

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.1.1 วัสดุ

- รำข้าวเจ้าหอมมะลิ ที่ผ่านการสกัดน้ำมัน จากบริษัท กสิสุริย์ จำกัด (สาขาลำพูน)
55/1 หมู่ที่ 6 ถ.ลำพูน-ป่าซาง ต.หนองนาม อ.เมือง จ.ลำพูน 51000
- ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 (ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่)
80 หมู่ 12 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50200

3.1.2 สารเคมี เอนไซม์ เครื่องมือ อุปกรณ์ และ สถานที่

3.1.2.1 สารเคมี

- น้ำกลั่น (โพลสตาร์, Thailand)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Rankem, India)
- กรดไฮโดรคลอริก (Lab-scan, Ireland)
- เอทานอลร้อยละ 95.0 (องค์การสุรา, Thailand)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, Germany)
- มอลโตเดกซ์ตริน DE10 (CPkelco, Denmark)
- ซิงค์อะซิเตรตไดไฮเดรต (Fluka, Switzerland)
- กรดอะซิติก (Labscan, Thailand)
- โปแตสเซียมเพอโรซายาไนต์ (Univar, Australia)
- โฟสเฟอรัสเพนทอกไซด์ (Fisher Scientific, England)
- ไดไนโตรโซซาลิไซลิก (Fulka, India)
- ฟีนอล (Merck, Germany)
- โซเดียมซัลไฟด์ (BDH Chemical Ltd, England)

- D-glucose standard (Sigma-Aldrich, Singapore)
- GOPOD Reagent Buffer (Magazyme, Ireland)
- โซเดียมไดไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (Merck, Germany)

3.1.2.2 เอนไซม์

- เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส 250 กิโลยูนิต (Sigma, Denmark)
- เอนไซม์ไลแคนเนส (Magazyme, Ireland)
- เอนไซม์เบตาไกลูโคซิเดส (Magazyme, Ireland)
- GOPOD Reagent EnZyme (Magazyme, Ireland)

3.1.2.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- ชุดเตาแก๊ส
- ผ้าขาวบางชนิดผืน
- ไม้พาย
- เครื่องครัวสแตนเลส (หัวม้าลาย, Thailand)
- บีกเกอร์ขนาด 2000 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- เทอร์โมมิเตอร์ (Delta Trak: NSF NO.11063, USA)
- เครื่องกวนสารละลาย (RW 11, China)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert: WB 10, Thailand)
- กระดาษกรอง (whatman International Ltd, England)
- ตู้อบสุญญากาศ (Binder: serial NO. 08-36120, England)
- เครื่องวัดพีเอช (HORIBA: F-22, Japan)
- เครื่องวัดความข้นหนืด (Brookfield DV-II, USA)
- เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Buchi: V800, Switzerland)
- เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบ Disc blow (Armfield, England)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Kubota: 5100, Japan)
- เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (JCM, Thailand)
- เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Labconco, USA)

3.1.2.4 เครื่องมือการวิเคราะห์

- เครื่องวัดสี (Hunter Lab : Color Quest XE SSE343, USA)
- เครื่องวัด aw (AquaLab LITE, USA)
- เตาเผา (Sybron Thermolyne, USA)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (A&D: Model FX-2000i, Japan)
- เครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (NIR Systems: model 6500 Silver Spring, USA)
- เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (FT-IR microscope: Nicolet6700, USA)
- ตู้อบลมร้อน (Mettler: Model 400: Germany)
- เครื่องกวนแบบให้ความร้อน (C-MAG: HS7, USA)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Shimadzu: Model UV-1800, Japan)
- เครื่อง Gel permeation chromatograph (GPC : Waters e2695, USA)
- เครื่องทดสอบโลหะหนัก ICP-OES (Perkin Elmer : Optima 7300 DV, USA)
- ชุดสกัดไขมัน (Pyrex, USA)
- ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Kjedahl extraction : Gerhardt, Germany)

3.1.2.5 อุปกรณ์และสถานที่ในการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส (รายละเอียดแสดงดังภาคผนวก ค)
- โปรแกรมสำเร็จรูป SUense (มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม)
- ห้องปฏิบัติการประเมินทางประสาทสัมผัส สาขาวิชาเทคโนโลยีการพัฒนาค้นคว้าวิจัย คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- Booth สำหรับทดสอบทางประสาทสัมผัส
- ชุดทดสอบชิม ได้แก่ ถาด แก้วชิม แก้วน้ำ แก้วบ้วนปาก ทิชชู แก้วชิม เป็นต้น

3.1.2.6 เครื่องประมวลผลทางสถิติ

- SPSS for windows version 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 วิเคราะห์คุณค่าโดยประมาณของวัตถุดิบเริ่มต้น

