	0	+1	0	5.83	2.56	0.07	0.13
11	-1	-1	-1	7.13	1.98	1.37	0.3
12	0	0	0	5.72	2.11	0.7	0.2
13	-1	-1	+1	6.83	2.09	1.4	-0.18
14	0	0	-1	7.76	1.68	0.68	-0.08
15	-1	0	0	7.96	1.96	1.24	-0.18
16	+1	-1	+1	6.95	1.88	0.73	-0.44
17	0	0	0	6.61	1.71	0.69	-0.57
18	0	0	0	7.22	1.78	0.93	-0.23
19	+1	-1	-1	7.84	1.51	0.71	-0.32
20	+1	+1	-1	7.65	1.91	0.05	0.05

X_1 = Speed of homogenization (rpm), X_2 =Time of homogenization (minutes), X_3 = enzyme content (g)
 Y_1 =Viscosity (pa.s), Y_2 =Color L^* , Y_3 = Color a^* , Y_4 =Color b^*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 5. Central composite design for optimizing condition to rice milk production and responses of sensory analysis.

Run number	Variable levels			Response variables			
	X ₁	X ₂	X ₃	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Y ₈
1	0	0	0	4.45	6.59	3.82	4.3
2	+1	+1	+1	6.49	6.58	3.26	3.78
3	-1	+1	-1	4.05	6.73	4.27	4.1
4	0	0	-1	5.95	6.5	3.16	3.94
5	-1	+1	+1	6.55	6.87	3.49	4.01
6	0	-1	0	3.86	6.73	3.47	4.05
7	0	0	0	4.39	6.76	3.62	4.16
8	+1	0	0	4.41	6.53	3.68	4.09
9	0	0	0	4.47	6.26	3.72	3.91
10	0	+1	0	4.85	6.27	3.88	4.56
11	-1	-1	-1	2.13	6.58	4.19	4.25
12	0	0	0	4.67	6.64	3.91	4.16
13	-1	-1	+1	6.54	6.28	3.25	4.01
14	0	0	-1	2.65	6.59	4.12	4.39
15	-1	0	0	4.59	6.59	3.79	4.18
16	+1	-1	+1	6.75	6.53	2.98	3.54
17	0	0	0	4.33	6.39	3.72	4.06
18	0	0	0	4.38	6.63	3.85	4
19	+1	-1	-1	2.24	6.08	4.05	4.06
20	+1	+1	-1	2.19	6.29	3.71	4.09

X₁= Speed of homogenization (rpm), X₂=Time of homogenization (minutes), X₃= enzyme content(g), Y₅= Bitterness, Y₆=Smoothness, Y₇=Roughness, Y₈=Aftertaste

The quadratic model suggested from program and used for optimization and explanation of parameters effecting rice milk properties. Three independent variables did not affect the physical properties of the milk, in terms of the viscosity and the color L * b * values and the sensory analysis of smoothness and aftertaste. In contrast, three factors affected color as a * value and sensory analysis of bitterness and roughness significantly ($p \leq 0.05$). From the results of regression analysis, the mathematical models for Color a* value (Y₃), bitterness(Y₅) and roughness(Y₇) as functions of speed of homogenize (rpm) (X₁), time of homogenize (min) (X₂) and content of enzyme (g) (X₃) can be expressed by the following equation.

$$Y_3 = 0.43 - 0.32x_1 - 0.31x_2 + 0.062x_3 + 0.059x_1x_2 - 60250E-003x_1x_3 + 0.034x_2x_3 + 0.35x_1^2 - 0.17x_2^2 + 0.072x_3^2$$

$$Y_5 = 4.67 - 0.18x_1 + 0.26x_2 + 1.88x_3 - 0.28x_1x_2 + 0.24x_1x_3 - 0.27x_2x_3 - 0.5x_1^2 - 0.65x_2^2 + 1.18x_3^2$$

$$Y_7 = 3.70 - 0.13x_1 + 0.067x_2 - 0.38x_3 - 0.047x_1x_2 + 0.025x_1x_3 - 0.098x_2x_3 + 0.15x_1^2 + 0.092x_2^2 - 0.32x_3^2$$

3.3. Analysis of response surface graphs

Factors affecting a * values were speed and time of homogenization. From the figure (1A), it showed that when the time and speed of homogenization increased, color a * value decreased. Consistent of Park *et al.* [30] who found high pressure homogenized decreased both the a* and b* values of the natural plant-based model emulsion and homogenization reduced the fat granules and helped dispersion. When the amount of fat pellets increased, it caused more light reflection, resulting in lighter color [31]. The color of the sterilized milk can occur from Maillard reaction between free amino acids and reducing sugar at high temperature.

