บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบ

กากถั่วเหลืองอบแห้งจาก บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด

โปรตีนถั่วเขียวอบแห้งจาก บริษัท ไทยวา จำกัด (มหาชน)

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

Boric acid	(A.R.)
Bovine serum albumin	(A.R.)
Citric acid	(A.R.)
Coomassie Brilliant Blue G250	(A.R.)
Copper sulphate	(A.R.)
95% Ethanol	(A.R.)
Formaldehyde	(A.R.)
Hydrochloric acid	(A.R.)
Magnesium oxide	(A.R.)
Methyl red	(A.R.)
Methylene blue	(A.R.)
85% Ortho-phosphoric acid	(A.R.)
Petroleum ether	(A.R.)
Potassium sulfate	(A.R.)
Sodium hydroxide	(A.R.)
Sulfuric acid	(A.R.)

Neutrase® 0.5 L (0.5 unit/g) Novo Industri A/S Copenhagen Denmark, ผลิตจาก *Bacillus subtilis* เป็นเอนไซม์ neutral protease มีช่วง optimum pH activity อยู่ในช่วง 5.5-7.5 และ optimum temperature อยู่ในช่วง 45-55 °C

สารแต่งกลิ่นวานิลลา (Vanilla flavour, บริษัท เพอร์มินิค จำกัด)

สารแต่งกลิ่นกาแฟ ตราวินเนอร์ (Coffee flavour,ห้างหุ้นส่วน เกรทฮิลล์ จำกัด)

สารแต่งกลิ่นกล้วยหอม ตราเรเนอร์(Banana flavour,บริษัท เสรีวัฒน์ฟู้ดส์ จำกัด)

<u>อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง</u>

เครื่องเขย่าร่อน (Retsch, VIBRO 335)

ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Kjeldatherm และ Vapodest1, Gerhardt, KT85)

ชุดสกัดไขมัน (Gerhardt Soxtherm Automatic S-166)

เตาเผา (Muffle Furnace, Carbolite, MEL 11-2)

ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, WTE Binder, E 53)

Shaking Water Bath (Forma Scientific, model 2563)

Refrigerated Centrifuge ช่วงอุณหภูมิ -30 ถึง 40°C (Heraeus-Christ, Verifuge K)

pH meter (Hanna 8417)

เครื่องปั่น (Blender, CM-25 Hitachi Hometec, Ltd. Japan)

เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Sartorius, B410)

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, 1518)

เครื่องเขย่าหลอด (Vortex Mixer, Lab Line System U.S.A.)

Magnetic stirrer (Agimatic-N)

Spectrophotometer (Milton Roy, Spectronic 601)

Autoclave (Tomy, SS-320)

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมวัตถุดิบ

นำกากถั่วเหลืองมาบดลดขนาดด้วยเครื่องปั่น แล้วร่อนแยก โดยใช้ตะแกรงขนาด 25 mesh เก็บกากถั่วเหลืองส่วนที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 25 mesh ไว้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการย่อยสลาย และเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการทำโปรตีนไอโซเลต

ส่วนโปรตีนถั่วเขียวค่อนข้างละเอียดอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องบดลดขนาด นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 25 mesh เก็บโปรตีนถั่วเขียวส่วนที่ร่อนผ่านตะแกรงไว้ เพื่อเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการย่อยสลาย และเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการทำโปรตีนไอโซเลตต่อไป

2. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณกรดอะมิโน และตรวจวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในวัตถุดิบ

2.1 องค์ประกอบทางเคมี วิเคราะห์ค่าต่อไปนี้ (ทดลอง 2 ซ้ำ)

2.1.1 ปริมาณความชื้น (AOAC 1990)

2.1.2 ปริมาณโปรตีน (AOAC 1990)

2.1.3 ปริมาณไขมัน (AOAC 1990)

2.1.4 ปริมาณเส้นใย (AOAC 1990)

2.1.5 ปริมาณเถ้า (AOAC 1990)

2.1.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต คำนวณจากผลรวมขององค์ประกอบในข้อ 2.1.1-2.1.5 มาหักออกจาก 100

2.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในกากถั่วเหลือง และโปรตีนถั่วเขียว

ส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Amino acid analyzer(Beckman, High Performance Analyser System 6300) ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยย่อยสลายตัวอย่างด้วยกรดก่อนวิเคราะห์