คุณค่าโดยประมาณเป็นการหาค่าทางเคมีได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต โดยมีวิธีการหาดังนี้

3.2.1.1 ความชื้น (Moisture) (AOAC, 2000)

วิเคราะห์ความชื้นตามวิธีการของ AOAC (2000) โดยชั่งสารสกัดปริมาณประมาณ 1.00 g ใส่ใน aluminum can ที่อบและชั่งน้ำหนักก่อนอบนำเข้าไปอบในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 105°C โดยอบเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณหาปริมาณความชื้นที่มีในตัวอย่างโดยใช้สูตร

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักหลังอบ}} \times 100$$

3.2.1.2 โปรตีน (Crude protein)

การหาปริมาณโปรตีนโดยชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ลงในหลอดเคลดดาห์ล เดิมคะตะลิตส์ 8 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร นำเข้าชุดย่อยโปรตีนจนกระทั่งสารละลายใสและปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปต่อกับชุดกลั่นโปรตีน โดยนำขวดแก้วรูปชมพู่ที่มีกรดบอริก 50 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ลงไป 3-5 หยด ทำการกลั่นตัวอย่าง นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไตเตรทกับกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสังเกตเห็นสีชมพูปรากฏขึ้น คำนวณหาปริมาณโปรตีนดังนี้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(v_a - v_b) \times N \cdot H_2SO_4 \times 1.4007}{w}$$

Va = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต

ตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

Vb = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต

blank (มิลลิลิตร)

H₂SO₄ = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก (N)

W = น้ำหนักตัวอย่าง

ปริมาณโปรตีน (%) = ปริมาณไนโตรเจน (%) × แฟกเตอร์

ค่าแฟกเตอร์ รำข้าว = 5.95 (Alfred and Harmeet, 2001)

ถั่วเหลือง = 5.71

3.2.1.3 ไขมันรวม หรือ สิ่งสกัดได้ในไขมัน (Crude fat)

วิเคราะห์ปริมาณไขมันตามวิธี Soxhlet เป็นการสกัดไขมันในตัวอย่างที่สกัดได้โดยตรงด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ตามระยะเวลาที่กำหนด ภายหลังจากสกัดจะระเหยตัวทำละลายอินทรีย์และทำการชั่งน้ำหนักไขมันที่ได้

3.2.1.4 เส้นใย (Crude fiber) (AOAC, 2000)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย โดยวิธี AOAC (2000) ชั่งตัวอย่างสารสกัด 1.000±0.0010 กรัม ผสมกับกรดกำมะถันเข้มข้นร้อยละ 12.5 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด 30 นาที ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟิวส์ และปรับปริมาตรให้เท่าเดิมด้วยน้ำร้อน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 และล้างด้วยน้ำร้อนปริมาณ 40 มิลลิลิตร นำกากที่ติดอยู่บนกระดาษกรองใส่ในบีกเกอร์ แล้วล้างกากออกจากกระดาษกรองด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด 30 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ผ่านการชั่งน้ำหนักแล้วใช้น้ำร้อนล้างและแอลกอฮอล์ จากนั้นนำกระดาษกรองที่มีกากอยู่ไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส จนแห้ง นำไปชั่ง แล้วเผาที่ 500 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณตามสูตร

น้ำหนักกากที่เหลือ = น้ำหนักหลังอบ - น้ำหนักกระดาษกรอง

ปริมาณเส้นใย (กรัม) = น้ำหนักกากแห้งที่เหลือ - น้ำหนักถ้ำ

3.2.1.5 ถ้ำ (Ash)

การหาปริมาณถ้ำ โดยชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัมใส่ลงในถ้วยเบืองเคลือบที่ผ่านการอบแห้ง จดน้ำหนักที่แน่นอนเป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำไปเผาในตะเกียงให้หมดควัน แล้วนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมงนำออกจากเตาเผา และปล่อยให้เย็น

ให้เย็นลงในโถแก้วดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก และอบซ้ำหลายๆ ครั้งจนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาปริมาณเก่า หน่วยเป็นร้อยละ โดยนำน้ำหนักที่หายไปหารด้วยน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ $\times 100$

3.2.1.6 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต หาได้จาก 100 – ผลรวมระหว่างปริมาณความชื้น ปริมาณไขมัน ปริมาณโปรตีน ปริมาณเส้นใย และปริมาณเก่า