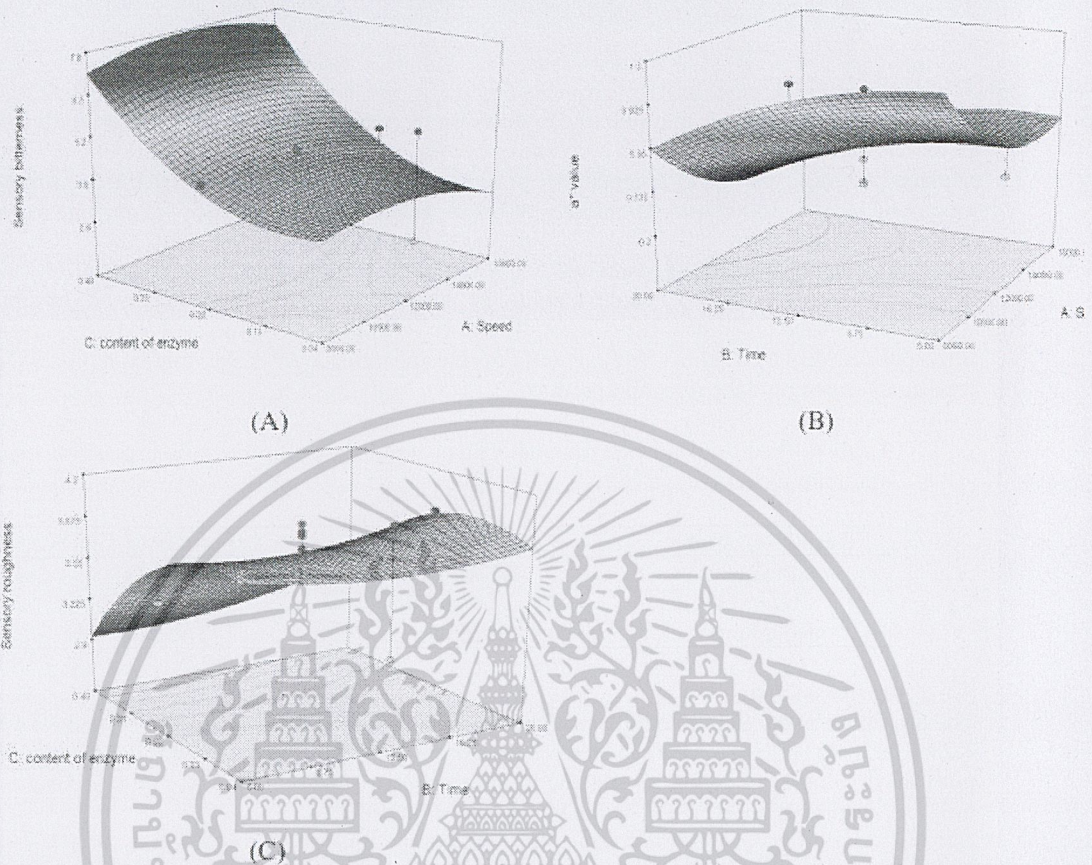


Figure 1. Response surface plots. (A) Speed of homogenize and Time of homogenize on color a *values, (B) Speed of homogenize and content of enzyme on sensory evaluation of bitterness, (C) Time of homogenize and content of enzyme on sensory evaluation of roughness.

The content of enzymes and the speed of homogenization affected to bitterness. Figure (1B) showed that as enzyme content increased, bitterness increased. In contrast, when the speed of homogenization increased, the bitterness was decreased. This can be due to that the neutrase is an endoprotease and can produce free amino acids or short peptides that have hydrophobic amino acid residues. Therefore, nonpolar amino acid residues at the C-terminus of the resulting peptides remain and cause a relatively high bitterness [32,33,34]. Zhang *et al.* and Wang *et al.* [35,36] found a higher DH at higher content of enzyme to substrate is due to the increase of the contact chance of enzyme and protein and enhanced concentration of peptide bonds from hydrolysis by the proteases. Hence more content of enzyme, more hydrophobic amino acid residues relatively with bitterness of the product.