2.3 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในกากถั่วเหลือง และโปรตีนถั่วเขียว

โดยส่งตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ที่กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ใช้วิธีตรวจวิเคราะห์ตาม AOAC 1990

3. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายกากถั่วด้วยเอนไซม์

ดัดแปลงจากวิธีของ Yokotsuka และคณะ(1975)และอาภัสรา สุขเจริญศักดิ์กุล (2535) โดยนำกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียวที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 25 mesh มาเติมน้ำในอัตราส่วนกากป่นต่อน้ำเท่ากับ 1:9 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปนึ่งด้วยไอน้ำที่ 100 °C ความดันบรรยากาศ เป็นเวลา 60 นาที ทำให้เย็นลง ปรับ pH ตามที่กำหนดไว้ นำตัวอย่างไปให้ความร้อนในอ่างน้ำ (water bath) จนมีอุณหภูมิตามที่ต้องการ เติมสารละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) ลงในตัวอย่าง แล้วเขย่าในเครื่องเขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (shaking water bath) ใช้ความเร็ว 125 รอบ/นาที ควบคุมอุณหภูมิและเวลาตามที่กำหนด จากนั้นยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยให้ความร้อนในอ่างน้ำ จนตัวอย่างมีอุณหภูมิ 85°C เป็นเวลานาน 2 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว ปั่นแยกกากและของเหลวใส นำของเหลวใสไปวิเคราะห์ ส่วนกากเหลือทิ้งไป สำหรับขั้นตอนในการย่อยสลายกากถั่ว ดังแสดงในรูปที่ 3.1

3.1 ศึกษาอุณหภูมิและ pH ที่ใช้ในการย่อยสลายกากถั่ว

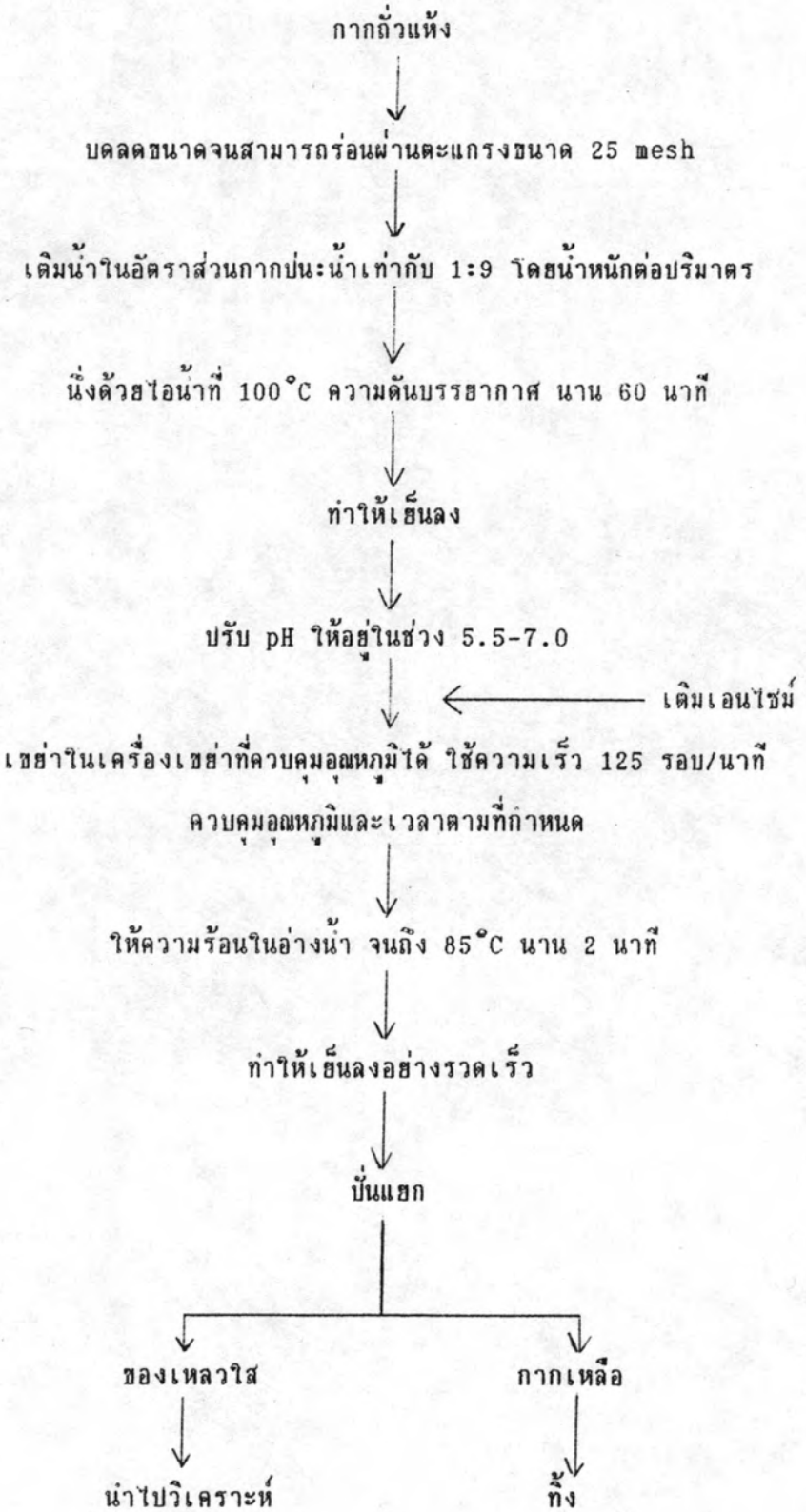
ทดลองหาอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมในการย่อยสลายกากถั่ว โดยละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) ในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:9 โดยปริมาตร จะได้สารละลายเอนไซม์ Neutrase® ใส่สารละลายเอนไซม์ปริมาณ 1%โดยปริมาตรลงในตัวอย่าง และใช้เวลาในการย่อยสลายนาน 30 นาที

