บทที่ 3
อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

(1) เมล็ดถั่วเหลืองแห้งพันธุ์เชียงใหม่ 60 (ศูนย์ขยายพันธุ์พืชที่ 7 จ.เชียงใหม่)
(2) นมผงขาดมันเนย ตรามิชชั่น (Mission, New Zealand)
(3) เนยสดชนิดจืด ตราออร์คิด ผลิตโดยบริษัทอุตสาหกรรมนมไทย จำกัด
(4) น้ำตาลทรายขาว ตรามิตรผล
(5) เจลาติน (ห้างหุ้นส่วนจำกัดนอร์ทเทอร์นเคมิเคิล แอนด์ กลาสแวร์)
(6) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (ห้างหุ้นส่วนจำกัดนอร์ทเทอร์นเคมิเคิล แอนด์ กลาสแวร์)
(7) โลคัสบีนกัม (บริษัท ไทยฟูดส์ แอนด์ เคมีคอล)
(8) แคปปา- คาราจีแนน (บริษัท ไทยฟูดส์ แอนด์ เคมีคอล)
(9) เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น : เชื้อผงซึ่งผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า ABT 5 ประกอบด้วยเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) *Bifidobacterium bifidum* (BB-12) และ *Streptococcus thermophilus* ผลิตโดย Chr. Hansen ประเทศ Denmark (บริษัทอี๊สต์เอเชียติ๊ก (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน))

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ต
(1) หม้อนึ่งความดัน (Gallenkamp, England)
(2) ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส OMRON E5C3
(3) เครื่องปั่นไอศกรีม NEMOX รุ่น Gelato chef 2500
(4) เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม รุ่น XT320M (Precisa, Switzerland)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.2 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

(1) เครื่องวัดสี รุ่น CR-300 (Minolta, Japan)
(2) เครื่องวัดความข้นหนืด Brookfiled Programmable Viscometer รุ่น LVDV- II+
(3) เครื่องวัดเนื้อสัมผัส รุ่น TA.XT.plus (Texture analyzer, England)
(4) เครื่อง Differential scanning calorimeter รุ่น diamond DSC (Perkin elmer, England)

3.2.3 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

(1) เครื่องย่อยโปรตีน รุ่น DK6 (Velp scientifica, Germany)
(2) เครื่องกลั่นด้วยไอน้ำ รุ่น 2100 (Foss Tecator, USA)
(3) เครื่องวัด pH รุ่น PB 10 (Satorius, Germany)
(4) ตู้อบลมร้อน รุ่น ULM 500 (Memmert, Germany)
(5) เตาเผาอุณหภูมิสูง รุ่น FD1520M (Thermolyne, USA)
(6) เครื่องชั่งความละเอียด 0.0001 กรัม รุ่น CP224S (Satorius, Germany)
(7) รีแฟรคโตมิเตอร์ รุ่น N-1α (Atago, Japan)

3.2.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

(1) หม้อนึ่งความดัน (Gallenkamp, England)
(2) ตู้อบลมร้อน รุ่น UM 500 (Memmert, Germany)
(3) ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Gallenkamp, England)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 สารเคมี

(1) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, Merck, Germany)
(2) กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid, Merck, Germany)
(3) กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, Merck, Germany)
(4) กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid, Ajax, Australia)

(5) กรดบอริก (Boric acid, Fisher, UK)

(6) คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate, Carlo erba, Italy)

(7) โปแตสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate, Merck, Germany)

(8) ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolpthalein, Merck, Germany)

(9) ไดเอทิล อีเทอร์ (Diethyl ether, Labscan, Germany)

(10) ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether, Labscan, Germany)

(11) เมธิลเรด (Methyl red, BDH, UK)

(12) โบรโมครีซอล กรีน (Bromocresol green, Ajax, Australia)

(13) ลิเธียม คลอไรด์ (Lithium chloride, Fisher, UK)

(14) โซเดียม โพรพิโอเนต (Sodium propionate, Fluka, Germany)