Enzyme content and the time of homogenization affected roughness. Figure (1C) showed that when the content of enzyme and the time of homogenization was increase, the roughness decreased. This could be that the enzyme could break the peptide bond to a free amino acid or short chain peptide, which would increase interactions between the hydrophilic amino acids and water molecules also can induce changes in the balance of net charges that lead to enhanced solubility [37]. Therefore, the high of enzyme content effect more enzymatic hydrolysis resulting in protein more solubility and less roughness. Jingqi Yang *et al.* [38] found the homogenization was demonstrated to modulate the hydrophobic interactions among protein aggregates, leading to dissociation of large protein aggregates into soluble

supramolecular aggregates that due to can decrease aggregate size of protein, the solubility of protein increase. Hence, selection of speed and time of homogenization and content of enzyme is importance to produce rice milk with good acceptability. The optimum condition for sterilized rice milk production was found to be at 16000 rpm, 20 minutes of homogenization and 1:40 (w/w) of enzyme to protein.

3.4. Validation of the optimized conditions

In order to confirm the optimized conditions. This optimum conditions from RSM optimization approach was used to validate experimentally shown in **Table 6**. All predicted and experimental values corresponded very well showed the adequacy of selected models. After the validation process, optimized conditions use to produce rice milk product.

Table 6. Predicted and experimental values of responses for rice milk production using optimum process parameter.

Response variable	Predicted values	Experimental values
a* value	-0.130956	-0.12333
Bitterness	2.61882	2.78±2.07
Roughness	3.80658	3.92±1.37

3.5. Proximate analysis

The proximate analysis of rice milk product produced from the optimum condition had 3.14 % protein, 3.28% fat, 0.45% fiber, 0.44% ash, and 5.84% carbohydrate. It also contained 157.3 mg of calcium. The nutritional value of rice milk formulated in this study was like that of cow's milk and better than rice milk beverages commercial in Thailand as shown in **Table 7**.

Table 7. Chemical composition of cow's milk, rice milk and rice milk commercial in Thailand (g/100ml).

Chemical composition	Cow's milk ^a	Rice milk formulated	Rice milk beverages commercialized in Thailand ^b
Protein	2.9-5.0	3.14 ± 0.02	0.4-2.0
Fat	2.5-6.0	3.28 ± 0.13	1.0-1.8
Fiber	-	0.45 ± 0.03	0.0-4.4
Ash	0.6-0.9	0.44 ± 0.02	-
Moisture	85.5-89.5	86.85 ± 0.04	52.0-86.0
Carbohydrate	3.6-5.5	5.84 ± 0.04	2.28-13.6
Calcium (mg)	113-125	157.3	0.0-80.0

^a source nutrition value of cow's milk [39].

^b Proximate analysis of rice milk.

^c rice milk commercial was explored from the market in Thailand.

4. Conclusion

The optimum condition for rice milk production was found to be at 16000 rpm, 20 minutes of homogenization and 1:40 (w/w) of enzyme to protein. The rice milk produced from this condition had nutrition value similar to cow's milk and better than rice milk beverages commercial in Thailand

Acknowledgements

This work was supported by Faculty of Agro-industry research fund (Grant number A118-61-010), King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand.

