

## บทที่ 3

## อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

## อุปกรณ์

## 1. วัตถุดิบ

- ข้าวโพดหวานพิเศษ พันธุ์สองสี (มูลนิธิโครงการหลวง) (Sweet Corn)
- นมผงขาดมันเนยที่ผ่านการทำให้แห้งโดยกระบวนการ Spray drying ตรามิชชั่น (Skimmed milk powder, Mission, New Zealand)
- เจลาติน (gelatin)
- น้ำตาลซูโครส (มิตรผล)
- Starter Culture (*Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*); (YC-380 Freeze-dried: CHR Hansen; Denmark)

## 2. อุปกรณ์

## 2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์

- เตาแก๊สที่ใช้ในครัวเรือน
- ตะเกียงบุนเสน
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ  $35 \pm 1$ ,  $39 \pm 1$ ,  $43 \pm 1$  องศาเซลเซียส (Incubator: Gallenkamp, England)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave: Gallenkamp, England)
- เตาอบนำเชื้อ (Hot air oven)
- บีกเกอร์สเตนเลสขนาด 2 ลิตร และ 1 ลิตร
- บีกเกอร์แก้ว (Pyrex, USA)
- ขวดแก้วฝาเกลียว (Schott Duran, Germany)
- ปิเปตแบบ Measuring pipettes (HBG, Germany)
- อะลูมิเนียมฟอยล์ (Diamond, USA)
- หม้ออะลูมิเนียม
- เบลนเดอร์

## 2.2 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสี Minolta camera, chroma meter CR-310 (Japan)
- เครื่องวัดความข้นหนืด Brookfield Rotary Viscometer (USA)

## 2.3 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- pH meter (Hanna Instrument, Italy)
- บิวเรต ขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร (HBG, Germany)
- ปิเปต ขนาด 1 , 5 และ 10 มิลลิลิตร (HBG, Germany)

## 2.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปิเปตแบบ Measuring pipettes ขนาด 1, 5 และ 10 ml
- จานเลี้ยงเชื้อ (Petri dishes)
- หม้อนิ่งความดัน (Gallenkamp, England)
- เตาอบลมร้อน (Hot air oven: Haereous, England)
- ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 100, 250 และ 500 ml
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ  $37\pm 1$  และ  $43\pm 1$  องศาเซลเซียส (Gallenkamp, UK)
- เครื่องนับจำนวนโคโลนี
- คู้เข็น (Sharp, Thailand)

## 3 สารเคมี

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, Germany)
- กรดซัลฟูริก (Merck, Germany)
- คอปเปอร์ซัลเฟต (Carlo erba, Italy)
- กรดเกลือ (Merck, Germany)
- เมทิลออเรนจ์ (Fluka, Switzerland)
- ฟีนอล์ฟธาเลิน (Merck, Germany)
- เมทิลีนบลู (Fluka, Switzerland)
- MRS Agar (Merck, Germany)
- Yeast extract glucose chloramphenical agar (Difco, USA)

- Yeast extract (Merck, Germany)
- Meat extract (Difco, USA)
- Tryptone (Merck, Germany)
- Casamino acids (Difco, USA)
- Phytone peptone (BBL, USA)
- Potassium dihydrogen phosphate (M&B, USA)

#### 4 เครื่องประมวลผลข้อมูล

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 10.0.1 (SPSS Inc., USA., 1999)
- โปรแกรมสำเร็จรูป Statistix version 7.0 (Microsoft Corp, USA., 2000)
- โปรแกรมสำเร็จรูป Statistica version 5.5 (Statsoft Inc., USA., 1995)
- โปรแกรมสำเร็จรูป P&B (Macro (Excel) Microsoft Corp, USA., 1997)
- โปรแกรมสำเร็จรูป LP88(POM) V. WG 3.20 (Howard J.Wess)
- โปรแกรม JMP v.3.2.6 (SAS Institue Inc, USA., 1999)
- โปรแกรม MathCad 2001 (Mathsoft Inc. USA., 1997)
- โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel (Microsoft Corp, USA., 1997)

## แผนการทดลอง

ตอนที่ 1. ศึกษาคุณภาพด้านต่างๆ ของโยเกิร์ตนมข้าวโพดจากสูตรพื้นฐาน และทำการ  
สำรวจเค้าโครงของผลิตภัณฑ์โดยใช้ผู้ทดสอบชิม

### สูตรพื้นฐานของโยเกิร์ตนมข้าวโพด

- |                              |            |
|------------------------------|------------|
| ▪ น้ํานมข้าวโพด              | 80.90% w/w |
| ▪ นมผงขาดมันเนย              | 9.00% w/w  |
| ▪ น้ำตาลซูโครส               | 5.00% w/w  |
| ▪ สารให้ความคงตัว            | 0.10% w/w  |
| ▪ หัวเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต | 5.00% w/w  |

- บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ที่มา : กาญจนา และวราวุฒิ (2542) : จิรากร (2544)

### การสำรวจเค้าโครงผลิตภัณฑ์ ( Product profile )

ให้ผู้ทดสอบชิมบอกถึงปริมาณของลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส โดยการใช้สเกลเส้นตรงแบบ Horizontal line scale แล้วให้ผู้ทดสอบชิมทำเครื่องหมายลงบนสเกล ว่าลักษณะนั้นมีมากหรือน้อยตามที่ผู้ทดสอบชิมรู้สึก โดยวิธี Ideal ratio profile (ไพโรจน์, 2539) ให้ผู้ทดสอบชิมทดสอบผลิตภัณฑ์อีกครั้งหนึ่งตามลักษณะที่อธิบายได้และเห็นพ้องกันเป็นส่วนมาก แล้วทำเครื่องหมายลงบนสเกลเพื่อทำ Fixed ideals และ Profile test ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ดังกล่าว แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ Ideal ratio scores เพื่อเป็นข้อมูลเค้าโครงของผลิตภัณฑ์ที่จะพัฒนาในการศึกษาขั้นตอนต่อไป นำตัวอย่างโยเกิร์ตนมข้าวโพดจากสูตรพื้นฐานมาทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

#### • คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities) :

- ค่าความหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscometer โดยมีหน่วยเป็น เซนติพอยส์ (Centipoise) (ภวัต, 2544)
- ค่าการวัดสี โดยใช้เครื่องวัดสี ในหน่วย Hunter (L a b) (Minolta camera, chroma meter CR-310, Japan)

- **คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities) :**

- ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid content) ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไตเตรทได้ (Total titratable acidity, as lactic acid) โดยวิธีไตเตรท ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง โดยใช้ พีเอชมิเตอร์ (pH-meter)
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส โดยวิธีของ Lane and Eynon (AOAC, 2000)
- ปริมาณน้ำตาลรีเวิร์ส (as invert sugar) โดยวิธีของ Lane and Eynon (AOAC, 2000)
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC (2000)

**ตอนที่ 2. พัฒนาสูตร และศึกษาอิทธิพลของส่วนผสมต่างๆ ต่อคุณภาพ และการยอมรับทางประสาทสัมผัส**

- การเตรียมเชื้อเริ่มต้นขั้นแรก (Stock cultures propagation) (ภาวศ, 2544)
- การทำ Mother cultures (ภาวศ, 2544)
- การทำ Intermediate starter (ภาวศ, 2544)

**2.1 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Starter culture propagation)**

เชื้อเริ่มต้นอยู่ในรูปของเชื้อเริ่มต้นแบบแห้งที่ถูกทำให้แห้งโดยวิธีการแช่เยือกแข็ง (Freeze dried) มีปริมาณเชื้อประมาณ  $1.0 \times 10^{10}$  cfu/g ซึ่งประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Thermophilic Lactic Culture, type yoghurt ประกอบด้วย *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. ในอัตราส่วน 1 : 1 (YC-380 Freeze dried; Chr.Hansen, Denmark)

**1. การเตรียมเชื้อเริ่มต้นขั้นแรก (Stock Culture)**

เตรียมลิตมัสมิลค์ (Litmus milk) ที่ประกอบด้วยนมผงขาดมันเนย 16% สารละลายลิตมัส (1% Litmus solution) 2% ยีสต์แอกซเตรกท์ 0.3% และแคลเซียมคาร์บอเนตให้พดกตะกอนคลุมก้นหลอดพอดี (0.2 กรัม) ตวงลงในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด  $15 \times 160$  มิลลิเมตรให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำมาทำให้เย็นลงที่ 37 องศาเซลเซียสโดยแช่หลอดในน้ำที่อุณหภูมิห้อง นำเชื้อมาเพาะ และบ่ม ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเข้าเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 2 สัปดาห์

## 2. การทำ Mother culture

เตรียมนมที่ใช้หมักโดยใช้นมผงขาดมันเนย 16% และยีสต์เอกซแทรกท์ 0.1% จำนวน 100 มิลลิลิตร ในขวดฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง เพาะเชื้อจาก Stock culture ปริมาณ 2.0% โดยปริมาตร นำเข้าบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 36 ชั่วโมง และเก็บรักษาในตู้เย็น อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 7 วัน

## 3. การทำ Intermediate starter

เตรียมนมที่ใช้หมัก โดยใช้นมผงขาดมันเนยร้อยละ 16 ในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 1 ลิตร ใบละ 400 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที นำมาลดอุณหภูมิลงเหลือ 37 องศาเซลเซียส โดยแช่ขวดลงในน้ำที่อุณหภูมิห้อง นำเชื้อจาก Mother culture มาเพาะปริมาณ 2.0% โดยปริมาตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง หรือจนมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 3.8-4.0 นำไปเก็บรักษาในตู้เย็นมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 2 วัน นำเชื้อเริ่มต้นจาก Intermediate starter นี้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทำผลิตภัณฑ์ในการทดลอง

## 2.2 กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตนมข้าวโพด

### ขั้นตอนที่ 1. การเตรียมวัตถุดิบ

ในขั้นตอนนี้จะทำการตรวจเช็ควัตถุดิบ (ข้าวโพดหวาน พันธุ์พิเศษสองสี) ได้แก่ ความแก่อ่อน ขนาด และความสม่ำเสมอของฝัก และเมล็ดข้าวโพด รวมถึงตำหนิต่างๆ โดยให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solid; TSS) อยู่ในช่วง 12 - 16°Brix หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักของวัตถุดิบเริ่มต้น นำเปลือก และเส้นไหมออกล้างทำความสะอาดชั่งน้ำหนักของฝักข้าวโพดที่ได้ จากนั้นใช้มีดฝานเอาแต่ส่วนของเนื้อข้าวโพดหวาน และทำการชั่งน้ำหนักของเนื้อข้าวโพดที่ได้ จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักเนื้อข้าวโพดที่ได้ หักน้ำหนักส่วนของเปลือก ไหม และชั่งข้าวโพดออก จากนั้นทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์ของผลผลิต (%yield) ที่ได้โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 30 - 45% ขึ้นอยู่กับขนาด และเกรดของวัตถุดิบ เป็นหลัก ทำการชั่งตวงน้ำสะอาดในปริมาณสองเท่าของน้ำหนักของเนื้อข้าวโพดหวานที่ได้ ทำการปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผลไม้ (blender) ด้วยความเร็วรอบสูงสุด เป็นเวลา นาน 1 นาที แล้วกรองผ่านผ้าขาวบางแยกเอาส่วนของน้ำและกากที่ได้ออกจากกันแล้วชั่งน้ำหนักของน้ำนมข้าวโพดที่ได้เพื่อใช้ในการคำนวณส่วนผสมต่อไป