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ คือ

- ชนิดของกากถั่ว ได้แก่ กากถั่วเหลือง และโปรตีนถั่วเขียว
- อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย ได้แก่ 45, 50, 55 และ 60 °C
- pH เริ่มต้นของของผสมระหว่างกากถั่วป่นกับน้ำ แปร pH เป็น 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0

วิเคราะห์หาปริมาณ amino acid nitrogen ดังแสดงในภาคผนวก ข (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, มอก.8-2513) เพื่อเลือกภาวะที่ดีที่สุดในการย่อยสลาย โดยจะเลือกภาวะที่ให้ค่า amino acid nitrogen สูงสุดไว้ใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial Design ขนาด2x4x4 ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปของ Michigan State University (MSTAT) (Nissen, 1982)



รูปที่ 3.1 แผนผังแสดงขั้นตอนการย่อยสลายกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียว

3.2 ศึกษาเวลาและปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายกากถั่ว

ทดลองหาปริมาณเอนไซม์และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายกากถั่ว โดยใช้ชนิดของกากถั่วและภาวะ (pH และอุณหภูมิ) ที่เหมาะสมที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.1

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ คือ

- เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย ได้แก่ 30, 60, 90 และ 120 นาที
- ปริมาณสารละลายเอนไซม์ Neutrase ® ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5% โดยปริมาตร (เตรียมสารละลายเอนไซม์ในอัตราส่วนเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) : น้ำกลั่น เท่ากับ 1:9)

วิเคราะห์หาปริมาณ amino acid nitrogen เช่นเดียวกับในข้อ 3.1 เพื่อเลือกภาวะที่ดีที่สุดในการย่อยสลาย โดยจะเลือกภาวะที่ให้ค่า amino acid nitrogen สูงสุด

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial Design ขนาด 4x5 ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissen, 1982)

4. <u>การเตรียมโปรตีนไอโซเลตจากกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียว</u>

