การรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ห่อหุ้มด้วยวิธีเอนแคปซูเลชันใน โยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

Survival of encapsulated probiotics bacteria in yoghurt from corn milk, cow milk and soy milk as preserved at low temperature

เทพอนันต์ สมานวงศ์[1] นพวรรณ เรืองเดชบุญฤทธิ์[1] สุพัตรา เมืองฮาม[2] และ สุรีย์พร เอี่ยมศรี[1*]

[1] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

[2] สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

Tepanan Samanwong[1], Nobpawan Ruangdechboonyarit[1], Supattra Muangham[2] and Sureeporn Aeamsri[1*]

[1] Division of Biological Science, Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

[2] Department of Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

บทคัดย่อ

ผลของการห่อหุ้มเซลล์ด้วยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชันต่อการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 ในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เมื่อตรวจสอบปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่เติมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนต พบว่ามีปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตเพิ่มขึ้นระหว่างทำการเก็บรักษาซึ่งสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง การรอดชีวิตของเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *L. acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 ในโยเกิร์ตมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตลอดอายุการเก็บรักษา และมีปริมาณเชื้อรอดชีวิตสูงกว่า 10^7 CFU/g การเติมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตไม่มีผลต่อเนื้อสัมผัส สี กลิ่น และรสชาติของโยเกิร์ตระหว่างทำการเก็บรักษาในตู้เย็น

คำสำคัญ: โพรไบโอติก โยเกิร์ต ไมโครเอนแคปซูเลชัน อัลจิเนต

Corresponding author: sureeporn.orange@gmail.com

Abstract

The effects of microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 and *L. rhamnosus* TISTR 047 with calcium alginate on cell survival in corn yoghurt, yoghurt (milk) and soy yoghurt during storage at refrigeration (10°C) for 14 days were demonstrated in this study. The total acid content of the encapsulated probiotic containing corn yoghurt, yoghurt (milk) and soy yoghurt were increased during the storage period related to the decrease of pH of yoghurts. After 14 day of storage, the number of viable cells of encapsulated *L. acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 and *L. rhamnosus* TISTR 047 in yoghurt presented a slightly increased throughout the storage period and cell biomass of probiotics bacteria survived more than 10^7 CFU/g. The addition of encapsulated probiotics did not affect appearance, color, flavor and taste of the yogurts over the storage period.

Keywords: Probiotic, Yoghurt, Microencapsulation,Alginate

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจเรื่องสุขภาพมากขึ้น จึงมีความคาดหวังต่อการเลือกซื้ออาหารที่ช่วยเสริมสุขภาพ ดังนั้นอาหารที่มีส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์จึงถูกให้ความสำคัญโดยเฉพาะอาหารที่มีการเติมแบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติก (probiotic) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย หากได้รับในปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ระบบขับถ่าย ลดการติดเชื้อในลำไส้ เป็นต้น [1] ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพวางจำหน่ายในตลาดหลากหลายชนิด และมีการขยายตัวของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกอย่างต่อเนื่อง [2] แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ได้รับการจดทะเบียนถูกนำมาเติมหรือหมักในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากนม (โยเกิร์ต ชีส ไอศกรีม และนมอัดเม็ด) และผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่นม (ช็อกโกแลต ธัญพืช และน้ำผลไม้) [3] อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียโพรไบโอติกจะมีประโยชน์ต่อร่างกายก็ต่อเมื่อแบคทีเรียมีชีวิตรอดจนเข้าสู่ร่างกายและมีปริมาณสูงเพียงพอ แต่พบว่ามีรายงานที่ชี้ให้เห็นถึงการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ในรูปเซลล์อิสระว่าเป็นไปได้ยาก หรือมีปริมาณลดลงต่ำกว่าเกณฑ์ที่มาตรฐานกำหนด (10^6 CFU/g) [4] ดังนั้นจึงมีการนำวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน (microencap-sulation) ซึ่งเป็นวิธีในการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งสามารถช่วยป้องกันเชื้อแบคทีเรียจากสภาพแวดล้อมภายในเซลล์ เมื่อต้องอยู่กับอาหารที่มีสภาวะไม่เหมาะสมต่อการรอดชีวิต และการห่อหุ้มช่วยให้เชื้อรอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารที่มีสภาวะเป็นกรดสูงในกระเพาะอาหารและเกลือน้ำดีในลำไส้เล็กได้ดีขึ้น [5]

