

## การผลิตเม็ดบีตส์น้ำสับประดผสมโปรไบโอติกด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟิรฟิเคชัน

## Production of Pineapple Juice Beads Containing Probiotics by Reverse Spherification Technique

กิตติ เมืองค่อม<sup>1</sup>Mueangtoom, K.<sup>1</sup>

## Abstract

The study aims to find the optimum conditions for pineapple juice containing probiotic (Lactofit®, CA) beads by reverse spherification, which calcium-lactate concentration (0.5 and 1.0g/100g) and gelation time (5 and 10 mins) were evaluated. Results showed that the optimum condition was 0.5g/100g of calcium-lactate solution and 10 mins gelation time. The average diameter of beads was ranged at 4.70–5.17 mm. However, effect of gelling temperature (10 and 25 °C) by alginate solutions were also studied. Utilization of sodium alginate solution at 10 °C rendered the bead with greater physical properties of the lowest in bead swelling ( $p \leq 0.05$ ) than other treatments. At the optimum condition, the probiotic survival rates in beads during storage at 10 °C for four weeks were tested. Results of stability test of probiotic showed the survival rate was 97.62% ( $6.65 \times 10^6$  CFU per bead) and probiotic cell were not found in pineapple juice.

**Keywords:** Pineapple juice, Probiotic, Reverse spherification

## บทคัดย่อ

การผลิตน้ำสับประดผสมกับโปรไบโอติกเป็นการเพิ่มคุณค่าต่อผู้บริโภค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเม็ดบีตส์สับประดผสมโปรไบโอติกส์ (Lactofit®, CA) ด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟิรฟิเคชัน โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเม็ดบีตส์ ที่สารละลายแคลเซียมแลคเตทเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 5 และ 10 นาที พบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 0.5 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 10 นาที ทำให้เม็ดบีตส์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4.70-5.17 มิลลิเมตร และในการศึกษาอุณหภูมิในการแช่สารละลายโซเดียมแอลจิเนตที่เหมาะสม พบว่า ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำให้เม็ดบีตส์มีลักษณะทางกายภาพดีที่สุด ( $p \leq 0.05$ ) และ เมื่อนำเม็ดบีตส์ไปแช่ในน้ำสับประด ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส 1 เดือน พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตของโปรไบโอติก 97.62 เปอร์เซ็นต์ ( $6.65 \times 10^6$  CFU ต่อเม็ดบีตส์) และไม่มีโปรไบโอติกหลุดออกมาในน้ำสับประดตลอดการเก็บรักษา

**คำสำคัญ:** น้ำสับประด โปรไบโอติก รีเวิร์สสเฟิรฟิเคชัน

## คำนำ

จังหวัดอุดรดิตถ์ มีการปลูกผลไม้เป็นจำนวนมาก เนื่องจากเป็นพื้นที่เขา เหมาะสำหรับการทำสวนผลไม้ โดยเฉพาะ ลองกอง อ่าเกอลับแล และสับประด อ่าเกอน้ำป่าด ที่มีการอัตราการล้มตลาต ราคาตกต่ำอย่างต่อเนื่อง ทำให้มีผู้ประกอบการในจังหวัดอุดรดิตถ์ไม่น้อยกว่า 20 ราย มีแนวคิดในการผลิตเครื่องดื่มน้ำผลไม้ แต่ไม่สามารถสร้างมูลค่าได้ เนื่องจากผู้บริโภคมองว่าบริโภคเครื่องดื่มน้ำผลไม้จากแหล่งใด ก็ได้รับสรรพคุณจากผลไม้เหมือนกัน และผลไม้บางชนิดที่มีผลต่อการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร ทำให้ผู้บริโภคได้รับสรรพคุณของเครื่องดื่มไม่เต็มประสิทธิภาพ และเปลี่ยนไปบริโภคอาหารเสริมอื่นแทน ดังนั้นวิธีการแก้ปัญหา คือ การเพิ่มสรรพคุณให้กับเครื่องดื่มน้ำผลไม้ โดยการส่งเสริมกิจกรรมทางจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร เพื่อให้ร่างกายได้รับสารสำคัญจากผลไม้ได้ง่าย และเป็นรูปแบบใหม่ที่สร้างมุมมองใหม่ให้ผู้บริโภค ในการพัฒนาต้นแบบการเติมจุลินทรีย์โปรไบโอติกซึ่งสวนใหญ่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus* spp. และ *Streptococcus* spp. ด้วยวิธีรีเวิร์สสเฟิรฟิเคชัน (reverse spherification) (Pawar และ Edgar, 2012) โดยการเติมจุลินทรีย์โปรไบโอติกด้วยวิธีนี้ ทำให้จุลินทรีย์สามารถรอดชีวิตและสร้างกิจกรรมต่าง ๆ ในระบบทางเดินอาหารได้ มีผลไปยังการเจริญและการสร้างสารพิษของแบคทีเรียที่ก่อโรค (กานต์ และรุ่งนภา, 2558)

ในการศึกษารุ่นนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเม็ดบีตส์สับประดผสมโปรไบโอติกส์ (Lactofit®, CA) ด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟิรฟิเคชัน และการศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์ในเม็ดบีตส์ ในน้ำสับประดพลาสเจอไรซ์ ที่มีรูปแบบ

<sup>1</sup> หลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์ (สำราญทุ่งกะโล่) อ่าเกอเมือง จังหวัดอุดรดิตถ์ ประเทศไทย 53000

Biology Department, Faculty of Sciences and Technology, Uttaradit Rajabhat University (Tung Ka Lo) Mueang, Uttaradit, Thailand. 53000

การผลิตไม่ยาก สามารถสร้างมูลค่าเพิ่มสินค้าเกษตรที่สำคัญในเชิงเศรษฐกิจจังหวัดอุดรดิตถ์ โดยใช้ผลไม้อัตลักษณ์ ได้แก่ น้ำสับปะรด ในการพัฒนาเป็นเครื่องดื่มผสม เม็ดบิตส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก สำหรับเป็นทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภค และการเพิ่มมูลค่าให้ผลไม้ท้องถิ่นต่อไป

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### 1. การเตรียมเม็ดบิตส์โดยวิธี reverse spherification

1.1 การเตรียมสารละลายภายใน ดัดแปลงมาจาก Sultana และคณะ (2000) โดยการเตรียมความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ (Lactofit®, CA) ที่ความเข้มข้น  $7 \times 10^7$  CFU ต่อน้ำสับปะรด 1 มิลลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เติมน้ำเกลือคลอรีนร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก นำสารละลายที่ได้แช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปหยดในสารละลายโซเดียมอัลจิเนต

1.2 การเตรียมส่วนห่อหุ้ม นำโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.5 และ 0.75 (w/v) นำไปตีปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน 5 นาที นำสารละลายโซเดียมอัลจิเนตไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

#### 2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดบิตส์

นำโซริงค์ดูดสารละลายจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์จากข้อ 1.1 นำมาหยดใส่ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตจากข้อ 1.2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ละหยดและกวนส่วนผสมที่ 120 rpm เป็นเวลา 5 นาที จะเกิดเม็ดบิตส์ จากนั้นกรองเม็ดบิตส์ด้วยตระแกรงและล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้งทำ Reverse Spherification โดยแช่เกลือแลคแททที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัม/100 มิลลิตร เวลา 5 และ 10 นาที เม็ดบิตส์จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่ได้จากทุกพรีเทเมนต์ นำมาทำการวิเคราะห์ลักษณะของเม็ดบิตส์และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดในการวิเคราะห์หัตถการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ต่อไป

#### 3. การวิเคราะห์จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในเม็ดบิตส์โปรไบโอติก

3.1 การนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกที่ไม่ผ่านการห่อหุ้มเซลล์นำแบคทีเรียแลคติกมาทำการเจือจางแบบ serial ten-fold (dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.35 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตรโดยแบคทีเรียที่ผ่านกรดพีเอช 2.0 เป็นเวลา 3 ชั่วโมงให้เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้น  $10^2$  ถึง  $10^4$  และแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการทำให้เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้น  $10^6$  ถึง  $10^8$  นับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตโดยเทคนิคการ pour plate ด้วยอาหาร NIRS agar หลอมเหลวที่มีการเติม bromocresol purple 0.004 เปอร์เซ็นต์ ร่อนอาหารแข็งตัวแล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (นับจำนวนโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหาร MRS agar จากสีม่วงเป็นสีเหลือง) รายงานผลเป็น log CFU ต่อมิลลิกรัม (Annan และคณะ, 2008)

3.2 การนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกที่ผ่านการห่อหุ้มเซลล์ซึ่งเม็ดเจล 1 กรัมเพิ่มสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 3.0 ปริมาตร 9 มิลลิตรนำไปเขย่าบนเครื่อง Vortex ที่ระดับความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 10 นาทีจนกระทั่งมีการละลายของเม็ดเจลทั้งหมดแล้วเจือจาง Suspension ของเซลล์ที่ได้แบบ serial ten-fold dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตรเจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม นับจำนวนเซลล์ในเม็ดเจลโดยเทคนิคการ pour plate ด้วยอาหาร MRS agar หลอมเหลวที่มีการเติม bromocresol purple 0.004 เปอร์เซ็นต์ ร่อนอาหารแข็งตัวแล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (นับจำนวนโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหาร MRS agar จากสีม่วงเป็นสีเหลือง) รายงานผลเป็น log CFU ต่อมิลลิกรัม (Annan และคณะ, 2008)

