

### บทที่ 3

## อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการศึกษา

### วัตถุดิบ อุปกรณ์และสารเคมี

#### 3.1 วัตถุดิบ

- ข้าวกล็องหอมมะลิ ตราเบอร์ 5 จากโลตัส อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
- นมผงขาดมันเนยที่ผ่านการทำให้แห้งโดยกระบวนการ Spray drying ตรามิชชั่น (Mission, New Zealand)
- คาราจีแนน (carrageenan type K-100) (copenhagen Pectin A/S, Denmark)
- น้ำตาลทรายขาว ตรามิตรผล จากโลตัส อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
- ฟรุคโตส ไซรัป จากบริษัท เจ้าคุณเกษรพืชผล จำกัด จังหวัดสระบุรี
- น้ำผึ้งลำไย ที่เก็บในช่วงเดือน กุมภาพันธ์-เมษายน 2546 จากฟาร์มผึ้งสมเกียรติ อ.เมือง จ.เชียงใหม่
- น้ำผึ้งงิ้วไก่อ่าน ที่เก็บในช่วงเดือน พฤศจิกายน 2546-มกราคม 2547 จากสุภาพาร์มผึ้ง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่
- เชื้อโยเกิร์ต *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* YC-380 (Chr. Hansen, Denmark)
- เชื้อโพรไบโอติก *Bifidobacterium longum* Bb-46 (Chr. Hansen, Denmark)

#### 3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

##### 3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต

- เตาแก๊สที่ใช้ในครัวเรือน
- ตะเกียงบุนเสน
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ  $37 \pm 1$  องศาเซลเซียส (Gallenkamp, England)

- หม้อนิ่งความดัน (Gallenkamp, England)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert, USA)
- ปีกเกอร์สแตนเลสขนาด 2 ลิตรและ 1 ลิตร
- ปีกเกอร์แก้ว (Pyrex, USA)
- ขวดแก้วฟลาเกลียว (Schott Duran, Germany)
- ปิเปตแบบ Measuring pipettes (HBG, Germany)
- อะลูมิเนียมฟอยล์ (Diamond, USA)
- หม้ออะลูมิเนียม
- เครื่องปั่นผสม (Otto, Thailand)
- ขวดแก้วพร้อมฟลาเกลียว

### 3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไอศกรีม

- เครื่องปั่นไอศกรีม (Simac gelataio, England) (ภาคผนวก ฉ-1)
- ตู้แช่ (Sharp, Thailand) (ภาคผนวก ฉ-2)
- เครื่องวัดอุณหภูมิ (Digicaon, Thailand) (ภาคผนวก ฉ-3)

### 3.2.3 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสี ColorQuest II (Hunter Laboratory Inc., USA)
- เครื่องวัดความข้นหนืด Brookfield Rotary Viscometer (USA)
- เครื่องวัดความแน่นเนื้อ Instron Model 5565 (USA) (ภาคผนวก ฉ-4)

### 3.2.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (Hanna Instrument, Italy)
- บิวเรตขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร (HBG, Germany)
- ปิเปตขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร (HBG, Germany)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert, USA)
- เตาเผาถ้ำ (Oven, Gallenkamp, Muffle Furnace, England)
- เครื่อง HPLC (Shimadzu, Japan) (ภาคผนวก ฉ 5)

### 3.2.3 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

- ปิเปตขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร (HBG, Germany)
- จานเลี้ยงเชื้อ
- หม้อนึ่งความดัน (Gallenkamp, England)
- ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร (Schott Duran, Germany)
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ  $37 \pm 1$  องศาเซลเซียส (Gallenkamp, England)
- เครื่องนับจำนวนโคโลนี
- ตู้เย็น (Sharp, Thailand)

### 3.3 สารเคมี

- น้ำกลั่น
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, Germany)
- กรดเกลือ (Merck, Germany)
- เมธิลออเรนจ์ (Fluka, Switzerland)
- เมธิลีนบลู (Fluka, Switzerland)
- ฟีนอล์ฟธาเลอิน (Merck, Germany)
- MRS broth (Himedia, India)
- ผงวุ้น (โอ.วี. เคมีคอลม ประเทศไทย)
- Yeast extract glucose chloramphenical agar (Difco, USA)
- Yeast extract (Merck, Germany)
- Tryptone (Merck, Germany)
- Casamino acids (Difco, USA)
- Phytone peptone (BBL, USA)
- Potassium dihydrogen phosphate (M&B, USA)
- Fructose (Fluka, Switzerland)