ในขั้นตอนการสกัดเบตาไกลูแคนจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมัน ได้ทำการศึกษาวิธีการสกัด 2 วิธี คือ การสกัดด้วยสารเคมี และการสกัดด้วยเอนไซม์ โดยก่อนทำการสกัด ต้องทำการยับยั้งเอนไซม์เพื่อควบคุมวัตถุดิบให้มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติอันเนื่องมาจากเอนไซม์ที่มีอยู่ในรำข้าว เช่น ไลเปส และ เอนไซม์ไลโปอกซิจีเนส ซึ่งจะส่งผลทำให้รำข้าวมีกลิ่นหืน (Malekian, 2000) และเอนไซม์เบตาไกลูโคซิเดส ที่ส่งผลในการลดน้ำหนักโมเลกุลของเบตาไกลูแคน

3.2.2 การยับยั้งเอนไซม์ในรำข้าว

นำรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันมา 100 กรัม ผสมรวมกับเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 75 ปริมาณ 2 ลิตร ให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และทำให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียสจากนั้นเติมเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 2 ลิตร คน 15 นาที แล้วระเหยเอทานอลออกโดยตู้อบสูญญากาศ 50 องศาเซลเซียสความดัน 0 กิโลปาสกาล (Wood *et al.*, 1989)

3.2.3 การสกัดเบตาไกลูแคนจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันด้วยสารเคมี

สกัดเบตาไกลูแคนด้วยสารเคมีโดยประยุกต์จากวิธีการสกัดจากวิธีของ Wood *et al.* (1989) ซึ่งใช้โซเดียมคาร์บอเนตในการสกัด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design หรือ CRD) แปรผันปัจจัย คือ อุณหภูมิในการสกัด 3 ระดับ คือ 35 45 และ 55 องศาเซลเซียส สำหรับขั้นตอนการสกัดมีดังนี้ นำรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 10 ลิตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 10 ด้วย โซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 20 น้ำหนักต่อปริมาตร แล้วคนที่อุณหภูมิที่ต้องการแปรผันเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบ Disc blow เพื่อแยกตะกอนทิ้ง โดยใช้ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตรต่อปริมาตร แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อทิ้งตะกอนทิ้งอีกครั้ง นำสารละลายที่ได้ไประเหยโดยใช้เครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 50 มิลลิบาร์ จนสารละลายเหลือประมาณครึ่งหนึ่งของปริมาณเริ่มต้น และตกตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ได้

ความเข้มข้นร้อยละ 50 จากนั้นนำไปหมუნเหวี่ยงด้วยเครื่องหมუნเหวี่ยง ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และนำตะกอนมาทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแล้วเก็บตัวอย่างในถุงอัลลูมิเนียมสุญญากาศ

3.2.4 การสกัดเบตาแคโรทีนจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันด้วยเอนไซม์

สกัดเบตาแคโรทีนด้วยเอนไซม์โดยประยุกต์จากการสกัดของ Bhatta (1995) วางแผนการทดลองแบบ CRD แปรผันปัจจัย คือ ปริมาณเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสในการสกัด 3 ระดับ คือ 6 12 และ 18 กิโลยูนิตต่อลิตร (ปริมาณสารละลายหลังเหวี่ยงครั้งแรก) โดยมีขั้นตอนการสกัด ดังนี้ นำรำข้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มอล ในอัตราส่วน 1 กรัมต่อ 50 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาหมუნเหวี่ยงเพื่อแยกกากด้วยเครื่องหมუნเหวี่ยงแบบ Disc blow ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที นำส่วนที่เป็นสารละลายมาปรับ pH เป็น 6.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก จากนั้นเติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ที่ระดับความเข้มข้นที่แปรผัน และนำไปเขย่าที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และปรับ pH เป็น 4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เหวี่ยงแยกส่วนที่เป็นสารละลายออกมาด้วยเครื่องหมუნเหวี่ยงแบบ Disc blow ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที และเติมสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ตั้งทิ้งไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปหมუნเหวี่ยงด้วยเครื่องหมუნเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที 10 นาที นำตะกอนที่ได้ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแล้วเก็บตัวอย่างในถุงอะลูมิเนียมภายใต้สภาวะสุญญากาศ

3.2.5 การศึกษาคุณภาพทางของเบตาแคโรทีนที่สกัดได้

3.2.5.1 ปริมาณร้อยละผลผลิต (% Yield)

คำนวณปริมาณร้อยละผลผลิตโดยคำนวณจากปริมาณรำข้าวหลังทำการขยับยั้งเอนไซม์เทียบกับน้ำหนักสารสกัดหลังการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

3.2.5.2 วิเคราะห์เบตาแคโรทีนโดยใช้เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

(NIRS)

นำตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นผงแห้งใส่ cell cup ประมาณครึ่ง cell (2-3 กรัม) นำมาวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง NIRS ใช้ชุด Transportation module โดยวัดการสะท้อนกลับของแสง (reflectance) เปรียบเทียบกับแผ่นเซรามิกในชุด spinning module วัด

สเปกตรัมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสทำการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร บันทึกผลทุกๆ 2 นาโนเมตร ใช้โปรแกรม The Unscrambler version 7.6 ในการวิเคราะห์ฟิตของการดูดกลืนแสง

3.2.5.3 วิเคราะห์เบตากลูแคนโดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR)

ใส่น้ำตัวอย่างประมาณ 0.5 กรัม ลงไปในชุด diamond crystal วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง FT-IR ใช้ระบบ attenuated total reflection (ATR) ซึ่งเป็นระบบที่ใช้วัดการดูดกลืนแสงที่ผิวของวัสดุนิยมใช้กับวัตถุทึบแสง ที่ช่วงความยาวคลื่น $4000-750\text{ cm}^{-1}$ วัด 64 scan บันทึกผลทุกๆ 4 cm^{-1}

3.2.6 การวิเคราะห์เบตากลูแคน

ซึ่งตัวอย่างที่บดผ่านตะแกรง 0.5 mm มา 0.1 กรัม ใส่หลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 50 V/V 0.2 มิลลิลิตร เติมน้ำโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 20 มิลลิโมล pH 6.5 4.0 มิลลิลิตร เขย่าบน vortex วางหลอดในน้ำเดือด 1 นาที เขย่าแล้ววางในน้ำเดือดอีก 2 นาที จากนั้นนำมาบ่มไว้ในอ่างคูลงอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส 5 นาที เติมน้ำ lichenase 10 ยูนิต 0.2 มิลลิลิตร ปิดด้วยพาราฟิล์ม เขย่าพร้อมกับบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง เติมน้ำ โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ 200 มิลลิโมล pH 4.0 5.0 มิลลิลิตร เขย่าแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เหยี่ยงด้วยแรง $1000 \times g$ 10 นาที จากนั้นดูดสารใส่หลอดทดลอง 3 หลอดหลอดละ 0.1 มิลลิลิตร เติมน้ำ β -glucosidase 0.2 ยูนิต 0.1 มิลลิลิตร 2 หลอด อีก 1 หลอดเติมน้ำ โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ 50 มิลลิโมล pH 4.0 0.1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 10 นาที เติมน้ำ GOPOD Reagent 3.0 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส 20 นาที แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร และคำนวณจากสูตร

$$\beta\text{-glucan (\% w/w)} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times 8.46$$

โดย

ΔA = Absorbance หลังจากการแช่ β -glucosidase เทียบกับ blank absorbance.

F = ปัจจัยที่ได้จากการเปลี่ยนค่า absorbance เป็น μg ของ glucose.

W = จำนวน dry weight ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ในหน่วย mg

$$\text{Dry weight} = \frac{\text{fresh weight} \times 100 - \text{moisture content (\%)} / 100}{100}$$

3.2.7 การศึกษาสมบัติทางกายภาพ

3.2.7.1 ความชื้น (Moisture content) ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.1.1

3.2.7.2 ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (Water Activity, a_w)

หาค่า a_w ของเบตากลูแคนที่สกัดได้ด้วยเครื่องวิเคราะห์ a_w (AquaLab LITE, USA) โดยนำตัวอย่างใส่ตลับพลาสติกให้มีความสูงของตัวอย่างประมาณครึ่งหนึ่งของความสูงตลับพลาสติก จากนั้นปิดฝาเครื่องให้สนิท แล้วทำการวัดค่า

3.2.7.3 ความสามารถในการละลาย (Solubility)

วิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (ลักษณะ, 2540) โดยชั่งตัวอย่างประมาณ 1.00 กรัม ละลายด้วยน้ำเดือด 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร คนให้ทั่วภายใน 5 นาที กรองขณะร้อน โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ที่อบและทราบน้ำหนักแน่นอน ล้างด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส นำกระดาษกรองพร้อมส่วนที่ไม่ละลายไปอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก หลังปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น กำหนดความสามารถในการละลายโดยใช้สูตร

$$\text{ร้อยละของส่วนที่ไม่ละลาย} = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m}$$

เมื่อ m คือ น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ เป็นกรัม

m_1 คือ น้ำหนักกระดาษกรองและส่วนที่ไม่ละลาย เป็นกรัม

m_2 คือ น้ำหนักกระดาษกรองที่อบแล้ว เป็นกรัม

ร้อยละส่วนที่ละลายได้ = $100 - \text{ร้อยละของส่วนที่ไม่ละลาย}$

3.2.8 ค่าสี (Color)

วัดค่าสีของเบตากลูแคนที่สกัดได้ในระบบ CIE L* a* b* และ วัดค่าความแตกต่างของสี (ΔE) โดยใช้แผ่น มาตรฐาน สีขาวเป็นสีอ้างอิง

