

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

วัตถุดิบ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1 วัตถุดิบ

- ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 จากศูนย์เพาะพันธุ์พืชเขต 10 อ.แม่เหิยะ จ.เชียงใหม่
- นมผงขาดมันเนยที่ผ่านการทำให้แห้งโดยกระบวนการ Spray drying ตรามิชชั่น (Mission, New Zealand)
- คาราจีแนน (Carrageenan type K-100) (Copenhagen Pectin A/S, Denmark)
- น้ำตาลทรายขาวตรามิตรผล
- น้ำผึ้งลำไยที่เก็บในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน จากสุภาพาร์มผึ้ง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่
- เชื้อโยเกิร์ต *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* YC-380 จาก Chr. Hansen, Denmark
- เชื้อโพรไบโอติก *Bifidobacterium longum* Bb-46 จาก Chr. Hansen, Denmark

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

- เตาแก๊สที่ใช้ในครัวเรือน
- ตะเกียงเบนเสน
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส (Gallenkamp, England)
- หม้อนึ่งความดัน (Gallenkamp, England)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert, USA)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, Germany)
- บีกเกอร์สเตนเลสขนาด 2 ลิตร และ 1 ลิตร
- บีกเกอร์แก้ว (Pyrex, USA)

- ขวดแก้วฝาเกลียว (Schott Duran, Germany)
- ปิเปตแบบ Measuring pipettes (HBG, Germany)
- อะคูมิเนี่ยมฟอยล์ (Diamond, USA)
- หม้ออะคูมิเนี่ยม
- ขวดแก้วพร้อมฝาเกลียว
- เครื่องชั่งน้ำหนักความละเอียด 3 ตำแหน่ง
- เครื่องปั่นแยกกาก (ยี่ห้อ เซ็นทรัล รุ่น CHT 3 in 1)
- เครื่องปั่นผสม (ยี่ห้อ National)

3.2.2 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter CR-300 Series, Japan)
- เครื่องวัดความข้นหนืด Brookfield Rotary Viscomiter (USA)
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัส TA-XT plus Texture analyzer (Stable Micro System, UK)

3.2.3 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

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

3.2.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปิเปต แบบ Measuring pipettes (HBG, Germany) ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- งานเลี้ยงเชื้อ
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส (Gallenkamp, England)
- หม้อนึ่งความดัน (Gallenkamp, England)
- เตาอบลมร้อน (Haereous, England)
- ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร (Schott Duran, Germany)

- เครื่องนับจำนวนโคโลนี
- ตู้เย็น (Sharp, Thailand)
- เครื่องผสมแบบหมุนวน (Vortex genie 2 ; Model G 560 E, USA)
- กล้องจุลทรรศน์ชนิด 2 ตา (Olympus DP 12, Japan)

3.3 สารเคมี

- น้ำกลั่น
- เอทิลแอลกอฮอล์ (Merck, Germany)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, Germany)
- กรดซัลฟูริก (Merck, Germany)
- คอปเปอร์ซัลเฟต (Carlo erba, Italy)
- กรดเกลือ (Merck, Germany)
- เมธิลออเรนจ์ (Fluka, Switzerland)
- ฟีนอล์ฟธาเลอิน (Merck, Germany)
- เมธิลีนบลู (Fluka, Switzerland)
- ผงวุ้น (โอ.วี.เคมิคอล ประเทศไทย)
- MRS broth (Himedia, India)
- Tryptone (Merck, Germany)
- Casamino acids (Difco, USA)
- Phytone peptone (BBL, USA)
- Potassium dihydrogen phosphate (M&B, USA)
- Yeast extract (Merck, Germany)

3.4 เครื่องประมวลผลข้อมูล

- โปรแกรมประมวลผลสำเร็จรูป SPSS V.10.0 (SPSS Inc., Chicago)

3.5 วิธีการศึกษา

ตอนที่ 1 ศึกษาวิธีการผลิตและสูตรโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเดิมเชื้อจุลินทรีย์ *B. longum* ที่เหมาะสม

1.1 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (Starter culture propagation)

เชื้อโยเกิร์ตและเชื้อโพรไบโอติกเริ่มต้นเป็นเชื้อแบบแห้งที่ถูกทำให้แห้ง โดยวิธีการแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) โดยเชื้อโพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาคือ *B. longum* มีเชื้อเริ่มต้นประมาณ 1.0×10^8 CFU/g และเชื้อโยเกิร์ตเป็นเชื้อในกลุ่มเทอร์โมฟิลิกแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* อัตราส่วน 1:1 มีเชื้อเริ่มต้นประมาณ 1.0×10^{10} CFU/g

1.1.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นขั้นแรก (Stock culture)

เตรียมสารละลายลิตมัส (Litmus Solution) ซึ่งมีส่วนประกอบคือ นมผงขาดมันเนยร้อยละ 16 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ลิตมัสร้อยละ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ยีสต์เอกแทรกที่ร้อยละ 0.3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และแคลเซียมคาร์บอเนตในปริมาณที่พอให้ตกตะกอนคลุมกันขวดพอดี ตวงสารละลายลิตมัสลงในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 50 มิลลิลิตร ให้มีปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 นาที นำมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสโดยแช่ขวดแก้วฝาเกลียวที่บรรจุสารละลายลิตมัสในน้ำที่อุณหภูมิห้องนำเชื้อ *B. longum* และเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* (อัตราส่วน 1:1) ที่เตรียมจากตอนที่ 1.1 ปริมาตรร้อยละ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) มาเพาะในขวดแก้วฝาเกลียวและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วนำหลอดทดลองที่เพาะเชื้อได้เข้าเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการเก็บไม่เกิน 2 สัปดาห์ (ภวัต, 2544)

1.1.2 การทำ Mother culture

เตรียมนมที่ใช้หมักโดยใช้นมผงขาดมันเนยร้อยละ 16 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และยีสต์เอกแทรกที่ร้อยละ 0.1 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ในขวดฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที ลอดอุณหภูมิลงเหลือ 37 องศาเซลเซียสโดยแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง เพาะเชื้อจาก Stock cultures ปริมาตรร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) นำเข้าบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 36 ชั่วโมง และนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยมีอายุการเก็บรักษานานไม่เกิน 7 วัน (ภวัต, 2544)

1.1.3 การทำ Intermediate starter

เตรียมนมที่ใช้หมักโดยใช้นมผงขาดมันเนยร้อยละ 16 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในขวดฝาเกลียว ขนาด 1 ลิตร ขวดละ 400 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที หลังจากนั้นนำมาลดอุณหภูมิลงเหลือ 37 องศาเซลเซียสโดยแช่ขวดลงในน้ำที่ อุณหภูมิห้อง นำเชื้อจาก Mother culture มาเพาะปริมาณร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือจนมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 3.8-4.0 นำไป เก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 2 วัน นำเชื้อเริ่มต้นจาก Intermediate starter เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทำผลิตภัณฑ์ในการทดลอง (ภวัต, 2544)

1.2 การเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองก่อนนำไปผลิตโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเต็มเชื้อ *B. longum*

ขั้นตอนการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองคัดแปลงจากวิธีของ Kamary (1997) ซึ่งมีวิธีการผลิตตามลำดับ ดังนี้

ล้างถั่วเหลืองสายพันธุ์ เชียงใหม่ 60 ให้สะอาดโดยใช้น้ำกลั่น

↓
 แช่ในสารละลาย NaHCO_3 ร้อยละ 0.5 ใช้อัตราส่วนถั่วเหลือง : สารละลายเท่ากับ 1:4 (น้ำหนัก/ปริมาตร) แช่นาน 6-8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

↓
 แช่ในน้ำร้อน อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

↓
 ล้างให้สะอาดจนหมดกลิ่นต่างด้วยน้ำกลั่น

↓
 นำเข้าเครื่องแยกกากโดยผสมด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนถั่วเหลือง (น้ำหนักเปียก) : น้ำเท่ากับ 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร)

↓
 กรองเอากากออกด้วยผ้าขาวบางหนา 2 ชั้น

↓
 น้ำนมถั่วเหลือง

1.3 การเตรียมโยเกิร์ตถั่วเหลืองเติมจุลินทรีย์ *B. longum*

กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองคัดแปลงจากวิธีของ Kamary (1997) มีขั้นตอน ดังนี้

- แบ่งนมถั่วเหลือง 500 มิลลิลิตรใส่ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 600 มิลลิลิตรเติมนมผงขาดมันเนยเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) แบ่งตัวอย่างเป็น 8 สูตรดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 สูตรของนมถั่วเหลืองที่เตรียมผลิตโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

สูตรที่	การเติมคาราจีแนน	สารให้ความหวาน	ความเข้มข้นของสารให้ความหวาน (ร้อยละ)
1	ไม่เติม	น้ำผึ้งลำไย	5
2	ไม่เติม	น้ำผึ้งลำไย	10
3	ไม่เติม	น้ำตาลซูโครส	5
4	ไม่เติม	น้ำตาลซูโครส	10
5	เติมคาราจีแนนร้อยละ 0.1	น้ำผึ้งลำไย	5
6	เติมคาราจีแนนร้อยละ 0.1	น้ำผึ้งลำไย	10
7	เติมคาราจีแนนร้อยละ 0.1	น้ำตาลซูโครส	5
8	เติมคาราจีแนนร้อยละ 0.1	น้ำตาลซูโครส	10