Reference

- [1] Hochwallner H, Schulmeister U, Swoboda I, Spitzauer S and Valenta R 2014 Cow's milk allergy: From allergens to new forms of diagnosis, therapy and prevention. *Methods* **66** 22–33
- [2] Luthy K E, Larimer S G and Freeborn D S 2017 Differentiating between lactose intolerance, celiac disease, and irritable bowel syndrome-diarrhea. *J Nurse Practition*. **13**(5) 348–53
- [3] Kumar B V, Vijayendra S V and Reddy S 2015 Trends in dairy and non-dairy probiotic product - a review *J. Food Sci. Tech.* **52**(10) 6112–24
- [4] Mintel's Dairy Milk US 2017 Report and Non-Dairy Milk US 2017 report, (January 04th, 2018) Retrieved July 10, 2019, from <https://www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/us-non-dairy-milk-sales-grow-61-over-the-last-five-years>
- [5] Sethi S, Tyagi S K and Anurag R K 2016 Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review *J. Food Sci. Tech.* **53**(9) 3408–23
- [6] Deeth H 2017 Optimum thermal processing for extended shelf-life (ESL) milk *Foods* **6** 102
- [7] Vitoria Miñana I. 2017 The nutritional limitations of plant-based beverages in infancy and childhood *Nutrición Hospitalaria ARAN Ediciones* **34**(5) 1205-14
- [8] Chalupa-Krebzdak S, Long C J and Bohrer B M 2018 Nutrient density and nutritional value of milk and plant-based milk alternatives *Int. Dairy. J.* **87** 84–92
- [9] Day L 2013 Proteins from land plants – potential resources for human nutrition and food security *Trends Food Sci. Technol.* **32** 25–42
- [10] Amagliani L, O'Regan J, Kelly A L and O'Mahony J A 2017 The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review *Trends Food Sci. Technol* **64** 1–12
- [11] Humiski L M and Aluko R E 2007 Physicochemical and bitterness properties of enzymatic pea protein hydrolysates *J. Food Sci.* **72**(8) 605–11
- [12] Kim S Y, Park P S W and Rhee K C 1990 Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate *J. Agric. Food Chem.* **38** 651–6
- [13] Van der Ven C, Gruppen H, De Bont D B A and Voragen A G J 2002 Correlations between biochemical characteristics and foam-forming and stabilizing ability of whey and casein hydrolysates *J. Agric. Food Chem.* **50** 2938–46
- [14] Betancur-Ancona D, Martínez-Rosado R, Corona-Cruz A, Caellanos-Ruelas A, Jaramillo-Flores M E and Chel-Guerrero L 2009 Functional properties of hydrolysates from *Phaseolus lunatus* seeds *Int. J. Food Sci. Technol.* **44** 128–37
- [15] Park S H, Min S G, Jo Y J, Chun J Y 2015 Effect of high pressure homogenization on the physicochemical properties of natural plant-based model emulsion applicable for dairy products *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* **35**(5) 630–710
- [16] Sikand V, Tong P, Vink S and Walker J 2012 Effect of powder source and processing conditions on the solubility of milk protein concentrates 80 *Milchwissenschaft* **67** 300–3
- [17] Morshedi A and Akbarian M 2014 Application of response surface methodology: design of experiments and optimization: a mini review *Indian J. Fund. Applied Life Sci.* **4** 2434-9
- [18] Barać M, Čabrilo S, Pešić M, Stanojević S, Pavličević M, Maćej O and Ristić N 2011 Functional properties of pea (*Pisum sativum*, L.) Protein isolates modified with chymosin *J. Molecular Sci.* **12** 8372-87
- [19] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L and Randall R J 1951 Protein measurement with the Folin phenol reagent *J. Biol. Chem.* **193** 265
- [20] Silvestre M P C, Morais H A, Silva V D M and Silva M R 2013 Degree of hydrolysis and peptide profile of whey proteins using pancreatin *J. Brazilian Soc. Food Nutr.* **38**(3) 278–90
- [21] Coda R, Lanera A, Trani A, Gobetti M and Di Cagno R 2012 Yogurt-like beverages made of a