## ขั้นตอนที่ 2. การเตรียมส่วนผสม

ทำการชั่งส่วนผสมที่ได้จากแผนการทดลองโดยที่คิดให้น้ำหนักของน้ำมันข้าวโพดเป็นตัวปรับปริมาตรของส่วนผสมทั้งหมด (100%) หาปริมาณส่วนผสมอื่นๆ คือ นมผงขาดมันเนย น้ำตาลชูโครส และสารให้ความคงตัว ส่วนปริมาณหัวเชื้อโยเกิร์ตไว้ใช้เติมในขั้นตอนสุดท้าย ตามระดับสูงต่ำที่ได้ในแต่ละหน่วยการทดลองนำส่วนผสม คือ นมผงขาดมันเนย และน้ำตาลชูโครสผสมให้เข้ากันเพื่อช่วยให้ความสามารถในการละลายดีขึ้น เมื่อนำไปผสมให้เข้ากับน้ำมันข้าวโพดที่ได้ทำการเตรียมไว้ ส่วนสารให้ความคงตัวที่ได้ให้นำไปละลายกับน้ำร้อนในปริมาณเล็กน้อยเพื่อช่วยให้ละลายได้ดีขึ้น แล้วจึงนำมาผสมให้เข้ากับส่วนผสมอื่นในภายหลัง

## ขั้นตอนที่ 3. การฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

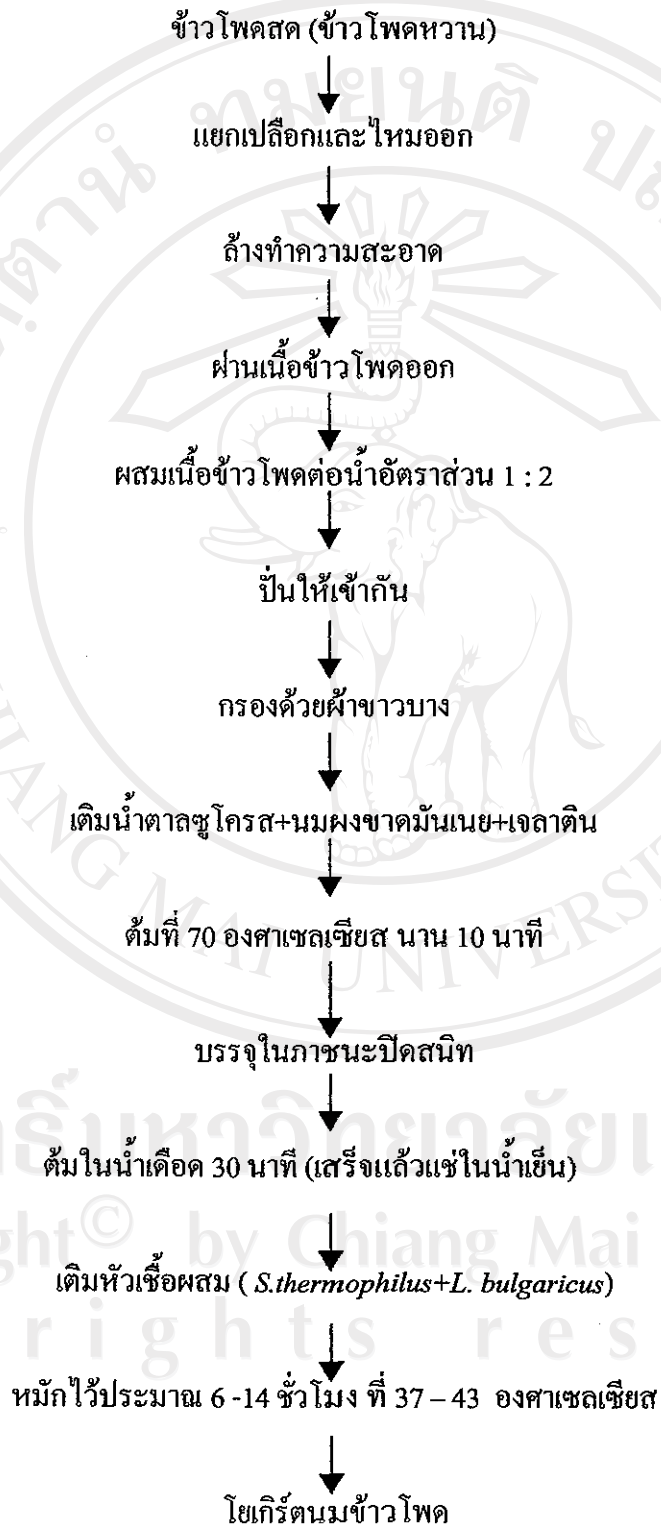
หลังจากชั่งตวงส่วนผสมที่ได้แล้วให้ทำการผสมส่วนผสมทั้งหมดคือน้ำมันข้าวโพด นมผงขาดมันเนย น้ำตาลชูโครส และเจลาติน ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่นผสม นำไปต้ม ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และทำการกรองส่วนผสมที่ได้ด้วยผ้าขาวบางอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นทำการบรรจุส่วนผสมที่ได้ในขวด Duran ขนาด 500 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปิดฝาให้สนิท และนำไปต้มในน้ำเดือด จนกระทั่งอุณหภูมิของส่วนผสมอยู่ที่ 85 องศาเซลเซียส ทำการคงระดับความร้อนให้อยู่ที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เมื่อครบเวลาดังกล่าวให้นำภาชนะดังกล่าวแช่ลงในอ่างน้ำเย็นที่แช่น้ำแข็งไว้โดยทันที เพื่อลดอุณหภูมิให้ลดลงเหลือ ประมาณ 37 องศาเซลเซียส ให้เร็วที่สุด

## ขั้นตอนที่ 4. การถ่ายหัวเชื้อเริ่มต้น

เมื่อทำการฆ่าเชื้อส่วนผสมดังกล่าว และลดอุณหภูมิลงจนถึงระดับที่เหมาะสมในการเจริญของหัวเชื้อเริ่มต้นแล้ว ให้ทำการถ่ายหัวเชื้อเริ่มต้นที่ได้จากการเตรียม Intermediate culture ไว้แล้วลงไป จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อตามอุณหภูมิ และเวลาของแต่ละหน่วยทดลอง เมื่อครบเวลาที่ใช้ในกระบวนการหมักแล้วให้ทำการลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วโดยแช่ในน้ำเย็นจัด เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อเริ่มต้น แล้วนำเข้าเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางด้านต่างๆ รวมถึงการประเมินทางประสาทสัมผัส ภายใน 2 วัน หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมัก เพื่อลดความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการทดลอง และการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านต่างๆ

- แผนผังแสดงกรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตนมข้าวโพด

### กรรมวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมข้าวโพด





### 2.3 การคัดเลือกปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลิตภัณฑ์

เนื่องจากมีหลายปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลิตภัณฑ์ จึงต้องมีการคัดเลือกปัจจัยเบื้องต้นเพื่อศึกษาว่า ปัจจัยใดเป็นปัจจัยที่มีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์มากหรือเป็นปัจจัยหลัก (Main effect) โดยใช้การทดลองแบบ Plackett and Burman Design (ไพโรจน์, 2539) การทดลองแบบนี้จะจัดระดับปัจจัยต่างๆ แต่ละปัจจัยออกเป็นสองระดับคือ ระดับสูง (High level) และระดับต่ำ (Low level) แล้วดำเนินการทดลองตามแผน วิธีการทดลองแบบนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการกลั่นกรองปัจจัยที่มีจำนวนมากให้น้อยลงได้ระดับหนึ่ง ซึ่งจะทำให้การทดลองขั้นต่อไปง่ายขึ้น เมื่อทราบถึงปัจจัยหลักที่มีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์แล้ว นำข้อมูลที่ได้ไปศึกษาในขั้นต่อไป ปัจจัยที่จะนำมากลั่นกรองมีจำนวน 6 ปัจจัย จึงใช้แผนการทดลองแบบ 12 หน่วยการทดลอง

ตาราง 3.1 จำนวนปัจจัย และระดับการใช้ปัจจัยต่างๆ ในการทดลอง Plackett and Burman

ปัจจัยต่างๆ (แทนด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่)	ระดับต่ำ (-)	ระดับสูง (+)
A ปริมาณนมผงจากมันเนย (%w/w)	5	9
B ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น (%w/w)	3	5
C ปริมาณน้ำตาลซูโครส (%w/w)	5	9
D ปริมาณสารเจลาติน (%w/w)	0.1	0.3
E ระดับอุณหภูมิในการหมัก (องศาเซลเซียส)	37	43
F ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	6	14
G - K กำหนดเป็น Dummy variable		

หมายเหตุ : เตรียมผลิตภัณฑ์หน่วยทดลองละ 1 กิโลกรัม

ตาราง 3.2 แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman Design; N = 12

หน่วยทดลอง	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
2	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+
3	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
4	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
5	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+
6	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+
7	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+
8	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
9	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
10	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
11	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + แทนการใช้ปัจจัยในระดับสูง, - แทนการใช้ปัจจัยในระดับต่ำ

ทำการบันทึกข้อมูลที่ได้ทั้งหมดและนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อคัดเลือกปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

#### 2.4 การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์

2.4.1 คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities) : ทำการวิเคราะห์ดังตอนที่ 1

2.4.2 คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities) : ทำการวิเคราะห์ดังตอนที่ 1

2.4.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluations qualities) :

ทดสอบโดยใช้แบบทดสอบ Ideal ratio profile technique (ไพโรจน์, 2539) ใช้ผู้ทดสอบชิม 10 คน ทำการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส (Attributes) ต่างๆ ของผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ สี ความเรียบเนียน การแยกตัวของน้ำเวย์ (whey off) ความลื่นคอ ความข้นหนืด กลิ่นนมผง กลิ่นข้าวโพด กลิ่นกรด รสเปรี้ยว รสหวาน และการยอมรับโดยรวม

### ตอนที่ 3. ศึกษาระดับการใช้ส่วนผสมที่เป็นปัจจัยหลักในการผลิต

จากผลการทดลองในตอนที่ 2 ทำให้สามารถถ่วงน้ำหนักปัจจัยหลัก (main factors) ที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้ทั้งหมด 4 ปัจจัย คือ นมผงขาดมันเนย (A) หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (B) น้ำตาลซูโครส (C) และระยะเวลาในการหมัก (E) นำปัจจัยดังกล่าวมาศึกษาในรายละเอียด เพื่อหาปริมาณการใช้ที่เหมาะสม โดยวางแผนการทดลองแบบ  $2^2$  Factorial experiment with center points ทำการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสภาวะการหมัก ได้แก่ ปริมาณหัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (% w/w) กับ ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง) ทำการวางแผนการทดลองแบบ  $2^2$  Factorial design with 2 centerpoints เมื่อทราบระดับการใช้ของปัจจัยทั้งสองแล้ว ก็จึงทำการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับส่วนผสมของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมข้าวโพดต่อไป คือ ทำการศึกษาปัจจัย ปริมาณนมผงขาดมันเนย (A) และปริมาณน้ำตาลซูโครส (C) โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ  $2^2$  Factorial design with 2 centerpoints ดังแสดงในแผนการทดลอง 3.1 และการทดลอง 3.2 ตามลำดับ

#### • การทดลองที่ 3.1 ศึกษาการใช้ของหัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และระยะเวลาในการหมัก

##### ทำการกำหนดสูตร

- นมผงขาดมันเนย (A)	9.00% w/w
- น้ำตาลซูโครส (C)	9.00% w/w
- เจลาติน (D)	0.10% w/w
- อุณหภูมิในการหมัก (F)	37 องศาเซลเซียส

ส่วนปัจจัยที่เหลือ คือ หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (B) และระยะเวลาในการหมัก (E) ทำการกำหนดช่วงของการศึกษาของระดับปัจจัยทั้งสอง ได้ดังนี้

- หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่ม (B)	= 3 – 5% (3, 4, 5)
- ระยะเวลาในการหมัก (E)	= 6 – 14 ชั่วโมง (6, 10, 14)

- ตัวเลขในวงเล็บแสดงถึงระดับการใช้ของปัจจัย คือ ระดับต่ำ ระดับกลาง และระดับสูง ตามลำดับ

ตาราง 3.3 ระดับการใช้นมผงขาดมันเนย หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น น้ำตาลซูโครส และระยะเวลาในการหมักในการผลิตผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมข้าวโพด

ปัจจัยที่ศึกษา	-1	0	+1
นมผงขาดมันเนย (% w/w)	5.00	7.00	9.00
หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (% w/w)	3.00	4.00	5.00
น้ำตาลซูโครส (% w/w)	5.00	7.00	9.00
ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	6.00	10.00	14.00

ตาราง 3.4 สูตร และส่วนผสมของการศึกษาระดับการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และระยะเวลาในการหมักโยเกิร์ตนมข้าวโพด

ส่วนผสม	ระดับต่ำ	ระดับกลาง	ระดับสูง
หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (% w/w)	3	4	5
ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	6	10	14

ปัจจัยที่มีระดับการใช้ที่คงที่

- นมผงขาดมันเนย (% w/w) 9.00
- น้ำตาลซูโครส (% w/w) 9.00
- เจลาติน (% w/w) 0.10
- อุณหภูมิในการหมัก 37 องศาเซลเซียส

ตาราง 3.5 แผนการทดลองแบบ  $2^2$  factorial design with 2 centerpoints ของการศึกษาระดับการ  
ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นและระยะเวลาในการหมัก โยเกิร์ตนมข้าวโพด

สิ่งทดลอง	รหัส	ระดับของปัจจัยที่ศึกษา	
		หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น	ระยะเวลาในการหมัก
1	(I)	-1	-1
2	a	+1	-1
3	b	-1	+1
4	ab	+1	+1
5	cp <sub>1</sub>	0	0
6	cp <sub>2</sub>	0	0

หมายเหตุ : (I) = ระดับต่ำ                      a = หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น  
b = ระยะเวลาในการหมัก                cp = จุดกึ่งกลาง

- การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์

3.1.1 คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities):

3.1.2 คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities):

3.1.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluations qualities):

- ดังแสดงรายละเอียดการวิเคราะห์ในการทดลองตอนที่ 2

● การทดลองที่ 3.2 ศึกษาการใช้ของนมผงขาดมันเนย และน้ำตาลซูโครส

จากผลการทดลองในตอนที่ 3.1 ทำให้ทราบระดับการใช้ของปัจจัย หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และระยะเวลาในการหมักโยเกิร์ตนมข้าวโพด คือ 3.00% และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังนั้นในการทดลองนี้ เราจะทำการกำหนดปัจจัย หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (B), เจลาติน (D), ระยะเวลาในการหมัก (E) และอุณหภูมิในการหมัก (F) เป็นปัจจัยคงที่ โดยทำการกำหนดระดับของปัจจัย D และ F ในระดับต่ำ ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2 (Plackett and Burmann; N = 12)

โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ  $2^2$  factorial design with 2 centerpoints และกำหนดให้ นมผงขาดมันเนย และน้ำตาลซูโครส เป็นปัจจัยที่ต้องการศึกษา ซึ่งสามารถกำหนดสูตร และกระบวนการทดลองได้ดังนี้

ทำการกำหนดสูตร

- หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (B)	3.00% w/w	
- เจลาติน (D)	0.10% w/w	
- ระยะเวลาในการหมัก (E)	10	ชั่วโมง
- อุณหภูมิในการหมัก (F)	37	องศาเซลเซียส

ส่วนปัจจัยที่เหลือ คือ นมผงขาดมันเนย (A) และ น้ำตาลซูโครส (C) ทำการกำหนดช่วงของการศึกษาของระดับปัจจัยทั้งสอง ได้ดังนี้

- นมผงขาดมันเนย (A) = 5 – 9% (5, 7, 9)
- น้ำตาลซูโครส (C) = 5 – 9% (5, 7, 9)

- ตัวเลขในวงเล็บแสดงถึงระดับการใช้ของปัจจัย คือ ระดับต่ำ ระดับกลาง และระดับสูง

ตามลำดับ

ตาราง 3.6 สูตร และส่วนผสมของการศึกษาระดับของนมผงขาดมันเนย และน้ำตาลซูโครส

ส่วนผสม	ระดับต่ำ	ระดับกลาง	ระดับสูง
นมผงขาดมันเนย (% w/w)	5.00	7.00	9.00
น้ำตาลซูโครส (% w/w)	5.00	7.00	9.00
<b>ปัจจัยที่มีระดับการใช้ที่คงที่</b>			
- หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (% w/w)	3.00		
- เจลาติน (% w/w)	0.10		
- ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	10		
- อุณหภูมิในการหมัก (°C)	37		

ตาราง 3.7 แผนการทดลองแบบ  $2^2$  factorial design with 2 centerpoints ของการศึกษาระดับการใช้ นมผงขาดมันเนย และน้ำตาลซูโครส

หน่วยทดลอง	รหัส	ระดับของปัจจัยที่ศึกษา	
		นมผงขาดมันเนย	น้ำตาลซูโครส
1	(1)	-1	-1
2	a	+1	-1
3	b	-1	+1
4	ab	+1	+1
5	cp <sub>1</sub>	0	0
6	cp <sub>2</sub>	0	0