3.2.9 การศึกษาคุณภาพทางเคมีของเบตากลูแคนที่สกัดได้

3.2.9.1 ปริมาณเส้นใย (Crude fiber) ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.1.4

3.2.9.2 ใยอาหารที่ละลายน้ำ (Soluble dietary fiber)

ทำการวิเคราะห์โดยวิธีของ AOAC 993.19 (2000) เริ่มจากการเตรียม fritted crucible ก่อน โดยนำ fritted crucible porosity no.2 ไปเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาล้างด้วยน้ำ ทิ้งให้แห้ง บรรจุซีไลต์ 0.5 กรัม และกระจายซีไลต์ให้ทั่วโดยการเขย่าเบาๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ทำให้เย็น เก็บในโถดูดความชื้น จนกระทั่งนำไปใช้ (ในการวิเคราะห์ต้องทำ blank ควณคู่กับการวิเคราะห์ทุกอย่าง)

การวิเคราะห์ทำได้โดยนำของเหลวที่กรองได้ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำมาปรับน้ำหนักด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 กรัม เติมน้ำละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่มีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จำนวน 400 มิลลิลิตร ทิ้งให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง ทำ fritted crucible ที่เตรียมไว้ให้เปียก และกระจายซีไลต์ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 แล้วนำของเหลวที่กรองได้หลังปรับน้ำหนักมากรองด้วย residue ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 3 รอบ รอบละ 20 มิลลิลิตร ล้างด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 2 รอบ รอบละ 10 มิลลิลิตร ล้างด้วยอะซิโตน 2 รอบ รอบละ 10 มิลลิลิตร นำ fritted crucible ที่มี กาก ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักของ กาก ชูด กากออกจาก fritted crucible อันแรกเพื่อนำไปหาปริมาณ โปรตีน และชูด กาก จาก fritted crucible อันที่สองเพื่อนำไปหาปริมาณเถ้า (เผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง) กำหนดหาปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้จากสมการ

$$\text{เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำ (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนัก กาก-P-A-B} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อ น้ำหนัก กาก = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก กาก ที่ใช้ (มิลลิกรัม)

- P = น้ำหนักโปรตีนของกากจาก fritted crucible อันแรก (มิลลิกรัม)
 A = น้ำหนักแก้วของกากจาก fritted crucible อันที่สอง (มิลลิกรัม)
 B = blank (มิลลิกรัม) ซึ่งคำนวณได้จาก
 Blank = น้ำหนักกากของ blank - ปริมาณโปรตีนของ blank - ปริมาณแก้วของ blank

น้ำหนักตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิกรัม)

3.2.9.3 วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล

ละลายตัวอย่างเข้มข้น 0.2 w/v ใน eluent จากนั้นกรองด้วยตัวกรองที่มีรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร ก่อนฉีดเข้าเครื่อง Gel permeation chromatograph (GPC) water 600E ในสภาวะการทดสอบ คือใช้ Eluent คือ โซเดียมไนเตรด 0.1 โมล Flow rate 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที Injection volume ขนาด 20 ไมโครลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้ Column set คือ Ultrahydrogel liner 1 column + guard column หาน้ำหนัก MW resolving range ในช่วง 1,000-20,000,000 ใช้ Polymer standard ชนิด Pulluans (MW 5,900-708,000) เทียบกับมาตรฐาน Polysaccharide standard calibration ใช้ Detector คือ Refractive Index Detector

3.2.9.4 วิเคราะห์ปริมาณหน่วยกลูโคส

การวิเคราะห์หน่วยกลูโคส โดยใช้วิธีการเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคสเริ่มจากทำกราฟมาตรฐานกลูโคสในรูปแบบ stock solution ของ D-glucose 1 mg/ml จากนั้นเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.1 – 0.9 mg/ml จากนั้นดูดสารที่เตรียมไว้มา 1 ml เติม DNS 4 ml แช่ใน water bath 90 องศาเซลเซียส 30 นาที เติมน้ำ 10 มิลลิตร ทำให้เย็นแล้วนำไปวัดค่าความทึบแสงหรือ optical density (O.D.) ที่ 550 นาโนเมตร ก็จะได้กราฟมาตรฐาน นำกราฟมาตรฐานมาหาเส้นแนวโน้มจะได้สมการในการทำนายออกมา

เตรียมตัวอย่างโดยให้กรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมล อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Johansson, 2006)