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่เกิดจากการนำนมวัวมาหมักโดยเชื้อแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ซึ่งช่วยเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสในนมให้เป็นกรดแลคติก โดยสภาวะที่เป็นกรดทำให้น้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นก้อนเคิร์ด เนื่องจากโปรตีนนมเกิดการตกตะกอนและเชื้อ *Lacto-bacillus* ยังผลิตสารอะโรมาติกซึ่งทำให้โยเกิร์ตมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว โยเกิร์ตนอกจากผลิตจากนมวัวแล้วยังสามารถทำจากธัญพืชชนิดอื่น ๆ ได้อีกด้วย เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด และลูกเดือย เพื่อเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภค ปัจจุบันโยเกิร์ตในท้องตลาดนอกจากมีเชื้อแบคทีเรียแลคติก จำนวน 2 สายพันธุ์ข้างต้นแล้ว ยังพบว่ามีการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกสายพันธุ์อื่น ๆ อีกด้วย เช่น *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* ลงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตด้วย เพื่อเพิ่มความหลากหลายและคุณค่าทางโภชนาการให้กับผู้บริโภค แต่

อย่างไรก็ตามมักพบปัญหาการลดลงของแบคทีเรียโพรไบโอติกในระหว่างทำการเก็บรักษา ดังนั้นการนำวิธีไมโครเอนแคปซูเลชันมาใช้ห่อหุ้มแบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติกก่อนเติมลงในโยเกิร์ตจึงเป็นวิธีการแก้ไขปัญหาที่น่าสนใจ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชันในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยเปรียบเทียบระหว่างโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 14 วัน

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมต้นเชื้อโพรไบโอติกและการห่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน

ทำการ เพาะเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ เชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 โดยทำการเพาะบนอาหารเพาะเชื้อ de Man Rogosa Sharpe Agar (MRS agar) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ใน candle jar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายโคโลนีเดี่ยวลงในอาหารเพาะเชื้อ MRS broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ใน candle jar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และล้างตะกอนเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของกลีเซอรอล ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 ครั้ง แล้วจึงนำส่วนที่เป็นตะกอนเซลล์มาเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของกลีเซอรอล จนสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0.80±0.05 (OD_{625}) เพื่อเตรียมให้เป็นสารแขวนลอยเซลล์ และใช้สำหรับการห่อหุ้มเซลล์โดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน

เตรียมสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำให้ปราศจากเชื้อ ทำการเติมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมให้เข้ากัน แล้วจึงถ่ายลงในหลอดฉีดยา (เข็มฉีดยาขนาด 25G) จากนั้นหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่มีการกวนผสมตลอดเวลา จะได้เม็ดเจลที่มีเชื้อโพรไบโอติกแยกเม็ดเจลโดยใช้ผ้าขาวบาง และล้างเม็ดเจลด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ [6] จากนั้นสุ่มเม็ดเจลมานับจำนวนเชื้อเริ่มต้นด้วยวิธี drop plate

2. การเตรียมโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

การเตรียมโยเกิร์ตนมข้าวโพด ทำโดยชั่งเมล็ดข้าวโพดที่แกะแล้ว หนัก 500 กรัม นำไปต้มให้สุก นำเมล็ดข้าวโพดที่ต้มสุกมาปั่นกับนมจืดพาสเจอไรส์ ปริมาตร 1 ลิตร แล้วแยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง นำน้ำนมข้าวโพดมาเติมนมผง ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลทราย ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ แล้วต้มนมให้เดือด รอให้เย็นจึงเติมต้นเชื้อโยเกิร์ต 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำนมข้าวโพด บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

การเตรียมโยเกิร์ตนมวัว ทำได้โดยเตรียมนมจืดพาสเจอไรส์ ปริมาตร 1 ลิตร นำมาเติมนมผง ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลทราย ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงต้มนมให้เดือด รอให้เย็นจึงเติมต้นเชื้อโยเกิร์ต 5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

การเตรียมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ทำได้โดยแช่ถั่วเหลืองซีกในน้ำสะอาดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14-16 ชั่วโมง แยกเมล็ดที่ลอยและเปลือกของถั่วเหลืองออกให้หมด นำถั่วเหลืองมาล้างด้วยน้ำสะอาดอีก 2-3 ครั้ง นำถั่วเหลืองมาปั่นผสมกับน้ำอุ่น และแยกกากด้วยผ้าขาวบาง 2 ครั้ง นำน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้มาต้มเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง เติมนมผง ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลทราย ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ รอให้เย็นจึงเติมต้นเชื้อโยเกิร์ต 5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

3. การศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน เปรียบเทียบระหว่างโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เป็นเวลา 14 วัน

นำโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่เตรียมไว้ แบ่งใส่ถ้วย หนักถ้วยละ 36 กรัม เติม *L. acidophilus* TISTR 1043 ที่ห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตลงในโยเกิร์ตหนักถ้วยละ 4 กรัม และผสมให้เข้ากัน นำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส แล้วสุ่มตัวอย่างออกมาตรวจวิเคราะห์ทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน สำหรับเชื้อ *L. casei* TISTR 1463 และเชื้อ *L. rhamnosus* TISTR 047 ทำตามวิธีข้างต้นเช่นเดียวกัน

สุ่มตัวอย่างโยเกิร์ตมาทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรต การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การแยกชั้น (%syneresis) [7] และการนับจำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติกโดยวิธี drop plate

4. การประเมินความพึงพอใจโดยรวมต่อโยเกิร์ตที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนต

ทำแบบประเมินความพึงพอใจโดยรวม (สี เนื้อสัมผัส กลิ่น และรสชาติ) ต่อโยเกิร์ตที่มีการรอดชีวิตของเชื้อสูง และมีลักษณะทางกายภาพและเคมีที่ดี มาประเมินความพึงพอใจ เมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ต ในวันที่ 0, 3 และ 5 วัน ผู้ทดสอบคือ นักศึกษามหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จำนวนทั้งสิ้น 30 คน ประเมินความพึงพอใจโดยรวมต่อโยเกิร์ต โดยให้คะแนนความแตกต่าง 1-9 คะแนน ในแบบทดสอบ 9-point hedonic scale

ผลการวิจัย

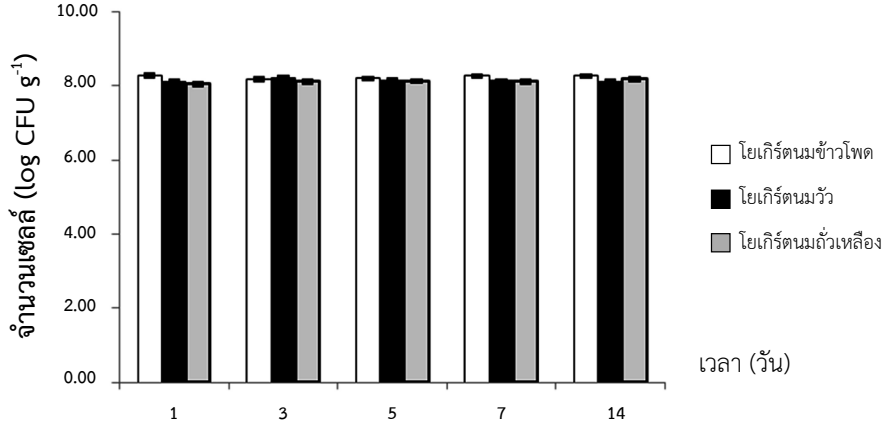
งานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน เพื่อช่วยเพิ่มความหลากหลาย และคุณค่าทางโภชนาการให้กับผู้บริโภค การที่นำเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกมาอยู่ในรูปเซลล์ที่ถูกห่อหุ้ม (immobilization) ทำให้แบคทีเรียโพรไบโอติกมีชีวิตรอดในสภาวะแวดล้อมได้ดีกว่าเชื้อในรูปเซลล์อิสระ หรือเป็นการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก จึงมีผลทำให้แบคทีเรียโพรไบโอติกสร้างประโยชน์ต่อร่างกายได้อย่างเต็มที่ โดยงานวิจัยนี้ใช้เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน แล้วจึงเติมลงในโยเกิร์ตและทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (ในตู้เย็นช่องธรรมดาซึ่งขณะทำการทดลองมีอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน

เมื่อทำการศึกษาผลของวิธีไมโครเอนแคปซูเลชันที่มีผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1043 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 14 วัน พบว่าในโยเกิร์ตนมข้าวโพดเชื้อมีปริมาณลดลงเพียง 7.07 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในโยเกิร์ตนมวัวและโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 11.86 และ 32.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *L. casei* TISTR 1463 พบว่าโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเชื้อมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นถึง 49.23, 77.84 และ 65.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในเชื้อ *L. rhamnosus* TISTR 047 พบว่าในโยเกิร์ตนมข้าวโพดเชื้อมีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 57.61 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในโยเกิร์ตนมวัวและโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเชื้อมีปริมาณลดลงถึง 84.51 และ 89.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อโพรไบโอติกภายในระยะเวลาเก็บรักษา 14 วัน แสดงดังภาพที่ 1-3

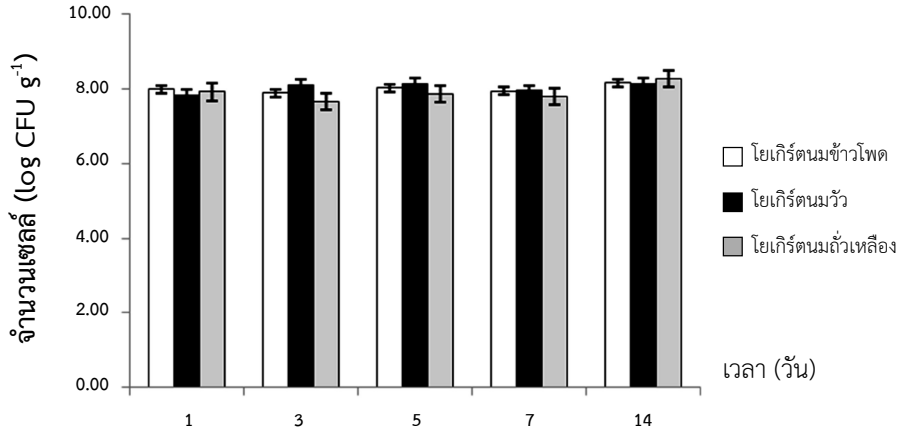
ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ภายในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์แบคทีเรียโพรไบโอติก	ชนิดโยเกิร์ต	จำนวนเซลล์ (CFU/g)		การลดลงและเพิ่มขึ้นของเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)
		ก่อนการเก็บรักษาในตู้เย็น นาน 14 วัน	หลังการเก็บรักษาในตู้เย็น นาน 14 วัน		
L. acidophilus TISTR 1043	นมข้าวโพด	1.98×10^8	1.84×10^8	-7.07	92.92
	นมวัว	1.18×10^8	1.32×10^8	+11.86	111.86
	นมถั่วเหลือง	1.15×10^8	1.52×10^8	+32.18	132.00
L. casei TISTR 1463	นมข้าวโพด	9.85×10^7	1.47×10^8	+49.23	149.24
	นมวัว	7.76×10^7	1.38×10^8	+77.84	177.83
	ถั่วเหลือง	8.68×10^7	1.41×10^8	+65.89	162.44
L. rhamnosus TISTR 047	นมข้าวโพด	5.45×10^8	8.59×10^8	+57.61	157.61
	นมวัว	2.15×10^8	3.33×10^7	-84.51	15.48
	นมถั่วเหลือง	1.31×10^8	1.41×10^7	-89.23	10.76

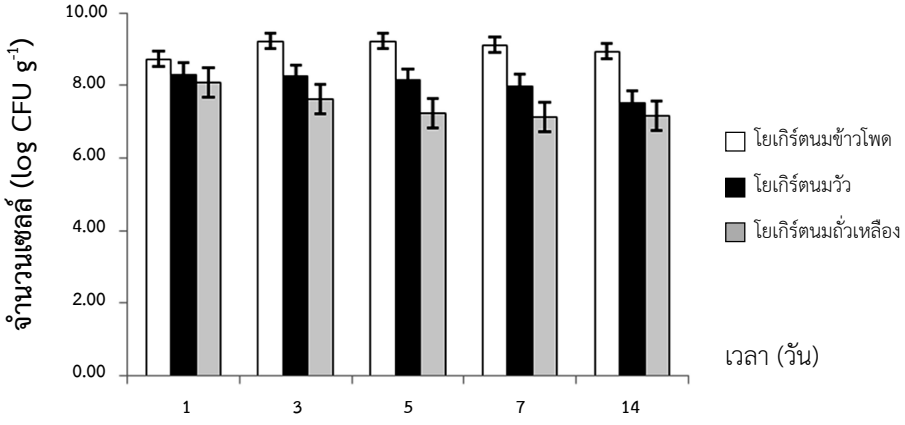
เมื่อทำการศึกษาคุณภาพทางเคมี (ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรต) ของโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่มีการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน พบว่าเมื่อเติมเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1043 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตลงในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษามีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเท่ากับ 0.99, 2.02 และ 2.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตเพิ่มขึ้น 1.200, 1.035 และ 0.690 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในโยเกิร์ตที่เติมเชื้อ *L. casei* TISTR 1463 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตลงไป พบว่าในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษามีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง เท่ากับ 3.02, 3.51 และ 3.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



ภาพที่ 1 การรอดชีวิตของเซลล์ *L. acidophilus* TISTR 1043 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ภายในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2 การรอดชีวิตของเซลล์ *L. case*i TISTR 1436 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ภายในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสต่ำ

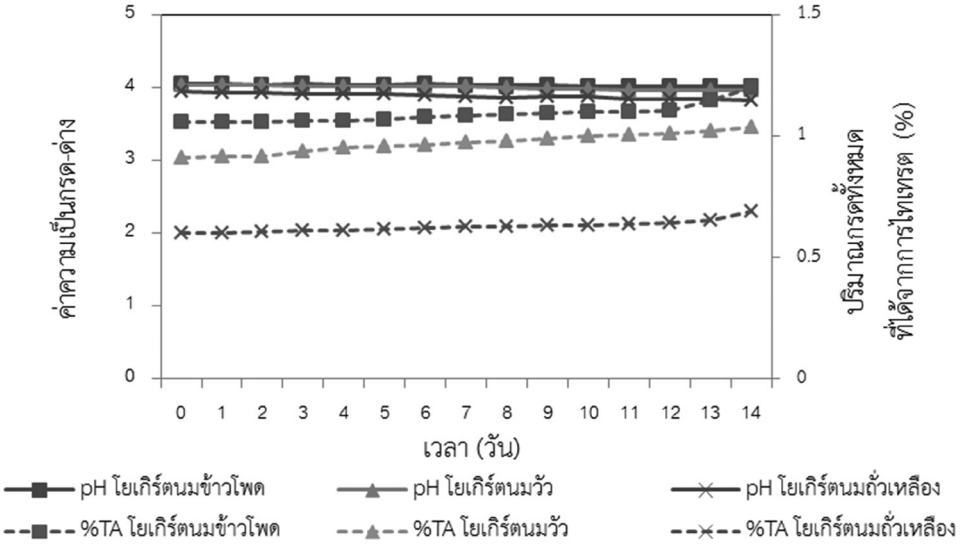


ภาพที่ 3 การรอดชีวิตของเซลล์ *L. rhamnosus* TISTR 047 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ภายในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

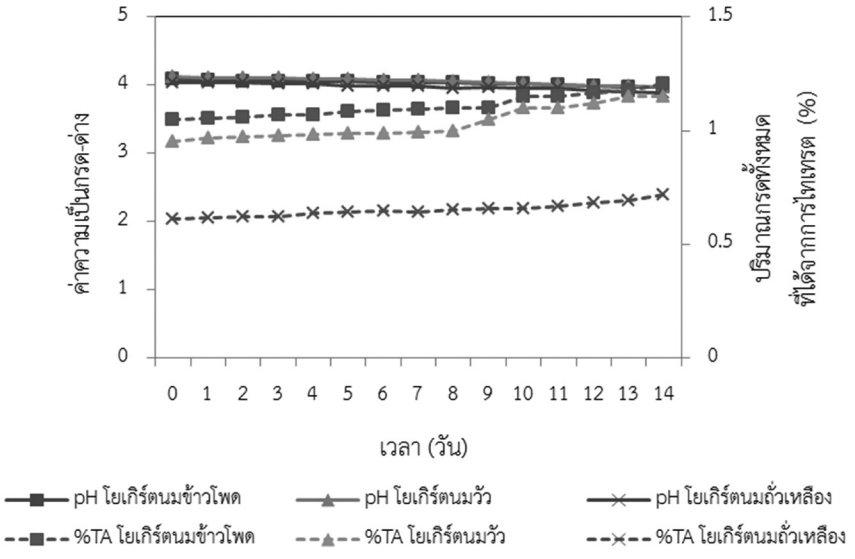
และมีปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตเพิ่มขึ้น 1.205, 1.150 และ 0.720 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับโยเกิร์ตที่เติมเชื้อ *L. rhamnosus* TISTR 047 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตลงไป พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษามีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเท่ากับ 1.29, 0.00 และ 0.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตเพิ่มขึ้น 1.300, 1.035 และ 0.690 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองมีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเล็กน้อยในระยะเวลาการเก็บรักษา 14 วัน (ภาพที่ 4-6)

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี (ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรต) ของโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตภายในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

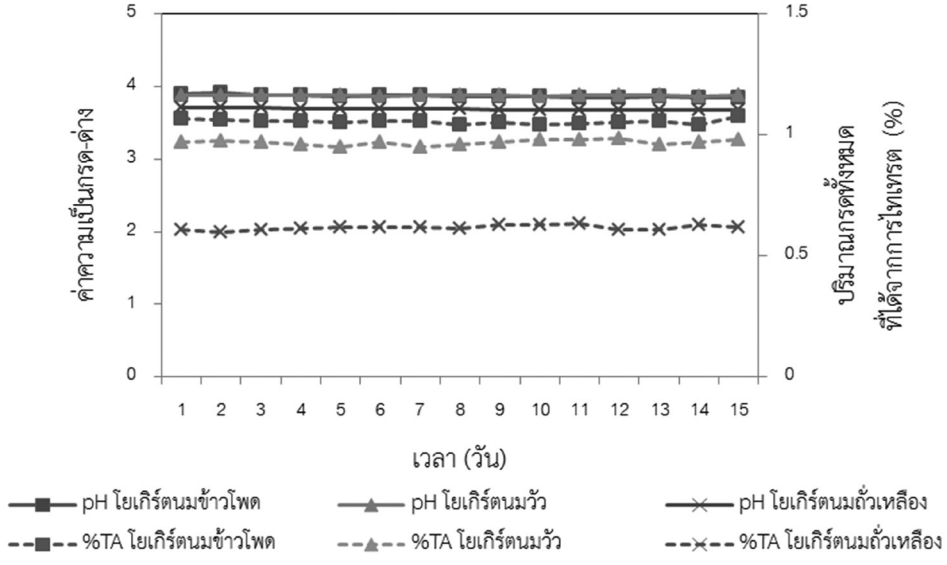
สายพันธุ์แบคทีเรียโพรไบโอติก	ชนิดโยเกิร์ต	ค่าเฉลี่ยค่าความเป็นกรด-ด่าง		การลดลงและเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด-ด่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรต (เปอร์เซ็นต์)		การลดลงและเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรต (เปอร์เซ็นต์)
		ก่อนการเก็บรักษาในตู้เย็นนาน 14 วัน	หลังการเก็บรักษาในตู้เย็นนาน 14 วัน		ก่อนการเก็บรักษาในตู้เย็นนาน 14 วัน	หลังการเก็บรักษาในตู้เย็นนาน 14 วัน	
L. acidophilus TISTR 1043	นมข้าวโพด	4.05	4.01	-0.99	1.06	1.20	+11.67
	นมวัว	4.04	3.96	-2.02	0.91	1.04	+42.51
	นมถั่วเหลือง	3.94	3.83	-2.87	0.60	0.70	+13.04
L. casei TISTR 1463	นมข้าวโพด	4.09	3.97	-3.02	1.05	1.21	+12.86
	นมวัว	4.12	3.98	-3.51	0.95	1.15	+17.39
	ถั่วเหลือง	4.04	3.89	-3.85	0.61	0.72	+15.28
L. rhamnosus TISTR 047	นมข้าวโพด	3.90	3.85	-1.29	1.07	1.30	+17.69
	นมวัว	3.88	3.88	-0.00	0.97	1.04	+6.28
	นมถั่วเหลือง	3.71	3.68	-0.82	0.61	0.69	+11.59



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตของ *L. acidophilus* TISTR 1043 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตของ *L. casei* TISTR 1463 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตของ *L. rhamnosus* TISTR 1463 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

เมื่อทำการศึกษาเปอร์เซ็นต์การแยกชั้นของโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง พบว่า โยเกิร์ตนมข้าวโพดและโยเกิร์ตนมวัวมีการแยกชั้นของก้อนเคิร์ดกับเวย์น้อยกว่าในโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เป็นเวลา 14 วัน (ตารางที่ 3) เนื่องจากในโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองมีโปรตีนที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำน้อยกว่าในนมพลาสเจอไรส์ ซึ่งเป็นส่วนผสมหลักในโยเกิร์ตนมข้าวโพดและโยเกิร์ตนมวัว และเปอร์เซ็นต์การแยกชั้นของโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองมีค่าค่อนข้างสูงนั้นมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงของโยเกิร์ต ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำลงจะลดความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในถั่วเหลืองได้ สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้โดยการเติมสารให้ความคงตัว เช่น เจลาติน

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์การแยกชั้นของโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนต ภายในระยะเวลา 14 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์แบคทีเรียโพรไบโอติก	ชนิดโยเกิร์ต	เปอร์เซ็นต์การแยกชั้น		การลดลงและเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การแยกชั้น (เปอร์เซ็นต์)
		ก่อนการเก็บรักษาในตู้เย็นนาน 14 วัน	หลังการเก็บรักษาในตู้เย็นนาน 14 วัน	
L. acidophilus TISTR 1043	นมข้าวโพด	23.05	28.85	+25.16
	นมวัว	22.30	27.25	+22.19
	นมถั่วเหลือง	31.95	43.70	+36.77
L. casei TISTR 1463	นมข้าวโพด	17.15	22.25	+29.74
	นมวัว	27.75	31.95	+15.13
	นมถั่วเหลือง	33.60	45.20	+34.52
L. rhamnosus TISTR 047	นมข้าวโพด	32.45	38.65	+19.10
	นมวัว	31.95	38.40	+20.19
	นมถั่วเหลือง	33.55	43.60	+29.96

เมื่อทำการทดสอบความพึงพอใจโดยรวม (สี เนื้อสัมผัส กลิ่น และรสชาติ) ต่อโยเกิร์ตนมวัว โดยที่เลือกทดสอบในโยเกิร์ตนมวัว เนื่องจากเชื้อโพรไบโอติกมีการรอดชีวิตที่สูงและลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่ดีกว่าชนิดอื่นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยเปรียบเทียบระหว่างการเติมเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1043 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 พบว่า คะแนนความพึงพอใจโดยรวมของผู้บริโภคที่มีต่อโยเกิร์ตนมวัวที่เติมเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* TISTR 1043 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตลงไป ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และการเติมเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้ม ไม่ส่งผลให้รสชาติของโยเกิร์ต เนื้อสัมผัส กลิ่น และสีเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ซึ่งโดยส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลา 15-21 วัน แต่การกำหนดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตขึ้นอยู่กับข้อกำหนดตามกฎหมายของแต่ละประเทศ ซึ่งประเทศไทยมีการกำหนดให้การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส ได้อย่างน้อย 7 วัน นับตั้งแต่วันที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง ที่มีการเติมเชื้อโพรไบโอติกที่อยู่ในรูปเซลล์ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน เป็นการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติก มีผลทำให้แบคทีเรียโพรไบโอติกสร้างประโยชน์ต่อร่างกายได้อย่างเต็มที่ โดยงานวิจัยนี้ใช้เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน และทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

จากงานวิจัยพบว่า *L. rhamnosus* TISTR 047 เป็นเชื้อที่พบการลดลงของเชื้อค่อนข้างมากโดยเฉพาะในโยเกิร์ตนมวัวและโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง โดยพบการลดลงของเชื้อมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อเริ่มต้นที่เติมลงไป แต่ในโยเกิร์ตนมข้าวโพดพบการเพิ่มขึ้นของเชื้อซึ่งอาจมีความเป็นไปได้ว่าข้าวโพดมีสารกลุ่มพรีไบโอติกที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *L. rhamnosus* TISTR 047 ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sultana และคณะ [8] ที่ใช้แป้งข้าวโพดผสมลงในเม็ดเจล พบว่าเชื้อโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตที่สูงกว่าเม็ดเจลที่ไม่ได้เติมแป้งข้าวโพดเป็นส่วนประกอบ การนำเชื้อ *L. rhamnosus* TISTR 047 มาใช้เป็นเชื้อโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมยังมีงานวิจัยที่ออกมาไม่มากนัก โดยเฉพาะกับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ดังนั้นจึงต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมถึงการนำเชื้อมาใช้ประโยชน์ต่อไป งานวิจัยแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ เมื่อเติมลงในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 14 วัน และยังคงมีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตมากกว่า 10^7 CFU/g โดยประมาณเชื้ออยู่ในช่วง 1.41×10^7 ถึง 8.59×10^8 CFU/g ซึ่งเป็นจำนวนที่สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่คณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ที่กำหนดให้มีจำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU/g ตลอดอายุการเก็บรักษา อาหาร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Krasaekoopt และคณะ [6] ที่พบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตที่เคลือบด้วยไคโตซานโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน มีอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนมยูเอชทีและนมสดจากธรรมชาติระหว่างทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สูงกว่าเซลล์อิสระประมาณ 1 log CFU โดยยังคงมีจำนวนเซลล์สูงกว่าระดับที่มาตรฐาน และจากผลการวิจัยพบว่าการเก็บรักษาโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่เติมแบคทีเรีย โพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตที่อุณหภูมิต่ำ สามารถรักษาชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกได้ถึง 14 วัน เนื่องจากแคลเซียมอัลจิเนตช่วยปกป้องเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น สภาวะที่มีความเป็นกรดต่ำใน โยเกิร์ต หรือสภาวะกรดและเกลือน้ำดีในหลอด นอกจากนี้การรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบติกยังขึ้นอยู่กับชนิดของโยเกิร์ตที่นำมาใช้ เพราะโยเกิร์ตแต่ละชนิดมีแหล่งของสารอาหารที่แตกต่างกัน เช่น ในถั่วเหลืองที่นำมาใช้ผลิตโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองจะมี โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ เชื้อแบคทีเรียจึงนำมาใช้ได้ยาก และขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียโพรไบโอติกด้วย โดยพบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการทนกรดได้ต่ำจะรอดชีวิตได้น้อยกว่าสายพันธุ์ที่ทนกรดได้สูง [9]

การศึกษาคุณภาพทางเคมีของโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่มีการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตโดยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชัน พบว่าเมื่อเติมเชื้อโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตลงในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษามีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงและมีปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Noland และ Aryana [10] ที่พบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปเซลล์ที่ถูกห่อหุ้มด้วยวิธีไมโครเอนแคปซูเลชันส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในโยเกิร์ตรสธรรมชาติเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยหลัง

จากทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 สัปดาห์ แต่ไม่ส่งผลให้ลักษณะอื่น ๆ ในโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ Kailasapathy [11] พบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปเซลล์อิสระจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในโยเกิร์ตลดลงเร็วกว่าเซลล์ที่ถูกห่อหุ้มด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ แต่ทั้งเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกห่อหุ้มด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียโพรไบโอติกจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงอย่างช้า ๆ และไม่ทำให้คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไป จากผลการวิจัยข้างต้นพบว่า โยเกิร์ตทั้ง 3 ชนิด ยังคงมีคุณภาพตามมาตรฐานการผลิตโยเกิร์ตที่ต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.3 ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่าปลอดภัยจากเชื้อก่อโรค และมีปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.6 อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยปริมาณกรด-ด่างที่ลดลง หรือแม้แต่ปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตนมข้าวโพดและโยกิร์ตนมวัว แต่อาจทำให้โยเกิร์ตมีรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนในโยกิร์ตนมถั่วเหลืองปริมาณกรด-ด่างที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ก้อนเคิร์ดเกิดการหดตัวจากการสูญเสียความสามารถในการอุ้มน้ำ มีผลให้เมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองไว้ 14 วัน โยเกิร์ตมีปริมาณน้ำเวย์เกิดที่ผิวหน้ามากขึ้น การที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตลดลงเป็นผลมาจากเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกยังมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาลในโยเกิร์ตมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน และผลิตกรดออกมาจึงทำให้โยเกิร์ตมีรสเปรี้ยว [6]

การศึกษาเปอร์เซ็นต์การแยกชั้นของโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง พบว่าโยเกิร์ตนมข้าวโพดและโยเกิร์ตนมวัวมีการแยกชั้นของ ก้อนเคิร์ดกับเวย์น้อยกว่าในโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เป็นเวลา 14 วัน เนื่องจากในโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองมีโปรตีนที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำน้อยกว่าในนมจืด พลาสเจอไรส์ซึ่งเป็นส่วนผสมในโยเกิร์ตนมข้าวโพดและโยเกิร์ตนมวัว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของจีราวรรณ และคณะ [7] ที่พบว่าโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองจะมีการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์การแยกชั้นอยู่ตลอดเวลา โดยที่ทำการทดลองในโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่มีความเข้มข้นของถั่วเหลือง 20 เปอร์เซ็นต์ มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 15 วัน พบว่า โยเกิร์ตในวันสุดท้ายของการเก็บรักษามีเปอร์เซ็นต์การแยกชั้นเพิ่มขึ้นและการที่เปอร์เซ็นต์การแยกชั้นของโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองมีค่าค่อนข้างสูงนั้น มีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงของโยเกิร์ต ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำลงจะลดความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีนในถั่วเหลืองได้ สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้โดยการเติมสารให้ความคงตัว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวรัญญา และ ขจรศักดิ์ [12] ที่พบว่าการเติมเจลาตินปริมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ลงในโยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดมีเนื้อสัมผัสที่ดี เรียบเนียน ช่วยลดปัญหาการแยกชั้นของหางนม และทำให้ผลิตภัณฑ์มีความสม่ำเสมอ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มสารให้ความคงตัวในโยเกิร์ต มีผลทำให้โยเกิร์ตมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น ลดปัญหาเรื่องการแยกชั้นของเวย์ และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสม่ำเสมอ และคุณสมบัติที่ดีของสารให้ความคงตัวคือ ไม่มีกลิ่น มีประสิทธิภาพสูงในช่วงความเป็นกรดต่ำ และกระจายตัวได้ดีในอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักนม

จากผลการวิจัยในครั้งนี้ พบว่าเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตสามารถมีชีวิตรอดได้ดีในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง และมีปริมาณสูงกว่าที่มาตรฐานของคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ คือต้องมีจำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติกไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU/g เมื่อพิจารณาผลการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรต พบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจิเนตทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อย ซึ่งส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยด้วยเช่นกัน แต่ไม่มีผลกระทบต่อความพึงพอใจทางประสาทสัมผัสต่อผู้บริโภค เพราะทำให้เนื้อสัมผัส สี กลิ่น และรสชาติของโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเพียงเล็กน้อย

เท่านั้น จากผลการวิจัยทั้งหมดแสดงให้เห็นว่า การประยุกต์ใช้วิธีไมโครเอนแคปซูเลชันส่งผลให้แบคทีเรียโพรไบโอติกที่เติมลงในโยเกิร์ตยังคงมีชีวิตรอดได้ในระหว่างทำการเก็บรักษา มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในระดับที่มาตรฐานกำหนด คือ ต่ำกว่า 4.3 และมีปริมาณกรดที่ได้จากการไทเทรตไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.6 ซึ่งความรู้นี้นำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเพื่อสุขภาพที่มีประโยชน์ และมีความหลากหลายให้กับผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

1. Fuller R. Probiotics in man and animal. J Appl Bacteriol 1989;66:365-78.
2. Jankovic I, Sybesma W, Phothirath P, Ananta E, Mercenier A. Application of probiotics in food products- challenges and new approaches. Curr Opin Biotechnol 2010;21:175-81.
3. Anal AK, Singh H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends Food Sci Technol 2007;18:240-51.
4. De Vos P, Faas MM, Spasojevic M, Sikkema J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. Int Dairy J 2010;20:292-302.
5. Serna-Cock L, Vallejo-Castillo V. Probiotic encapsulation. Afr J Microbiol Res 2013;7:4743-53.
6. Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT and conventionally treated milk during storage. Food Sci Technol 2006;39:177-83.
7. จีราวรรณ คงขวัญ, ฐิติรัตน์ ตามะณี, อรุณรัตน์ บุรกรณ์. การศึกษาสูตรที่เหมาะสมสำหรับผลิตโยเกิร์ตถั่วเหลือง. โครงงานพิเศษหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ; 2555.
8. Sultana K, Godward G, Reynold N, Arumugaswamy R, Peiris P, Kailasapathy K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. Int J Food Microbiol 2000;62:47-55.
9. หทัยรัตน์ มุสิกสังข์. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกในไก่และการเพิ่มการรอดชีวิตของเชื้อโดยการห่อหุ้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา; 2551.
10. Noland EJ, Aryana K. Influence of micro-encapsulated probiotic *Lactobacillus acidophilus* R0052 on the characteristics of plain yogurt. Adv Microb 2012;2:364-67.
11. Kailasapathy K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. Food Sci Technol 2006;39:1221-7.
12. วรัญญา ไตรคุ้มภัย. ผลการใช้สารให้ความคงตัวและการเหลือรอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตนมข้าวโพด. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ครั้งที่ 1 วันที่ 3-4 ธันวาคม 2556. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงราย; 2556.