### 3.4 เครื่องประมวลผลข้อมูล

- โปรแกรมประมวลผลสำเร็จรูป SPSS V.10.0

### 3.5 วิธีการศึกษา

ตอนที่ 1 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไยและน้ำผึ้งขี้ไถย่าน

#### 1.1 คุณสมบัติทางกายภาพ (physical qualities)

- ค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสีในหน่วย Hunter ( $L^* a^* b^*$ ) (ภาคผนวก ค-1)
- ค่าความหนืด (Viscosity) ใช้หน่วยการวัดเป็นเซนติพอยส์ (Centipoise) (ภาคผนวก ค-2)

#### 1.2 คุณสมบัติทางเคมี (chemical qualities)

- ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ภาคผนวก ข-1)
- ปริมาณน้ำทั้งหมด (ภาคผนวก ข-1)
- ปริมาณเถ้าทั้งหมด (ภาคผนวก ข-2)
- ปริมาณน้ำอิสระโดยใช้เครื่องวัดค่าน้ำอิสระ ( $A_w$ )
- ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (ภาคผนวก ข-3)
- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (ภาคผนวก ข-4)
- ค่าความเป็นกรดต่าง โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นค่า (Hanna Instrument, Italy) (ภาคผนวก ข-5)
- ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตส โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (Shimadzu, japan)
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ภาคผนวก ข-6)
- ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสารละลายน้ำผึ้ง (ภาคผนวก ข-7)

### 1.3 คุณสมบัติด้านจุลินทรีย์ (microbiological qualities)

หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี pour plate โดยการเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง (Harrigan, 1998) (ภาคผนวก ก-1)

## ตอนที่ 2 การศึกษาปริมาณของน้ำผึ้งลำไยและน้ำผึ้งขี้ไถย่านที่ใช้เป็นส่วนผสมของโยเกิร์ตข้าวกล้องที่ทำให้เชื้อ *B. longum* เจริญได้ดีที่สุด

### 2.1 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Starter culture propagation)

เชื้อโยเกิร์ตและเชื้อโพรไบโอติกเริ่มต้นเป็นเชื้อแบบแห้งที่ถูกทำให้แห้งโดยวิธีการแช่แข็ง (Freeze dried) โดยเชื้อโพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาคือ *B. longum* มีเชื้อเริ่มต้นประมาณ  $1.0 \times 10^8$  CFU/g และเชื้อโยเกิร์ตเป็นเชื้อในกลุ่มเทอร์โมฟิลิกแลคติก ได้แก่ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. มีเชื้อเริ่มต้นประมาณ  $1.0 \times 10^{10}$  CFU/g

#### 2.1.1 การเตรียมเชื้อเริ่มต้นขั้นแรก (Stock culture)

เตรียมสารละลายลิทมัส (Litmus solution) ซึ่งมีส่วนประกอบคือ นมผงขาดมันเนย ร้อยละ 16 ลิทมัส ร้อยละ 2 ยีสต์เอกสแทรกท์ ร้อยละ 0.3 และใช้แคลเซียมคาร์บอเนตประมาณ 0.2 กรัมใส่ที่ก้นหลอดทดลองขนาด 15 × 160 มิลลิลิตร แล้วดวงสารละลายลิทมัสใส่ให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยแช่หลอดทดลองที่บรรจุสารละลายลิทมัสในน้ำที่อุณหภูมิห้อง นำเชื้อ *B. longum* และเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ที่เตรียมจากข้อ 2.1 มาเพาะในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลายลิทมัสดังกล่าว โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำหลอดทดลองที่เพาะเชื้อ *B. longum* และ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการผลิตโยเกิร์ตข้าวกล้องเต็มเชื้อโพรไบโอติกต่อไป โดยนำมาใช้ภายใน 2 สัปดาห์