(15) M 17 broth (Merck, Germany)

(16) MRS agar (Merck, Germany)

(17) Peptone water (Scharlau, Spain)

(18) Bile bovine (Sigma, Germany)

(19) Plate count agar (Merck, Germany)

3.4 วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 ตรวจสอบคุณภาพน้ำนมถั่วเหลือง

1.1 การเตรียมนมถั่วเหลือง

นำเมล็ดถั่วเหลืองแห้งพันธุ์เชียงใหม่ 60 จำนวน 1 กิโลกรัม มาล้างทำความสะอาดแล้วแช่ในน้ำ 3 ลิตร เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ลอกเปลือกออก จากนั้นแช่ถั่วเหลืองในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ล้างน้ำให้สะอาด 2 ครั้ง นำถั่วเหลืองมาบดกับน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 - 85 องศาเซลเซียสในอัตราส่วนถั่วเหลือง 100 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อน้ำ 500 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องปั่นแยกกาก (ลินจง, 2540; อรุณี, 2547) นำน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ และเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำนมถั่วเหลือง

1.2.1 คุณภาพทางกายภาพ

(1) สี

วัดสีของตัวอย่างนมถั่วหลืองซึ่งบรรจุในถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร ด้วยเครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-300 ในระบบ CIE (L C h^o) ก่อนทำการวัดสีตัวอย่างทุกครั้งต้องทำการสอบเทียบเครื่อง (calibration) ด้วยแผ่นสีขาวมาตรฐาน(calibration plate) ซึ่งมีค่ามาตรฐาน Y= 92.1, x= 0.3137 และy= 0.3197 โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงแบบ C และทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ซึ่งละเอียดเกี่ยวกับระบบ CIE (L C h^o) แสดงไว้ในภาคผนวก ข-1

(2) การเสียสภาพของโปรตีนโดยใช้เครื่อง DSC (ภาคผนวก ข-2)

1.2.2 คุณภาพทางเคมี

(1) ปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC 990.20, 2000)

ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2.5-3.0 กรัม ใส่ในภาชนะสำหรับหาความชื้น(w2) ซึ่งอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และทราบน้ำหนัก (w1) นำไประเหยบนอ่างน้ำร้อนนาน 30 นาที หรือจนแห้ง อบต่อที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง หรือจนได้น้ำหนักคงที่ ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (w3) คำนวณหาปริมาณของแข็งทั้งหมดจากสูตร

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{w2 - w3}{w2 - w1} \times 100$$

เมื่อ

w1 = น้ำหนักภาชนะสำหรับหาความชื้น (กรัม)

w2 = น้ำหนักภาชนะสำหรับหาความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

w3 = น้ำหนักภาชนะสำหรับหาความชื้นและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(2) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลือง ด้วยเครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์ ที่มีช่วงการวัด 0-32 องศาบริกซ์ (Atago, Japan) ที่อุณหภูมิ 27± 2 องศาเซลเซียส โดยก่อนวัดต้องทำการสอบเทียบเครื่องรีแฟรคโทมิเตอร์ด้วยน้ำกลั่นเพื่อปรับค่าที่อ่านได้เท่ากับศูนย์องศาบริกซ์

(3) ปริมาณไขมัน โดยใช้ Roese-Gottlieb method (AOAC 905.02, 2000)

ทำการสกัดไขมันจากนมถั่วเหลืองที่ทราบน้ำหนักแน่นอนด้วยอีเทอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์ เก็บชั้นตัวทำละลายลงในถ้วยระเหย ระเหยตัวทำละลายออกถ้วยระเหย จากนั้นทำการอบถ้วยที่มีไขมันจนได้น้ำหนักคงที่ รายงานผลในรูปร้อยละของน้ำหนัก (ภาคผนวก ข-3)

(4) ปริมาณโปรตีน โดยใช้ Kjeldaht method (AOAC 991.20, 2000)

