

## บทที่ 3

### อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

#### อุปกรณ์

##### 1. วัตถุดิบ

- นมผงธรรมชาติชนิดละลายทันทีตรา มิซัน (Instant full cream milk powder, Mission, New Zealand)
- นมผงขาดมันเนยที่ผ่านการทำให้แห้งโดยกระบวนการ Spray drying ตรา มิซัน (Skimmed milk powder, Mission, New Zealand)
- คาราจีแนน GenuLacta carrageenan type K-100 (Copenhagen Pectin A/S, Denmark)
- เพคติน GenuPectin LM 104 AS-YA (Copenhagen Pectin A/S, Denmark)
- โลคัสต์บีนกัม (Sigma Chemicals Inc., USA)
- บิฟิโดแบคทีเรียม บิฟิเดียม (*Bifidobacterium bifidum* Bb-12; Chr. Hansen A/S, Denmark)
- แลคโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลัส (*Lactobacillus acidophilus* La-5, Chr. Hansen A/S, Denmark)
- แลคโตบาซิลลัส เคซีไอ (*Lactobacillus casei* Lc-01; Chr. Hansen A/S, Denmark)

##### 2. อุปกรณ์

###### 2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์

- เต้าแกสที่ใช้ในครัวเรือน
- ตะเกียงบุนเสน
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ  $35\pm 1$ ,  $37\pm 1$ ,  $39\pm 1$  องศาเซลเซียส (Incubator: Gallenkamp, England)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave: Gallenkamp, England)
- เตาอบฆ่าเชื้อ (Hot air oven)
- บีกเกอร์สเตนเลสขนาด 2 ลิตร
- บีกเกอร์แก้ว (Pyrex, USA)
- ขวดแก้วฝาเกลียว (Schott Duran, Germany)

- ปิเปตแบบ Measuring pipettes (HBG, Germany)
- อะลูมิเนียมฟอยล์ (Diamond, USA)
- หม้ออะลูมิเนียมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11.5 นิ้ว สูง 6.5 นิ้ว จุ 15 ลิตร
- แบลนเดอร์ Imaflex IF 300 ความเร็วรอบสูงสุด 21,000 รอบต่อนาที

## 2.2 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสี ColorQuest II (Hunter Laboratory Inc., USA)
- เครื่องวัดความข้นหนืด Brookfield Rotary Viscometer (USA)

## 2.3 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- Kjeldahl digestion set (Tecator, USA)
- Kjeldahl distillation set (Tecator, USA)
- pH meter (Hanna Instrument, Italy)
- บิวเรต ขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร (HBG, Germany)
- ปิเปต ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร (HBG, Germany)

## 2.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปิเปตแบบ Measuring pipettes ขนาด 1ml, 5ml และ 10ml
- จานเลี้ยงเชื้อ (Petri dishes)
- หม้อนิ่งความดัน (Gallenkamp, England)
- เตาอบลมร้อน (Hot air oven: Haereous, England)
- ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 100ml 250ml 500ml และ 1,000ml
- Anaerobic jars (Merck, Germany)
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ  $37\pm 1$  และ  $42\pm 1$  องศาเซลเซียส (Gallenkamp, UK)
- เครื่องนับจำนวนโคโลนี
- ตู้อุ่น (Sharp, Thailand)

## 3. สารเคมี

- น้ำกลั่น
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, Germany)
- กรดซัลฟูริก (Merck, Germany)

- คอปเปอร์ซัลเฟต (Carlo erba, Italy)
- กรดเกลือ (Merck, Germany)
- เมทิลออเรนจ์ (Fluka, Switzerland)
- ฟีนอล์ฟธาไลน์ (Merck, Germany)
- เมทิลีนบลู (Fluka, Switzerland)
- ผงวุ้น (ไอ.วี. เคมิคอล, ประเทศไทย)
- Petroleum ether (Carlo Erba, Italy)
- Diethyl ether (Carlo Erba, Italy)
- Ammonia solution 25% (Merck, Germany)
- 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)
- Fructose (Fluka, Switzerland)
- Bromcresol green (Fluka, Switzerland)

#### 4. เครื่องประมวลผลข้อมูล

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมสำเร็จรูป Statistix Analytical Software version 4.0 (1992)
- โปรแกรมสำเร็จรูป SigmaPlot 2000 (SPSS Inc., USA)
- โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel 97 (Microsoft corp., USA)

## แผนการทดลอง

### 1. การทดสอบผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์ที่จะทำการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่แล้วในท้องตลาด คือผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เป็นการพัฒนาให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีผลดีต่อร่างกายของผู้บริโภคมากขึ้นโดยใช้เชื้อเริ่มต้นที่มีสมมติฐานว่ามีคุณประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเฉพาะระบบทางเดินอาหาร การสำรวจผู้บริโภคจึงเป็นการสำรวจข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบมากที่สุด เพื่อนำไปเป็นบรรทัดฐานในการศึกษาขั้นต่อไป