ชั่งตัวอย่าง 1-2 กรัม เติม cleaning reagent (CarrezI,II) ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร เหย็งที่ 1500 รอบต่อนาที 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ดูดสารมา 1 ml เติม DNS 4 ml แช่ใน water bath 90 องศาเซลเซียส 30 นาที เติมน้ำ 10 มิลลิตร ทำให้เย็นแล้วนำไปวัดค่า O.D. ที่ 550 นาโนเมตร จะได้ค่า O.D. ของตัวอย่างแล้วนำค่าแทนค่า X ในสมการแนวโน้มในกราฟมาตรฐานจะได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสคิดเป็นร้อยละจากสูตร

$$\text{ปริมาณกลูโคส} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาล}}{w}$$

เมื่อ ปริมาณน้ำตาล = จากการแทนค่าในสูตรกราฟมาตรฐาน
 w = น้ำหนักตัวอย่าง (g)

คำนวณจากสูตร จำนวนกลูโคส (โมเลกุล) = ปริมาณกลูโคส (g) \times mol

เมื่อ mol คือ สาร 1 โมลเท่ากับ 6.02×10^{23} อะตอม

3.2.8 โลหะหนักด้วยเครื่อง ICP-OES (Perkin Elmer : Optima 7300 DV, USA)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม เติม 10 มิลลิลิตร แชน HNO_3 10 นาที เติม HClO_4 ร้อยละ 60 3 มิลลิลิตร ตั้งบนเตาความร้อนระเหย HNO_3 จนควันสีน้ำตาลหมด ทิ้งไว้ให้เย็น เติม HNO_3 10 มิลลิลิตร ตั้งบนเตาความร้อนระเหย HClO_4 จนควันสีขาวหมด ทิ้งไว้ให้เย็น เติม HCl (1:1) 10 มิลลิลิตร ตั้งบนเตาความร้อน 30 นาที ปรับปริมาตรเท่ากับ 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ทดสอบโดยเทคนิค Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)

3.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสำเร็จรูปสำหรับผู้สูงอายุ

3.3.1 การสำรวจความต้องการของผู้บริโภค

การสำรวจความต้องการของผู้บริโภคในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสำเร็จรูปสำหรับผู้สูงอายุ โดยใช้แบบสอบถาม (แสดงในภาคผนวก ก) เพื่อหาเค้าโครงผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสำเร็จรูปสำหรับผู้สูงอายุ แบบสอบถามที่ใช้ในการสำรวจ แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 เป็นข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม ส่วนที่ 2 เป็นข้อมูลพฤติกรรมกรบริโภคเครื่องดื่มสำเร็จรูป และ ส่วนที่ 3 เป็นข้อมูลเกี่ยวกับความต้องการของผู้บริโภคและการพัฒนาผลิตภัณฑ์

การศึกษานี้ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างโดยการแจกแบบสอบถามให้ผู้สูงอายุที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไปในอำเภอเมืองเชียงใหม่ โดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (Purposive Sampling) โดยคำนวณจากกลุ่มประชากรผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในอำเภอเมืองเชียงใหม่ จำนวน 17,842 คน (กรมการปกครอง กระทรวงมหาดไทย สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2552) เมื่อทำการคำนวณตามสูตรของ Taro Yamane ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 90 ความคลาดเคลื่อนร้อยละ 10 ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างที่เหมาะสมจำนวน 100 ตัวอย่าง การวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการจำแนกกลุ่มตัวแปรด้วยเทคนิค Factor Analysis โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

วิธีการสุ่มตัวอย่างโดยใช้วิธีของ Taro Yamane (ทานินทร์, 2548)

$$n = \frac{N}{1+N(d)^2}$$

n คือ ขนาดกลุ่มตัวอย่าง
 N คือ ขนาดกลุ่มประชากรทั้งหมด
 d คือ ค่าความคาดเคลื่อนที่ยอมรับได้

ดังนั้นเมื่อแทนค่าในสูตรดังกล่าวจะได้

$$n = \frac{17,842}{1+17,842(0.1)^2} = 99.44 \text{ คือ } 100 \text{ คน}$$

3.3.2 การผลิตนมถั่วเหลือง

3.3.2.1 การศึกษาการเตรียมน้ำนมถั่วเหลือง

ทำการศึกษาการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองก่อนการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD โดยศึกษาปริมาณถั่วเหลืองหลังแช่กับน้ำใน 7 อัตราส่วนแสดงดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 ปริมาณน้ำที่ใช้ในการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองก่อนการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ถั่วเหลืองหลังแช่	น้ำ
1	: 4
1	: 5
1	: 6
1	: 7
1	: 8
1	: 9
1	: 10

การเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองมีขั้นตอนดังนี้ คือ ล้างถั่วด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง สะเด็ดน้ำด้วยตะแกรงหรือกระชอน แช่ถั่วเหลืองในน้ำเปล่าในอัตราส่วนถั่วเหลืองกับน้ำ ในอัตราส่วน 1:3 ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นเทน้ำทิ้งแล้วปั่นกับน้ำในอัตราส่วนต่างๆ ที่ทำการแปรผันด้วยน้ำดื่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสด้วยความเร็วสูงสุด 1 นาที แล้วแยกกากด้วยเครื่องเหวี่ยง