หมายเหตุ : (1) = ระดับต่ำ  
 a = นมผงขาดมันเนย  
 b = น้ำตาลซูโครส  
 cp = จุดกึ่งกลาง

- การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์
  - 3.2.1 คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities):
  - 3.2.2 คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities):
  - 3.2.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluations qualities):
    - แสดงรายละเอียดการวิเคราะห์ในการทดลองตอนที่ 2

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์รีเกรสชัน (regression analysis) ชนิดรีเกรสชันเส้นตรงแบบหลายตัวแปร (multiple linear regression) โดยทำการกำหนดรหัส (coding) ปัจจัยต่างๆ ดังนี้ -1, 0 และ +1 ตามลำดับเพื่อหาข้อสรุปจากการทดลองถึงอิทธิพลของ นมผงขาดมันเนย น้ำตาลซูโครส และระยะเวลาในการหมัก ที่มีต่อคุณภาพ และการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว รวมทั้งคำนวณหาระดับของปัจจัยที่เหมาะสมในแต่ละปัจจัย โดยพิจารณาจากสมการถดถอยที่มีค่า  $R^2$  สูงๆ (เข้าใกล้ 1) ค่า  $R^2$  นี้เป็นค่าที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่กำลังศึกษา ถ้าค่า  $R^2$  สูง หมายถึงความสัมพันธ์ของแต่ละตัวแปรในสมการถดถอยนั้นๆ มีความเหมาะสม (fit) กับผลที่ได้ค่อนข้างสูง สมการที่ได้จะมีความแม่นยำในการคาดคะเนหรือทำนายผลการทดลองได้ค่อนข้างสูงเช่นกัน ในทางกลับกันถ้าค่า  $R^2$  ต่ำ ก็จะทำให้ความแม่นยำในการทำนายผลการทดลองนั้นลดลงด้วย จากนั้นนำสมการถดถอยแต่ละสมการที่ได้ซึ่งอยู่ในลักษณะสมการที่เข้ารหัสไว้ (coded regression equation) มาทำการถอดรหัส (decoding) เพื่อให้ได้ผลที่เป็นค่าจริง

หลักการถอดรหัสของสมการเป็น coded equation ดังกล่าวสามารถทำได้โดยการนำเอาสมการ coded equation ที่มีตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัสมาแก้สมการ โดยมีสูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ตัวแปรเข้ารหัส} = \frac{\text{ค่าจริง} - (\text{ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น} + \text{ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น})/2}{(\text{ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น} - \text{ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น})/2}$$

จากนั้นนำเอาตัวแปรเข้ารหัสไปแทนในสมการ coded equation และแก้สมการให้เป็นสมการที่ถอดรหัสแล้ว (decode equation) แล้วจึงนำสมการที่ถอดรหัสแล้วไปคาดคะเนผลที่จะเกิดขึ้นได้ แต่การคาดคะเนนั้นจะต้องไม่ทำให้ช่วงที่เกินจากช่วงของระดับปัจจัยที่ได้กำหนดไว้แล้วในการทดลอง (อิสรพงษ์, 2544)



ตอนที่ 4. ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมข้าวโพดตามสูตร และกระบวนการผลิตที่เหมาะสม

ผลิตโยเกิร์ตจากนมข้าวโพดตามสูตร และกระบวนการผลิตที่เหมาะสมดังที่ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์เบื้องต้นไว้แล้ว ในการทดลองตอนที่ 1 - ตอนที่ 3 สามารถสรุปสูตรการผลิตที่เหมาะสมสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมข้าวโพด เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด จากนั้นศึกษา และวิเคราะห์คุณภาพในด้านต่างๆ (กายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และทางด้านประสาทสัมผัส) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมข้าวโพดต่อไป

ตาราง 3.8 สูตรการผลิตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมข้าวโพด

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (%)
น้ำนมข้าวโพด (Corn milk)	82.40
นมผงขาดมันเนย (Skimmed milk)	7.50
น้ำตาลซูโครส (Sucrose)	7.00
เจลาติน (Gelatin)	0.10
หัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น (Starter culture)	3.00

- ๓ อุณหภูมิในการหมักที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง

● การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์

4.1 คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities):

4.2 คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities):

4.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluations qualities):

● ดังแสดงรายละเอียดการวิเคราะห์ในการทดลองตอนที่ 2

4.4 คุณภาพทางจุลชีววิทยา (Microbiological qualities) :

นับจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมด โดยวิธีเพลทเค้นท์แบบ Spread plate, ยีสต์ และรา (Yeast and Mold) และตรวจนับจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียโดยวิธี Most probable number (AOAC, 2000)

ตอนที่ 5. ศึกษาการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมข้าวโพดที่ทำการพัฒนาขึ้น ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมสมุนไพร พร้อมทั้งศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์

- ศึกษาการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ทำการพัฒนาขึ้น ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมข้าวโพดผสมสมุนไพร โดยทำการศึกษาสูตร และกระบวนการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมข้าวโพดผสมสมุนไพรที่เหมาะสม และทำการศึกษาวิธีการเตรียมนํ้าสมุนไพรโดยใช้สมุนไพร อาทิ คาโมมาย ทายม์ และมินต์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Mixture Design เพื่อหาสูตรนํ้าสมุนไพรที่เหมาะสม หลังจากนั้นนำนํ้าสมุนไพรที่ได้ผ่านการยอมรับจากผู้บริโภคแล้วไปผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันกับ โยเกิร์ตนมข้าวโพด โดยทำการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของส่วนผสม จนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมข้าวโพดผสมสมุนไพร ที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นำตัวอย่างโยเกิร์ตที่ได้มาทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

### 5.1 การศึกษารวมวิธีการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม

นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม (Drinking yoghurt or yoghurt drink) เป็นผลิตภัณฑ์ที่นำเอาโยเกิร์ตที่หมักในถังหมักมาเจือจางด้วยน้ำเชื่อม และ/หรือ น้ำผลไม้ แล้วปรุงแต่งโดยเติมสารเจือปนอาหาร เช่น สี กลิ่นผลไม้ และสารเสริมความคงตัว เป็นต้น มีลักษณะเหลว ดื่มได้

ในรายงานการวิจัยของ กาญจนา และวารวุฒิ (2542) ซึ่งได้ศึกษาการปรับปรุงวิธีการผลิตโยเกิร์ตจากนมถั่วเหลือง และศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการปรับสภาพของนมถั่วเหลืองก่อนการหมักโดยใช้หางนมผง และน้ำตาลซูโครส และศึกษาคุณสมบัติของโยเกิร์ตที่ได้ โดยนำมาผลิตเป็นนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม และได้พบว่าอัตราส่วนของตะกอนโปรตีนต่อนํ้าเชื่อม (24 องศาบริกซ์) เท่ากับ 1 : 1 ให้ลักษณะของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ดีที่สุด

รายงานวิจัยนี้ได้ทดลองใช้ข้อกำหนดขั้นต้นก่อนทำการทดลอง โดยเก็บตัวอย่างโดยวิธีการสุ่มผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มรส ยี่ห้อต่างๆ ที่มีวางขายในท้องตลาด ตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้านเคมี และด้านกายภาพ พบว่า ค่าเฉลี่ย จากผลิตภัณฑ์ 14 ตัวอย่าง 6 ยี่ห้อ สรุปได้ดังนี้ คือ ค่าความหนืด  $8.52 \pm 1.15$  centipoise ค่าปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไตเตรทได้  $1.15 \pm 0.56\%$  (as lactic acid) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง  $4.23 \pm 0.48$  ปริมาณของแข็งที่ละลายได้  $17.52 \pm 1.15$  องศาบริกซ์ ( $^{\circ}$ Brix)

ในการศึกษาทดลองผลิตนมเปรี้ยวตามสูตรการผลิต และข้อมูลพื้นฐาน พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ ไม่ค่อยเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากนัก และค่าวิเคราะห์ต่างๆ มีทั้งต่ำและเกินจากค่ามาตรฐานทั่วไปในท้องตลาด โดยเฉพาะ ค่าความหนืด และความหวาน ซึ่งเกิดจากอัตราส่วนระหว่างตะกอน

โปรตีนกับน้ำสมุนไพรที่ใช้ในการผสมกับโยเกิร์ตนมข้าวโพด มีอัตราส่วน และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ไม่เหมาะสม ดังนั้นจึงศึกษาหาอัตราส่วนผสม ระหว่างตะกอนโปรตีนกับน้ำเชื่อม การศึกษาเบื้องต้น พบว่าที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำเชื่อม (หมายถึงน้ำตาลซูโครส)  $24^{\circ}\text{Brix}$  (องศาบริกซ์) และอัตราการผสมระหว่างตะกอนโปรตีน (โยเกิร์ตนมข้าวโพด) ต่อ น้ำเชื่อม เท่ากับ 1 : 1 ทำให้ได้ค่าคุณภาพทางด้านกายภาพ และทางเคมี เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม โดยทั่วๆ ไป จึงศึกษากรรมวิธีการเตรียมน้ำสมุนไพรผสม (มินต์ คาโมมาย และทาร์ซ) ต่อไป

## 5.2 การศึกษากรรมวิธีการเตรียมน้ำสมุนไพรผสมเข้มข้น (24 องศาบริกซ์)

### 5.2.1 การศึกษาวิธีการสกัดน้ำสมุนไพร

ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาการประยุกต์ใช้โยเกิร์ตนมข้าวโพดในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมข้าวโพดผสมสมุนไพร โดยเลือกใช้สมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ มินต์ คาโมมาย และทาร์ซ โดยเตรียมน้ำสมุนไพรโดยการสกัดด้วยน้ำ ซึ่งสมุนไพรอยู่ในรูปของสมุนไพรอบแห้ง ดังนั้นจึงต้องกำหนดสัดส่วนที่ใช้ในการสกัดน้ำสมุนไพรก่อน เนื่องจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดนี้ เป็นสมุนไพรที่ให้กลิ่นที่มีความเฉพาะตัว และมีกลิ่นที่ชัดเจนมากพอ จึงควรใช้ในปริมาณไม่มากนัก จึงเตรียมเป็นน้ำสมุนไพรเข้มข้น เพื่อใช้เป็นหัวเชื่อมน้ำสมุนไพร ก่อนที่จะนำไปผสมกับน้ำตาลให้อยู่ในรูปของน้ำสมุนไพรในน้ำเชื่อมเข้มข้น 24 องศาบริกซ์

อัตราส่วนในการสกัดน้ำสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด จะใช้อัตราส่วนเดียวกันหมดคือ อัตราส่วนของสมุนไพรแห้งต่อน้ำเปล่า เท่ากับ 1 : 20 ส่วน สกัดที่อุณหภูมิ 80 – 90 องศาเซลเซียส เพื่อรักษากลิ่น และรสของสมุนไพรไว้ให้คงที่ นาน 30 นาที บรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิท ทำให้เย็น ก่อนที่จะใช้เป็นหัวเชื่อมผสมเป็นน้ำสมุนไพรผสม ต่อไป (Anna, 2543; อุษณีย์ และคณะ, 2544 )