1.1 การสำรวจผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี QDA (Quantitative Descriptive Analysis) (Stone and Sidel, 1992) โดยการให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 12 เป็นผู้ชาย 4 คน ผู้หญิง 8 คนที่ผ่านการเรียนวิชา Advanced Food Product and Food Process Development ซึ่งมีการฝึกการทดสอบชิมทดสอบผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตธรรมชาติ (Plain yoghurt) ดราตซ์ซี่ ซึ่งมียอดขายผลิตภัณฑ์โดยรวมสูงที่สุดในประเทศไทย ในปีพ.ศ. 2543 (สัมภาษณ์, 2544) แล้วให้ผู้ทดสอบชิมจำแนกลักษณะต่างๆของผลิตภัณฑ์ตั้งแต่ลักษณะปรากฏ (Appearance) จนถึงหลังจากการชิมผลิตภัณฑ์ (Aftertaste) ผลิตภัณฑ์มีอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส จากนั้นให้ผู้ทดสอบอธิบายลักษณะต่างๆของตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ทดสอบ ให้ได้มากที่สุดเท่าที่ผู้ทดสอบจะบอกได้โดยอิสระ (แบบสอบถามในภาคผนวก ข หน้า 114)

1.2 การทำเค้าโครงผลิตภัณฑ์ ให้ผู้ทดสอบชิมบอกถึงปริมาณของลักษณะนั้นๆ โดยการใช้สเกลเส้นตรงแบบ Horizontal line scale แล้วให้ผู้ทดสอบชิมทำเครื่องหมายลงบนสเกลว่าลักษณะนั้นมีความรุนแรงหรือความเข้มข้นมากน้อยตามที่ผู้ทดสอบชิมรู้สึก โดยวิธี Ideal ratio profile technique (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2536) ให้ผู้ทดสอบชิมทดสอบผลิตภัณฑ์อีกครั้งหนึ่งตามลักษณะที่อธิบายได้และเห็นพ้องกันเป็นส่วนใหญ่ แล้วทำเครื่องหมายลงบนสเกลเพื่อทำ Floating ideals และ Profile test ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตดังกล่าว (แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์ หน้า 115) แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ Ideal ratio score เพื่อเป็นข้อมูลเค้าโครงของผลิตภัณฑ์ที่จะพัฒนาในการศึกษาขั้นต่อไป

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตตรา ดัซซี่ มาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities): ค่าความข้นหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscometer ใช้หัววัดหมายเลข 4 ความเร็วรอบ 2.5 รอบต่อนาที ที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีหน่วยเป็นเซนติพอยส์ (Centipoise) ลี โดยใช้เครื่องวัดสี ColorQuest II (HunterLab, 1997) ในหน่วย Hunter (L a b)

- คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities): ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid content) ปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไทเตรตได้ (Total titratable acidity) ตามวิธีของ AOAC (1995) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้ พีเอชมิเตอร์ (pH-meter) Hanna HI-9321 ปริมาณไขมัน (Fat content) โดยวิธี Roese Gottlieb (Ibid.) ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Macro Kjeldahl (Ibid.) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยวิธี Lane and Eynon (Egan et al., 1981) เทียบเป็น Anhydrous lactose ปริมาณเถ้า (Total ash) (AOAC, 1995, p. 28)
  - คุณภาพทางจุลชีววิทยา (Microbiological qualities) ปริมาณของเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด โดยใช้วิธี Viable plate count แบบ Spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar (IDF Standard, 1997) ป่มที่  $42 \pm 1$  องศาเซลเซียส ในสภาพไร้ออกซิเจน นาน 72 ชั่วโมง
2. พัฒนาสูตรและศึกษาผลของส่วนผสมต่าง ๆ ต่อคุณภาพและการยอมรับทางประสาทสัมผัส

#### การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Starter culture propagation)

เชื้อเริ่มต้นอยู่ในรูปของเชื้อเริ่มต้นแบบแห้งที่ทำถูกให้แห้งโดยวิธีการแช่เยือกแข็ง (Freeze dried) มีปริมาณเชื้อประมาณ  $1.0 \times 10^{10}$  cfu/g การเตรียมเชื้อเริ่มต้นจะเตรียมโดยประยุกต์จากวิธีของ Tamime and Robinson (1985), p. 1

- การเตรียมเชื้อเริ่มต้นขั้นแรก (Stock cultures) เตรียมลิตมัสมิลค์ (Litmus milk) ที่ประกอบด้วยนมผงขาดมันเนย 16% สารละลายลิตมัส (1% Litmus solution) 2% ยีสต์เอกสแทรกท์ 0.3% และแคลเซียมคาร์บอเนตให้พอดกตะกอนคลุมกันหลอดพอดี (0.2 กรัม) ตวงลงในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 15x160 มิลลิเมตรให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปเข้าอบในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำมาทำให้เย็นลงที่ 37 องศาเซลเซียสโดยแช่หลอดในน้ำที่อุณหภูมิห้อง นำเชื้อมาเพาะ (Inoculate) และป่ม (Incubate) ที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเข้าเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 2 สัปดาห์
- การทำ Mother cultures เตรียมนมที่ใช้หมักโดยใช้นมผงขาดมันเนยร้อยละ 16 และ Yeast extract ร้อยละ 0.1 จำนวน 100 มิลลิลิตรในขวดฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร นำเข้าหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ลดอุณหภูมิลงเหลือ 37 องศาเซลเซียสโดยแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง เพาะเชื้อจาก Stock cultures ปริมาณ 2% โดยปริมาตร นำเข้าป่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน

36 ชั่วโมง นำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 7 วัน

- การทำ Intermediate starter เตรียมนมที่ใช้หมักโดยใช้นมผงขาดมันเนยให้มีปริมาณของแข็งไม่รวมไขมัน (SNF) 16% ในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 1,000 มิลลิลิตร ไบละ 400 มิลลิลิตร นำไปเข้าหม้อนิ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที นำมาลดอุณหภูมิลงเหลือ 37 องศาเซลเซียสโดยแช่ขวดลงในน้ำที่อุณหภูมิห้อง นำเชื้อจาก Mother culture มาเพาะเป็นปริมาณ 2% โดยปริมาตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 36 ชั่วโมง หรือจนมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) 3.8-4.0 สำหรับ Lactobacilli และ 4.5 สำหรับ Bifidobacteria นำไปเก็บในตู้เย็นมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 2 วัน นำเชื้อเริ่มต้นจาก Intermediate starter นี้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทำผลิตภัณฑ์ในการทดลอง

#### กรรมวิธีการทำผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ต

ซึ่งส่วนผสมแห้งแต่ละชนิดตามสัดส่วนที่กำหนดในหน่วยทดลอง คลุกสารเสริมความคงตัวกับนมผงขาดมันเนยในอัตราส่วน สารเสริมความคงตัวต่อนมผงเท่ากับ 1 ต่อ 5 ในภาชนะพลาสติกที่มีฝาปิดสนิทให้เขากันดี ยุ่นน้ำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส นำส่วนผสมลงละลายโดยเริ่มจากนมผงธรรมดา นมผงขาดมันเนย และนมผงขาดมันเนยที่แบ่งมาส่วนหนึ่ง คลุกกับสารเสริมความคงตัวในอัตราส่วนนมผงขาดมันเนยต่อสารเสริมความคงตัว เท่ากับ 1 ต่อ 5 โดยน้ำหนัก ใช้เบลนเดอร์ปั่นจนละลายเข้ากันดี (ที่ระดับ High นาน 1 นาที) ปรับปริมาตรให้ได้ตามที่กำหนดในบีกเกอร์สเตนเลส นำบีกเกอร์ไปแช่ในน้ำเดือดในหม้ออลูมิเนียมขนาด 15 ลิตรที่ตั้งบนเตาแก๊สจนนมมีอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส ลดไฟลง คงไว้เวลานาน 30 นาที นำลงแช่ในอ่างน้ำแข็งเพื่อทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิที่จะทำการหมัก นำเชื้อเริ่มต้นมาเพาะลงไปตามปริมาณที่กำหนด นำไปหมักในตู้บ่ม (Incubator) ที่อุณหภูมิที่กำหนด เมื่อหมักได้เวลาตามที่กำหนด นำผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตที่ได้มาแช่ลงในอ่างน้ำผสมน้ำแข็งจนได้อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียสเพื่อหยุดการเจริญของเชื้อเริ่มต้น แล้วนำเข้าไปเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นำไปวิเคราะห์คุณภาพและทดสอบชิมภายใน 2 วันหลังจากการหมัก

#### 2.1 การคัดเลือกปัจจัยที่มีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์

เนื่องจากปัจจัยที่มีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์มีหลายปัจจัย จึงต้องมีการคัดเลือกเบื้องต้นเพื่อศึกษาว่า ปัจจัยใดเป็นปัจจัยที่มีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์มากหรือปัจจัยหลัก (Main effect) โดยใช้การทดลองแบบ Plackett and Burman Design (ไพโรจน์ วิริยจारी, 2536, หน้า 28) การทดลองแบบนี้จะจัดระดับปัจจัยต่างๆแต่ละปัจจัยออกเป็นสองระดับคือ ระดับสูง (High level) และระดับต่ำ (Low level) แล้วดำเนินการทดลองตามแผน วิธีการทดลองแบบนี้เป็นวิธีที่มี

ประสิทธิภาพในการกลั่นกรองปัจจัยที่มีจำนวนมากให้น้อยลงได้ระดับหนึ่ง ซึ่งจะทำให้การทดลองง่ายขึ้นต่อไปง่ายขึ้น เมื่อทราบถึงปัจจัยหลักที่มีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์แล้ว นำข้อมูลที่ได้ไปศึกษาในขั้นต่อไป ปัจจัยที่จะนำมากลั่นกรองมีจำนวน 8 ปัจจัย จึงใช้แผนการทดลองแบบ 12 หน่วยทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.1 และ 3.2