#### 4. การพัฒนาน้ำสับปะรด ที่ผสมเม็ดบิตส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก

คั้นน้ำสับปะรดห่วยมน นำมาใส่ขวดแก้วปริมาตร 250 มิลลิตร เติมน้ำสับปะรดที่ผสมเม็ดบิตส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก ในอัตราส่วน เม็ดบิตส์ต่อน้ำสับปะรด 10 : 90, 20:80 และ 30:70 (w/v) ตามลำดับ นำน้ำสับปะรดผสมเม็ดบิตส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก พลาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาใส่น้ำแข็งทันที แล้วนำผลิตภัณฑ์เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในเม็ดบิตส์ และในน้ำสับปะรดระหว่างการเก็บรักษาทุก 7 วันเป็นเวลา 1 เดือน ตามวิธีข้อ 3

## 5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลการวิจัยจากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายทุกขั้นตอนที่ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ด้วยการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง\*\*

#### 1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดบีดส์

1.1 ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดบีดส์ ทำโดยการเตรียมเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก ใช้ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 วัดคุณลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ขนาด ผิวด้านนอกของเม็ดบีดส์ พบว่าเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติกทุกความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตมีขนาด 5 มิลลิเมตร ผิวเม็ดบีดส์ที่ความเข้มข้นโซเดียมอัลจิเนตร้อยละ 0.75 และ 0.50 มีลักษณะผิวเรียบ ตึง และไม่เหี่ยว โดยที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.75 จะเปลือกแข็งและหนากว่า 0.50 ในขณะที่เม็ดบีดส์ที่ความเข้มข้นโซเดียมอัลจิเนตร้อยละ 0.25 มีลักษณะผิวอ่อน แต่ไม่ตึง และเหี่ยว

1.2 ความเข้มข้นของแคลเซียมแลคเตทที่เหมาะสมสำหรับการขึ้นรูปเม็ดบีดส์ในขั้นตอนการ Reverse Spherification พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 0.5 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 10 นาที ทำให้เม็ดบีดส์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4.70-5.17 มิลลิเมตร โดยที่การแช่ที่ 5 นาที ทำให้เม็ดบีดส์มีผนังบางและแตกง่ายกว่าการแช่ที่ 10 นาที โดยให้ผลในลักษณะเดียวกันกับการใช้แคลเซียมแลคเตทที่ความเข้มข้น 1.0 กรัม/100 มิลลิลิตร แต่ที่ความเข้มข้น 1.0 กรัม/100 มิลลิลิตร จะทำให้เม็ดบีดส์มีขนาดใหญ่ ผนังหนา และเหนียว ซึ่งไม่มารับประทาน โดยทั่วไปขนาดของเม็ดบีดส์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นขนาดของหัวเข็มที่ใช้ในการหยด และความหนืดของสารละลาย (Wichchukit และคณะ, 2013) หรือสภาวะที่มีประจุบวกของสารละลายที่ใส่ เช่น การแช่ในสารละลายแคลเซียมและการแช่ในสารละลายที่มี pH ต่ำ ซึ่งขนาดของเม็ดบีดส์ขึ้นอยู่กับความหนาของผิวเม็ดบีดส์ (Messoud และคณะ, 2015)

#### 2. ผลการศึกษาจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในเม็ดบีดส์โปรไบโอติก

เม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติกที่ขึ้นรูปด้วย โซเดียมอัลจิเนต ร้อยละ 0.5 และความเข้มข้นแคลเซียมแลคเตทที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 แช่ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นำมาใช้ในการศึกษาจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์อิสระที่อยู่ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ที่อยู่ในเม็ดบีดส์มีจำนวนมากกว่า จุลินทรีย์อิสระ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งสรุปได้ว่ากระบวนการ Reverse Spherification เป็นรูปแบบการตรึงเซลล์วิธีหนึ่งที่สามารถรักษาอัตราการอยู่รอดของเซลล์ได้นานขึ้น ซึ่งเกิดจากในเม็ดบีดส์มีสารอาหารสำหรับการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ได้ โดยน้ำสับปะรดที่เข้าร่วมกับการผลิตเม็ดบีดส์มีสารอาหารที่จำกัดแต่ก็สามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์ดำรงชีวิตได้มากกว่า 48 ชั่วโมง (Ding และ Shah, 2008) ในขณะที่การตรึงเซลล์โปรไบโอติก เป็นจุลินทรีย์ผสมซึ่งหลายชนิดมีผลในการผลิตเอนไซม์ในการใช้สารอาหารและทำให้สารอาหารมีจำนวนมากขึ้นเพื่อประโยชน์ต่อจุลินทรีย์กรดแลคติกอื่นๆในเม็ดบีดส์อีกด้วย (กานต์ และรุ่งนภา, 2558)

#### 3. ผลของการพัฒนาน้ำสับปะรด ที่ผสมเม็ดบีดส์จุลินทรีย์โปรไบโอติก

3.1 ลักษณะทางกายภาพ พบว่า เมื่อเก็บน้ำสับปะรดผสมเม็ดบีดส์ ในตู้เย็น 10 องศาเซลเซียส พบว่าตลอดระยะเวลา 7 วัน ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ทั้งสี กลิ่น และความขุ่นของน้ำสับปะรด เนื่องจากผลิตภัณฑ์ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ชันแล้ว และเก็บที่อุณหภูมิเย็น

3.2 อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โปรไบโอติก พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตลดลงในเม็ดบีดส์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บ แต่ไม่มีผลแสดงการเจริญของเชื้อในน้ำสับปะรด ซึ่งแสดงว่าเชื้อไม่หลุดออกจากเม็ดบีดส์ ตลอดระยะเวลาการเก็บ โดยอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์เมื่อเก็บที่เวลา 7 วัน ยังคงมีอัตราการรอดชีวิตที่ร้อยละ 100 ในขณะที่มีการเก็บผลิตภัณฑ์ 1 เดือน พบว่า มีอัตราการรอดชีวิตของโปรไบโอติกที่ 97.62 เปอร์เซ็นต์ ( $6.65 \times 10^7$  CFU ต่อเม็ดบีดส์) ซึ่งอยู่ในระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (กานต์ และรุ่งนภา, 2558)

### สรุปผล

การทำเม็ดบีดส์สับปะรดผสมโปรไบโอติกส์ (Lactofit®, CA) ด้วยเทคนิครีเวิร์สเฟิรริฟิเคชัน โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำเม็ดบีดส์ ที่สารละลายแคลเซียมแลคเตทเข้มข้น 0.5 กรัม/100 มิลลิลิตร เวลา 10 นาที ทำให้เม็ดบีดส์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 4.70-5.17 มิลลิเมตร และในการศึกษาอุณหภูมิในการแช่สารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่เหมาะสม พบว่า ที่

อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำให้เม็ดปิดส์มีลักษณะทางกายภาพดีที่สุด ( $p \leq 0.05$ ) และ และเมื่อนำเม็ดปิดส์ไปแช่ในน้ำสับปะรด ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส 1 เดือน พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตของโปรไบโอติก 97.62 เปอร์เซ็นต์ ( $6.65 \times 10^7$  CFU ต่อเม็ดปิดส์) และไม่มีโปรไบโอติกหลุดออกมาในน้ำสับปะรดตลอดการเก็บรักษา ซึ่งอยู่ในระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

### คำขอบคุณ

นักวิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และสำนักงานวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานวิจัยประจำปี 2564 และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

### เอกสารอ้างอิง\*\*

- กานต์ แยมพงษ์ และรุ่งนภา สนุนดี, 2558, การประยุกต์ใช้การตรึงเซลล์โปรไบโอติกด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูลในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส, รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการ, การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 2 “งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น” วันที่ 14 กุมภาพันธ์ 2558, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์, หน้า 94-102.
- Annan, N. T., Borza, A. D. and Hansen, L. T., 2008, Encapsulation in alginate coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro intestinal conditions, *Food Res. Int.*, 41: 184-193.
- Ding, W. K. and Shah, N. P., 2008, Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices, *International Food Research Journal*, 15(2): 219 -232.
- Messaoud, G.B., Sánchez-González, L., Jacquot, A., Probst, L. and Desobry, S., 2015, Alginate/sodium caseinate aqueouscore capsules: A pH-responsive matrix, *J. Colloid and Interf. Sci.*, 440: 1-8.
- Pawar, S.N. and Edgar, K.J., 2012, Alginate derivatization: A review of chemistry properties and applications, *J. Biomat.*, 33: 3279-3305.
- Sultana, K, Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P. and Kailasapathy, K., 2000, Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt, *Int. J. Food Microbiol.*, 62: 47-55.
- Wichukit, S., Oztop, M.H., McCarthy, M.J. and McCarthy, K.L., 2013, Whey protein/ alginate beads as carriers of a bioactive component, *J. Food Hydrocoll.*, 33: 66-73.