

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.1 สารเคมี

- 1.1.1 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride ; NaCl) AR Grade ของบริษัท BDH ของประเทศ
- 1.1.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide ; NaOH) AR Grade ของบริษัท BDH ของประเทศ
อังกฤษ
- 1.1.3 ฟีนอล์ฟทาเลอิน อินดิเคเตอร์ (Phenolphthalein indicator)
- 1.1.4 แอลกอฮอล์ 95% (alcohol 95%)
- 1.1.5 ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharide powder) ของบริษัท เฮล์ม มหานคร จำกัด
- 1.1.6 แซนแทนกัม (Xanthan gum) Food grade ของบริษัท คาร์กิลสยาม จำกัด
- 1.1.7 คาร์ราจีแนน (Carrageenan) Food grade ของบริษัท คาร์กิลสยาม จำกัด
- 1.1.8 Unipectin RS 150 Food grade ของบริษัท คาร์กิลสยาม จำกัด
- 1.1.9 Dimonoglycerol (DMG) Food grade ของบริษัท EAC จำกัด

1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 1.2.1 MRS broth
- 1.2.2 Peptone water
- 1.2.3 Agar

1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1.3.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Lamda ของบริษัท Perkin-Elmer ประเทศ
สหรัฐอเมริกา
- 1.3.2 เครื่องปั่นเหวี่ยงแยกสาร (Centrifuge) รุ่น Avanti TM J-25 ของบริษัท Beckman ประเทศ
สหรัฐอเมริกา
- 1.3.3 เครื่องปั่นไอศกรีมยี่ห้อ GAGGIA รุ่น Gelatiera ประเทศอิตาลี
- 1.3.4 ห้องเย็นอุณหภูมิ -35⁰ซ ของบริษัท RIVACOLD ASIA จำกัด
- 1.3.5 เครื่องวัดสี Chroma meter Minolta รุ่น CR300
- 1.3.6 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น F21 ของบริษัท Horiba ประเทศญี่ปุ่น
- 1.3.7 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ของบริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน
- 1.3.8 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น U30 ของบริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน
- 1.3.9 หม้อนึ่งความดันสูง (Autoclave) รุ่น ss-325 ของบริษัท Tomy ประเทศญี่ปุ่น
- 1.3.10 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar flow) รุ่น Biological safety cabinets class II ของบริษัท Gibthai ประเทศ
ออสเตรเลีย

- 1.3.11 เครื่องผสม (Vortex) รุ่น G-560E ของบริษัท Scientific industries ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 1.3.12 เครื่องนับจำนวนจุลินทรีย์ (Colony counter) ของบริษัท Stuart Science ประเทศอังกฤษ
- 1.3.13 เครื่องชั่งละเอียด (Balance) รุ่น AB104 ของบริษัท Metler Toledo ประเทศสวิสเซอร์

แลนด์

- 1.3.14 ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -18 °ซ รุ่น SF – 4992 NG ของบริษัท SANYO Uniliversell electric จำกัด

มหาชน

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 เชื้อจุลินทรีย์

Lactobacillus acidophilus TISTR No. 450 , *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* TISTR No.58 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2.1.1 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น คัดแปลงจากวิธีของ Nighwonger and others (1996)

(1) นำเชื้อ *Lb.acidophilus* และ *Lc. lactis* spp. *cremoris* ที่อยู่ในลักษณะผงแห้งจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเลี้ยงใน MRS broth โดยสภาวะปลอดการปนเปื้อนจากเชื้อชนิดอื่นๆ (aseptic technique) นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการถ่ายเชื้อ (subculture) อย่างน้อยสามครั้งเพื่อกระตุ้นให้เชื้อเจริญและมีความแข็งแรง

(2) ใช้เข็มเขี่ยเชื้อทำการแทง (stab) เชื้อที่ได้จากข้อ (1) ลงใน MRS agar butt นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดที่บ่มเสร็จแล้วไปทำการถ่ายเชื้อ เพื่อศึกษากราฟการเจริญ และสามารถเก็บเชื้อไว้ใช้งานได้อีกโดยการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ

2.2 การทดลองที่ 1 การศึกษากราฟการเจริญของเชื้อ *Lb. acidophilus* และ *Lc. lactis* spp. *cremoris*

เมื่อนำแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ถ้าแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะใสจะเปลี่ยนเป็นขุ่น ซึ่งความขุ่นนี้จะเพิ่มตามจำนวนเซลล์ที่มากขึ้น ดังนั้นการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจึงสามารถทำได้โดยการนำไปวัดความขุ่น โดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และนับจำนวนเชื้อโดยใช้วิธีการ Dilution plate count (จุฬารัตน์ ปริยชาติกุล 2542)

2.2.1 ใช้ลูปทำการถ่ายเชื้อที่ได้จากข้อ 2.1.1.2 ลงใน MRS broth ปริมาตร 100 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.2.2 จากนั้นนำมาทำการเจือจางให้ได้ความเจือจางที่เหมาะสมด้วย 0.1% peptone water และทำการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการนับเชื้อรายงานในรูปแบบ cfu/ml

2.2.3 เมื่อทราบจำนวนเชื้อเริ่มต้นจากข้อ 2.2.2 แล้ว ทำการเจือจางเชื้อเพื่อให้มีจำนวนเชื้ออยู่ในช่วง 10^2 cfu/ml โดยใช้ 0.1% peptone water ปริมาตร 99 มล. และใช้ MRS broth ปริมาตร 99 มล. ในระดับความเจือจางสุดท้ายซึ่งจะได้ MRS broth ที่มีจำนวนเชื้ออยู่ประมาณ 100 cfu/ml

2.2.4 นำ MRS broth ที่มีจำนวนเชื้ออยู่ประมาณ 100 cfu/ml ไปทำการบ่มในตู้บ่มที่ อุณหภูมิ

37°C โดยทำการสุมตัวอย่างเพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD 600) (จุฬารัตน์ และ เกษแก้ว, 2542) และนับจำนวนเชื้อโดยการ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงทำการนับจำนวนเชื้อรายงานในรูป cfu/ml

2.2.5 นำค่าการดูดกลืนแสง (OD 600) จำนวนเชื้อที่นับได้ และเวลาที่ทำการสุมตัวอย่างมาทำการสร้างกราฟการเจริญของเชื้อ โดยให้แกน x คือ เวลาที่ทำการสุมตัวอย่างและแกน Y คือ ค่าการดูดกลืนแสง (OD 600) และจำนวนเชื้อที่นับได้

2.3 การทดลองที่ 2 ศึกษาชนิดและปริมาณสารช่วยให้คงตัวที่เหมาะสมต่อไอศกรีมโยเกิร์ต

สารช่วยให้คงตัวที่ใช้ในการทดลอง คือ แชนแทนกัม (Ioanna and others 1992) และ คาราจีแนน (Marshall and Arbuckle 1996) ปริมาณที่ใช้ คือ 0.1% 0.2% และ 0.3% องค์ประกอบของส่วนผสมที่ใช้ คือ น้ำตาลทรายขาว หางนมผง ครีมข้น น้ำ โยเกิร์ต อิมัลซิไฟเออร์ และสารช่วยให้คงตัว

2.3.1 ขั้นตอนในการทดลอง

(1) การผลิตไอศกรีม

ซึ่งวัตถุดิบ ได้แก่ หางนมผง น้ำตาลทราย สารช่วยให้คงตัว อิมัลซิไฟเออร์ ครีมข้น และ น้ำสะอาดตามสูตรที่ได้คำนวณไว้ นำครีมข้นรวมกับน้ำสะอาดและให้ความร้อนจนได้อุณหภูมิ 50 °C จึงค่อยๆ ละลายหางนมผง น้ำตาลทราย อิมัลซิไฟเออร์ และสารช่วยให้คงตัวและคนจนละลาย จากนั้นจึงนำไปผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 °C 15 นาที และทำการโฮโมจีไนซ์ จากนั้นทำให้เย็นทันที และบ่มที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Goff 2003)

(2) การผลิตโยเกิร์ต

เตรียมกล้าเชื้อโยเกิร์ต (commercial yogurt culture) ที่แช่แข็งแห้งมาทำการถ่ายเชื้อ ปริมาณ 3% ลงใน นมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ (85 °C 15 นาที) (Gel- Nagar and others 2002) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42-43 °C ที่อุณหภูมิกระทั้งโยเกิร์ตที่ได้มี pH 4.5 จากนั้นนำไปให้เย็น ทำการกวน และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C (Kailasapathy 2006)

(3) การผลิตไอศกรีมโยเกิร์ต

ไอศกรีมโยเกิร์ตเหลวเตรียมจากไอศกรีมเหลว และ โยเกิร์ต จากข้อ (1) และ (2) ในอัตราส่วน ผสม 40 : 60 (สมจิต ฤกษ์สาห์ราย 2544) ผสมให้เข้ากันดี ปั่นให้แข็งด้วยเครื่องปั่นไอศกรีม เป็นเวลาประมาณ 25-30 นาที (สมจิต ฤกษ์สาห์ราย 2544) บรรจุใส่ด้วยพลาสติกปิดฝา จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิประมาณ -35 °C เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสและตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพด้านต่างๆ

2.3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพของไอศกรีมโยเกิร์ต

(1) การวัดค่าการละลาย (% meltdown) ตรวจสอบการต้านทานต่อการละลายของไอศกรีมโยเกิร์ต โดยนำไอศกรีมโยเกิร์ตปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีอุณหภูมิ -18 °C วางบนตะแกรงสเตนเลสที่มีขนาดรู 1×1 เซนติเมตร ซึ่งวางอยู่บนบีกเกอร์ นำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 °C เป็นเวลา 45 นาที แล้วชั่งน้ำหนักของไอศกรีมโยเกิร์ตที่ละลาย คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น (Ioanna and others 1992)

(2) การวัดค่าสี เครื่องมือที่ใช้คือ Chroma meter ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-300 ทำการวัดสีของไอศกรีมโยเกิร์ต โดยทำการวัดค่าสีในระบบ Hunter (L a b)

(3) การวัดเปอร์เซ็นต์การขึ้นฟู (%Overrun) ชั่งน้ำหนักไอศกรีมเหลวที่ใส่พอดีด้วยพลาสติก ที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้ว บนเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักไอศกรีมเหลวหลังจากปั่นเป็นไอศกรีมแล้วชั่งน้ำหนักไอศกรีมที่บรรจุพอดีด้วยพลาสติกใบเดิม บันทึกน้ำหนักไอศกรีมที่ได้ นำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การขึ้นฟู (Arbuckle 1986)

(4) การวัดเนื้อสัมผัส นำไอศกรีมโยเกิร์ตที่บรรจุเต็มด้วยพลาสติก ซึ่งแช่แข็งไว้มากำหนดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer ; Stable Micro System, TA/TX 2) อาศัยหลักการจากค่าแรงกดที่กระทำต่อไอศกรีมที่ระยะทางคงที่ ใช้หัววัดแบบ cylinder stainless steel ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm บันทึกค่าแรงที่อ่านได้เมื่อหัววัดแทงทะลุตัวอย่างที่มีความลึก 25 mm โดยใช้ความเร็วที่ 1 mm/s ค่าความแข็งวัดได้จาก พิกสูงสุดของแรงกด (N) ระหว่างที่โพรบทะลุตัวอย่าง (Gel-Nagar and others 2002)

2.3.3 แผนการทดลอง

ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ 2×3 Factorial Experimental in Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีดเมนต์ โดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