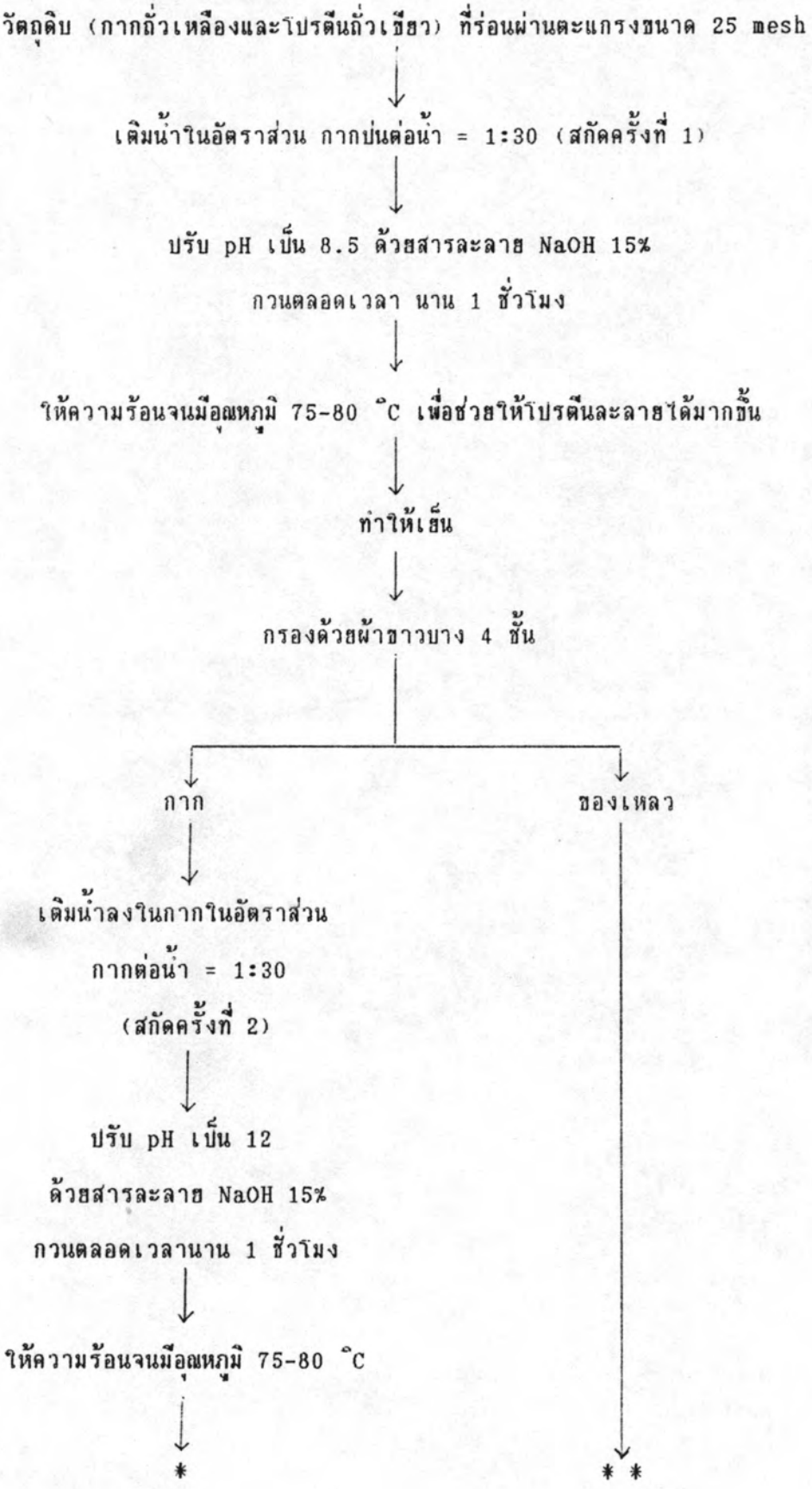
ดัดแปลงจากวิธีของ สมชาย จอมดวง (2528) โดยนำกากถั่วแต่ละชนิดที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 25 mesh มาเติมน้ำในอัตราส่วนกากป่นต่อน้ำเท่ากับ 1:30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วกวนให้เข้ากัน ปรับ pH เป็น 8.5 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 15% กวนตลอดเวลา นาน 1 ชั่วโมง นำไปให้ความร้อน โดยค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึงประมาณ 75-80 °C แล้วทำให้เย็น จากนั้นกรองตัวอย่างด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น แยกส่วนที่เป็นของเหลวเก็บไว้ ส่วนกากนำไปสกัดรอบที่ 2 โดยเติมน้ำลงในกากอีกครั้ง อัตราส่วนกากต่อน้ำเท่ากับ 1:30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปรับ pH เป็น 12 (เพื่อช่วยในการละลายของโปรตีน เนื่องจากโปรตีนจะละลายได้ดีที่ pH ด่าง) กวนตลอดเวลา นาน 1 ชั่วโมง ให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิประมาณ 75-80 °C เช่นเดียวกับในช่วงแรก ทำให้เย็นลง กรองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น ส่วนกากทิ้งไป ของเหลวที่ได้นำไปรวมกับของเหลวที่ได้จากการสกัดรอบแรก แล้วปรับ pH ให้ได้ประมาณ 4.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 20%จะมีการตกตะกอนเกิดขึ้น ตั้งทิ้งไว้