### 2.1.2 การทำ Mother culture

Mother culture มีส่วนประกอบคือ นมผงขาดมันเนย ร้อยละ 16 และ ยีสต์เอกสแทรกท์ ร้อยละ 0.1 เตรียมในปริมาณ 100 มิลลิลิตร ในขวดฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงโดยแช่น้ำที่อุณหภูมิห้องจนอุณหภูมิเป็น 37 องศาเซลเซียส นำเชื้อ *B. longum* และเชื้อโยเกิร์ต ที่เตรียมจากขั้นแรก (2.1.1) มาเพาะใน Mother culture ที่เตรียมไว้ โดยเติมเชื้อ *B. longum* และเชื้อโยเกิร์ต ปริมาตรร้อยละ 2 โดยปริมาตร (ในแต่ละขวดแยกชนิดกัน) นำเข้าบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 36 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการผลิตโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติกต่อไป โดยนำมาใช้ภายใน 7 วัน

### 2.1.3 การทำ Intermediate starter

Intermediate starter มีส่วนประกอบคือ นมผงขาดมันเนย ร้อยละ 16 ปริมาณ 400 มิลลิลิตร ในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง นำเชื้อ *B. longum* และโยเกิร์ตจาก Mother culture มาเพาะปริมาณ ร้อยละ 2 โดยปริมาตร และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หรือจนมีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) 3.8–4.0 นำไปเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นำมาใช้ภายใน 2 วัน เชื้อที่เพาะได้จาก Intermediate starter นี้จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทำโยเกิร์ตข้าวกล้องเพื่อใช้ทำเป็นไอศกรีมข้าวกล้องต่อไป โดยมีการตรวจสอบความบริสุทธิ์โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหาร HHD agar โดยวิธี spread plate บ่มในสภาพไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง และย้อมสีแกรมดูลักษณะเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

## 2.2 การผลิตโยเกิร์ตข้าวกล้อง

### 2.2.1 กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตข้าวกล้อง

ทำการผลิตโยเกิร์ตข้าวกล้องตามสูตรและกระบวนการของอิศรา (2546) ซึ่งสูตรโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อ *B. longum* แสดงดังตารางที่ 14 โดยเปลี่ยนแปลงสารให้ความหวานเป็น 4 ชนิด คือ น้ำผึ้งดำโย น้ำผึ้งจี่ไถ่ย่าน น้ำตาลทราย และฟรุคโตสไซรัป ความเข้มข้นชนิดละ 3 ระดับ คือ 5, 10, และ 15 ขององค์ประกอบหลัก โดยวางแผนการทดลอง

แบบ  $4 \times 3$  factorial in CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เมื่อ factor A คือ สารให้ความหวาน และ factor B คือ ความเข้มข้นของสารให้ความหวาน จะได้ 12 สิ่งทดลองดังตารางที่ 15

ตารางที่ 14 สูตรโยเกิร์ตข้าวกล้องเต็มเชื้อโพรไบโอติกหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (ร้อยละ)	
	คำนวณตามส่วนประกอบหลัก	คำนวณตามส่วนประกอบรวมทั้งหมด
หลัก		
น้ำ	85.71	69.56
ข้าวกล้องสุก	14.29	11.60
อื่นๆ		
นมผงขาดมันเนย	10.15	6.13
สารให้ความหวาน	10.00	8.24
คาราจีแนน	0.078	0.063
หัวเชื้อ <i>B. longum</i>	2	1.62
หัวเชื้อโยเกิร์ต ( <i>S. thermophilus</i> + <i>L. Bulgaricus</i> .)	1	0.81

หมายเหตุ : ใช้สารให้ความหวานตาม แผนการทดลองแบบ  $4 \times 3$  factorial in CRD ข้างต้น โดยยังคง ปริมาณขององค์ประกอบอื่นๆ ไว้ตามสูตรในตารางที่ 10

ตารางที่ 15 ตารางแสดงแผนการทดลองแบบ  $4 \times 3$  factorial in CRD

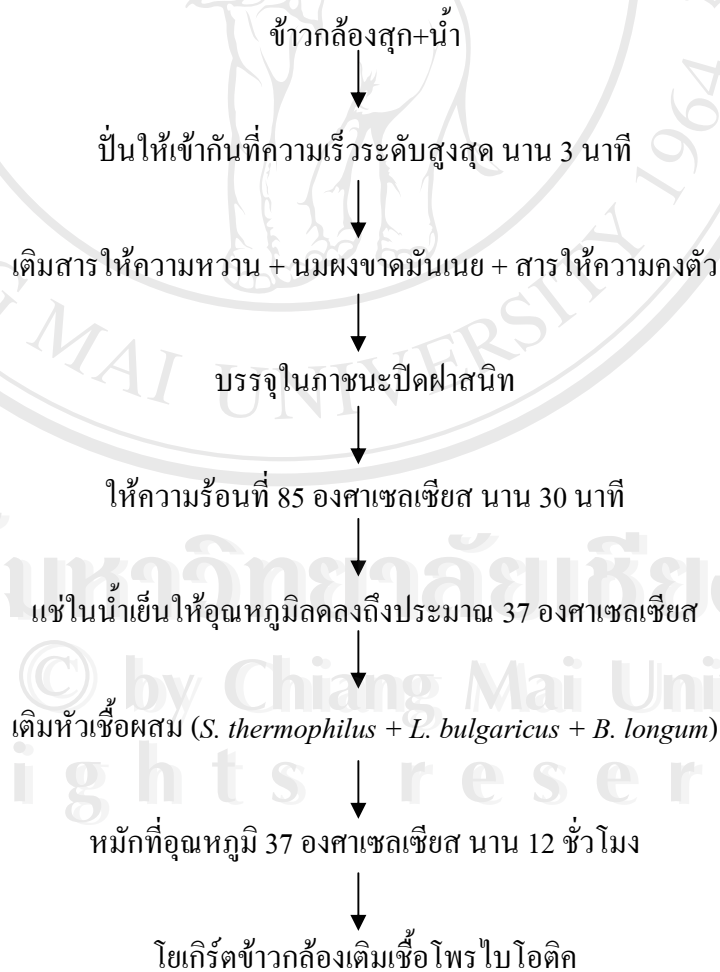
สิ่งทดลอง	Factor A	Factor B (ร้อยละขององค์ประกอบหลัก)
1	น้ำผึ้งลำไย	5
2	น้ำผึ้งลำไย	10
3	น้ำผึ้งลำไย	15
4	น้ำผึ้งชี่ไถ่ย่าน	5
5	น้ำผึ้งชี่ไถ่ย่าน	10
6	น้ำผึ้งชี่ไถ่ย่าน	15

ตารางที่ 15 (ต่อ) ตารางแสดงแผนการทดลองแบบ  $4 \times 3$  factorial in CRD

สิ่งทดลอง	Factor A	Factor B (ร้อยละขององค์ประกอบหลัก)
7	น้ำตาลซูโครส	5
8	น้ำตาลซูโครส	10
9	น้ำตาลซูโครส	15
10	ฟรุคโตสไซรัป	5
11	ฟรุคโตสไซรัป	10
12	ฟรุคโตสไซรัป	15

(องค์ประกอบหลักคือ น้ำข้าวกล้อง)

กรรมวิธีผลิตโยเกิร์ตข้าวกล้องเต็มเชื้อโพรไบโอติก (อิสรา, 2546) มีขั้นตอนตามลำดับดังนี้





## 2.2.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และประสาทสัมผัสของ โยเกิร์ตข้าวกล้อง

### การวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ

- ค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสีในหน่วย Hunter ( $L^* a^* b^*$ ) (ภาคผนวก ก-1)
- ค่าความหนืด (Viscosity) ใช้หน่วยการวัดเป็นเซนติพอยส์ (Centipoise) (ภาคผนวก ก-2)

### การวิเคราะห์ทางด้านเคมี

- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (ภาคผนวก ข-4)
- ค่าความเป็นกรดต่าง โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นค่า (Hanna Instrument, Italy) (ภาคผนวก ข-5)
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (AOAC, 1998) (ภาคผนวก ข-6)

### การวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์

- จำนวนเริ่มต้นทั้งหมดของ *S. thermophilus* *L. bulgaricus* และ *B. longum* ใช้วิธีเพลทเคาน์ (Viable plate count) แบบ spread plate โดยใช้ MRS agar (IDF Standard, 1997) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน (ภาคผนวก ก-2)
- นับจำนวนของเชื้อ *S. thermophilus* *L. bulgaricus* และ *Bifidobacterium* spp. โดยใช้วิธี Subtraction method (Dave and shah, 1996)

### การวิเคราะห์ลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส

- ทดสอบลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และความชอบโดยรวมโดยใช้ Scaling technique โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ได้รับการฝึกฝนมาแล้ว 10 คน (ภาคผนวก ง-1)

นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ Mean ideal ratio score ของผลการวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์และค่าทางด้านประสาทสัมผัสมาใช้ในการพิจารณาเลือกสูตร โยเกิร์ตข้าวกล้องที่ทำให้เชื้อ *B. longum* เจริญได้มากที่สุดเพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นต่อไป