2.3.4 การทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัส

ทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของไอศกรีมโยเกิร์ตโดยเสิร์ฟตัวอย่างไอศกรีมเมื่อนำออกจากตู้แช่แข็ง 3 นาที และทำการทดสอบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Preference test และ Hedonic-9- scale ซึ่งมีระดับคะแนน 1-9 (1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด) โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน คุณลักษณะที่ทดสอบ ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส

2.3.5 แผนการทดลอง

ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ 2×3 Factorial Experimental in Randomized Complete Block Design version 10.0 ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีดเมนต์ โดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

2.4 การทดลองที่ 3 ศึกษาการเหลือรอดของแบคทีเรียโปรไบโอติกต่างชนิดกันในระหว่างกระบวนการผลิตไอศกรีม

โปรไบโอติกที่ใช้คือ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactococcus. Lactis* spp. *cremoris* และเชื้อผสมระหว่าง *Lb. acidophilus* และ *Lc.lactis* spp. *cremoris* ในอัตราส่วนที่เท่ากันคือ 1:1

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก โดยการนำเชื้อแบคทีเรีย *Lb.acidophilus* และ *Lc.lactis* spp. *cremoris* เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth โดยทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ โดยใช้เวลาในการบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อให้เข้าสู่ช่วงเฟสคงที่ (stationary phase) ตามการทดลอง 2.2

2.4.1 การเติมโปรไบโอติกในไอศกรีม (ดัดแปลงจาก Nighwonger and others 1996)

(1) นำอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่เพาะเลี้ยงแบคทีเรียแต่ละชนิดเทลงในหลอดปั่นเหวี่ยงที่ปราศจากเชื้อ (aseptic) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ด้วยความเร็วรอบ 12,000 × g ที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 10 นาที

(2) จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้ง แล้วทำการล้างเซลล์ด้วย phosphate buffer 2 ครั้ง และนำเซลล์ที่ได้ไปเติมในส่วนผสมไอศกรีมหลังการบ่ม

2.4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงและการเหลือรอดชีวิตในขั้นตอนการปั่นไอศกรีม(freezing)และขั้นตอนการแช่แข็งไอศกรีม(hardening) ของ *Lb.acidophilus* และ *Lc.lactis* spp. *cremoris* และเชื้อผสมระหว่าง *Lb. acidophilus* และ *Lc.lactis* spp. *cremoris* ในอัตราส่วนที่เท่ากันคือ 1:1 ติดตามผลการทดลองโดย

(1) นับจำนวนเชื้อ *Lb.acidophilus* , *Lc.lactis* spp. *cremoris* และเชื้อผสมระหว่าง *Lb. acidophilus* และ *Lc.lactis* spp. *cremoris* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

(2) วัด % ความเป็นกรด (AOAC 2000)

(3) วัด pH (pH meter)

2.4.3 แผนการทดลอง

ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ 3×2 Factorial Experiment in Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีดเมนต์ โดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

2.5 การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติกและ สารป้องกันอันตรายจากความเย็น ที่ส่งผลต่อการเสื่อมสภาพของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกในไอศกรีมโยเกิร์ต

นำผลการทดลองที่ 2.4 ที่พบว่ามีการเสื่อมสภาพของโปรไบโอติกมากที่สุดมาทำการศึกษาต่อโดยปัจจัยที่จะศึกษาคือการเติมพรีไบโอติกและสารป้องกันอันตรายจากความเย็น ที่ส่งผลต่อการเสื่อมสภาพของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง คือ

- ก. ไอศกรีมโยเกิร์ตที่ไม่มีการเติม พรีไบโอติก และ สารป้องกันอันตรายจากความเย็น (ควบคุม)
- ข. ไอศกรีมโยเกิร์ตที่มีการเติม พรีไบโอติก ชนิด Raftilose[®] 95 1.5% (Fructooligosaccharide)
- ค. ไอศกรีมโยเกิร์ตที่มีการเติมสารป้องกันอันตรายจากความเย็น ชนิด Unipeptine[™] RS 150 2.5%