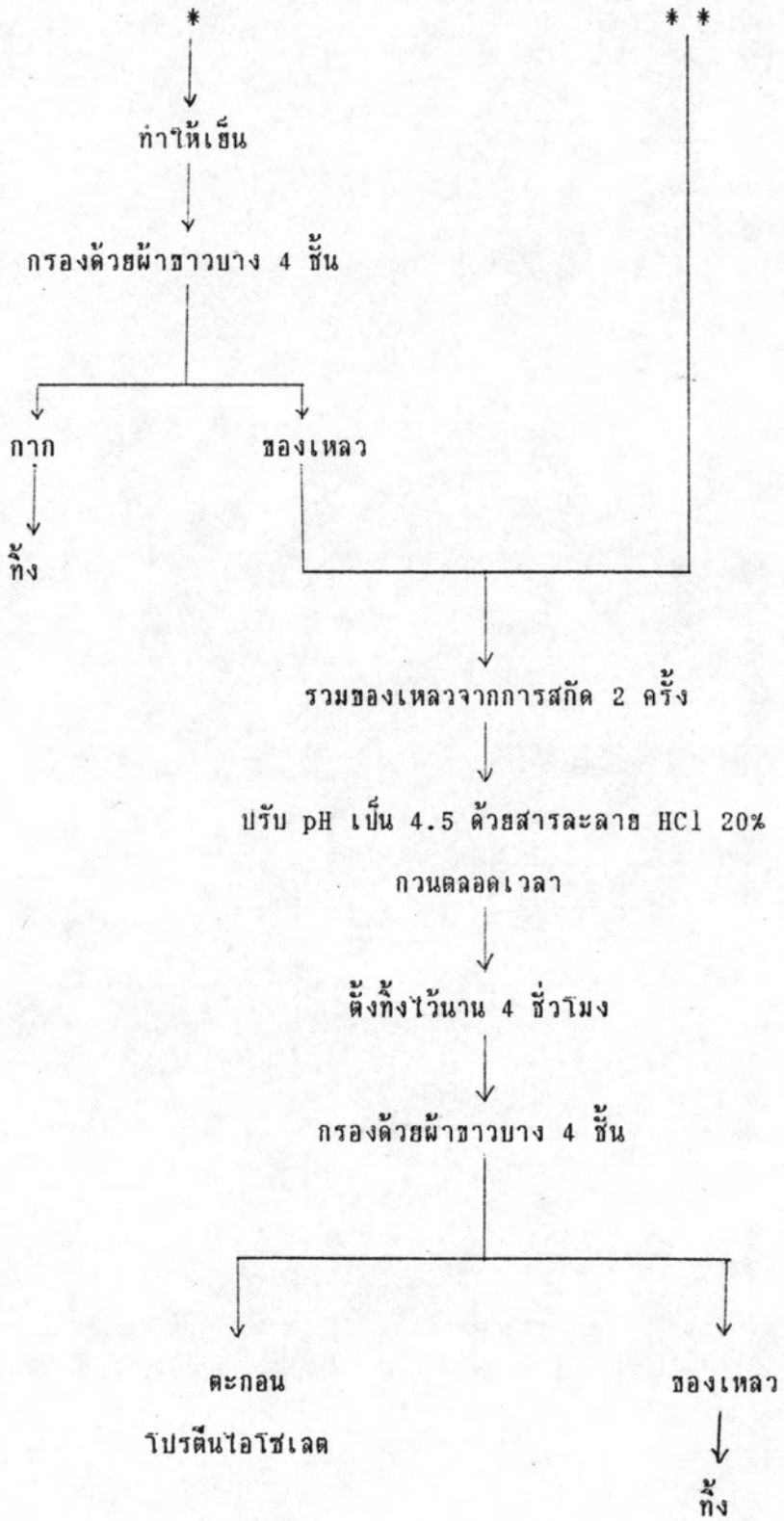
I43717104

นานประมาณ 4 ชั่วโมง กรองแยก เก็บส่วนที่เป็นตะกอนไว้เป็นโปรตีนไอโซเลตจากกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียวตามลำดับ เพื่อนำไปย่อยสลายด้วยเอนไซม์ต่อไป สำหรับส่วนที่เป็นของเหลวทิ้งไป