- mixture of cereals, soy and grape must: Microbiology, texture, nutritional and sensory properties. *Int. J. Food Micro* **155**(3) 120–7
- [22] Pushpadass H A, Emerald F M E, Balasubramanyam B V and Patel S S 2019 Rheological properties of milk-based beverages *Sci. Bev.* **9** 373-96
- [23] Pandalaneni K, Amamcharla J K, Marella C and Metzger L E 2018 Influence of milk protein concentrates with modified calcium content on enteral dairy beverage formulations: Physicochemical properties *J. Dairy Sci.* **101**(11) 9714–24
- [24] Pokora M, Eckert E, Zambrowicz A, Bobak L, Szoltysik M and Dąbrowska A 2103 Biological and functional properties of proteolytic enzyme-modified egg protein by-products. *Food Sci. Nutri.* **14** 184-95
- [25] Christine W, Jeanne B, Wessel du T and Astrid B 2019. Matrix effects influencing the perception of 3-mercaptopropan-1-ol (3MH) and 3-mercaptopropanyl acetate (3MHA) in different Chenin Blanc wines by Projective Mapping (PM) with Ultra Flash profiling (UFP) intensity ratings *Food Res. Int.* **121** 633–40
- [26] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official Methods of Analysis of AOAC International* 17th ed AOAC International: Gaithersburg, MD, USA, 2000.
- [27] Zhang H, Zhang J, Wang L, Guo XN. 2012. Preparation and functional properties of rice bran proteins from heat-stabilized defatted rice bran. *Food Res. International.* **4** 359-63.
- [28] Amiza A M, Liyana H A and Zaliha H 2016 Optimization of enzymatic protein hydrolysis conditions to obtain maximum angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity from Angel Wing Clam (*Pholas orientalis*) meat *J. Food Tech.* **2** 65-73
- [29] Haslaniza H, Maskat M Y, Wan A and Mamot A 2010 The effects of enzyme concentration temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water *Int. Food Res. J.* **17** (1) 147–52
- [30] Park SH, Min S-G, Jo Y-J and Chun J-Y 2015 Effect of High Pressure Homogenization on the Physicochemical Properties of Natural Plant-based Model Emulsion Applicable for Dairy Products *Korean J. for Food Sci. of Ani. Res. Korean* **35** (5) 630–7
- [31] Walstra P, Geurts T J, and Wouters J T M 2006 *Dairy Science and Technology* CRC Press Boca Raton, FL pp 325-8
- [32] Adler-Nissen J 1986 *Enzymic hydrolysis of food proteins* Applied Science Publishers, New York pp 110 – 69
- [33] Ishibashi N, Ono I, Kato K, Shigenaga T, Shinoda I, Okai H and Sakuzo F 1988 Role of the hydrophobic amino- acid residue in the bitterness of peptides *Agric. Biol. Chem* **52** 91 – 4
- [34] Saha BC and Hayashi K 2001 Debiting of protein hydrolyzates *Biotech. Adv.* **19** 355 – 70
- [35] Zhang Y and Wang Q 2007 Preparation of peanut functional oligopeptides by two-step-hydrolysis *Trans. Chin. Soc. Agric. Eng.* **23** 258–63
- [36] Wang C, Feng B and Dong Y 2008 Optimization of the enzymatic hydrolysis of oat bran by Protamexprotease response surface method *Food Sci. Technol.* **5** 134–37
- [37] Lee Jookyeong 2011 Soy protein hydrolysate; solubility, thermal stability, bioactivity, and sensory acceptability in a tea beverage A thesis submitted to the faculty of the graduate school of the university of minnesota p 12
- [38] Yang J, Liu G, Zeng H and Chen L 2018 Effects of high pressure homogenization on faba bean protein aggregation in relation to solubility and interfacial properties *Food Hydrocoll.* **83** 275–86
- [39] Gösta Bylund, M.Sc. 1994. Composition of cows' milk. *Dairy processing handbook* Teknotext Sweden : Tetra Pak Processing Systems pp 15-8

ภาคผนวก ข ข้อมูลประวัติผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว ภาวินี ดีแท้
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Pawinee Deetae
2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Email)
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์: 0922842167 E-mail: pawinee_deetae@hotmail.com
4. ประวัติการศึกษา
2552 Ph.D. (Food Science) l'Institut des sciences et industries du vivant de l'environnement, Agro Paris Tech, France
2549 Master of Research (Oenology) 'Université Victor Segalen, Bordeaux 2, France
2546 วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
2543 วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
5. สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)
Food Chemistry, Food Flavor, Biochemistry, Food Analysis
6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพ การทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละ
 - 6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย
 - ชื่อข้อเสนอการวิจัย: The study of flora and fauna diversity in Mahidol University, Kanchanaburi Campus
แหล่งทุน: อพสธ
สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ : ปิดโครงการ
 - 6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย
 - ชื่อข้อเสนอการวิจัย: Chemical composition and biological activity of Thai essential oil herbs and their applications to products
แหล่งทุน: อพสธ
สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ : ปิดโครงการ
 - ชื่อข้อเสนอการวิจัย: Development of methods to detect Ochratoxin and Biogenic amines present in Thai alcoholic beverages
แหล่งทุน: สถานทูตฝรั่งเศสสำหรับนักวิจัยรุ่นใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ : ปิดโครงการ

- ชื่อข้อเสนอการวิจัย: Development of method to detect biogenic amine in Thai soy sauce and soy bean paste products

แหล่งทุน: นักวิจัยรุ่นใหม่มหิดล

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ : ปิดโครงการ

- ชื่อข้อเสนอการวิจัย: Antioxidants properties of herbs and their applications in food products

แหล่งทุน: งบประมาณแผ่นดิน วช.

สถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ : ปิดโครงการ

6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1เรื่อง)

- Phonsatta, N., Luangpitaksa, P., Figueroa-Espinoza, M.C., Lecomte, J., Durand, E., Villeneuve, P., Visessanguan, W, Deetae, P., Uawisetwathana, U., Pongprayoon, W., Panya, A. (2019). Conjugated Autoxidizable Triene-Based (CAT and ApoCAT) Assays: Their Practical Application for Screening of Crude Plant Extracts with Antioxidant Functions in Relevant to Oil-in-Water Emulsions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 1800239.
- Chotechuang N., Lokkhumlue M., Deetae P. (2018). Effect of temperature and time on free amino acid profile in Thai chicken bone soup stock preparation. *Thai journal of Pharmaceutical Science*, Vol. 42, pp 110-117.
- Deetae, P., Tseng, K, Pasuphan, C, Panya, A, Temthawee, W, Suphantharika, M, Methacanon, P. (2017). Ultrasonic extraction, antioxidant and anti-glycation activities of polysaccharides from *Gynura divaricata* leaves. *Chiang Mai Journal of Science*, Vol 44, pp. 144-156.
- Phonsatta, N., Deetae, P, Luangpitaksa, P., Grajeda-Iglesias, C., Figueroa-Espinoza M.C., Lecomte J., Villeneuve, P., Decker, E., Visessanguan, W, Panya, A. (2017). A comparison of antioxidant evaluation assays for investigating antioxidative activities of gallic acid and its alkyl esters in different food matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol 65, pp. 7509-7518.
- Deetae P., Jumnong, P., Assavanig, A., Lertsiri, S. (2017). Occurrence of biogenic amines present in Thai soy sauces and soy bean pastes and their health concern. *International Food Research Journal*, Vol 24, pp. 1575-1587.
- Thummajitsakul S., Kaewsri, W., Deetae P. (2016). Analysis of intraspecific genetic variation, antioxidant and antibacterial activities in *Zingiber zerumbet*. *International Food Research Journal*, Vol. 23, pp. 1552-1557.
- Wipatanawin, A., Phongsawanit, S., Maneeratprasert, T., Lertsiri, S., Deetae, P.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ภายในเท่านั้น ไม่สามารถเผยแพร่ไปภายนอกได้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- (2015). Determination of the effects of adding milk and sugar on the antioxidant capacity of oolong tea by chemical and cell culture-based antioxidant assays. *Chiang Mai Journal of Science*, Vol. 42, pp. 699-711.
- Panya, A., Temthawee, W., Phonsatta, N., Deetae, P., Visessanguan, W., Decker, E. (2015). Apolar Radical Initiated Conjugated Autoxidizable Triene Assay: Effects of Oxidant Locations on Antioxidant Capacities and Interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 63, pp. 7546-7555.
- Thummajitsakul, S., Tumchalee, L., Koolwong, S., Deetae, P., Kaewsri, W., Lertsiri, S. (2014). Antioxidant and antimicrobial potentials of some native Thai plant extracts. *International Food Research Journal*, Vol. 21, pp.2393-2398.
- Helinck, S., Perello, M.C., Deetae, P., De revel, G., Spinnler, H.E (2013). *Debaryomyces hansenii*, *Proteus vulgaris*, *Psychrobacter sp.* and *Microbacterium foliorum* are able to produce biogenic amines. *Dairy science & Technology*, Vol. 93, pp. 191-200.
- Deetae, P., Perello, M.C., De revel, G. (2013). Occurrence of ochratoxin A and biogenic amines in Asian beers sold in French markets. *Journal of Institute of brewing*, Vol. 119, pp. 57-63.
- Deetae, P., Parichanon, P., Trakunleewatthana, P., Chanseetis, C., Lertsiri, S (2012). Antioxidant and anti-glycation properties of Thai herbal teas in comparison with conventional teas. *Food Chemistry*, Vol. 133, pp. 953-959.
- Deetae, P., Saint-Eve, A., Henry E. Spinnler, Helinck, S. (2011). Critical effect of oxygen on the aroma compounds production by *Proteus vulgaris*. *Food Chemistry*, Vol. 26, pp.134-139.
- Deetae, P., Bonnarne, P., Spinnler, H.E., Helinck, S. (2009). The growth and aroma contribution of *M. foliorum*, *P.vulgaris* and *Psychrobacter sp.* during ripening on a cheese model. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 82, pp. 169-177.
- Deetae, P., Mounier, J., Bonnarne, P., Spinnler, H.E., Irlinger F., Helinck S. (2009). Effects of *Proteus vulgaris* growth on the establishment of a cheese microbial community and on the production of volatile aroma compounds in a model cheese. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 107, pp.1404-1413.
- Deetae, P., Shobsngob, S., Varayanond, W., Chinachoti, P., Naivikul, O., Varavinit, S. (2008). Preparation, pasting properties and freeze-thaw stability of dual modified crosslink-phosphorylated rice starch. *Carbohydrate Polymer*, Vol. 73, pp. 351-358.