2.5.1 ติดตามผลการทดลองโดยการ

- (1) นับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ในไอศกรีมโยเกิร์ตในขั้นตอนการปั่นไอศกรีม (freezing) และขั้นตอนการแช่แข็งไอศกรีม (hardening) โดยใช้การ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง
- (2) วัด % ความเป็นกรด (AOAC 2000)
- (3) วัด pH (pH meter)

2.5.2 แผนการทดลอง

ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ 3X2 Factorial Experiment in Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีดเมนต์ โดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

2.6 การทดลองที่ 5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียโปรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาไอศกรีมที่อุณหภูมิ ต่ำ (-18 °C)

นำผลการทดลองที่ได้ จาก 2.5 ที่พบว่าให้การเสื่อมสภาพของโปรไบโอติกมากที่สุดมาทำการศึกษาต่อ โดยทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียโปรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาไอศกรีมที่อุณหภูมิ ต่ำ (-18 °C) เป็นเวลา 2 เดือน

โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 6 การทดลองคือ

1. การเสื่อมสภาพของโปรไบโอติกเมื่อทำการเก็บที่ระยะเวลา 0 สัปดาห์
2. การเสื่อมสภาพของโปรไบโอติกเมื่อทำการเก็บที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์
3. การเสื่อมสภาพของโปรไบโอติกเมื่อทำการเก็บที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์
4. การเสื่อมสภาพของโปรไบโอติกเมื่อทำการเก็บที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์
5. การเสื่อมสภาพของโปรไบโอติกเมื่อทำการเก็บที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์
6. การเสื่อมสภาพของโปรไบโอติกเมื่อทำการเก็บที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

2.6.1 คัดตามผลการทดลองโดยการ

- (1) นับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ในไอศกรีมโยเกิร์ตในขั้นตอนการปั่นไอศกรีม (freezing) และขั้นตอนการแช่แข็งไอศกรีม (hardening) โดยใช้การ pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง
- (2) วัด % ความเป็นกรด (AOAC 2000)
- (3) วัด pH (pH meter)

2.6.2 แผนการทดลอง

ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยพหุคูณโดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

2.7 การทดลองที่ 6 ทดสอบความชอบความชอบโดยรวมระหว่างไอศกรีมโยเกิร์ตที่มีการเติมโปรไบโอติกกับฟรีไบโอติกและไอศกรีมโยเกิร์ตทั่วไป

ทดสอบความชอบโดยรวมของไอศกรีมโยเกิร์ตที่มีการเติมโปรไบโอติกกับฟรีไบโอติกและไอศกรีมโยเกิร์ตทั่วไป โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 60 คน โดยเตรียมตัวอย่างไอศกรีมเมื่อนำออกจากตู้แช่แข็ง 3 นาที และทำการทดสอบทดสอบความชอบโดยรวมของตัวอย่างไอศกรีมโดยวิธี Pair Preference Test และ Preference test โดยให้คะแนนความชอบ (Hedonic scale) ซึ่งมีระดับคะแนน 1-9 (1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด)

2.7.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design โดยใช้ 9-point scale Hedonic วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0 ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยพหุคูณโดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

2.8 การทดลองที่ 7 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไอศกรีมโยเกิร์ต

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไอศกรีมโยเกิร์ตโดยใช้เครื่อง Milko Scan โดยวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้ คือ

- 2.8.1 % โปรตีน
- 2.8.2 % ไขมัน
- 2.8.3 % แลคโตส
- 2.8.4 % ของแข็งไม่รวมไขมัน

2.9 การทดลองที่ 8 ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของไอศกรีมเสริมโปรไบโอติกกับพรีไบโอติก

ทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ประกอบด้วย

2.9.1 เปอร์เซ็นต์การขึ้นฟู (% Overrun)

2.9.2 ค่าสี L a b

2.9.3 ค่าเปอร์เซ็นต์การละลาย(% Meltdown)

2.9.4 ค่าความแน่นแข็ง (N)

3. สถานที่ทำวิจัย

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น