นำโปรตีนไอโซเลตที่ผลิตได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมด ตามวิธีในภาคผนวก ก

ขั้นตอนสรุปในการเตรียมโปรตีนไอโซเลตจากกากถั่วเหลือง และโปรตีนถั่วเขียว ดังแสดงในรูปที่ 3.2


วัตถุดิบ (กากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียว) ที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 25 mesh
เติมน้ำในอัตราส่วน กากบ่นต่อน้ำ = 1:30 (สกัดครั้งที่ 1)
ปรับ pH เป็น 8.5 ด้วยสารละลาย NaOH 15%
กวนตลอดเวลา นาน 1 ชั่วโมง
ให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิ 75-80 °C เพื่อช่วยให้โปรตีนละลายได้มากขึ้น
ทำให้เย็น
กรองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น
กาก
ของเหลว
เติมน้ำลงในกากในอัตราส่วน
กากต่อน้ำ = 1:30
(สกัดครั้งที่ 2)
ปรับ pH เป็น 12
ด้วยสารละลาย NaOH 15%
กวนตลอดเวลานาน 1 ชั่วโมง
ให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิ 75-80 °C
*
* *



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนในการเตรียมโปรตีนไอโซเลตจากกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียว

5. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนไอโซเลตด้วยเอนไซม์

นำโปรตีนไอโซเลตที่เตรียมได้จากข้อ 4 มาละลายในน้ำกลั่น โดยคำนวณให้มีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นในของผสมอยู่ประมาณ 4% (โดยน้ำหนักเปียก) ปรับ pH ตามที่กำหนด ให้ความร้อนในอ่างน้ำจนมีอุณหภูมิตามต้องการ เติมสารละลายเอนไซม์ Neutrase® ลงในตัวอย่าง เขย่าในเครื่องเขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ ใช้ความเร็ว 125 รอบ/นาที ควบคุมอุณหภูมิและเวลาตามที่กำหนด จากนั้นยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยให้ความร้อนในอ่างน้ำ จนตัวอย่างมีอุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลานาน 2 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์

5.1 ศึกษาอุณหภูมิและpH ที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนไอโซเลต

ทดลองหาอุณหภูมิและpH ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนไอโซเลตจากกากถั่ว โดยละลายเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g) ในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:9 โดยปริมาตร จะได้สารละลายเอนไซม์ Neutrase® ใส่สารละลายเอนไซม์ปริมาณ 1%โดยปริมาตรลงในตัวอย่าง และใช้เวลาในการย่อยสลายนาน 10 นาที

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ คือ

- ชนิดของโปรตีนไอโซเลต ได้แก่ โปรตีนไอโซเลตจากกากถั่วเหลืองและโปรตีนไอโซเลตจากโปรตีนถั่วเขียว
- อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย ได้แก่ 45, 50, 55 และ 60 °C
- pH เริ่มต้นของของผสมระหว่างโปรตีนไอโซเลตกับน้ำ แปร pH เป็น 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0

วิเคราะห์หาค่า Degree of hydrolysis (DH) ตามวิธีของ Scopes (1987) ซึ่งใช้ปฏิกิริยา Coomassie blue binding ในการวัดปริมาณโปรตีนและคำนวณค่า DH ดังแสดงในภาคผนวก ค เพื่อเลือกภาวะที่ดีที่สุดในการย่อยสลาย

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial Design ขนาด2x4x4 ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissen, 1982)

5.2 ศึกษาเวลาและปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนไอโซเลต

ทดลองหาปริมาณเอนไซม์ และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนไอโซเลต โดยใช้ชนิดของโปรตีนไอโซเลตและภาวะ(pH และอุณหภูมิ) ที่เหมาะสมที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 5.1