ตอนที่ 3 ศึกษาผลของน้ำผึ้งลำไยและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และต่อ การเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $-12 \pm 1$  องศาเซลเซียส นาน 90 วัน

### 3.1 การผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง

#### 3.1.1 ทำการผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องจากสูตรโยเกิร์ตดังต่อไปนี้

- สูตรที่ 1 โยเกิร์ตข้าวกล้องที่มีน้ำผึ้งลำไยในปริมาณที่ทำให้เชื้อ *B. longum* เจริญได้ดีที่สุด
- สูตรที่ 2 โยเกิร์ตข้าวกล้องที่มีน้ำตาลทรายปริมาณเท่ากับน้ำผึ้งลำไยในสูตรที่ 1
- สูตรที่ 3 โยเกิร์ตข้าวกล้องที่มีฟรุคโตสไซรัปปริมาณเท่ากับน้ำผึ้งลำไยในสูตรที่ 1
- สูตรที่ 4 โยเกิร์ตข้าวกล้องที่มีน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านในปริมาณที่ทำให้เชื้อ *B. longum* เจริญได้ดีที่สุด
- สูตรที่ 5 โยเกิร์ตข้าวกล้องที่มีน้ำตาลทรายปริมาณเท่ากับน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านในสูตรที่ 4
- สูตรที่ 6 โยเกิร์ตข้าวกล้องที่มีฟรุคโตสไซรัปปริมาณที่เท่ากับน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านในสูตรที่ 4

#### 3.1.2 ขั้นตอนการทำไอศกรีมโยเกิร์ต

1. เปิดเครื่องทำไอศกรีม (Simac gelataio, England) ไว้ 15 นาที
2. นำโยเกิร์ตข้าวกล้องลงเครื่องปิดฝาแล้วเปิดใบพัดเป็นเวลา 20 นาที
3. บรรจุโยเกิร์ตลงถ้วยพลาสติกขนาด 3 ออนซ์ประมาณ 60 กรัม แล้วปิดด้วยฝาพลาสติก
4. เก็บผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้ที่อุณหภูมิ  $-12 \pm 1$  องศาเซลเซียส

### 3.2 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องทั้ง 6 สูตร

นำไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องทั้ง 4 สูตรไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ  $-12 \pm 1$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน โดยนำผลิตภัณฑ์แต่ละสูตรมาวิเคราะห์ค่าดังนี้

- การวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ

ทำการสุ่มตัวอย่างสูตรละ 3 ตัวอย่าง ในวันที่ 1 และ 90 เพื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านกายภาพดังต่อไปนี้

- ค่าการตีฟู (ภาคผนวก ก-3)
- ค่าการละลาย (ภาคผนวก ก-4)
- ค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี Color Quest II (Hunter Laboratory Inc., USA) (ภาคผนวก ก-1)
- วัดเนื้อสัมผัส ( Firmness ) โดยใช้เครื่อง TAXTplus Texture Analyser (ภาคผนวก ก- 5)

- การวิเคราะห์ทางด้านเคมี

ทำการสุ่มตัวอย่างสูตรละ 3 ตัวอย่าง ในวันที่ 1, 15, 30, 60 และ 90 เพื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านเคมีดังต่อไปนี้

- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (ภาคผนวก ข-4)
- ค่าความเป็นกรดต่าง โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นต่าง (Hanna Instrument, Italy)
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ข-5)

- การวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์

ทำการสุ่มตัวอย่างสูตรละ 3 ตัวอย่าง ในวันที่ 1, 15, 30, 60 และ 90 เพื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านจุลินทรีย์ดังต่อไปนี้

- จำนวนเริ่มต้นทั้งหมดของ *S. thermophilus* , *L. bulgaricus* และ *B. longum* ใช้วิธีเพลทเทาน์ (Viable plate count) แบบ spread plate โดยใช้ MRS agar (IDF Standard, 1997) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน (ภาคผนวก ก-2)
- นับจำนวนของเชื้อ *S. thermophilus* , *L. bulgaricus* และ *Bifidobacterium* spp. โดยใช้วิธี Subtraction method (Dave and shah, 1996)

ทำการทดลองสุตรละ 3 ซ้ำโดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD)  
วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan' s new multiple  
range test



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved