ผลของเทมเป้ผงต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียโปรไบโอติกในโยเกิร์ต ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

Effect of Tempeh Powder on Viability of Probiotic Bacteria in Yogurt during Refrigerated Storage

วนิดา โอศิริพันธุ์[1]

Vanida Osiripun[1]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของเทมเป้ผงต่อการอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียในโยเกิร์ตระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในงานวิจัยได้เตรียมเทมเป้ผงที่มีลักษณะดังนี้ ค่าความชื้นร้อยละ 4.48 ค่า Aw 0.434 ค่าสี L 79.7 a+ 3.9 b+ 27.4 ผลการศึกษาปริมาณ เทมเป้ผงต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากการทดลองเติมเทมเป้ผงในปริมาณร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 พบว่าปริมาณเทมเป้ผงร้อยละ 0.5 เป็นปริมาณที่ทำให้ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ยังคงอยู่ในระดับมาตรฐานตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน ผลของการเติมน้ำผึ้งร่วมกับเทมเป้ผงต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยทำการผันแปรปริมาณร้อยละเทมเป้ผงและน้ำผึ้ง ดังนี้ 0 เทมเป้และ 0 น้ำผึ้ง, 0.5 เทมเป้และ 0 น้ำผึ้ง, 0 เทมเป้และ 3 น้ำผึ้ง และ 0.5 เทมเป้และ 3 เทมเป้ พบว่าการเติมน้ำผึ้งร้อยละ 3 และ การเติมน้ำผึ้งร้อยละ 3 ร่วมกับการเติมเทมเป้ผงร้อยละ 0.5 ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ยังคงอยู่ในระดับมาตรฐานตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน ปริมาณร้อยละกรดแลคติกอยู่ในช่วง 0.9-1.2 และค่า pH อยู่ในช่วง 4.3-4.5

คำสำคัญ : เทมเป้ผง โยเกิร์ต *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*

ABSTRACT

The objective of this present research was to study the effect of tempeh powder on viability of probiotic bacteria in yogurt during refrigerated storage. This research used prepared tempeh powder which had 4.48% moisture content, 0.434 water activity and L, a, b value at 79.7 , +3.9 , +27.4. The effect of 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2 % tempeh powder on the number of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yogurt during storage at 4 ^{0} C was evaluated. The result showed that adding 0.5 % tempeh powder could be kept the number of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in standard level until 28 days of storage. Then, four of yogurt formulas

[1]Biotechnology Faculty Rangsit University Tel. 02-9972222 Ext. 1563

contained 0% tempeh powder and 0% honey, 0.5% tempeh powder and 0% honey, 0 % tempeh powder and 3 % honey, 0.5% tempeh powder and 3% honey were developed and tested on the number of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yogurt during storage at 4 ^{0}C. The result showed that using 0 % tempeh powder combined with 3 % honey and 0.5% tempeh powder combined with 3% honey could keep the number of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in standard level until 28 days of storage. These two yogurt formula had lactic acid in the range of 0.9-1.2 % and had pH in the range of 4.3-4.5

Keywords : tempeh powder , yogurt, *Lactobacillus bulgaricus* , *Streptococcus thermophilus*

E-mail : **Vanida@rsu.ac.th**

คำนำ

มนุษย์ดำรงชีวิตอยู่ได้เพราะอาหาร ที่เราจัดว่าเป็นปัจจัยสี่ที่สำคัญ และมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิตของมนุษย์ ดังนั้นการเลือกรับประทานอาหารจึงเป็นสิ่งที่ผู้คนทุกวันนี้ต้องหันมาใส่ใจ และให้ความสำคัญกันมากขึ้น ทั้งนี้เพราะในปัจจุบันมักมีการใช้วัตถุเจือปนใส่ลงในอาหาร เช่นวัตถุกันเสีย ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ การบริโภคอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะ เช่น อาหารที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรค และสารเคมีที่ใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร จึงได้มีความพยายามที่หาทางในการแก้ปัญหาเชื้อก่อโรค และหาสารกันเสียธรรมชาติมาทดแทน ซึ่งมีความปลอดภัยมากกว่าสารกันเสียที่มาจากการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ถ้าหากได้รับในปริมาณมากติดต่อกันเป็นเวลานาน ทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจ และมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง คือ การใช้สารต้านจุลชีพที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตอาหารหมักดองซึ่งก็คือแบคทีเรียแลคติก ตลอดจนการเลือกรับประทานอาหารประเภทโปรไบโอติก แบคทีเรียแลคติก เป็นแบคทีเรียที่พบมากในอาหารประเภท อาหารหมัก เช่น แหนม ผักดอง ผลไม้ดอง ไส้กรอกเปรี้ยว ผลิตภัณฑ์นม เช่น เนยแข็ง นมเปรี้ยวหรือโยเกิร์ต และยังพบได้ในร่างกายคน และสัตว์ เช่นระบบทางเดินหายใจ และระบบทางเดินอาหาร อวัยวะสืบพันธุ์ ในระดับอุตสาหกรรมมีการใช้แบคทีเรียแลกติกเป็นหัวเชื้อตั้งต้นเพื่อเติมลงไปในอาหาร มีผลต่อกลิ่น รส และเนื้อสัมผัสของอาหาร แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ท่อนสั้น หรือยาว ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase negative) ไม่เคลื่อนที่ (non motile) ต้องการอากาศเล็กน้อยในการเจริญ (micro aerophile) บางชนิดสามารถเจริญได้ในที่ๆ ไม่มีอากาศ (strictly anaerobe) ให้ผลผลิตหลักจากการหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตส คือ กรดแลคติก ตัวอย่างของแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด 12 สกุล ได้แก่ *Lactobacillus, Pediococcus, Streptococcus, Lactococcus, Leuconostoc, Enterococcus, Aerococcus, Carnobacterium, Oenococcus, Tetragenococcus, Vagococcus* and *Weissella (Wood and Holzapfel, 1997)*

บทบาทของแบคทีเรียแลคติกในอาหารหมักพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้น ตลอดจนเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งคือ

การสร้างกรดและการลดลงของค่า pH กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย ทั้งกรดแลคติกและกรดแอซิติก นอกจากนั้นยังมีสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่เกิดขึ้นและมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภทพอลีเปปไทด์ โครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน แบคเทอริโอซินส่วนใหญ่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติก โดยแบคทีเรียแลคติกแต่ละสายพันธุ์จะให้คุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่แตกต่างกันไป ทั้งคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น น้ำหนักโมเลกุล โครงสร้างโมเลกุล สมบัติทางพันธุกรรม และสมบัติทางชีวเคมี ตัวอย่างสารที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติกแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารยับยั้งที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติก

Inhibitor substance	Strain of lactic acid bacteria
Hydrogen peroxide	*Lactobacillus sp. , Pediococcus sp*
Nisin and diplococcin	*Streptococcus sp.*
Lactocin and lactobacillin	*Lactobacillus plantarum*
Lactobrevin	*Lactobacillus brevis*
Bulgarican	*Lactobacillus bulgaricus*
Acidophillin, lactocidin,acidolin,lactolin	*Lactobacillus acidophillus*

ที่มา : ปิ่นมณี , 2547

กลไกการหมัก จากการเติมแบคทีเรียแลคติกลงไปสามารถอธิบายได้ดังนี้ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* มีการเจริญร่วมกันแบบได้ประโยชน์ร่วมกัน คือ *Streptococcus thermophilus* จะเจริญได้ดีในตอนเริ่มต้นของการหมัก เนื่องจากมันถูกกระตุ้นการเจริญเติบโตโดยกรดอะมิโนอิสระ เช่น กรดกลูตามิก, โฟลีนซึ่งถูกสร้างโดย *Lactobacillus bulgaricus* จากนั้น *Streptococcus thermophilus* จะสร้างกรดออกมาทำให้ ค่าpH ลดลงอยู่ในสภาวะกรดอ่อนๆ ประมาณ 5.5 ซึ่ง pH ในช่วงนี้เหมาะสมต่อการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* นอกจากนี้ *Streptococcus thermophilus* ยังช่วยกำจัดออกซิเจนออกจากนม เพราะถ้ามีออกซิเจนเหลืออยู่อาจก่อให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นสารพิษต่อตัวจุลินทรีย์และยังเป็นจุลินทรีย์ที่อาจก่อให้เกิดกลิ่นคล้ายครีมเนยในโยเกิร์ต จากนั้น *Lactobacillus bulgaricus* จะป้องกันไม่ให้ปริมาณ acetaldehyde สูงเกินไป และทำให้ pH ลดลงประมาณ 4-4.5 (สุมณฑา, 2545)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติก ได้แก่ สายพันธุ์ของแบคทีเรียโปรไบโอติกที่ใช้ ความเป็นกรดสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ ความเข้มข้นของกรดแลคติก กรดอะซีติก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการผลิต และการเก็บรักษาในห้องเย็น นอกจากนี้การอยู่รอดยังขึ้นอยู่กับการขาดสารอาหารในน้ำนม สารเร่งและสารยับยั้งการเจริญ ความดันออสโมติก ปริมาณออกซิเจนในผลิตภัณฑ์ และออกซิเจนที่ผ่านเข้าภาชนะบรรจุ ปริมาณกล้าเชื้อที่เติม อุณหภูมิที่ใช้บ่ม เวลาของการหมักและอุณหภูมิของการเก็บรักษา(Akalinและคณะ, 2004)

การเพิ่มสารอาหาร ที่เหมาะสมลงในน้ำนม อาจเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยปรับปรุงการมีชีวิตรอดของแบคทีเรียโปรไบโอติก ในผลิตภัณฑ์นมหมักโปรไบโอติกระหว่างเก็บรักษา ได้มีผู้รายงานว่าโอลิโกแซ็กคาไรด์และอินนูลินอาจมีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกในหางนม โอลิโกแซ็กคาไรด์และอินนูลินมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก คือเป็นอาหารที่ไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก แต่จะช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ได้แก่ โปรไบโอติกในลำไส้ใหญ่ น้ำผึ้งเป็นอาหารชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยโอลิโกแซ็กคาไรด์หลายชนิด (4.2 %) และน้ำตาลชนิดอื่น โดยได้มีผู้ทำการทดลองและรายงานว่าเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* เจริญและสร้างกรดได้ดีในหางนมที่มีการเติมน้ำผึ้ง และยังมีอัตราการอยู่รอดสูงสุดถึง 14 วัน ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โปรตีนจากถั่วเหลือง เป็นส่วนผสมของอาหารอีกชนิดหนึ่งซึ่งอาจเติมลงในน้ำนมที่ใช้ผลิตโยเกิร์ต เพื่อช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอดของแบคทีเรียโปรไบโอติก เนื่องจากสารอาหารในถั่วเหลืองบางชนิด ได้แก่ โอลิโกแซ็กคาไรด์ กรดอะมิโน และเปบไทด์มีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าว นอกจากนี้โปรตีนจากถั่วเหลืองที่เติมลงในอาหาร อาจช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจได้ และอาหารนั้นควรมีกรดไขมันอิ่มตัวและคอเลสเตอรอลต่ำด้วย จึงจะช่วยลดความเสี่ยงดังกล่าว เทมเป้ เป็นผลิตภัณฑ์หมักจากถั่วเหลือง ซึ่งมีกรดอะมิโน และวิตามินที่มีคุณค่าสูง โดยเฉพาะวิตามินบี 12 และไนอะซิน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะนำเทมเป้ผง มาเติมลงในน้ำนมเพื่อช่วยปรับปรุงการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก

เทมเป้ (tempeh) เป็นอาหารหมักพื้นบ้านของอินโดนีเซีย นิวกีนีและซูรินาม ได้จากการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อราสกุล Rhizopus โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่ใช้กันเป็นส่วนใหญ่ในอินโดนีเซีย คือ *R. oligosporus* NRRL-2710 การหมักจะสิ้นสุดลงเมื่อเชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวปกคลุมวัตถุดิบอย่างหนาแน่นจนจับตัวเป็นก้อน (cake) ซึ่งในช่วงเวลาการหมักเทมเป้ด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* ในระยะสั้นๆ จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นในถั่วจากการที่เชื้อราได้สร้างวิตามิน B12 ที่จำเป็นต่อระบบเลือด ซึ่งจะพบได้เฉพาะในเนื้อสัตว์และอาหารหมักเท่านั้น นอกจากนี้ ยังเกิดการเปลี่ยนแปลงในแง่ของกลิ่นและรสชาติ (aromas and flavors) ลักษณะเนื้อ (texture) ที่ดีขึ้น และในขณะเดียวกันยังทำให้คุณค่าทางโภชนาการ (nutritional value) และความสามารถในการถูกย่อย (digestibility) สูงขึ้นด้วย ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภคยิ่งขึ้นตามไปด้วย

ได้มีนักวิจัยเสนอแนะจำนวนเชื้อโปรไบโอติกแบคทีเรียต่ำสุดที่ควรมีในโยเกิร์ตดังนี้ Viderola และ Reinheineer เสนอแนะว่าควรมีปริมาณมากกว่า 1 x 10^7 cfu/g ในขณะที่นักวิจัยบางกลุ่มเสนอแนะว่าควรมีปริมาณมากกว่า 1 x 10^6 cfu/g ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตปริมาณโปรไบโอติกแบคทีเรียจะลดลง ได้มีความพยายามที่จะเติมแหล่งโปรตีนต่างๆ เช่น whey protein, whey protein concentrate เพื่อช่วยรักษาปริมาณโปรไบโอติกแบคทีเรียไว้ อย่างเช่นการทดลองของ Autunes และ คณะ พบว่าการเติม whey protein concentrate ไม่ส่งผลต่อการอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรีย (Autunes , 2005)

ผู้วิจัยจึงได้มีแนวคิดที่จะนำเทมเป้ผงมาเติมลงในโยเกิร์ต เพื่อศึกษาการอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรีย โดยมีแนวคิดว่าเทมเป้ผงเป็นแหล่งโปรตีนและยังอุดมไปด้วยวิตามินต่างๆ โดยเฉพาะวิตามิน บีสิบสอง ดังนั้นในการทดลองนี้ ได้ทำการผันแปรปริมาณเทมเป้ผง โดยผสมลงในกระบวนการทำโยเกิร์ตตามวิธีการทดลอง รูปที่ 2 จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน วิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*

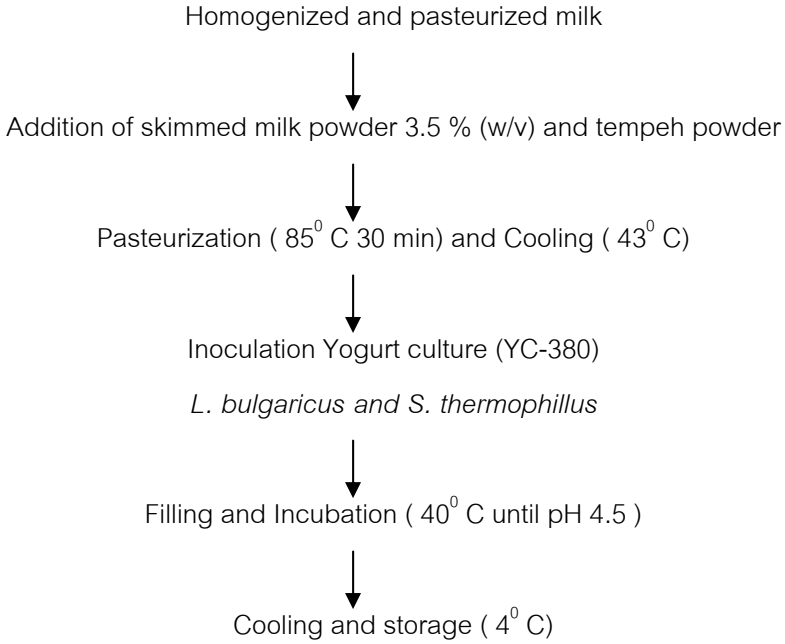
อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเชื้อเริ่มต้นสำหรับทำเทมเป้สด

เชื้อราที่นำมาใช้ทำเชื้อเริ่มต้น เป็นเชื้อราบริสุทธิ์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (ศูนย์จุลินทรีย์) คือ เชื้อ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 (NRRL 2710) นำมาเลี้ยงให้เจริญบน slant โดยใช้ Potato dextrose agar เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-10 วัน เมื่อมีสปอร์ขึ้นเต็มที่ ให้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การเตรียมเชื้อเริ่มต้น จะใช้เชื้อจาก slant มาทำ spore suspension โดยเติมน้ำกลั่นลงไป เขี่ยให้สปอร์กระจายในน้ำ กรองเชื้อลงในภาชนะที่เก็บสปอร์ที่เหมาะสมโดยใช้ผ้าขาวบาง ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จากนั้นนับจำนวนสปอร์โดยใช้ Haemacytometer ปิดปากภาชนะที่ใช้เก็บสปอร์ด้วยผ้าหุ้มสำลีและปิดปากด้วยกระดาษอะลูมิเนียมอีกชั้นหนึ่ง ถ้ายังไม่ใช้ให้เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส (สุจินดา , 2534)

กรรมวิธีการทำเทมเป้ผง ถั่วเหลืองซีก ล้างด้วยสะอาด แช่ถั่วในน้ำอัตราส่วน 1 ต่อ 3 เป็นเวลานาน 14 ชั่วโมง นึ่งถั่วนาน 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น คลุกกับสารแขวนลอยสปอร์ ร้อยละ 2(ปริมาตร/น้ำหนัก) บรรจุลงจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง ได้เทมเป้สด หั่นให้เป็นชิ้นบางๆ และอบในตู้อบลมร้อนแบบถาด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที บดด้วยเครื่องบด แล้วร่อนให้ได้ขนาด 80 mesh บรรจุใส่ถุงที่ปิดสนิท (ดัดแปลงจาก Steinkraus *et al*., 1965 ; สุจินดา , 2534)

กรรมวิธีการทำโยเกิร์ต



รูปที่ 1 แผนผังการผลิตโยเกิร์ต

ที่มา : Ayse *et al* , 2004

การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophillus*

เลี้ยงเชื้อ *S. thermophillus* บน ST agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ^{0} C นาน 24 ชั่วโมง และเลี้ยงเชื้อ *L. bulgaricus* บน MRS agar pH 5.2 บ่มเชื้อใน anaerobic jar ที่อุณหภูมิ 43 ^{0} C นาน 48 ชั่วโมง (Ayse *et al* , 2004)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* เมื่อเติมปริมาณเทมเป้ผงต่างๆ กัน และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ (log_{10} cfu/ml)

Starter culture	ปริมาณเทมเป้ผง (ร้อยละ)	ระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C (วัน)				
		0	7	14	21	28
Streptococcus thermophillus	0	8.85	8.60	8.40	8.28	7.48
	0.5	9.04	8.26	7.60	8.20	7.60
	1.0	8.85	8.64	8.48	7.74	7.43
	1.5	8.23	7.98	7.97	7.72	6.71
Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus	0	8.10	7.78	7.76	7.08	7.05
	0.5	7.90	7.65	7.34	7.18	7.11
	1.0	7.89	7.00	6.32	6.69	5.56
	1.5	7.65	7.12	6.63	6.52	4.60

จากการทดลองเติมเทมเป้ผงร้อยละ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 พบว่าการเติมเทมเป้ผงร้อยละ 0.5 ปริมาณเชื้อ *L.bulgaricus* และ *S.thermophilus* ยังคงอยู่ในระดับที่มาตรฐานกำหนด (log_{10} cfu/ml = 7) ตลอดระยะเวลา 28 วันของการเก็บรักษา ในขณะที่ในโยเกิร์ตที่เติมเทมเป้ผงร้อยละ1.5 ปริมาณเชื้อ *S. thermophilus* ลดลงต่ำกว่ามาตราฐานที่ระยะเวลา 28 วัน ส่วนปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* ลดลงต่ำกว่ามาตราฐานที่ระยะเวลา 14 วัน การเติมเทมเป้ผงร้อยละ 0.5 ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ยังคงอยู่ในระดับมาตราฐานตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน ซึ่งเหมือนกับโยเกิร์ตที่ไม่ได้เติมเทมเป้ผง

ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* เมื่อเติมปริมาณเทมเป้ผงร่วมกับน้ำผึ้ง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ (log_{10} cfu/ml)

Starter culture	ปริมาณเทมเป้ผงและน้ำผึ้ง (ร้อยละ)	ระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C (วัน)				
		0	7	14	21	28
Streptococcus thermophillus	0	8.58	8.54	8.52	8.58	7.90
	0.5 , 0	8.49	8.61	8.61	8.34	7.60
	0 , 3	9.48	8.57	8.59	8.53	7.43
	0.5 , 3	8.65	8.61	8.20	8.20	7.71
Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus	0	8.41	8.43	8.28	8.34	7.05
	0.5 , 0	8.46	8.62	8.34	7.38	7.08
	0 , 3	9.40	8.48	8.34	8.34	7.56
	0.5 , 3	8.48	8.26	8.32	7.77	7.60

จากการทดลองเติมน้ำผึ้งร่วมกับเทมเป้ผง พบว่า การเติมน้ำผึ้งร้อยละ 3 โดยไม่มีการเติมเทมเป้ผง และการเติมน้ำผึ้งร้อยละ 3 ร่วมกับเทมเป้ผงร้อยละ 0.5 ทำให้ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* อยู่ในระดับมาตราฐานตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน เหมือนกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Varga แต่ผู้วิจัยสังเกตพบว่าโยเกิร์ตที่เติมเทมเป้ผงร่วมกับน้ำผึ้งทำให้กลิ่นของโยเกิร์ตดีขึ้นกว่าไม่เติมน้ำผึ้ง

สรุปผลและเสนอแนะ

1. นำเทมเป้สด มาอบที่ 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 5 แล้วนำมาบดด้วยเครื่องบด จากนั้นนำมาร่อนด้วยตะแกรงร่อนที่มีขนาดที่ขนาด 80 mesh ได้เทมเป้ผงที่มีลักษณะดังนี้ ค่าความชื้นร้อยละ 4.48 ค่า Aw 0.434 สี L 79.7 a+ 3.9 b+ 27.4

2. ศึกษาการยอมรับของปริมาณเทมเป้ผงที่เติมลงในโยเกิร์ตหลังจากเก็บรักษาไว้ 1 วัน โดยใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีฮีโดนิก (hedonic test) มีสเกลระดับความพอใจ 1-7 โดยพิจารณาจากลักษณะต่างๆ คือ สี เนื้อสัมผัส กลิ่น และความชอบรวม มีจำนวนผู้ทดสอบ 30 คน ผลการทดสอบของการเติมเทมเป้ผงที่ปริมาณต่างๆ กัน พบว่าการเติมเทมเป้ผงร้อยละ 1 และ 2 มีคะแนนความชอบต่อสี และ เนื้อสัมผัส ไม่แตกต่างกัน แต่คะแนนความชอบด้านกลิ่น และความชอบรวม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการเติมเทมเป้ผงร้อยละ 3 และ 4 มีคะแนนความชอบต่อสี เนื้อสัมผัส กลิ่น และความชอบรวมค่อนข้างต่ำมาก ดังนั้นในการวิจัยในส่วนที่ศึกษาผลของเทมเป้ผงต่อการอยู่รอดของเชื้อโปรไบโอติกแบคทีเรียในโยเกิร์ต จึงเลือกศึกษาใช้ปริมาณเทมเป้ผงที่ร้อยละ 1 และ 2

3. ศึกษาผลของปริมาณเทมเป้ผงต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากการทดลองเติมเทมเป้ผงในปริมาณร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 พบว่าปริมาณเทมเป้ผงร้อยละ 0.5 เป็นปริมาณที่ทำให้ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ยังคงอยู่ในระดับมาตราฐานคือ $\log_{10}$ cfu/ml = 7 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน

4. ศึกษาผลของการเติมน้ำผึ้งร่วมกับเทมเป้ผงต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ต เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยทำการผันแปรปริมาณร้อยละเทมเป้ผงและน้ำผึ้ง ดังนี้ 0 เทมเป้และ 0 น้ำผึ้ง , 0.5 เทมเป้และ 0 น้ำผึ้ง , 0 เทมเป้และ 3 น้ำผึ้ง และ 0.5 เทมเป้และ 3 เทมเป้ พบว่าการเติมน้ำผึ้งร้อยละ 3 และ การเติมน้ำผึ้งร้อยละ 3 ร่วมกับการเติมเทมเป้ผงร้อยละ 0.5 ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ยังคงอยู่ในระดับมาตราฐานตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน

5. ปริมาณกรดแลคติก อยู่ในช่วง 0.9-1.2 และค่า pH อยู่ในช่วง 4.3-4.5

เอกสารอ้างอิง

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2547. แบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม ปีที่ 3 ฉบับที่ 1 62-69 น.

สุจินดา สุวรรณกิจ. 2534. การผลิตเทมเป้ถั่วลิสงในระดับอุตสาหกรรมครัวเรือน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พิมพ์ ครั้งที่1

Akalin, A.S. , Fenderya, S. and Akbulut, N . 2004. Viability and activity of bifidobacteria in yogurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**. 39 : 613-621.

Antunes, A , T. Cazetto and Bolini H.M. 2005. Viability of probiotic microorganisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. **International J. of Dairy Technology**, 58: 169-173.

Ayse, S.A. , Serap, F. and Necati, A. 2004 “Viability and activity of bifidobacteria in yogurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. **International ”, Journal of food Science and Technology**

Varga, L. 2006. Effect of acacia honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. **International J. of Food Microbiology**, 108 p. 272-275

Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. 1997. The lactic bacteria: The Genera of lactic acid bacteria. Blackie Academic and Professional, New York. 7-15 p.