### 5.2.2 การศึกษาอัตราส่วนผสมน้ำสมุนไพรเข้มข้นต่อน้ำเชื่อม (24 องศาบริกซ์)

ทำการศึกษาหาอัตราส่วนการผสมของหัวเชื่อมน้ำสมุนไพรเข้มข้น ต่อปริมาณน้ำเชื่อม (24 องศาบริกซ์) พบว่า สำหรับ มินต์ และคาโมมาย นั้นจะใช้อัตราส่วนผสมระหว่างหัวเชื่อมน้ำสมุนไพร ต่อ น้ำเชื่อม เท่ากับ 30 : 70 ส่วน และทาร์ซ จะใช้อัตราส่วน เป็น 20 : 80 ส่วน เนื่องจากทาร์ซให้กลิ่นรสที่แรง และฉุนไม่ค่อยเป็นที่ยอมรับจากผู้ทดสอบชิมมากนัก จึงลดอัตราส่วนผสมลง เมื่อผสมน้ำสมุนไพรทั้งสามชนิด ตามอัตราส่วนที่กำหนดนี้ แล้วจึงปรับน้ำสมุนไพรแต่ละชนิดให้มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้เป็น 24 องศาบริกซ์ (กาญจนา และวราวุฒิ, 2542)

### 5.3 การศึกษาระดับ และอัตราส่วนผสมของน้ำสมุนไพรผสมทั้งสามชนิด

กำหนดระดับของการใช้ของน้ำสมุนไพรทั้งสามชนิดเพื่อนำไปสู่การกำหนดสูตร และวางแผนการทดลองเนื่องจากข้อจำกัดคือ ในน้ำสมุนไพรผสมนี้ จะต้องประกอบด้วยสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด คือ มินต์ คาโมมาย และทาร์ม์ ดังนั้นสัดส่วนการรวมตัวของระบบน้ำสมุนไพรนี้ จะต้องรวมกันแล้วเท่ากับ 100% โดยกำหนดระดับการใช้น้ำสมุนไพรแต่ละชนิด ในระดับสูงสุด และต่ำสุด ที่สามารถใช้ได้ และเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิม

เมื่อกำหนดระดับการใช้ (ระดับสูงสุด - ต่ำสุด) ของสมุนไพรทั้งสามชนิด ดังตาราง 3.10 ในการเตรียมเป็นน้ำสมุนไพรผสมที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 24 องศาบริกซ์ นำข้อมูลระดับการใช้ส่วนผสมดังกล่าว ทำการวางแผนการทดลองแบบ Mixture Design (ไพโรจน์, 2539) โดยกำหนดสูตรน้ำสมุนไพรผสมระหว่าง มินต์ คาโมมาย และทาร์ม์

ใช้โปรแกรม JMP เป็นตัวกำหนดหาสูตรต่างๆ ที่เป็นไปตามเงื่อนไขของส่วนผสมดังกล่าว ตามข้อมูลระดับการใช้สมุนไพรที่เป็นไปได้ ตามที่กำหนดระดับสูงสุด และต่ำสุด ของสมุนไพรทั้งสามชนิดที่ใช้เป็นส่วนผสมของน้ำสมุนไพรผสม ได้สิ่งทดลองทั้งหมด 8 สิ่งทดลอง ดังแสดงในตาราง 3.10

ตาราง 3.9 การกำหนดระดับการใช้สมุนไพรในสูตรน้ำสมุนไพรผสม

ปัจจัยที่ศึกษา	ระดับต่ำสุด	ระดับสูงสุด
USA. Mint	35%	60%
Chamomile	25%	40%
Thyme	15%	25%

ตาราง 3.10 แผนการทดลองแบบ Mixture Design

สิ่งทดลองที่	Mint ( $X_1$ % w/w)	Chamomile ( $X_2$ % w/w)	Thyme ( $X_3$ % w/w)
1	35.00	40.00	25.00
2	45.00	40.00	15.00
3	50.00	25.00	25.00
4	60.00	25.00	15.00
5	55.00	25.00	20.00
6	40.00	40.00	20.00
7	52.50	32.50	15.00
8	42.50	32.50	25.00

เมื่อทำการผสมสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ตามอัตราส่วนของแต่ละสิ่งทดลองทั้ง 8 สิ่งทดลองแล้ว นำน้ำสมุนไพรในแต่ละสิ่งทดลองที่ได้ไปผสมกับ โยเกิร์ตนมข้าวโพดที่ได้การทดลองตอนที่ 4 ในอัตราส่วน 1 : 1 ปั่นด้วยเครื่องผสมให้เข้ากัน นำไปพาสเจอร์ไรซ์ ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที ทำให้เย็นแล้วนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ก่อนนำสิ่งทดลองที่ได้ไปทดสอบทางด้านกายภาพ ทางด้านเคมี และทางด้านประสาทสัมผัส โดยวิธีแบบ Ideal ratio profile test (ไพโรจน์, 2539) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistix (SXW) version 7.0 เพื่อหาสมการความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linear regression) ระหว่างสัดส่วนของสมุนไพรในแต่ละสิ่งทดลองกับค่าเฉลี่ยคะแนนทางด้านประสาทสัมผัส ค่าทางกายภาพ และทางเคมี ที่มีต่อผลิตภัณฑ์รวมถึงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรด้วยกัน (Interaction) และใช้โปรแกรมวิเคราะห์เชิงเส้น LP88 (POM) เพื่อหาอัตราส่วนผสมที่ดีที่สุด (Optimized formulation) ของส่วนผสมของน้ำสมุนไพรผสมทั้ง 3 ชนิด ตามสมการเชิงเส้นของแต่ละค่าสังเกตที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับของผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้อัตราส่วนดังกล่าวต้องอยู่ในข้อจำกัด (Constraints) ที่ตั้งไว้โดยใช้การวิเคราะห์แบบ Lag rang ดังที่ได้ทำการกำหนดไว้ (ตาราง 3.9 และ 3.10)

- การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ : ดังการวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ในการทดลองตอนที่ 4