- นำนมถั่วเหลืองแต่ละสูตรเข้าเครื่องปั่นผสมที่ความเร็ว 21,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 3 นาที เพื่อผสมส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
- ทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ให้อุณหภูมิของนมถั่วเหลืองเท่ากับ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที โดยการควบคุมอุณหภูมิใช้ขวดแก้วฝาเกลียวบรรจุนมถั่วเหลือง ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ใช้เทอร์โมมิเตอร์ใส่ในขวดนี้ให้อยู่ในระดับกึ่งกลาง อุณหภูมิของนมถั่วเหลืองในขวดนี้ใช้อ้างอิงในการควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างอื่นๆ
- ทำให้นมถั่วเหลืองเย็นลงโดยแช่ขวดแก้วฝาเกลียวที่บรรจุส่วนผสมลงในอ่างน้ำเย็นเพื่อลดอุณหภูมิจนถึงอุณหภูมิในการหมักที่ 37 องศาเซลเซียส
- ถ่ายเชื้อเริ่มต้นจาก Intermediate starter คือ Mixed culture YC380 (*S. thermophilus* และ *L. bulgaricus*) ลงไปในนมถั่วเหลืองปริมาตรร้อยละ 1 (ปริมาตร/ปริมาตร) และ *B. longum* ปริมาตรร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) ลงไปในนมถั่วเหลืองแล้วบ่มไว้ที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37

องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาการบ่มนาน 16, 18 และ 20 ชั่วโมงซึ่งระยะเวลาดังกล่าวนี้เป็นระยะเวลาที่ได้จากการศึกษาเบื้องต้น

- เก็บผลิตภัณฑ์รักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

1.4 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมี ของโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเต็มเชื้อ *B. longum*

การวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ

- วัดค่าความหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscosmeter มีหน่วยเป็นเซนติพอยส์ (Centipoise) (ภาคผนวก ก-2)
- วัดสีใช้ระบบ Hunter (L a b) โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta (ภาคผนวก ก-1)
- วัดเนื้อสัมผัส โดยใช้เครื่อง TAXT plus Texture Analyzer (ภาคผนวก ก-3)
- วัดปริมาณน้ำเวย์มีหน่วยเป็นร้อยละ โดยใช้กระบอกนิตยาคูดน้ำเวย์ออกจากโยเกิร์ต เปรียบเทียบกับปริมาตรของนมถั่วเหลืองที่ใช้เตรียมก่อนทำโยเกิร์ต

การวิเคราะห์ทางด้านเคมี

- ปริมาณกรดแลคติกที่ไตเตรทได้ (Total titratable acidity) โดยการไตเตรทตามวิธีของ AOAC (2000) (ภาคผนวก ข-1)
- ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง โดยใช้พีเอชมิเตอร์ (pH-meter) (ภาคผนวก ข-2)

การวางแผนการวิจัยทางสถิติ

ทำการจัดตั้งทดลองแบบแฟคทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Factorial Experiment in Complete Randomized Design) โดยมีการศึกษา 4 ปัจจัย ดังนี้ ปัจจัยที่ 1 คือ ปริมาณการจืดนม มีการศึกษา 2 ระดับ คือ ร้อยละ 0 และ 0.1 ปัจจัยที่ 2 คือ ชนิดของสารให้ความหวาน มีการศึกษา 2 ชนิด คือ น้ำผึ้งลำไย และน้ำตาลซูโครส ปัจจัยที่ 3 ระดับความเข้มข้นของสารให้ความหวาน มีการศึกษา 2 ระดับคือ ร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ปัจจัยที่ 4 คือ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง มีการศึกษา 3 ระดับคือ 16, 18 และ 20 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับปัจจัยที่ 3 ถ้าพบว่ามีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) จะทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMTR) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (SPSS Inc., Chicago) นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์มาพิจารณาเลือกสูตรโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเต็มเชื้อ *B. longum* ที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นต่อไป

ตอนที่ 2 ศึกษาระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมของเชื้อ *B. longum* ในโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

การศึกษาระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมของเชื้อ *B. longum* ในโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองทำโดยนำตัวอย่างโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองสูตรที่ดีที่สุดจากผลการทดลองตอนที่ 1 มาวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *B. longum*, *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* โดยใช้ระยะเวลาการบ่มนาน 16, 18 และ 20 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส วางแผนการวิจัยแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวน ถ้าพบว่ามีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMTR) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (SPSS Inc., Chicago) นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์มาใช้พิจารณาเลือกระยะเวลาที่ให้เชื้อ *B. longum* เจริญได้ดีที่สุด เพื่อมาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

ตอนที่ 3 ศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเติมเชื้อ *B. longum*

การวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส เพื่อศึกษาว่าโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเติมจุลินทรีย์ *B. longum* สูตรน้ำผึ้งลำไยและสูตรน้ำตาลชูโครส ซึ่งเป็นสารให้ความหวานต่างชนิดกันจะมีรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิมแตกต่างกันอย่างไร โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน ทำการผลิตภัณฑ์ในด้านสี กลิ่นถั่วเหลือง กลิ่นน้ำผึ้ง กลิ่นโยเกิร์ต ลักษณะเนื้อสัมผัส ความรู้สึกในปาก รสหวาน รสเปรี้ยว และการยอมรับโดยรวม ซึ่งมีวิธีการให้คะแนนแบบ Hedonic Scaling ช่วง 1-9 โดยมีรายละเอียดดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย	7 = ชอบปานกลาง
2 = ไม่ชอบมาก	5 = เฉยๆ	8 = ชอบมาก
3 = ไม่ชอบปานกลาง	6 = ชอบเล็กน้อย	9 = ชอบมากที่สุด

โดยวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial in Randomized Complete Block Design ทำ 3 ซ้ำ การทดลองโดยมีการศึกษา 2 ปัจจัยดังนี้ ปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดของสารให้ความหวาน คือน้ำผึ้งลำไย และน้ำตาลชูโครส ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของสารให้ความหวาน มีการศึกษา 2 ระดับคือ ร้อยละ 5 และร้อยละ 10 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนถ้าพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) จะนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์มาพิจารณาเลือกสูตรโยเกิร์ตที่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบมากที่สุด เพื่อมาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

ตอนที่ 4 ศึกษาผลของน้ำผึ้งลำไยและน้ำตาลซูโครสต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และการเติบโตของเชื้อ *B. longum* ในโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5±1 องศาเซลเซียส นาน 28 วัน

เมื่อได้สิ่งทดลองตามแผนงานที่กำหนดนำตัวอย่างโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองซึ่งผ่านกระบวนการหมักแล้วบรรจุในขวดแก้วปิดฝาสนิท ขนาด 100 มิลลิตร และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5±1 องศาเซลเซียส นำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลินทรีย์ กายภาพ และ เคมี ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 โดยทำการจัดสิ่งทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน ถ้าพบว่ามี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMTR) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (SPSS Inc., Chicago) เพื่อหาข้อสรุปจากการทดลองเปรียบเทียบผลการใช้ น้ำผึ้งลำไยและน้ำตาลซูโครสต่อการเติบโตของเชื้อ *B. longum* ในโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเดิมเชื้อ

B. longum

การวิเคราะห์ทางด้านเคมี

- ปริมาณกรดแลกติกที่ไตเตรทได้ (Total titratable acidity) โดยการไตเตรทตามวิธีของ AOAC (2000) (ภาคผนวก ข-1)
- ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง โดยใช้พีเอชมิเตอร์ (pH-meter) (ภาคผนวก ข-2)
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยวิธีการของ Lane and Eynon (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ข-3)

การวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์

- นับจำนวนเชื้อเริ่มต้นทั้งหมดของ *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* และ *B. longum* โดยใช้วิธี pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar (IDF, 1997) บ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน (ภาคผนวก ก-1)
- นับจำนวนเชื้อ *B. longum* และเชื้อ โยเกิร์ตโดยใช้วิธี Subtraction method (Dave and shah, 1996) (ภาคผนวก ก-2)

การวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ

- วัดค่าความหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield Viscosmeter มีหน่วยเป็น เซนติพอยส์ (Centipoise) (ภาคผนวก ค-2)
- วัดสีใช้ระบบ Hunter (L a b) โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta (ภาคผนวก ค-1)
- วัดเนื้อสัมผัส โดยใช้เครื่อง TAXT plus Texture Analyzer (ภาคผนวก ค-3)
- วัดปริมาณน้ำเวย์มีหน่วยเป็นร้อยละโดยใช้กระบอกถักยาคูค่น้ำเวย์ออกจากโยเกิร์ต เปรียบเทียบกับปริมาตรของนมถั่วเหลืองที่ใช้เตรียมก่อนทำโยเกิร์ต