นมถั่วเหลืองจะถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น โดยใช้คอปเปอร์ซัลเฟต และโปแตสเซียมซัลเฟตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อดึงไนโตรเจนออกจากโปรตีน และเก็บไนโตรเจนในรูปของเกลือแอมโมเนียม จากนั้นทำการกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไอน้ำ และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 ก๊าซแอมโมเนียจะถูกกลั่นออกมาเก็บในสารละลายกรดบอริก และไตเตรทหาปริมาณไนโตรเจนด้วยกรดไฮโดรคลอริก รายงานผลในรูปร้อยละของน้ำหนัก (ภาคผนวก ข-4)

(5) ปริมาณเถ้าทั้งหมด โดยใช้ Gravimetric method (AOAC 945.46, 2000)

ชั่งนมถั่วเหลืองให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 5 กรัมใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ (w2) ซึ่งเผาที่อุณหภูมิ 550±25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และทราบน้ำหนัก (w1) จากนั้นนำตัวอย่างไประเหยแห้งบนอ่างน้ำร้อนแล้วนำไปเผาด้วยเตาไฟฟ้าจนหมดควัน จึงนำไปเผาต่อในเตาเผาอุณหภูมิสูงที่อุณหภูมิ 550±25 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าขาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(ประมาณ 3 ชั่วโมง) ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (w3) คำนวณปริมาณเถ้าทั้งหมดตามสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{w2 - w3}{w2 - w1} \times 100$$

เมื่อ

w1 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบที่เผาแล้ว (กรัม)

w2 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)

w3 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

(6) ปริมาณใยอาหาร โดยวิธีการย่อยด้วยกรดและด่าง

ดัดแปลงจาก AOAC 945.39 (2000) และ Egan *et al*. (1981) (ภาคผนวก ข-5)

(7) ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยการคำนวณตามวิธีของประภาศรี (2541)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต = 100-%ปริมาณน้ำ-%ไขมัน-%โปรตีน-%เถ้า-%เส้นใยอาหาร (ร้อยละของน้ำหนัก)

(8) ความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้เครื่อง pH-meter (AOAC 981.12, 2000)

นำนมถั่วเหลืองจำนวน 50 มิลลิลิตร ไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานด้วยบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชเท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ ทำการวัด 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

(9) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ ในรูปร้อยละของกรดแลคติก (AOAC 947.05, 2000)

ชั่งน้ำหนักแน่นอนตัวอย่างนมถั่วเหลืองจำนวน 10 กรัม ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ทราบความเข้มข้นแน่นอน) โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จดบันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ โดย 1 มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำปฏิกิริยาสมมูลย์กับกรดแลคติก 0.009 กรัม รายละเอียดการหาความเข้มข้นแน่นอนของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ตามภาคผนวก ข-6

$$\text{ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ทั้งหมด, ร้อยละของน้ำหนัก (คำนวณเป็นกรดแลคติก)} = \frac{0.009 \times M \times V \times 100}{0.1 \times W}$$

เมื่อ

M = ความเข้มข้นแน่นอนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)

V = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ตอนที่ 2 พัฒนาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองโดยใช้เจลาตินเป็นสารเพิ่มความคงตัว

2.1 สำรวจเค้าโครงผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง จำเป็นต้องมีการสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์เพื่อหาคุณลักษณะที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ตามความคิดของผู้ทดสอบชิม และทิศทางที่ผู้ทดสอบชิมต้องการพัฒนาในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ซึ่งวิธีการสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์สามารถใช้หลักการของ Ideal Ratio Profile Technique (ไพโรจน์, 2545) โดยให้ผู้ทดสอบชิมทำการประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองต้นแบบ ซึ่งมีสูตรส่วนผสมดังตารางที่ 3.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.1 สูตรตั้งต้นผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