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ คือ

- เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย ได้แก่ 30, 60, 90, และ120 นาที
- ปริมาณสารละลายเอนไซม์ Neutrase® ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5% โดยปริมาตร (เตรียมสารละลายเอนไซม์ในอัตราส่วนเอนไซม์ Neutrase® (0.5 unit/g):น้ำกลั่น = 1:9)

วิเคราะห์หาค่า DH เช่นเดียวกับในข้อ 5.1 เพื่อเลือกภาวะที่ดีที่สุดในการย่อยสลาย

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial Design ขนาด 4x5 ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissen, 1982)

6. ศึกษาปริมาณของกรดและสารให้ความหวานสำหรับเครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซต

นำโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตตามสภาวะที่ดีที่สุดที่สรุปได้จาก ข้อ 3 และข้อ 5 ผสมกับกรดซิตริกและสารให้ความหวาน คือ น้ำตาลซูโครส เพื่อเพิ่มรสชาติ ทำให้เหมาะสมที่จะเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมดื่ม นำไปพาสเจอร์ไรซ์ โดยให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนจนเครื่องดื่มมีอุณหภูมิถึง 80 °C นาน 20 นาที (ทนง ภัครัชพันธุ์, 2524) จากนั้นบรรจุในขวดแก้วที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแล้ว ปิดฝา และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ คือ

- ปริมาณกรดซิตริก ได้แก่ 0.01 และ 0.05% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส ได้แก่ 4, 8 และ 12% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ทั้งนี้ จะทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม คือ ตัวอย่างที่ไม่ผสมกรดและน้ำตาล

ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้บริโภคทั่วไป และใช้วิธีทดสอบแบบ 9-point Hedonic scale test ให้ 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด และ 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบ 20 คน แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก จ

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Processing System (SPS) (Buhyoff และคณะ, 1983)

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดที่สรุปได้ มาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมด ตามวิธีในภาคผนวก ก วัด pH ของผลิตภัณฑ์ และส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์เปรียบเทียบกับในของผสมก่อนการย่อยระหว่างกากถั่วเหลืองกับน้ำ โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Amino acid analyzer (Beckman, High Performance Analyzer System 6300) ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยย่อยสลายตัวอย่างด้วยกรดก่อนวิเคราะห์

7. ปรับปรุงคุณภาพด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่ว

7.1 ศึกษาชนิดของกลิ่นที่ผู้บริโภคยอมรับ

โดยเลือกตัวอย่างที่เป็นที่ยอมรับมากที่สุด จากข้อ 6 มาเติมสารแต่งกลิ่นดังต่อไปนี้ คือ กลิ่นวานิลลา กาแฟ กล้วยหอม และไม่เติมกลิ่นใดๆ คัดเลือกโดยทดสอบลำดับความชอบด้านกลิ่น ใช้ผู้ทดสอบชนิดผู้บริโภคทั่วไป 20 คน ทดลอง 2 ซ้ำ ใช้วิธีทดสอบแบบ Ranking Test แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ง วิเคราะห์ผลโดยใช้ตาราง Selected Rank Totals for the Kramer Test (Karmas และ Harris, 1988)

7.2 เปรียบเทียบการยอมรับเครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ปรับปรุงคุณภาพด้านกลิ่นแล้วกับตัวอย่างที่ไม่ได้ปรับปรุง

นำตัวอย่างที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดจากข้อ 6 มาเติมกลิ่นที่คัดเลือกได้จากข้อ 7.1 แล้วเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมกลิ่น โดยทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสใช้ผู้บริโภคทั่วไป และใช้วิธีทดสอบแบบ 9-point Hedonic scale test ให้ 9 หมายถึงชอบมากที่สุด และ 1 ชอบน้อยที่สุด ใช้ผู้ทดสอบ 20 คน แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ง

วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPS (Buhyoff และคณะ, 1983)

8. ศึกษาอายุการเก็บของเครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่ว

เตรียมผลิตภัณฑ์ตามสูตรที่สรุปได้จากข้อ 6 เก็บที่อุณหภูมิ 5-8 °C และศึกษาอายุการเก็บเป็นเวลา 30 วัน สุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ โดยวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ AOAC(1990) และสังเกตลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ ทดลอง 2 ซ้ำ