ตารางที่ 3.1 ปัจจัย และระดับการใช้ปัจจัยต่างๆ ในการทดลอง Plackett and Burmann

ปัจจัยต่างๆ แทนด้วยตัวอักษร	ระดับต่ำ (-)		ระดับสูง (+)	
A ปริมาณนมผงธรรมชาติละลายทันที (%w/v)	11	(110 g)	14	(140 g)
B ปริมาณนมผงขาดมันเนย (%w/v)	3	(30 g)	8	(80 g)
C ปริมาณ <i>L. acidophilus</i> (%v/v)	0.17	(1.7 ml)	0.67	(6.7 ml)
D ปริมาณ <i>L. casei</i> (%v/v)	0.17	(1.7 ml)	0.67	(6.7 ml)
E ปริมาณ <i>B. bifidum</i> (%v/v)	0.17	(1.7 ml)	0.67	(6.7 ml)
F ปริมาณเพคติน (%w/v)	0		0.1	(1.0 g)
G ปริมาณคาราจีแนน (%w/v)	0		0.1	(1.0 g)
H ปริมาณโลคัสต์บีบักัม (%w/v)	0		0.1	(1.0 g)

หมายเหตุ เตรียมผลิตภัณฑ์หน่วยทดลองละ 1 ลิตร

ตารางที่ 3.2 แผนผังการทดลอง Plackett and Burman Design

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

โดยที่ + แทนการใช้ปัจจัยในระดับสูง

- แทนการใช้ปัจจัยในระดับต่ำ

เตรียมผลิตภัณฑ์ตามกรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต โดยมีปริมาตรหน่วยทดลองละ 1 ลิตรหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เชื้อแบคทีเรียทั่วไปเจริญเติบโตได้ดี และใช้เวลาหมัก 14 ชั่วโมง โดยอ้างอิงจากเวลาที่ใช้ในการหมักของผลิตภัณฑ์ Biokyss (Nakazawa and Hosono, 1992, p. 1) ในหน้า 15

หน่วยทดลองที่ได้จะนำมาวิเคราะห์ดังนี้

- คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities): ค่าความข้นหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscometer ใช้หัววัดหมายเลข 4 ความเร็วรอบ 12 รอบต่อนาที ที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาทีที่มีหน่วยเป็นเซนติพอยส์ (Centipoise) ซี โดยใช้เครื่องวัดสี ColorQuest II (HunterLab, 1997, p. 28) เป็นหน่วย Hunter (L a b) คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 3 ซ้ำ
- คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities): ปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไทเตรตได้ (Total titratable acidity) เทียบเป็นกรดแลคติก ตามวิธีของ AOAC (1995), p. 28 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้พีเอชมิเตอร์ (pH-meter) Hanna HI-9321 คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 3 ซ้ำ
- คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา (Microbiological qualities): ใช้วิธีเพลทเคานท์ (Viable plate count) แบบ Spread plate นับจำนวนเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด โดยใช้ MRS agar (IDF Standard, 1997, p.29) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน (Anaerobic condition) คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 2 ซ้ำ
- ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory evaluations) ทดสอบโดยใช้แบบทดสอบ Ideal ratio profile technique (หน้า 118) ใช้ผู้ทดสอบชิม 10 คน ส่วนผู้ทดสอบชิมอีก 2 คนจากข้อ 1 จะเป็นผู้ทดสอบสำรอง ทำการประเมินลักษณะ ทางประสาทสัมผัส (Attributes) ต่างๆ ของผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ สี ลักษณะปรากฏของเนือโยเกิร์ต การเกิดเวย์ (whey off) ลักษณะเนือสัมผัสโยเกิร์ต ความรู้สึกในปาก ความเข้มข้น ความข้นหนืด กลิ่นนม กลิ่นเปรี้ยว รสเปรี้ยว รสหวาน และการยอมรับโดยรวม

## 2.2 ศึกษาการใช้ส่วนผสมที่เป็นปัจจัยหลักในการผลิต

ทดลองข้างต้น (ข้อ 2.1) ทำให้สามารถถกเถียงได้ว่าปัจจัยใดเป็นปัจจัยหลักที่มีผลกระทบต่อระบบที่ทำการศึกษา จากนั้นจึงนำปัจจัยหลักที่ถกเถียงได้มาศึกษาในรายละเอียดต่อไปโดยออกแบบการทดลองแบบ Factorial Experiment ซึ่งเป็นการจัดหน่วยทดลองเข้ากับปัจจัยที่มีหลายระดับ การทดลองแบบนี้เป็นการทดลองที่มีประโยชน์ในการศึกษา เพื่อหาระดับการใช้ที่ดีที่สุด เหมาะสมที่สุดสำหรับหน่วยทดลอง การทดลองจะช่วยให้สรุปผลได้อย่างกว้างขวาง เพราะนอกจากเปรียบเทียบระหว่างระดับของแต่ละปัจจัยแล้ว ยังสามารถบอกถึงความสำคัญของความเกี่ยวข้องระหว่างปัจจัย (Interaction effect) ได้อีกด้วย



จากการทดลองเบื้องต้น (ข้อ 2.1) พบว่าปัจจัยที่ผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์มี 3 ปัจจัย คือ นมผงธรรมดา นมผงขาดมันเนย และคาราจีแนน ซึ่งจะกำหนดระดับการใช้ดังนี้

ส่วนผสม	ระดับต่ำ	ระดับสูง
นมผงธรรมดา (%w/v)	12.5	15.5
นมผงขาดมันเนย (%w/v)	5	10
คาราจีแนน (%w/v)	0.05	0.1
ส่วนผสมที่มีระดับการใช้คงที่คือ		
<i>B. bifidum</i> Bb-12	0.33%(v/v)	
<i>L. acidophilus</i> La-5	0.33%(v/v)	
<i>L. casei</i> Lc-01	0.33%(v/v)	

ผลิตภัณฑ์ในแต่ละหน่วยทดลองมีปริมาตร 1 ลิตร

ทดลองโดยใช้การทดลองแบบ  $2^3$  Factorial experiment ที่มีการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง (Central composite) 3 ซ้ำ เพื่อลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดขึ้นเนื่องจาก Interaction ระหว่างส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ และเพื่อระบุให้เห็นว่าที่จุดกลางจะมีแนวโน้มเป็นอย่างไร (Gacula and Singh, 1984; ไพโรจน์ วิริยจาวี, 2536 หน้า 28)

ตารางที่ 3.3 ระดับการใช้ส่วนผสมต่างๆในผลิตภัณฑ์นมหมัก ที่ระดับ -1 ถึง +1

ปัจจัยที่ศึกษา	-1		0		+1	
A นมผงธรรมดา (%w/v)	12.5	(125 g)	14.0	(140 g)	15.5	(155 g)
B นมผงขาดมันเนย (%w/v)	5.0	(50 g)	7.5	(7.5 g)	10.0	(100 g)
C คาราจีแนน (%w/v)	0.05	(0.5 g)	0.075	(0.75 g)	0.10	(1.0 g)
0 หมายถึง ระดับกึ่งกลางของปัจจัย						+1 หมายถึง ระดับสูงสุดของปัจจัย
-1 หมายถึง ระดับต่ำสุดของปัจจัย						

ตารางที่ 3.4 แผนการทดลอง  $2^3$  Factorial experiment with central composite โดยมีนมผงธรรมดา นมผงขาดมันเนย และคาราจีแนนเป็นปัจจัยที่ศึกษา

หน่วยทดลอง	รหัส	ระดับของปัจจัยที่ศึกษา		
		นมผงธรรมดา	นมผงขาดมันเนย	คาราจีแนน
1	(I)	-1	-1	-1
2	a	+1	-1	-1
3	b	-1	+1	-1
4	ab	+1	+1	-1
5	c	-1	-1	+1
6	ac	+1	-1	+1
7	bc	-1	+1	+1
8	abc	+1	+1	+1
9	CP <sub>1</sub>	0	0	0
10	CP <sub>2</sub>	0	0	0
11	CP <sub>3</sub>	0	0	0

หมายเหตุ: (I) = ระดับต่ำ, a = นมผงธรรมดาที่ระดับสูง, b = นมผงขาดมันเนยที่ระดับสูง, c = คาราจีแนนที่ระดับสูง, CP = จุดกึ่งกลาง

หน่วยทดลองที่ได้จะนำมาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities): ค่าความข้นหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscometer หัววัดหมายเลข 4 ความเร็วรอบในการวัด 2.5 รอบต่อนาที ที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีหน่วยเป็น เซนต์พอยส์ (Centipoise) ซี โดยใช้เครื่องวัดสี ColorQuest II (HunterLab, 1997, p. 29) เป็นหน่วย Hunter (L a b) คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 3 ซ้ำ
- คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities): ปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไทเตรตได้ (Total titratable acidity) เทียบเป็นกรดแลคติก ตามวิธีของ AOAC (1995), p. 28 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้พีเอชมิเตอร์ Hanna HI-9321 คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 3 ซ้ำ
- คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา (Microbiological qualities): ใช้วิธีการทำเพลทเคานท์ (Viable plate count) แบบ Spread plate นับจำนวนของเชื้อเริ่มต้นทั้งหมดใช้ MRS agar (IDF Standard, 1997, p. 29) จำนวนของเชื้อเริ่มต้น *L. acidophilus* และ *L. casei* ใช้ HHD agar (Champagne et al., 1997) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 2 ซ้ำ
- ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory evaluations): ทดสอบโดยใช้แบบทดสอบ Ideal ratio profile technique ใช้ผู้ทดสอบชิม 10 ท่าน

ทำการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส (Attributes) ต่างๆ ของผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ สี ลักษณะปรากฏของเนื้อโยเกิร์ต การเกิดเวย์ (Whey off) ลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต ความรู้สึกในปาก ความเข้มข้น ความชื้นหนืด กลิ่นนม กลิ่นเปรี้ยว รสเปรี้ยว รสหวาน และการยอมรับโดยรวม