ส่วนประกอบ	ปริมาณที่ใช้	
ส่วนประกอบหลัก		
น้ำนมถั่วเหลือง	400	มิลลิลิตร
ส่วนประกอบรอง		
นมผงขาดมันเนย	40	กรัม
น้ำตาลทรายขาว	60	กรัม
เนยสดชนิดจืด	8	กรัม
เจลาติน	1.6	กรัม
เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น	0.8	กรัม

2.2 เตรียมผลิตภัณฑ์ต้นแบบไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

กรรมวิธีการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองประกอบด้วยขั้นตอน 3 ขั้นตอน ดังนี้

2.2.1 เตรียมน้ำนมถั่วเหลือง

เหมือนข้อ 1.1

2.2.2 เตรียมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

นำน้ำนมถั่วเหลืองจำนวน 400 มิลลิลิตรมาเติม นมผงขาดมันเนย 40 กรัม น้ำตาลทรายขาว 60 กรัม เนยสดชนิดจืด 8 กรัม (ดัดแปลงจาก ลินจง, 2540 และอรุณี, 2547) และเจลาติน 1.6 กรัม (Kumar and Mishra, 2004; Tamime and Robinson, 1999) จากนั้นต้มส่วนผสมที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กวนส่วนผสมจนละลายหมด ปั่นส่วนผสมด้วยเครื่องปั่นผสมที่ความเร็วระดับต่ำเป็นเวลา 3 นาที เทส่วนผสมลงในขวดแก้วฝาเกลียวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วขนาด 500 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทและนำไปต้มในน้ำเดือดอุณหภูมิ 95 – 97 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้ส่วนผสมเย็นลงจนได้อุณหภูมิ 43 - 45 องศาเซลเซียส เติมเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 0.8 กรัม (Paveena, 2006) บ่มที่อุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาการหมักให้เก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.3 เตรียมไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

นำโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองซึ่งเก็บไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมที่ความเร็วระดับต่ำเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำให้โยเกิร์ตแข็งตัวด้วยเครื่องปั่นไอศกรีม ทำการปั่นเป็นเวลา 20 นาที หรือจนกระทั่งโยเกิร์ตมีอุณหภูมิลดลงถึง -4±1 องศาเซลเซียส บรรจุไอศกรีมลงในภาชนะบรรจุแล้วทำการแช่แข็ง (hardening) ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -24±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองจากสูตรตั้งต้นจะถูกนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และทางประสาทสัมผัส

2.3 การวิเคราะห์คุณภาพไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

2.3.1 คุณภาพทางกายภาพ

(1) ความหนืดของโยเกิร์ต โดยใช้ Brookfield digital viscometer

ทำการวัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด ยี่ห้อ Brookfield รุ่น LVDV- II+ โดยนำตัวอย่างโยเกิร์ตจำนวน 400 – 500 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร วัดความหนืดด้วยหัววัดเบอร์ 64 ด้วยความเร็ว 60 รอบต่อนาที (หัววัด และความเร็วรอบที่ให้ค่า % torque เข้าใกล้ 100 มากที่สุด) ที่อุณหภูมิ 13 ± 1 องศาเซลเซียส และอ่านค่าเมื่อมอเตอร์หมุนครบ 15 วินาที

(2) สีโดยใช้ Color Quest II Colorimeter (เหมือนข้อ 1.2.1)

(3) โอเวอร์รัน (Muse and Hartel, 2004)

ชั่งน้ำหนักโยเกิร์ตที่บรรจุเต็มถ้วยพลาสติกมีฝาปิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 3.7 เซนติเมตร และความสูง 2.3 เซนติเมตร (w1) ทำการปั่นโยเกิร์ตจนแข็งตัว ตักไอศกรีมโยเกิร์ตลงในถ้วยพลาสติกใบเดิม แล้วชั่งน้ำหนักไอศกรีมโยเกิร์ต (w2) คำนวณค่าโอเวอร์รัน โดย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{ค่าโอเวอร์รัน (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{w1-w2}{w2} \times 100$$

(4) อัตราการหลอมเหลว (EL-Nagar *et al.*, 2002)

นำตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตที่มีน้ำหนักประมาณ 60-65 กรัม และผ่านการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -24 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง วางบนตะแกรงขนาด 4 mesh รองรับด้วยบีกเกอร์ ภายในห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิ 25± 1 องศาเซลเซียส เริ่มจับเวลาเมื่ออุณหภูมิของไอศกรีมโยเกิร์ตที่ระดับลึกจากผิวหน้า 1 เซนติเมตรเท่ากับ -13± 1 องศาเซลเซียส จับเวลาจนครบ 60 นาที เมื่อครบเวลา จดบันทึกน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายผ่านตะแกรง คำนวณน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายเทียบกับน้ำหนักไอศกรีม 100 กรัม โดย

$$\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลายต่อ 100 กรัม (กรัม)} = \frac{\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลาย x 100}}{\text{น้ำหนักไอศกรีมเริ่มต้น}}$$

จากนั้นคำนวณอัตราการหลอมเหลวต่อ 100 กรัม ในหน่วย กรัมต่อนาที โดย

$$\text{อัตราการหลอมเหลว (กรัมต่อนาที)} = \frac{\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลายต่อ 100 กรัมตัวอย่าง(กรัม)}}{\text{60 (นาที)}}$$

(5) ความแข็งของไอศกรีมโยเกิร์ต (ดัดแปลงจากวิธีของ Bolliger *et al*., 2000)

ทำการวัดความแข็งของตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตซึ่งบรรจุเต็มถ้วยพลาสติกมีฝาปิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 3.7 เซนติเมตร และความสูง 2.3 เซนติเมตร ที่ผ่านการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -24 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัสอาหาร Texture analyser รุ่น TA.XT.plus เพื่อหาค่าแรงกด (compression force : newtons) ที่ระยะทางคงที่ ด้วยหัววัดทรงกระบอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร (P/2) load cell ขนาด 50 กิโลกรัม และอัตราการเคลื่อนที่ของหัววัดขณะวัดเท่ากับ 2 มิลลิเมตรต่อวินาที อ่านค่าแรงสูงสุดเมื่อระยะทางที่หัววัดกดลงในเนื้อไอศกรีมโยเกิร์ตเท่ากับ 4 มิลลิเมตร ในหน่วยนิวตัน และทำการวัดเมื่ออุณหภูมิของไอศกรีมโยเกิร์ตที่ระดับลึกจากผิวหน้า 1 เซนติเมตรเท่ากับ -14±1 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.2 คุณภาพทางเคมี

(1) ปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC 990.20, 2000) เหมือนข้อ 1.2.2

(2) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

นำของเหลวที่ได้จากการหลอมละลายของไอศกรีมในขณะวัดอัตราการหลอมเหลวมาวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ด้วยเครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์ที่มีช่วงการวัด 0-32 องศาบริกซ์ (Atago, Japan) ที่อุณหภูมิ 27± 2 องศาเซลเซียส โดยก่อนวัดต้องทำการสอบเทียบเครื่องรีแฟรคโทมิเตอร์ด้วยน้ำกลั่นเพื่อปรับค่าที่อ่านได้เท่ากับศูนย์องศาบริกซ์

(3) ความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้เครื่อง pH-meter

ชั่งตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตจำนวน 5 กรัม นำไปผสมให้เข้ากันกับน้ำกลั่นจำนวน 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานด้วยบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชเท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ

(4) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ ในรูปกรดแลคติก (AOAC 947.05, 2000)

ชั่งน้ำหนักแน่นอนตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตจำนวน 5 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 20 มิลลิลิตรลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ทราบความเข้มข้นแน่นอน) โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จดบันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ โดย 1 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำปฏิกิริยาสมมูลย์กับกรดแลคติก 0.009 กรัม รายละเอียดการหาความเข้มข้นแน่นอนของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ตามภาคผนวก ข-6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ทั้งหมด, ร้อยละของน้ำหนัก (คำนวณเป็นกรดแลคติก) = $\frac{0.009 \text{ x} M \text{x} V \text{x} 50 \text{x} 100}{0.1 \text{x} 20 \text{x} W}$