เป็นเวลา 1 นาที กรองน้ำนมถั่วเหลืองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้นแล้วต้มด้วยน้ำ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปั่นรวมกับมอลโตเดกซ์ทริน (DE 10) ปริมาณร้อยละ 12 (พรรณจิรา, 2546) จากนั้นนำไปเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้สภาวะลมร้อนขาออกที่ 80 องศาเซลเซียส (Jinapong *et al.*, 2008)

3.3.2.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลือง

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองแบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ

การทดสอบที่ 1 การทดสอบความชอบของนมถั่วเหลืองก่อนและหลังการคั้นรูปโดยวิธีการให้คะแนนแบบ 9-point hedonic scale โดย 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด 5 หมายถึง เฉยๆ และ 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด การเตรียมตัวอย่างนมถั่วเหลืองทำโดยใช้อัตราส่วนของนมถั่วเหลืองผงต่อน้ำเท่ากับ 7.5 กรัม : 100 มิลลิลิตร (ถิรนนท์ และคณะ, 2546) และใช้ผู้ทดสอบ 50 คน โดยทดสอบความชอบของคุณลักษณะต่างๆ ทางประสาทสัมผัสดังนี้

นมถั่วเหลืองผงก่อนการคั้นรูป: ความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นถั่วเหลือง ความละเอียดของผง และความชอบโดยรวม

นมถั่วเหลืองผงหลังการคั้นรูป: ความชอบด้านของลักษณะปรากฏ สี กลิ่นถั่วเหลือง ความขุ่นหนืด ความชอบโดยรวม

การทดสอบที่ 2 การคัดเลือกนมถั่วเหลืองโดยวิธีการทดสอบความแตกต่าง (pair preference test) เป็นวิธีการเปรียบเทียบความชอบตัวอย่างคู่ ในการเสิร์ฟตัวอย่างให้กับผู้ทดสอบตัวอย่างติดต่อกัน จะใช้ทดสอบคุณลักษณะใดลักษณะหนึ่งแล้วตอบว่าชอบตัวอย่างใดมากกว่า โดยความน่าจะเป็น (P) = ½ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ทำโดยใช้ค่า chi-square (χ^2) หรือค่า Z จากเส้นโค้งของการกระจายตัวปกติ นอกจากนี้ยังมีตารางสำเร็จรูป Binomial สำหรับการทดสอบเพื่อหาความแตกต่าง (two-tailed test)

การวิเคราะห์ข้อมูลโดย chi-square อาจตั้งสมมุติฐานดังนี้

H_0 : ไม่มีความแตกต่างระหว่างตัวอย่าง

H_a : มีความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่าง

สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{Adjusted } \chi^2 = \frac{|O_1 - E_1|^2}{E_1} + \frac{|O_2 - E_2|^2}{E_2}$$

O_1 = ค่าสังเกตที่ตอบถูก หรือเลือกตัวอย่าง A

O_2 = ค่าสังเกตที่ตอบผิด หรือเลือกตัวอย่าง B

E1 = ค่าคาดหวังที่ตอบถูก (A) = จำนวนที่ตอบทั้งหมด x P

E2 = ค่าคาดหวังที่ตอบผิด (B) = จำนวนที่ตอบทั้งหมด x (1-P)

นำค่า Adjusted χ^2 ที่คำนวณได้ไปเปรียบเทียบกับตาราง χ^2 ที่ d.f.-(Tr-1) = 1 ถ้าพบว่าค่า Adjusted χ^2 ที่คำนวณได้มากกว่าค่าที่อ่านได้จากตาราง แปลความหมายได้ว่าตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นที่กำหนด

3.3.2.3 การวิเคราะห์กายภาพของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองผง

- ปริมาณของแข็งทั้งหมดและความชื้น ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.1.1
- ค่าวอเตอร์แอกติวิตี ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.5.2
- ความสามารถในการละลาย ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.5.4
- ค่าสี ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.5.5
- การกระจายตัวในน้ำ

ทดสอบการกระจายตัวของนมถั่วเหลืองผงในน้ำตามวิธีของ Jinapong *et al.* (2008) ใช้ น้ำก่่น 10 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เเทงในบีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร ซึ่งสารตัวอย่างที่เป็นผงประมาณ 1.00 กรัม ใส่งไปบีกเกอร์ ใช้ช้อนคน 15 วินาที แล้วคนไปมา 25 ครั้ง จากนั้นกรองผ่านตะแกรงขนาด 121 ไมโครเมตร แล้ว คูลน้ำนมถั่วเหลือง 1 มิลลิลิตร ใส่งใน aluminum can ที่งไว้ในตู้อบ 105±1 องศาเซลเซียส เวลา 4 ชั่วโมง แล้วคำนวณจากสูตร

$$\% \text{Dispersibility} = \frac{(10 + a) \times \% \text{TS}}{a \times \left(\frac{100 - b}{100}\right)}$$

เมื่อ a คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น เป็นกรัม
b คือ ปริมาณความชื้นของตัวอย่างเป็นผง
%TS คือ น้ำหนักแห้งที่ติดอยู่บนตะแกรง

- ความข้นหนืด (Viscosity)

หาความข้นหนืดของเบตาแลกทูแคนโดยใช้เครื่องวัดความข้นหนืด ใช้ชุดบรรจุตัวอย่าง small sample และตัวอย่างที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาณ 8 มิลลิลิตร ใช้หัววัด No.21 วัดที่อัตราเร็ว 93 รอบต่อวินาที

ใช้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาณ 8 มิลลิลิตร ใช้หัววัด No. 21 วัดที่อัตราเร็ว 93 รอบต่อวินาที

3.3.3 การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองผสมเบตาคาร์oten

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 สิ่งทดลองดังตาราง 3.2 โดยให้สิ่งทดลองอยู่ อัตราส่วนนมถั่วเหลืองต่อเบตาคาร์oten ในอัตราส่วน 86:14 84:16 82:18 และ 80:20

ตาราง 3.2 ระดับของปัจจัยในแต่ละสิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนแบบ CRD สำหรับการศึกษา สูตรที่ได้รับการยอมรับของนมถั่วเหลืองผสมเบตาคาร์oten

สิ่งทดลองที่	นมถั่วเหลือง (ร้อยละ)	เบตาคาร์oten (ร้อยละ)
1	86	14
2	84	16
3	82	18
4	80	20

3.3.3.1 วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองผสมเบตาคาร์oten

- ทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ชนิดผงและหลังคืนรูปโดยวิธีการให้คะแนนแบบ 9-point hedonic scale โดย 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด 5 หมายถึง เฉยๆ และ 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด การเตรียมตัวอย่างนมถั่วเหลืองทำโดยใช้อัตราส่วนของนมถั่วเหลืองต่อน้ำเท่ากับ 7.5 กรัม : 100 มิลลิลิตร (ถึรนน้ท้ และคณะ 2546) และใช้ผู้ทดสอบ 50 คน

- ปริมาณความชื้น ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.1.1
- ความสามารถในการละลาย ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.5.4
- ปริมาณเบตาคาร์oten ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.6.7
- ความข้นหนืด ดังวิธีการในหัวข้อ 3.3.2.3
- ค่าสี ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.5.5

3.3.3.2 วิเคราะห์ทางสถิติ

จากการวางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ค่าทางเคมีกายภาพทั้งหมด 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA (กัลยา, 2549) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ความ

แตกต่างของสิ่งทดลองด้วยวิธี *Duncan'* new multiple range test (DMRT) เพื่อศึกษาการยอมรับผลิตภัณฑ์

3.4 การศึกษาคุณภาพและการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์สุดท้าย

ใช้ผู้สูงอายุทั้งหมด 100 คน ในการทดสอบผลิตภัณฑ์สุดท้าย และใช้วิธีการทดสอบแบบ 9-point hedonic scale ทดสอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองผสมเบตาแคโรทีนทางด้าน ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นและความชอบรวม และผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองผสมเบตาแคโรทีนหลังการคั้นรูปทางด้าน ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรสชาติ ความหนืด และความชอบโดยรวม พร้อมตัดสินด้านการยอมรับ และการตัดสินใจซื้อ ต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองผสมเบตาแคโรทีนสำหรับผู้สูงอายุ

3.5 วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สุดท้าย

- ความสามารถในการละลาย ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.5.4
- ปริมาณเบตาแคโรทีน ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.6.4
- ค่าสี ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.5.5
- คุณค่าโดยประมาณ ดังวิธีการในหัวข้อ 3.2.1
- ต้นทุน (จิรพรรณ และคณะ, 2525)

$$\text{ต้นทุน} = \frac{\begin{aligned} &\text{ราคาการใช้ต่อครั้งของทุกๆวัตถุดิบรวมกัน} \\ &+ \\ &\text{ค่าแรงร้อยละ30 ของราคาวัตถุดิบที่รวมกันต่อครั้ง} \\ &+ \\ &\text{กำไรร้อยละ10 ของราคาวัตถุดิบที่รวมกันต่อครั้ง} \end{aligned}}{\text{น้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่ได้ต่อครั้ง}} \times 1000$$