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ โดยใช้วิธี Stepwise regression analysis จะทำการ Coding ปัจจัยต่างๆ ดังนี้ -1, 0 และ +1 ตามลำดับเพื่อหาข้อสรุปจากการทดลองถึงผลของนมผงธรรมดา นมผงขาดมันเนย และคาราจีแนน ที่มีต่อคุณภาพและการยอมรับของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส รวมทั้งคำนวณหาปริมาณที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัย โดยพิจารณาจากสมการถดถอยที่มีค่า  $R^2$  สูง (เข้าใกล้ 1) ค่า  $R^2$  เป็นค่าที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา ถ้าค่า  $R^2$  สูง หมายถึงความสัมพันธ์ของตัวแปรในสมการถดถอยนั้นๆ เหมาะสม (Fit) กับผลที่ได้ค่อนข้างสูง สมการมีความแม่นยำในการคาดคะเนผลสูง จากนั้นนำสมการถดถอยแต่ละสมการที่เป็น Coded regression equation มาทำการถอดรหัส (Decoding) เพื่อให้ได้ผลที่เป็นค่าจริง

หลักการถอดรหัสของสมการที่เป็น Coded equation ดังกล่าวสามารถทำได้โดยการนำเอาสมการ Coded equation ที่มีตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัสมาแก้สมการโดยมีสูตรคำนวณดังนี้

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

จากนั้นนำเอาตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัสไปแทนในสมการ Coded equation และแก้สมการให้เป็นสมการที่ถอดรหัสแล้ว (Decoded equation) แล้วจึงนำสมการที่ถอดรหัสแล้วไปคาดคะเนผลที่จะเกิดขึ้นได้ แต่การคาดคะเนนั้นจะต้องไม่ทำในช่วงที่เกินจากช่วงระดับสูง-ต่ำที่กำหนดไว้ใน การทดลองจริง (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2536, หน้า 28)

### 3. ศึกษาอุณหภูมิและเวลาหมักที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ต

กระบวนการผลิตที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์นมหมักคือ อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการหมัก เนื่องจากเชื้อเริ่มต้นต้องอาศัยอุณหภูมิที่เหมาะสม และระยะเวลาในการเจริญเติบโตและสร้างกรดให้ได้ตามที่ต้องการ การใช้อุณหภูมิและเวลาหมักที่เหมาะสม จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้

เชื้อเริ่มต้นทั้งสามชนิดที่ใช้ใน *B. bifidum* และ *L. acidophilus* จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง (Thermophile) (ไม่เกิน 45 องศาเซลเซียส) แต่ *L. casei* เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิมกติ (Mesophile) (ไม่เกิน 37 องศาเซลเซียส) ดังนั้นจึงควรศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการหมักด้วย โดยกำหนดระดับของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการหมักดังนี้

ปัจจัยที่ศึกษา	ระดับต่ำ	ระดับสูง
อุณหภูมิ (°C)	35	39
เวลา (ชั่วโมง)	12	14

ส่วนผสมที่ใช้ในการทดลองนี้

เตรียมผลิตภัณฑ์หน่วยทดลองละ 1 ลิตร

นมผงธรรมดา	15.5%(w/v)	(155 กรัม)
นมผงขาดมันเนย	10.0%(w/v)	(100 กรัม)
คาราจีแนน	0.075%(w/v)	(0.75 กรัม)
<i>L. acidophilus</i>	0.33%(v/v)	(3.3 มิลลิลิตร)
<i>B. bifidum</i>	0.33%(v/v)	(3.3 มิลลิลิตร)
<i>L. casei</i>	0.33%(v/v)	(3.3 มิลลิลิตร)
น้ำ	ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร	

ทดลองโดยใช้การทดลองแบบ  $2^2$  Factorial experiment ที่มีการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง (Central composite) เพื่อลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดขึ้นเนื่องจาก Interaction ระหว่างส่วนประกอบในอาหาร เพื่อระบุให้เห็นว่าที่จุดกลางๆมีแนวโน้มเป็นอย่างไร (Gacula and Singh, 1984, p. 33; ไพโรจน์ วิริยจาร์, 2536 หน้า 28)

ตารางที่ 3.5 อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการหมักผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตที่ระดับ -1 ถึง +1

ปัจจัยที่ศึกษา	-1	0	+1
อุณหภูมิหมัก (องศาเซลเซียส)	35	37	39
เวลาหมัก (ชั่วโมง)	12	13	14

0 หมายถึง ระดับกึ่งกลางของปัจจัย

+1 หมายถึง ระดับสูงสุดของปัจจัย

-1 หมายถึง ระดับต่ำสุดของปัจจัย

ตารางที่ 3.6 แผนการทดลองแบบ  $2^2$  Factorial experiment with central composite โดยมี อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการหมักเป็นปัจจัยที่ศึกษา

หน่วยทดลอง	รหัส	อุณหภูมิหมัก ( $^{\circ}\text{C}$ )	เวลาหมัก (ชั่วโมง)
1	(I)	-1	-1
2	x	+1	-1
3	y	-1	+1
4	xy	+1	+1
5	CP <sub>1</sub>	0	0
6	CP <sub>2</sub>	0	0
7	CP <sub>3</sub>	0	0