เมื่อ

M = ความเข้มข้นแน่นอนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)

V = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

2.3.3 คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา

(1) ปริมาณเชื้อ *Streptococcus thermophilus* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ M17 agar ด้วยวิธี pour plate บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน ด้วยวิธีของ IDF (1997) (ภาคผนวก ข-7)

(2) ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Bile-MRS agar ด้วยวิธี spread plate บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน ด้วยวิธีของ IDF (1995) และ Vinderola and Reinheimer (1999) (ภาคผนวก ข-8)

(3) ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ LP-MRS agar ด้วยวิธี spread plate บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจนด้วยวิธีของ Lapierre *et al*. (1992) และ Vinderola and Reinheimer (1999) (ภาคผนวก ข-9)

2.3.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทำการทดสอบชิมโดยใช้สเกลแบบเส้นตรง (linear scaling) ที่มีความยาว 10 เซนติเมตร (ภาคผนวก ก-1) โดยให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 15 คน ซึ่งผ่านการฝึกฝนทางด้านการทดสอบทางประสาทสัมผัส กำหนดคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสชาติ และเนื้อสัมผัสที่ผู้ทดสอบชิมเห็นว่าเป็นคุณลักษณะสำคัญของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง จากนั้นให้ผู้ทดสอบชิมทำเครื่องหมายบอกตำแหน่งของระดับความเข้มของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ และตำแหน่งของค่าในอุดมคติ (floating ideals) ที่ผู้ทดสอบชิมเห็นว่าเหมาะสมกับคุณลักษณะนั้นๆ ของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลิตภัณฑ์ นำค่าในอุดมคติที่ได้จากผู้ทดสอบชิมทั้ง 15 คน มาหาค่าเฉลี่ยได้เป็น fixed ideals ซึ่งนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขั้นตอนต่อไป

2.3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยามาหาค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ส่วนข้อมูลที่ได้จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสนำมาหาค่าสัดส่วน (ideal ratio score; S/I) ซึ่งได้จากการหารค่าคะแนนของตัวอย่าง (sample score; S) ด้วยค่าในอุดมคติ (ideal score; I) จากนั้นนำค่าสัดส่วนของผู้ทดสอบชิมแต่ละคนมารวมกันหาค่าสัดส่วนเฉลี่ย (mean ideal ratio score) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งค่าสัดส่วนเฉลี่ยที่ได้ใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงผลิตภัณฑ์ โดยความหมายของค่าสัดส่วนเฉลี่ยมีดังนี้

โดยถ้า S/I = 1 แสดงว่าตัวอย่างที่ทดสอบมีคุณลักษณะที่ทดสอบเท่ากับค่าในอุดมคติ

S/I < 1 แสดงว่าตัวอย่างที่ทดสอบมีคุณลักษณะที่ทดสอบน้อยกว่าค่าในอุดมคติ การพัฒนาจึงควรหาวิธีการเพิ่มคุณลักษณะดังกล่าว

S/I > 1 แสดงว่าตัวอย่างที่ทดสอบมีคุณลักษณะที่ทดสอบมากกว่าค่าในอุดมคติ การพัฒนาจึงควรหาวิธีการลดคุณลักษณะดังกล่าว

2.4 การกลั่นกรองปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

ขั้นตอนนี้เป็นการกลั่นกรองปัจจัยหลักหรือปัจจัยที่มีผลกระทบมากต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง โดยปัจจัยทดลองที่ต้องการกลั่นกรองในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองมีทั้งหมด 4 ปัจจัย ได้แก่ นมผงขาดมันเนย น้ำตาลทรายขาว เนยสด และเจลาติน โดยวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman Design แบบ N= 8 (ทุติยาภรณ์, 2546) ซึ่งมีสิ่งทดลองดังตารางที่ 3.3 และระดับสูงต่ำของแต่ละปัจจัยแสดงในตารางที่ 3.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.2 ระดับต่ำและระดับสูงของแต่ละปัจจัยทดลองเป็นร้อยละของปริมาตรนมถั่วเหลือง