หมายเหตุ: (I) = ระดับต่ำสุด, x = อุณหภูมิหมักที่ระดับสูง, y = เวลาหมักที่ระดับสูง, CP = จุดกึ่งกลาง

หน่วยทดลองที่ได้จะนำมาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities): ค่าความข้นหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscometer หัววัดหมายเลข 4 ความเร็วรอบที่ใช้วัด 2.5 รอบต่อนาทีที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีหน่วยเป็น เซนต์พอยส์ (Centipoise) ซี โดยใช้เครื่องวัดสี ColorQuest II (HunterLab, 1997) เป็นหน่วย Hunter (L a b) คุณภาพ แต่ละอย่างทำการวิเคราะห์ หน่วยทดลองละ 3 ซ้ำ
- คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities): ปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถ ไตเตรตได้ (Total titratable acidity) ตามวิธีของ AOAC (1995), p. 28 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) โดยใช้พีเอชมิเตอร์ Hanna HI-9321 คุณภาพ แต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 3 ซ้ำ
- คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา (Microbiological qualities): ใช้วิธีการทำ เพลทเคานท์ (Viable plate count) แบบ Spread plate นับจำนวน เชื้อเริ่มต้นทั้งหมดบน MRS agar (IDF Standard, 1997) ปริมาณของ เชื้อเริ่มต้น *L. acidophilus* และ *L. casei* บน HHD agar (Champagne et al., 1997, p. 34) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง ในสภาพ ไร้ออกซิเจน คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 2 ซ้ำ
- ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory evaluations): ทดสอบโดยใช้ แบบทดสอบ Ideal ratio profile technique ใช้ผู้ทดสอบชิม 10 คน ทำการ ประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส (Attributes) ต่างๆ ของผลิตภัณฑ์นม หมัก ได้แก่ สี ลักษณะปรากฏของเนือโยเกิร์ต การเกิดเวย์ (Whey off) ลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต ความรู้สึกในปาก ความเข้มข้น ความข้น หนืด กลิ่นนม กลิ่นเปรี้ยว รสเปรี้ยว รสหวาน และการยอมรับโดยรวม

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางด้านสถิติ โดยใช้วิธี Stepwise regression analysis จะทำการ Coding ปัจจัยต่างๆ ดังนี้ -1, 0 และ +1 ตามลำดับเพื่อหาข้อสรุปจากการทดลองถึงผลของนมผงธรรมดา นมผงขาดมันเนย และคาราจีแนน ที่มีต่อคุณภาพและการยอมรับของผู้บริโภค รวมทั้งคำนวณหาปริมาณที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัย โดยพิจารณาจากสมการถดถอยที่มีค่า  $R^2$  สูง (เข้าใกล้ 1) ค่า  $R^2$  เป็นค่าที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา ถ้าค่า  $R^2$  สูง หมายถึงความสัมพันธ์ของตัวแปรในสมการถดถอยนั้นๆ เหมาะสม (Fit) กับผลที่ได้ค่อนข้างสูง สมการมีความแม่นยำในการคาดคะเนผลสูง จากนั้นนำสมการถดถอยแต่ละสมการที่เป็น Coded regression equation มาทำการถอดรหัส (Decoding) เพื่อให้ได้ผลที่เป็นค่าจริง

หลักการถอดรหัสของสมการที่เป็น Coded equation ดังกล่าวสามารถทำได้โดยการนำเอาสมการ Coded equation ที่มีตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัสมาแก้สมการโดยมีสูตรคำนวณดังนี้

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

จากนั้นนำเอาตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัสไปแทนในสมการ Coded equation และแก้สมการให้เป็นสมการที่ถอดรหัสแล้ว (Decoded equation) แล้วจึงนำสมการที่ถอดรหัสแล้วไปคาดคะเนผลที่จะเกิดขึ้นได้ แต่การคาดคะเนนั้นจะต้องไม่ทำในช่วงที่เกินจากช่วงระดับสูง-ต่ำที่กำหนดไว้ใน การทดลองจริง (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2536, หน้า 28)

#### 4. การผลิตผลิตภัณฑ์ตามสูตรและกระบวนการผลิตที่เหมาะสม

ทำการผลิตผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามสูตรการผสมและกระบวนการผลิตที่เหมาะสมดังที่ได้ทำการทดลองมาแล้ว คือ

นมผงธรรมดา	15.5%(w/v)	(155 กรัม)
นมผงขาดมันเนย	10.0%(w/v)	(100 กรัม)
คาราจีแนน	0.075%(w/v)	(0.75 กรัม)
<i>L. acidophilus</i>	0.33%(v/v)	(3.3 มิลลิลิตร)
<i>B. bifidum</i>	0.33%(v/v)	(3.3 มิลลิลิตร)
<i>L. casei</i>	0.33%(v/v)	(3.3 มิลลิลิตร)
น้ำ	ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร	
อุณหภูมิหมัก	37 องศาเซลเซียส	
เวลาหมัก	14 ชั่วโมง	

ทำ 2 ซ้ำ (2 หน่วยทดลอง) ซ้ำละ 1 ลิตร

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities): ค่าความข้นหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscometer หัววัดหมายเลข 4 ความเร็วรอบ 2.5 รอบต่อนาที ที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีหน่วยเป็นเซนติพอยส์ (Centipoise) ซี โดยใช้เครื่องวัดสี ColorQuest II (HunterLab, 1997, p. 28) ในหน่วย Hunter (L a b) คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 3 ซ้ำ
- คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities): ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid content) ปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไทเตรตได้ (Total titratable acidity) เทียบเป็นกรดแลคติก ตามวิธีของ AOAC (1995), p. 28 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้พีเอชมิเตอร์ Hanna HI-9321 ปริมาณไขมัน (Fat content) โดยวิธี Roese Gottlieb (AOAC, 1995) ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Macro Kjeldahl ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Lane and Eynon (Egan et al., 1981, p. 29) ปริมาณเถ้า (Total ash) (AOAC, 1995) คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 3 ซ้ำ
- คุณภาพทางจุลชีววิทยา (Microbiological qualities): นับของเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด โดยใช้วิธีเพลทเคาน์แบบ Spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar (IDF Standard, 1997, p. 29) จำนวนของเชื้อเริ่มต้น *L. acidophilus* และ *L. casei* บน HHD agar (Champagne et al., 1997) ป่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 96 ชั่วโมง ในสภาพไร้ออกซิเจน คำนวณจำนวนของเชื้อเริ่มต้น *B. bifidum* โดยใช้วิธี Substraction method (Dave and Sha, 1996) คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 2 ซ้ำ

ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อเริ่มต้นในการหมักผลิตภัณฑ์นมหมักโดยใช้สูตรการผสมและกระบวนการผลิตที่เหมาะสม แล้วเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 4, 8, 10, 12, 14, และ 16 ชั่วโมง มาวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด ปริมาณของ *L. acidophilus* ปริมาณของ *L. casei* และคำนวณปริมาณของ *B. bifidum* เพื่อทำแผนภูมิการเจริญเติบโต

##### 5. ศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ต

โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแบบตักได้ (Spoonable yoghurt) จะมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 3 สัปดาห์ (Tamime and Robinson, 1985, p. 1)

เตรียมผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสุรูปสูตรส่วนผสมและกระบวนการผลิตที่เหมาะสมแล้วบรรจุในขวดแก้วฝาโลหะปิดสนิท (ขวดแยม) ขนาด 150 กรัม นำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และ 8 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ 3 ครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ คือ สัปดาห์ที่ 0, 2 และ 4 ตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ซ้ำในแต่ละอุณหภูมิ

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- คุณภาพทางกายภาพ (Physical qualities): ค่าความข้นหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscometer หัววัดหมายเลข 21 ความเร็วรอบ 5.0 รอบต่อนาทีที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที มีหน่วยเป็นเซนติพอยส์ (Centipoise) ซี โดยใช้เครื่องวัดสี ColorQuest II เป็นหน่วย Hunter (L a b) คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 2 ซ้ำ
- คุณภาพทางเคมี (Chemical qualities): ปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไทเตรตได้ (Total titratable acidity) ตามวิธีของ AOAC (1995) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้พีเอชมิเตอร์ Hanna HI-9321 คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 2 ซ้ำ
- คุณภาพทางจุลชีววิทยา (Microbiological qualities): นับจำนวนของเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด โดยใช้วิธีเพลทเค้นท์แบบ Spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar (IDF Standard, 1997) จำนวนของเชื้อเริ่มต้น *L. acidophilus* และ *L. casei* บน HHD agar (Champagne et al., 1997) คำนวณจำนวนของเชื้อเริ่มต้น *B. bifidum* โดยใช้วิธี Substraction method (Dave and Sha, 1996) จำนวนเชื้อยีสต์และรา โดยใช้ Yeast extract glucose chloramphenical agar (IDF Standard, 1990) จำนวนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียโดยวิธี Most probable number ใช้ Lauryl tryptose broth เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ คุณภาพแต่ละอย่างทำการวิเคราะห์หน่วยทดลองละ 2 ซ้ำ
- ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory evaluations) ทดสอบโดยใช้แบบทดสอบ Ideal ratio profile technique ใช้ผู้ทดสอบชิม 8 คน ทำการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส (Attributes) ต่างๆ ของผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ สี ลักษณะปรากฏของโยเกิร์ต การเกิดเวย์ (Whey off) ลักษณะเนื้อสัมผัส ความรู้สึกในปาก ความเข้มข้น ความข้นหนืด กลิ่นนม กลิ่นเปรี้ยว รสเปรี้ยว รสหวาน และการยอมรับโดยรวม สุ่มตัวอย่างมาทดสอบ 3 ครั้ง คือ สัปดาห์ที่ 0, 2 และ 4