ปัจจัย	ระดับต่ำ (-)	ระดับสูง (+)
A : ปริมาณนมผงขาดมันเนย	5	14
B : ปริมาณน้ำตาลทรายขาว	8	16
C : ปริมาณเนยสดชนิดจืด	2	6
D : ปริมาณเจลาติน	0.2	0.6

ตารางที่ 3.3 แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman Design (N= 8) ที่ใช้ในการกลั่นกรองปัจจัยทดลองเพื่อหาปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

หน่วยทดลอง	A	B	C	D	E	F	G
1	+	+	+	-	+	-	-
2	+	+	-	+	-	-	+
3	+	-	+	-	-	+	+
4	-	+	-	-	+	+	+
5	+	-	-	+	+	+	-
6	-	-	+	+	+	-	+
7	-	+	+	+	-	+	-
8	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + แทนการใช้ปัจจัยระดับสูง

- แทนการใช้ปัจจัยระดับต่ำ

โดยกำหนดให้ปัจจัยต่างๆ แทนด้วยตัวอักษรดังต่อไปนี้

A แทน ปริมาณนมผงขาดมันเนย

B แทน ปริมาณน้ำตาลทรายขาว

C แทน ปริมาณเนยสดชนิดจืด

D แทน ปริมาณเจลาติน

E แทน dummy variable

F แทน dummy variable

G แทน dummy variable

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทำการเตรียมผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองตามแผนการทดลองในตารางที่ 3.3 และวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับข้อที่ 2.2 ตัวอย่างที่เตรียมได้จะถูกนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ตามหัวข้อที่ 2.3.1-2.3.3 โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัสมีวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.3.4 แต่ใช้แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสตามภาคผนวก ก-2 ซึ่งมีการกำหนดค่า Fixed ideals ลงบนสเกลเส้นตรง (ได้จากการสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์) และให้ผู้ทดสอบชิมกำหนดเครื่องหมายบอกระดับความเข้มของตัวอย่างที่ทดสอบเพียงอย่างเดียว

ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจากการทดลองจะถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SXW เพื่อคำนวณหาอิทธิพลของแต่ละปัจจัยต่อคุณภาพด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ โดยโปรแกรมจะแสดงค่า t และ ค่า P ของแต่ละปัจจัยที่มีต่อคุณภาพด้านต่างๆ จากนั้นพิจารณาคัดเลือกปัจจัยหลักหรือปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยใช้ค่า $P \leq 0.20$ เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือก

2.5 ศึกษาระดับที่เหมาะสมของปัจจัยหลักในการผลิตผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

นำปัจจัยที่กลั่นกรองได้ว่ามีอิทธิพลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองหรือปัจจัยหลัก ซึ่งได้จากการทดลองข้อที่ 2.4 อย่างน้อย 2 ปัจจัยมาหาระดับที่เหมาะสมโดยวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment with 4 center points โดยกำหนดให้แต่ละปัจจัยมี 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) จุดกึ่งกลาง (0) และระดับสูง (+1) (Myers and Montgomery, 1995) ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่เตรียมได้จะนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา เช่นเดียวกับข้อที่ 2.3.1-2.3.3 ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัสเช่นเดียวกับข้อที่ 2.4

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อหาสมการถดถอยเส้นตรงแบบหลายตัวแปร (multiple linear regression) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 แบบ enter และนำสมการถดถอยที่ได้มาออกแบบพื้นที่การตอบสนองด้วยโปรแกรม STATISTICA version 5.0 เพื่อหาระดับที่เหมาะสมของนมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาวที่ให้ค่าตอบสนองที่ดีที่สุด และทำให้ทราบถึงสูตรพื้นฐานที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 เปรียบเทียบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองสูตรพื้นฐานกับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

เตรียมผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองตามสูตรพื้นฐานจากข้อที่ 2.5 ด้วยวิธีตามข้อที่ 2.2.2-2.2.3 จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา เช่นเดียวกับข้อที่ 2.3.1-2.3.3 ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัส เช่นเดียวกับข้อที่ 2.4 นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัดส่วนเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นนำข้อมูลค่าเฉลี่ย และค่าสัดส่วนเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์สูตรพื้นฐานเปรียบเทียบกับค่าสัดส่วนเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์สูตรตั้งต้น และค่าในอุดมคติ

ตอนที่ 3 ศึกษาผลของชนิดและปริมาณสารเพิ่มความคงตัวจากกัมต่อคุณภาพไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

ทำการศึกษาผลของสารเพิ่มความคงตัวจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส โลคัสบีนกัม และคาราจีแนน โดยมีอัตราการเติม 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.05 0.1 และ0.2 และวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยเตรียมตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองตามสูตรพื้นฐานซึ่งได้จากตอนที่ 2 และใช้ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่ไม่เติมสารเพิ่มความคงตัวเป็นตัวอย่างควบคุม ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้จะนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา เช่นเดียวกับข้อที่ 2.3.1-2.3.3 แต่การวิเคราะห์ทางกายภาพเพิ่มการวิเคราะห์ค่า glass transition temperature และ melting temperature โดยใช้เครื่อง DSC (ภาคผนวก ข-2) และการวัดความหนืดของโยเกิร์ตใช้หัววัดเบอร์ 63 ส่วนความเร็วรอบที่ใช้ขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่ทำการวัด โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะถูกนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 4 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

นำผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองจำนวน 10 ตัวอย่างจากตอนที่ 3 มาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค โดยวางแผนการทดสอบชิมแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ด้วยวิธี hedonic scoring test 9 points เพื่อประเมินความชอบในลักษณะสำคัญต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ นำคะแนนความชอบของผู้ทดสอบชิมมาวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ตอนที่ 5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ในระหว่างการเก็บรักษา

นำผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด คือ ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่เติมคาราจีแนนร้อยละ 0.2 เป็นสารเพิ่มความคงตัว มาทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 60 วัน ที่อุณหภูมิ -24±1 องศาเซลเซียส โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพหลังผลิต และหลังจากนั้นอีกทุก 15 วัน ดังต่อไปนี้

5.1 คุณภาพทางกายภาพ

(1) วัดสีโดยใช้ Color Quest II Colorimeter (เหมือนข้อ 2.3.1)
(2) วัดเนื้อสัมผัสของไอศกรีม โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (เหมือนข้อ 2.3.1)

5.2 คุณภาพทางเคมี

(1) ปริมาณของแข็งทั้งหมด (เหมือนข้อ 1.2.2)
(2) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้รีแฟรคโตมิเตอร์ (เหมือนข้อ 2.3.2)
(3) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้เครื่อง pH-meter (เหมือนข้อ 2.3.2)
(4) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ ในรูปกรดแลคติก (เหมือนข้อ 2.3.2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.3 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

(1) ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total Plate Count) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ด้วยวิธีของเรณู (2543) (ภาคผนวก ข-10)

(2) ปริมาณเชื้อ *Streptococcus thermophilus* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ M17 agar ด้วยวิธี pour plate บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน ด้วยวิธีของ IDF (1997) (ภาคผนวก ข-7)

(3) ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Bile-MRS agar ด้วยวิธี spread plate บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน ด้วยวิธีของ IDF (1995) และ Vinderola and Reinheimer (1999) (ภาคผนวก ข-8)

(4) ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ LP-MRS agar ด้วยวิธี spread plate บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจนด้วยวิธีของ Lapierre *et al*. (1992) และ Vinderola and Reinheimer (1999) (ภาคผนวก ข-9)

5.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) แสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved