

ผลของสารละลายเกลือและการทำแห้งต่อความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้ง

Effects of Salt Solution and Drying on the Stability of
Chlorophyll Pigments in *Chara corallina*นพรัตน์ มะเห^{1*}, ดลฤดี พิชัยรัตน์¹ และวรรณณี จันทร์แก้ว²Nopparat Mahae^{1*}, Donrudee Pichairat¹ and Wanninee Chankaew²

Received date: 7 ส.ค. 67 Revised date: 6 พ.ย. 67 Accepted date: 6 พ.ย. 67

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2025.06.23.008>

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารละลายเกลือและการทำแห้งต่อความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้ง การทดลองมีการศึกษาผลของสารละลายสามชนิด ($ZnCl_2$, $NaCl$ และ $NaHCO_3$) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรักษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์โดยใช้ response surface methodology (RSM) และการรักษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ โดยวิธีการห่อหุ้ม ด้วยกัมอารบิก และ มอลโตเดกซ์ทริน ผลการทดลองพบว่าสารละลาย $NaHCO_3$ ช่วยรักษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ได้ดีที่สุด โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการรักษาความคงตัวคือ ความเข้มข้นของ $NaHCO_3$ เท่ากับ 0.3% อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 90 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 10 นาที สำหรับการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยเพื่อเตรียมผงสารสีซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและคลอโรฟิลล์ (metallochlorophyll complexes) จากสาหร่ายก้ามกุ้ง โดยกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยเพื่อห่อหุ้ม (encapsulation) สารสีคลอโรฟิลล์นั้น ตัวห่อหุ้ม (encapsulating agent) ที่เหมาะสมคือมอลโตเดกซ์ทริน (maltodextrin) ผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการผลิตสารสีจากธรรมชาติ เพื่อลดความเสี่ยงจากการใช้สารสีสังเคราะห์ เพิ่มคุณประโยชน์จากคลอโรฟิลล์ และเป็นการนำวัตถุดิบในท้องถิ่นคือสาหร่ายก้ามกุ้งมาเพิ่มมูลค่าให้มากขึ้น

คำสำคัญ: สาหร่ายก้ามกุ้ง ความคงตัวของสารสี สีจากธรรมชาติ คลอโรฟิลล์

Abstract

This experiment aimed to study the effect of salt solution and drying on the stability of the chlorophyll pigment in *Chara corallina*. The experiment was performed to study the effects of three solutions ($ZnCl_2$, $NaCl$ and $NaHCO_3$), the optimum conditions for maintaining the stability of chlorophyll pigments by using response surface methodology (RSM), and the stabilization of chlorophyll pigments with encapsulation using gum arabic and maltodextrin. For the results, $NaHCO_3$ solution showed the best solution for maintaining stability of the chlorophyll pigment. The appropriate conditions for maintaining stability were 0.3% $NaHCO_3$ concentration, 90 °C for reaction temperature, and 10 minutes for the reaction time. The drying method to prepare pigment powder which was a complex compound of metals and chlorophyll (metallochlorophyll complexes) from *Chara corallina* was using spray drying machine. The spray drying process was performed to encapsulate chlorophyll pigment and a suitable encapsulating agent was maltodextrin. The results of the experiment can be used as guidelines for the production of natural pigments, to reduce the risk of using synthetic dyes. Additionally, it increases the benefits of chlorophyll and adds more value to *Chara corallina*, which is a local raw material.

Keywords: *Chara corallina*, stability of pigment, natural color, chlorophyll

¹ สาขาวิชาอุตสาหกรรมอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จ.ตรัง 92150

² สาขาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จ.นครศรีธรรมราช 80110

¹ Food Industry Program, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang 92150

² Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat 80110

* Corresponding author: email: nopparat.rmutsv@gmail.com

คำนำ

การผลิตสารเติมแต่งทางอาหาร หรือวัตถุเจือปนทางอาหาร (food additive) จากธรรมชาติ ได้รับความสนใจมากขึ้นในปัจจุบันรวมทั้งสารสีจากธรรมชาติ สารแต่งสีจากธรรมชาติหลายชนิดถูกนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์ และได้รับการอนุมัติให้ใช้ในสหรัฐอเมริกาและสหภาพยุโรป เช่น แอนโทไซยานิน จากสารสกัดจากผิวองุ่น สารสกัดจากสีขององุ่น น้ำผลเบอร์รี่หรือน้ำแครอท และกะหล่ำปลี กลุ่มแคโรทีนอยด์ เช่น แอนแนตโต (annatto) เป็นสารสีธรรมชาติที่มีสีเหลืองส้มถึงสีแดง จาก คำแสด (*Bixa orellana* L.) แอสตาแซนธิน จาก สาหร่ายแดง (*Paracoccus carotinifaciens*) หรือ ยีสต์ *Phaffia rhodozyma* เบต้า-แคโรทีนจากแครอท น้ำมันแครอท เอนโดสเปิร์มข้าวโพด และพริกหยวก (*Capsicum annuum* L.) คลอโรฟิลล์จากต้นถั่ว อัลฟัลฟา (*Medicago sativa*) เคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) เบตาเลนจากผงบีทรูท (*Beta vulgaris* L.) กรดคาร์มินิกจากสารสกัด cochineal (*Dactylopius coccus*) และคาราเมลจากการให้ความร้อนแก่น้ำตาล (Sigurdson et al., 2017) นอกเหนือจากแหล่งที่มาเหล่านี้ พืชใหม่และวัสดุจากพืชและผลไม้ จุลินทรีย์และแมลง ก็ได้รับความสนใจเพื่อจุดประสงค์ดังกล่าว (Martins et al., 2016)

สารจากธรรมชาติส่วนใหญ่ไม่มีความคงตัว คลอโรฟิลล์ก็เป็นสารให้สีเขียวอีกชนิดหนึ่งจากธรรมชาติที่ไม่มีความคงตัวในการนำมาทำเป็นสารสี หรือสีธรรมชาติ ความไม่คงตัวของคลอโรฟิลล์เกิดเนื่องจาก คลอโรฟิลล์ง่ายต่อการถูกทำลายหรือง่ายต่อการเสื่อมสภาพทั้งจาก เอนไซม์ กรด ออกซิเจน แสง และความร้อน ทำให้เกิดอนุพันธ์ต่างๆ ของคลอโรฟิลล์ เช่น pheophytin, pheophorbide, pyropheophytin และ pyropheophorbide การทำให้คลอโรฟิลล์มีความคงตัวสามารถทำได้โดยการแทนที่ magnesium ion ใน porphyrin ring ด้วย divalent cations เช่น zinc หรือ copper เพื่อเปลี่ยนรูปแบบธรรมชาติให้อยู่ในรูปที่มีโครงสร้างที่มีความคงตัว (Humphrey, 1980) ซึ่งอนุพันธ์ที่เกิดขึ้นจะมีสีเขียวเหมือนสีธรรมชาติของคลอโรฟิลล์แต่มีความคงตัวต่อกรดและความร้อน นอกจากนั้นยังมีประสิทธิภาพในด้านการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Tonucci and von Elbe, 1992)

ปัจจัยต่างๆ เช่น pH อุณหภูมิ การมีอยู่ของเกลือ เอนไซม์ และไอออนที่ออกฤทธิ์ที่พื้นผิว มีอิทธิพลต่อความคงตัวของคลอโรฟิลล์ คลอโรฟิลล์มีความคงตัวดีขึ้นที่ pH สูงขึ้น (Ryan-Stoneham and Tong, 2000) โดยทั่วไปเกลือของแมกนีเซียม แคลเซียม โซเดียม แอมโมเนียม และสารออกฤทธิ์ที่พื้นผิวบางชนิดมีผลต่อการรักษาความคงตัวของคลอโรฟิลล์ (Woolf, 1979) จากการศึกษาของ Kaushal et al. (2013) ในการลวกใบเผือก (Taro : *Colocasia esculenta* (L.) Schott) พบว่า การลวกใบเผือกในน้ำเป็นเวลา 10 วินาที หรือในด่าง เช่น NaHCO_3 ความเข้มข้น 0.1% ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ดีกว่าการลวกด้วยไอน้ำหรือไม่ลวก โดยแสดงการสูญเสียสีเขียวที่น้อยที่สุดซึ่งสะท้อนจากปริมาณคลอโรฟิลล์และลักษณะทางโภชนาการ การศึกษาความคงตัวของคลอโรฟิลล์ในเกลือชนิดอื่นๆ เช่น เกลือ ZnCl_2 (Rahayuningsih et al., 2018) เกลือ NaCl เกลือ CaCl_2 และเกลือ $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (Kaur et al., 2018) เป็นต้น

นอกจากการทำให้คลอโรฟิลล์อยู่ในรูปที่มีความเสถียรยากต่อการเปลี่ยนรูปแล้ว การนำคลอโรฟิลล์มาผ่านกระบวนการทำแห้ง ด้วยกระบวนการ encapsulation เพื่อเก็บรักษา ก็เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญ สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ได้ การทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีการนำมาใช้กันมากในการเปลี่ยนของเหลวเป็นผงแห้ง ซึ่งการทำแห้งแบบพ่นฝอยก็เป็นวิธีการหนึ่งที่น่ามาใช้ในกระบวนการ encapsulation การทำแห้งนอกจากช่วยให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นแล้ว ยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวยากต่อการเปลี่ยนแปลง ขั้นตอนเริ่มต้นในการทำแห้งสารสีเกี่ยวข้องกับการเลือกใช้วัสดุห่อหุ้มที่เหมาะสม ที่เรียกว่าตัวพา (carrier) หรือสารห่อหุ้ม (encapsulating agent) เช่น กัมอารบิก (gum arabic) ไฮโดรไลซ์สตาร์ช (hydrolyzed starches) และ แป้งดัดแปร (modified starches) วัสดุห่อหุ้มทั้งสามชนิดนี้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในกระบวนการ microencapsulation สารสี เช่น เบตาไซยานิน (Cai and Corke, 2000; Azeredo et al., 2007) แอนโทไซยานิน (Ersus and Yurdagel, 2007), เบตาเลน (Obón et al., 2009) และแคโรทีน (Wagner and Warthesen, 1995)

การทดลองครั้งนี้ต้องการศึกษาผลของสารละลายและการทำแห้งต่อความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้ง โดยศึกษาสารละลายที่ทำให้สารสีคลอโรฟิลล์อยู่ในรูปที่คงตัวมากขึ้น จากนั้นทำให้สารสีมีความคงตัวในการเก็บรักษาด้วยการทำแห้งโดยใช้การทำแห้งแบบพ่นฝอย ในรูปแบบของการทำ encapsulation โดยศึกษาสารที่ใช้ห่อหุ้ม 2 ชนิดคือ กัมอารบิก และ มอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin) นำสารห่อหุ้มที่มีความเหมาะสมมาใช้เป็นตัวห่อหุ้มเพื่อผลิตผงของสารสีจากคลอโรฟิลล์ ผงสารสีที่ได้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

วิธีการศึกษา

การศึกษาชนิดของสารละลายที่เหมาะสมต่อการรักษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้ง

ศึกษาชนิดของสารละลายที่เหมาะสมต่อการรักษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้ง โดยใช้สารละลายเกลือโลหะ 3 ชนิดคือ ZnCl_2 , NaCl และ NaHCO_3 ความเข้มข้นของสารละลายเกลือโลหะที่ใช้ในการศึกษาคือ 1) ZnCl_2 ความเข้มข้น 0, 200, 400 และ 600 ppm 2) NaCl ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.3% และ 3) NaHCO_3 ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.3% โดยแยกศึกษาสารละลายแต่ละชนิด ตามความเข้มข้นที่กำหนด แล้วนำความเข้มข้นที่ดีที่สุดของสารละลายแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบกับอีกครั้ง

การเตรียมตัวอย่าง

ล้างสาหร่ายก้ามกุ้งให้สะอาดด้วยน้ำประปา จากนั้นลวกสาหร่ายในน้ำเดือด เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปบดตัวอย่างให้ละเอียด ด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์ (Philip 5000 series, เนเธอร์แลนด์) เก็บตัวอย่างด้วยการแช่เยือกแข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระหว่างการรอดำเนินการภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

การสังเคราะห์ metal-chlorophyll complexes

ทำการสังเคราะห์ metal-chlorophyll complexes โดยดัดแปลงวิธีการของ Rahayuningsih et al. (2018) และ Salama and Moharram (2007) นำสาหร่ายที่ผ่านการลวกและบดแล้ว 70 กรัม มาทำปฏิกิริยาสารละลายเกลือของโลหะต่างๆ ปริมาตร 280 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยใช้สารละลายเกลือโลหะตามความเข้มข้นที่กำหนด

การสกัด metal-chlorophyll complexes

สกัด metal-chlorophyll complexes โดยดัดแปลงวิธีการของ Rahayuningsih et al. (2018) และ Salama and Moharram (2007) นำตัวอย่างสาหร่ายที่ได้จากการให้ความร้อน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 96% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask shaker ปิดปากฟลาสก์ด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ นำไปใส่ใน shaker water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 135 รอบต่อนาที เป็นเวลา 45 นาที

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์

วิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ ตามวิธีการของ Rahayuningsih et al. (2018) โดยการนำสารสกัด 6 กรัม เจือจางด้วยอะซิโตน 30 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างด้วย magnetic stirrer ความเร็ว 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำตัวอย่าง 5 มิลลิลิตรไปทำการหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นกรองสารสกัดที่ได้ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายส่วนใสมาทำการวัดค่าความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 nm คำนวณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ ตามสมการของ Zhang et al. (2009)

$$\text{Chl}_a (\text{ug.g}^{-1}) = 12.72 \text{ OD}_{663} - 2.59 \text{ OD}_{645} \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Chl}_b (\text{ug.g}^{-1}) = 22.90 \text{ OD}_{645} - 4.67 \text{ OD}_{663} \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} (\text{ug.g}^{-1}) = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b = 20.31 \text{ OD}_{645} + 8.05 \text{ OD}_{663} \dots\dots\dots(3)$$

การวัดค่าสี

วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดค่าสี (Colorimeter) ยี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex EZ (ประเทศสหรัฐอเมริกา) ทำการวัดค่า L^* , a^* , b^* , เมื่อ ค่า L^* บ่งบอกถึงความสว่าง (100 = ขาว, 0 = ดำ), a^* value ($+a^*$ = red, $-a^*$ = green), b^* value ($+b^*$ = yellow, $-b^*$ = blue)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรักษาความคงตัวของสารสีในสาหร่ายก้ามกุ้งด้วยวิธี RSM

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรักษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้งด้วย วิธี RSM โดยใช้สารละลายที่คัดเลือกจากข้างต้น ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความคงตัวของสารสีในสาหร่ายก้ามกุ้ง โดยออกแบบการทดลองแบบ บ็อกซ์-เบห์นเคน ที่มี 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของสารละลาย (X_1) อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (X_2) และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (X_3)

การรักษาความคงตัวของสารสีด้วยการห่อหุ้ม (Encapsulation)

นำสารละลายและสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้านี้ มาใช้ในการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและคลอโรฟิลล์จากสาหร่ายหรือ metallochlorophyll complexes โดยดัดแปลงวิธีการของ Senklang and Anprung (2010) จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการ encapsulation ด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer ของ บริษัท Niro ประเทศเดนมาร์ก) โดยใช้ตัวห่อหุ้ม (wall material) 2 ชนิดคือ กัมอารบิก และ มอลโทเดกซ์ทริน เตรียมตัวอย่างโดยใช้ตัวห่อหุ้มความเข้มข้น

10% นำของผสมที่ได้เข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มี nozzle ขนาด 0.5 mm ความดันและความเร็วลมของ atomizer เท่ากับ 50 kPa และ 0.70 m³/min ตามลำดับ อุณหภูมิของลมเข้าและลมออกเท่ากับ 150 ± 5 องศาเซลเซียส และ 90 ± 5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ อัตราการเติมตัวอย่างเท่ากับ 300 ml/h เก็บตัวอย่างที่ได้เพื่อศึกษาค่าสีและวิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ ตามวิธีการของ Rahayuningsih et al. (2018)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาชนิดของสารละลายที่เหมาะสมต่อการรักษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้ง

จากการศึกษาชนิดของสารที่เหมาะสมต่อการรักษาความคงตัวของสารสีในสาหร่ายก้ามกุ้ง โดยใช้สารละลาย 3 ชนิดคือ ZnCl₂ (ความเข้มข้น 0, 200, 400 และ 600 ppm) NaCl (ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.3%) และ NaHCO₃ (ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.3%) ผลการทดลองแสดงดัง Table 1-6

จากการศึกษาผลของ ZnCl₂ ต่อการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ โดยวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าสี และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ (Table 1-2) พบว่า เมื่อพิจารณาค่า $-a^*$ ซึ่งบ่งบอกถึงความเป็นสีเขียว สาหร่ายสดจะมีความเป็นสีเขียวต่ำสุด และสาหร่ายที่ผ่านการลวกจะมีสีเขียวมากกว่าสาหร่ายสด นั่นคือการลวกจะช่วยรักษาความคงตัวของคลอโรฟิลล์ซึ่งวัดจากสีเขียวได้ระดับหนึ่ง แต่การให้คลอโรฟิลล์ทำปฏิกิริยากับโลหะคือ Zn ในรูปของ ZnCl₂ จะให้ผลที่ดีกว่า โดยที่ระดับความเข้มข้นของ ZnCl₂ ต่างๆกัน ให้ผลที่ต่างกัน ทั้งลักษณะของสีและความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 600 ppm จะให้ค่าความเป็นสีเขียว ($-a^*$) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ทั้งหมดสูงสุด ($p < 0.05$)

คลอโรฟิลล์ เอ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของแมกนีเซียม และพอร์ไฟริน (porphyrin) ที่มีวงแหวนไซโคลเพนทาโนน (cyclopentanone ring) คลอโรฟิลล์ เอ ไม่ละลายในน้ำแต่ละลายได้ดีในเอทานอลและเมทานอล สูตรทางเคมีของคลอโรฟิลล์ เอ คือ C₅₅H₇₂O₅N₄Mg ในอีกด้านหนึ่ง คลอโรฟิลล์ บี ก็เป็นอีกสิ่งหนึ่งในรูปของคลอโรฟิลล์ที่ช่วยสังเคราะห์แสงโดยการดูดซับพลังงานแสง นอกจากนี้ยังไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ดีในเอทานอลและเมทานอล สูตรทางเคมีคือ C₅₅H₇₀O₆N₄Mg (Lide, 2009) คลอโรฟิลล์สามารถย่อยสลายได้ง่ายที่ค่า pH อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และการสัมผัสกับออกซิเจนหรือแสงโดยตรง อนุพันธ์ที่เกิดขึ้นคือ ฟิโอฟิติน (pheophytin) ฟิโอฟอร์ไบด์ (pheophorbide) ไพโรฟิโอฟิติน (pyropheophytin) และไพโรฟิโอฟอร์ไบด์ (pyropheophorbide) การเสื่อมสภาพของสีเกิดขึ้นเนื่องจากของการแทนที่ของ Mg²⁺ ไอออนกับ H⁺ ไอออนจากพอร์ไฟริน (Koca et al. 2007) มีงานวิจัยซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดคลอโรฟิลล์สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสีโดยการแทนที่ Mg²⁺ ในโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ด้วย Zn²⁺ หรือ Cu²⁺ (Senklang and Anprung, 2010) การศึกษาครั้งนี้ใช้ ZnCl₂ คือใช้ Zn²⁺ มาช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ นอกจากนั้นจากการศึกษาของ Rahayuningsih et al. (2018) ซึ่งศึกษาในใบ suji (*Pleomele angustifolia* Roxb.) พบว่าการสกัดสารสีธรรมชาติจากใบ suji ด้วยน้ำและรักษาความคงตัวของสารสี สภาวะที่เหมาะสมคือการเติม ZnCl₂ ความเข้มข้น 700 ppm โดยใช้สภาวะที่ pH 7 และอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส สภาวะนี้ทำให้ได้คลอโรฟิลล์ทั้งหมดปริมาณ 47.297 มก./100 กรัมน้ำหนักสด

Table 1 Effect of ZnCl₂ solution on color value in *Chara corallina*

Sample	Color parameters		
	L* value	a* value	b* value
Raw algae	17.32 ± 0.06 ^a	-5.93 ± 0.01 ^e	16.13 ± 0.06 ^c
Blanched algae + 0 ppm ZnCl ₂	15.76 ± 0.05 ^b	-7.81 ± 0.03 ^d	18.07 ± 0.42 ^b
Blanched algae + 200 ppm ZnCl ₂	14.87 ± 0.02 ^d	-7.82 ± 0.01 ^{cc}	18.02 ± 0.04 ^b
Blanched algae + 400 ppm ZnCl ₂	14.42 ± 0.13 ^e	-7.85 ± 0.01 ^b	17.86 ± 0.12 ^b
Blanched algae + 600 ppm ZnCl ₂	15.23 ± 0.07 ^c	-7.89 ± 0.03 ^a	18.62 ± 0.03 ^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$.

Table 2 Effect of ZnCl₂ solution on chlorophyll concentration in *Chara corallina*

Sample	Chlorophyll concentration (ug.g ⁻¹)		
	Chl a	Chl b	Chl total
Raw algae	2.302 ± 0.010 ^e	1.095 ± 0.003 ^e	3.397 ± 0.011 ^e
Blanched algae + 0 ppm ZnCl ₂	3.540 ± 0.001 ^d	1.525 ± 0.003 ^d	5.065 ± 0.004 ^d
Blanched algae + 200 ppm ZnCl ₂	3.588 ± 0.001 ^c	1.531 ± 0.003 ^c	5.119 ± 0.004 ^{bc}
Blanched algae + 400 ppm ZnCl ₂	3.624 ± 0.001 ^b	1.540 ± 0.003 ^b	5.163 ± 0.004 ^b
Blanched algae + 600 ppm ZnCl ₂	3.662 ± 0.001 ^a	1.635 ± 0.003 ^a	5.297 ± 0.004 ^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

การเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์เกิดขึ้นโดยตรงหลังจากใบไม้ถูกเก็บเกี่ยวผ่านปฏิกิริยาที่มีการใช้เอนไซม์และไม่ใช้เอนไซม์ (Oberhuber et al., 2003; Skutnik et al., 2004; Hörtensteiner and Kräutler, 2011) การสลายตัวของคลอโรฟิลล์ด้วยเอนไซม์เกิดขึ้นเนื่องจาก การมีเอนไซม์ย่อยสลายคลอโรฟิลล์ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพืช เอนไซม์จะย่อยสลายคลอโรฟิลล์ในช่วงที่ใบไม้แก่ หรือการสุกของผลไม้/ผักสีเขียว (Kaewsuksaeng, 2011) ในขณะที่การย่อยสลายที่ไม่ใช้เอนไซม์ได้รับผลกระทบจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม และมักเกิดขึ้นในกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว (Suzuki et al., 2005)

จากการศึกษาผลของ NaCl ต่อการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ โดยวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าสี และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ (Table 3-4) พบว่า เมื่อพิจารณาค่า $-a^*$ ซึ่งบ่งบอกถึงความเป็นสีเขียว สาหร่ายสดจะมีความเป็นสีเขียวต่ำสุด และสาหร่ายที่ผ่านการลวกจะมีสีเขียวมากกว่าสาหร่ายสด แต่การให้คลอโรฟิลล์ทำปฏิกิริยากับโลหะคือ Na ในรูปของ NaCl จะให้ผลที่ดีกว่า โดยที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl ต่างกัน ให้ผลที่ต่างกัน ทั้งลักษณะของสี และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.3% จะให้ค่าความเป็นสีเขียว ($-a^*$) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ทั้งหมดสูงสุด ($p < 0.05$) จากการศึกษาของ Kaur et al. (2018) ซึ่งศึกษาผลของการลวกบรอกโคลีสดก่อนการอบแห้งด้วยเกลือชนิดต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นของเกลือในการลวกที่แนะนำคือ โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5% โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.1% และโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.1% คือความเข้มข้นที่แนะนำของเกลือแต่ละชนิด

Table 3 Effect of NaCl solution on color value in *Chara corallina*

Sample	Color parameters		
	L* value	a* value	b* value
Raw algae	17.32 ± 0.06 ^a	-5.93 ± 0.01 ^d	16.13 ± 0.06 ^d
Blanched algae + 0 % NaCl	15.76 ± 0.05 ^c	-7.81 ± 0.03 ^c	18.07 ± 0.42 ^{bc}
Blanched algae + 0.1 % NaCl	16.00 ± 0.29 ^{bc}	-8.00 ± 0.09 ^b	18.28 ± 0.04 ^b
Blanched algae + 0.2 % NaCl	15.21 ± 0.02 ^d	-8.18 ± 0.02 ^a	17.88 ± 0.01 ^c
Blanched algae + 0.3 % NaCl	16.11 ± 0.23 ^b	-8.25 ± 0.02 ^a	18.70 ± 0.13 ^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

Table 4 Effect of NaCl solution on chlorophyll concentration in *Chara corallina*

Sample	Chlorophyll concentration (ug.g ⁻¹)		
	Chl a	Chl b	Chl total
Raw algae	2.302 ± 0.010 ^e	1.095 ± 0.003 ^d	3.397 ± 0.011 ^e
Blanched algae + 0 % NaCl	3.540 ± 0.001 ^d	1.525 ± 0.003 ^b	5.065 ± 0.004 ^d
Blanched algae + 0.1 % NaCl	3.826 ± 0.001 ^c	1.454 ± 0.002 ^c	5.280 ± 0.003 ^c
Blanched algae + 0.2 % NaCl	4.001 ± 0.003 ^b	1.637 ± 0.003 ^a	5.638 ± 0.005 ^b
Blanched algae + 0.3 % NaCl	4.014 ± 0.004 ^a	1.646 ± 0.001 ^a	5.660 ± 0.005 ^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

จากการศึกษาผลของ NaHCO_3 ต่อการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ โดยวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าสี และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ (Table 5-6) พบว่า เมื่อพิจารณาค่า $-a^*$ ซึ่งบ่งบอกถึงความเป็นสีเขียว สาหร่ายสดจะมีความเป็นสีเขียวต่ำสุด และสาหร่ายที่ผ่านการลวกจะมีสีเขียวมากกว่าสาหร่ายสด แต่การให้คลอโรฟิลล์ทำปฏิกิริยากับโลหะคือ Na ในรูปของ NaHCO_3 จะให้ผลที่ดีกว่า โดยที่ระดับความเข้มข้นของ NaHCO_3 ต่างๆกัน ให้ผลที่ต่างกัน ทั้งลักษณะของสี และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.3% จะให้ค่าความเป็นสีเขียว ($-a^*$) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ทั้งหมดสูงสุด ($p < 0.05$)

Kaushal et al. (2013) ศึกษาผลการลวกของใบเผือก (Taro : *Colocasia esculenta* (L.) Schott) โดยใช้ MgO , NaCl , NaHCO_3 และ EDTA ผลการทดลองพบว่า การลวกใบเผือกในน้ำเป็นเวลา 10 วินาที หรือในด่าง เช่น NaHCO_3 ความเข้มข้น 0.1% ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ดีกว่าการลวกด้วยไอน้ำหรือไม่ลวก โดยแสดงการสูญเสียสีเขียวที่น้อยที่สุดซึ่งสะท้อนจากปริมาณคลอโรฟิลล์และลักษณะทางโภชนาการ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Cao and Dong (2023) ที่มีการศึกษาในผักหวานบ้าน *Sauropus androgynus* ซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีคลอโรฟิลล์จำนวนมาก สกัดคลอโรฟิลล์จาก *S. androgynus* โดยการกวนใบสดบดด้วยความเร็วรอบ 500 รอบต่อนาที สภาวะอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 25 นาที ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 40% และเติมเกลือต่างๆ เช่น NaCl , Na_2CO_3 และ ZnSO_4 เพื่อเปรียบเทียบความเสถียรเมื่อเวลาผ่านไป ผลการวิจัยพบว่าภายใต้สภาวะการสกัดปกติที่อุณหภูมิห้องภายใน 25 นาที การเติมเกลือ Na_2CO_3 ความเข้มข้น 1% (น้ำหนักแห้ง) จะให้ปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดที่ 1.351 ± 0.032 มก./กรัมน้ำหนักแห้ง

Table 5 Effect of NaHCO_3 solution on color value in *Chara corallina*

Sample	Color parameters		
	L* value	a* value	b* value
Raw algae	17.32 ± 0.06^a	-5.93 ± 0.01^e	16.13 ± 0.06^d
Blanched algae + 0 % NaHCO_3	15.76 ± 0.05^b	-7.81 ± 0.03^d	18.07 ± 0.42^a
Blanched algae + 0.1 % NaHCO_3	14.81 ± 0.03^e	-8.15 ± 0.03^c	17.21 ± 0.04^c
Blanched algae + 0.2 % NaHCO_3	15.04 ± 0.02^d	-8.51 ± 0.03^a	17.67 ± 0.04^b
Blanched algae + 0.3 % NaHCO_3	15.57 ± 0.01^c	-8.30 ± 0.03^b	18.13 ± 0.03^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

Table 6 Effect of NaHCO_3 solution on chlorophyll concentration in *Chara corallina*

Sample	Chlorophyll concentration ($\mu\text{g.g}^{-1}$)		
	Chl a	Chl b	Chl total
Raw algae	2.302 ± 0.010^e	1.095 ± 0.003^e	3.397 ± 0.011^e
Blanched algae + 0 % NaHCO_3	3.540 ± 0.001^d	1.525 ± 0.003^d	5.065 ± 0.004^d
Blanched algae + 0.1 % NaHCO_3	3.917 ± 0.006^c	2.331 ± 0.000^c	6.248 ± 0.006^c
Blanched algae + 0.2 % NaHCO_3	4.049 ± 0.004^b	2.987 ± 0.017^b	7.037 ± 0.021^b
Blanched algae + 0.3 % NaHCO_3	4.340 ± 0.003^a	3.033 ± 0.006^a	7.372 ± 0.009^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

ในกระบวนการลวกผักใบเขียวมักมีการปรับสภาวะให้เป็นด่างในการลวกผัก เพื่อป้องกันการเสียสภาพของคลอโรฟิลล์ไปเป็นฟีโอไฟติน (pheophytin) โดยด่างที่มักมีการใช้ได้แก่ NaHCO_3 และ MgCO_3 ซึ่งเป็นเกลือที่เป็นด่าง (alkaline salt) จากการศึกษาของ Prangdimurti et al. (2006) พบว่า การสกัดโดยใช้ 0.75% Tween 80 ร่วมกับ Na-citrate ความเข้มข้น 12 mM เป็นเวลา 30 นาที ให้สารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบ suji ที่สูง การศึกษาของ Hutajulu et al. (2008) พบว่าการใช้ MgCO_3 ช่วยรักษาสีเขียวของใบ suji นอกจากนั้นการใช้ CaCO_3 และ MgCO_3 จะช่วยรักษาสีเขียวของคลอโรฟิลล์จากสารสกัดใบ suji (Caesar et al., 2018) เกลือเหล่านี้จะทำให้เกิดความเป็นกลางของกรดในเนื้อเยื่อของพืช ลดการทำให้เป็นกรด ยับยั้งการเกิดของฟีโอไฟติน (pheophytin) ซึ่งทำให้เกิดสีเขียวน้ำตาล ในสารสกัดของคลอโรฟิลล์ (Schwartz and Lorenzo, 1990; Weber et al., 2013)

จาก Table 1-6 พบว่า 0.3 % NaCl, 0.3 % NaHCO₃ และ 600 ppm ZnCl เป็นความเข้มข้นของสารละลายเกลือแต่ละชนิดที่ให้ค่าความเป็นสีเขียว และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์สูงสุด เมื่อทำการเปรียบเทียบสารทั้งสามชนิด ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 7-8

Table 7 Effects of three types of solutions at appropriate concentrations on color values in *Chara corallina*

Sample	Color parameters		
	L* value	a* value	b* value
Raw algae	17.32 ± 0.06 ^a	-5.93 ± 0.01 ^e	16.13 ± 0.06 ^d
Blanched algae + 0 %	15.76 ± 0.05 ^c	-7.81 ± 0.03 ^d	18.07 ± 0.42 ^b
Blanched algae + 0.3 % NaCl	16.11 ± 0.23 ^b	-8.25 ± 0.02 ^b	18.70 ± 0.13 ^a
Blanched algae + 0.3 % NaHCO ₃	15.04 ± 0.02 ^d	-8.51 ± 0.03 ^a	17.67 ± 0.04 ^c
Blanched algae + 600 ppm ZnCl	15.23 ± 0.07 ^d	-7.89 ± 0.02 ^c	18.62 ± 0.03 ^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

Table 8 Effects of three types of solutions at appropriate concentrations on Chlorophyll concentration in *Chara corallina*

Sample	Chlorophyll concentration (ug.g ⁻¹)		
	Chl a	Chl b	Chl total
Raw algae	2.302 ± 0.010 ^e	1.095 ± 0.003 ^e	3.397 ± 0.011 ^d
Blanched algae + 0 %	3.540 ± 0.001 ^d	1.525 ± 0.003 ^d	5.065 ± 0.004 ^c
Blanched algae + 0.3 % NaCl	4.014 ± 0.004 ^b	1.646 ± 0.001 ^b	5.660 ± 0.005 ^b
Blanched algae + 0.3 % NaHCO ₃	4.340 ± 0.003 ^a	3.033 ± 0.006 ^a	7.372 ± 0.009 ^a
Blanched algae + 600 ppm ZnCl	3.662 ± 0.001 ^c	1.635 ± 0.003 ^c	5.296 ± 0.004 ^b

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

จากตารางที่ 7 – 8 สารละลาย 0.3 % NaHCO₃ ช่วยในการรักษาความคงตัวของสารสีจากคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้งได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกสารละลาย 0.3 % NaHCO₃ ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรักษาความคงตัวของสารสีในสาหร่ายก้ามกุ้งด้วยวิธี RSM

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการรักษาความคงตัวของคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้งด้วย วิธี RSM โดยใช้สารละลายเกลือที่คัดเลือกจากการศึกษาก่อนหน้านี้ นั่นคือ NaHCO₃ ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายสาหร่ายก้ามกุ้ง ออกแบบการทดลองแบบ บ็อกซ์-เบห์นเคน ที่มี 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของ NaHCO₃ (X_1) อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (X_2) และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (X_3) ผลการทดลองพบว่าค่าปัจจัยที่เหมาะสมที่สุดในการศึกษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ด้วย NaHCO₃ ในสาหร่ายก้ามกุ้ง เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์สูงสุด โดยใช้ฟังก์ชัน response optimizer ในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ และวัดความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ (Composite Desirability: D) ซึ่งค่าความพึงพอใจของผลตอบมีค่าเท่ากับ 1 หมายถึง ผลตอบนั้นได้รับความพึงพอใจอย่างสมบูรณ์ ผลการทดสอบมีดังนี้

- X_1 = ความเข้มข้นของ NaHCO₃ (%) = 0.3
- X_2 = อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (องศาเซลเซียส) = 90
- X_3 = ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที) = 10

โดยได้ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์สูงสุด เท่ากับ 7.647 ug.g⁻¹ เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้มาทำการทดสอบความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้งอีกครั้งพบว่า ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ เท่ากับ 7.329 ± 0.007 (ug.g⁻¹) จากการศึกษาของ Rahayuningsih et al. (2018) ซึ่งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคลอโรฟิลล์จากใบ suji (*Pleomele angustifolia* Roxb.) โดยใช้ ZnCl₂ เป็นตัวรักษาความคงตัวของคลอโรฟิลล์พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ pH 7 ความเข้มข้นของ ZnCl₂ เท่ากับ 700 ppm อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณ total chlorophyll content (TCC) เท่ากับ 47.297 mg/100 g fw

การรักษาความคงตัวของสารสีด้วยการห่อหุ้ม (encapsulation)

นำสารละลายและสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้านี้ นั่นคือใช้ NaHCO_3 ความเข้มข้นเท่ากับ 0.3% อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 90 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 10 นาที มาใช้ในการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะและคลอโรฟิลล์ หรือ metallochlorophyll complexes จากสาหร่ายก้ามกุ้ง จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการ encapsulation ด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้ตัวห่อหุ้ม (wall material) 2 ชนิดคือ กัมอารบิก และ มอลโตเดกซ์ทริน วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดค่าสี (Colorimeter) วิเคราะห์ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ เปรียบเทียบกับสาหร่ายสด ผลการทดลองแสดงดัง Table 9 -10

Table 9 Color value of metal-chlorophyll complexes after the encapsulation process

Sample	Color parameters		
	L* value	a* value	b* value
Raw algae	14.06 ± 0.10 ^c	-7.77 ± 0.03 ^c	16.17 ± 0.03 ^c
encapsulation with gum arabic	24.36 ± 0.98 ^b	-11.92 ± 0.04 ^b	26.56 ± 0.18 ^b
encapsulation with maltodextrin	37.19 ± 0.34 ^a	-14.05 ± 0.03 ^a	34.80 ± 0.13 ^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

Table 10 Chlorophyll concentration of metal-chlorophyll complexes after the encapsulation process

Sample	Chlorophyll concentration ($\mu\text{g.g}^{-1}$)		
	Chl a	Chl b	Chl total
Raw algae	2.90 ± 0.002 ^c	1.41 ± 0.003 ^c	4.30 ± 0.004 ^c
encapsulation with gum arabic	12.79 ± 0.005 ^b	4.71 ± 0.003 ^b	17.49 ± 0.007 ^b
encapsulation with maltodextrin	15.57 ± 0.002 ^a	5.21 ± 0.002 ^a	20.78 ± 0.003 ^a

Different letters within the same column indicate significant difference at $p < 0.05$

การศึกษาการรักษาความคงตัวของสารสีจากสาหร่ายก้ามกุ้ง โดยการ encapsulation ด้วยสารห่อหุ้มสองชนิดคือ กัมอารบิก และ มอลโตเดกซ์ทริน พบว่า การใช้มอลโตเดกซ์ทรินจะช่วยรักษาความคงตัวของคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้งได้ดีกว่า กัมอารบิก เมื่อพิจารณาจากค่าสีเขียว (-a*) และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ สอดคล้องกับการทดลองของ Sarabandi et al. (2019) ที่พบว่าการใช้มอลโตเดกซ์ทรินเป็นตัวห่อหุ้มสารสีจากเปลือกมะเขือยาวให้ผลที่ดีกว่าการใช้กัมอารบิก โดย Sarabandi et al. (2019) ได้ศึกษาการผลิตผงห่อหุ้มที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกมะเขือยาวซึ่งเป็นแหล่งสีธรรมชาติและสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้กัมอารบิกและ มอลโตเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้ม ศึกษาผลของอุณหภูมิทางเข้าของการทำแห้งแบบพ่นฝอย (140–170 องศาเซลเซียส) และตัวพาต่างๆ (มอลโตเดกซ์ทริน กัมอารบิก และส่วนผสมของตัวพาทั้งสอง) ต่อผลผลิตการผลิตผง คุณสมบัติทางกายภาพ การไหล สี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อินฟราเรด ตรวจสอบสเปกโทรสโกปี (FTIR) โครงสร้างจุลภาค และขนาดอนุภาค ผลการทดลองพบว่าคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของผงได้รับอิทธิพลจากชนิดของตัวพาและอุณหภูมิทางเข้าผงที่ได้จากห่อหุ้มด้วยมอลโตเดกซ์ทรินที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส แสดงค่า TPC สูงสุด (5.2 มก./กรัม) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 73.4% ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS) เท่ากับ 90.5% ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าของ Trolox (TEAC) เท่ากับ 2.5 mM กิจกรรมการกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radicals scavenging activity) เท่ากับ 79.1% และ ค่า reducing power (Abs700) เท่ากับ 1.2 ในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด FTIR spectroscopy บ่งชี้ว่าสารสกัดถูกห่อหุ้มโดยตัวห่อหุ้ม การประเมินโครงสร้างจุลภาคของผงแสดงให้เห็นอนุภาคกลวงบางส่วนที่มีโครงสร้างแบบเมทริกซ์ การประเมินทางประสาทสัมผัสระบุว่า การเติมสารสกัดมะเขือยาวที่ผ่านกระบวนการห่อหุ้ม (encapsulation) ลงในผลิตภัณฑ์ gummy candy ทำให้สีและการยอมรับโดยรวมดีขึ้น

มอลโตเดกซ์ทรินนิยมใช้ในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยเพื่อเป็นสารห่อหุ้มเนื่องจากมีความสามารถในการละลายน้ำได้สูง (Tonon et al., 2008; Apintanapong and Noomhorm, 2003), ความหนืดต่ำในอัตราส่วนของแข็งสูง (Balasubramani et al., 2015) ไม่มีรสชาติ ย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่าย เกิดการก่อตัวของผลิตภัณฑ์แบบห่อหุ้มที่มีเสถียรภาพต่อการเกิดออกซิเดชันที่ดี และต้นทุนต่ำ (Apintanapong and Noomhorm, 2003) แต่มีข้อจำกัดบางประการ ที่สำคัญคือ

ความสามารถในการผสมอิมัลชันค่อนข้างต่ำและการเก็บรักษาสารระเหยได้ค่อนข้างน้อย (Sturm et al., 2019) ดังนั้นจึงนิยมนำไปผสมกับวัสดุห่อหุ้มอื่นๆ เพื่อสร้างอิมัลชันที่เสถียร เช่น เวย์โปรตีน (Kang et al., 2019)

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาผลของสารละลายและการทำแห้งต่อความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายก้ามกุ้งพบว่า เกลือ NaHCO_3 ช่วยรักษาความคงตัวของสารสีคลอโรฟิลล์จากสาหร่ายก้ามกุ้งได้ดีที่สุด โดยมีสถานะที่เหมาะสมในการรักษาความคงตัวคือ ความเข้มข้นของ NaHCO_3 เท่ากับ 0.3% อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 90 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา เท่ากับ 10 นาที และมอลโทเดกซ์ทรินมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นตัวห่อหุ้มเพื่อผลิตผงของสารสีจากคลอโรฟิลล์ สารสีที่ได้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอาหาร เพื่อลดการใช้สีสังเคราะห์ เพิ่มคุณค่าประโยชน์จากคลอโรฟิลล์ และเป็นการนำวัตถุดิบในท้องถิ่นคือสาหร่ายก้ามกุ้งมาเพิ่มมูลค่าให้มากขึ้น

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุนส่งเสริม ววน.) สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกว.) สำหรับทุนอุดหนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม และ สมมุติฐาน: นพรัตน์ มะเห. การปฏิบัติการวิจัย การมีส่วนร่วมในการออกแบบ การทดลอง การทดสอบ เครื่องมือวัด วิธีการเก็บข้อมูล และ criteria: นพรัตน์ มะเห, วรณิณี จันทร์แก้ว,. การจัดเก็บข้อมูลการวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผล: นพรัตน์ มะเห. การวิพากษ์วิจารณ์ผล การแสดงการเปรียบเทียบกับข้อสรุปหรือองค์ความรู้ หรือทฤษฎีเดิม: นพรัตน์ มะเห. การมีส่วนร่วมในการเขียนต้นฉบับบทความ: นพรัตน์ มะเห. การให้การสนับสนุนเครื่องมือ ห้องปฏิบัติการ และ ทรัพยากร: ดลฤดี พิษย์รัตน์

เอกสารอ้างอิง

- Apintanapong, M., & Noomhorm, A. (2003). The use of spray drying to microencapsulate 2-acetyl-1-pyrroline, a major flavour component of aromatic rice. *International Journal of Food Science and Technology*, 38(2), 95–102.
- Azeredo, H. M. C., Santos, A. N., Souza, A. C. R., Mendes, K. C. B., & Andrade, M. I. R. (2007). Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract. *American Journal of Food Technology*, 2(4), 307–312.
- Balasubramani, P., Palaniswamy, P. T., Visvanathan, R., Thirupathi, V., Subbarayan, A., & Prakash Maran, J. (2015). Microencapsulation of garlic oleoresin using maltodextrin as wall material by spray drying technology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72(1), 210–217.
- Caesar, J., Tamm, A., Ruckteschler, N., Leifke, A. L., & Weber, B. (2018). Revisiting chlorophyll extraction methods in biological soil crusts – methodology for determination of chlorophyll a and chlorophyll a+b as compared to previous methods. *Biogeosciences*, 15(1), 1415–1424.
- Cai, Y. Z., & Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried amaranthus betacyanin pigment. *Journal of Food Science*, 65(6), 1248–1252.
- Cao, H. K. N., & Dong, T. A. D. (2023). Study on the effect of metal salts on chlorophyll pigment extraction from fresh *Sauropus androgynus* leaves. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14(1), 100699.
- Ersus, S., & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 805–812.
- Hörtensteiner, S., & Kräutler, B. (2011). Chlorophyll breakdown in higher plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1807(8), 977–988.
- Humphrey, A. M. (1980). Chlorophyll. *Food Chemistry*, 5(1), 57–67.
- Hutajulu, T. F., Hartanto, E. S., & Subagja, S. (2008). Extraction of chlorophyll green color for food and its characterization. *Journal of Industrial Research (Jurnal Riset Industri)*, 2(1), 44 – 55.

- Kaewsuksaeng, S. (2011). Chlorophyll degradation in horticultural crops. **Walailak Journal of Science and Technology**, 8(1), 9-19.
- Kang, Y.-R., Lee, Y.-K., Kim, Y. J., & Chang, Y. H. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. **Food Chemistry**, 272(1), 337-346.
- Kaur, N., Aggarwal, P., & RajputKaur, H. (2018). Effect of different blanching treatments on physicochemical, phytochemical constituents of cabinet dried broccoli. **Chemical Science Review and Letters**, 7(25), 262-271.
- Kaushal, M., Sharma, K. D. S., & Attri, S. (2013). Effect of blanching on nutritional quality of dehydrated colocasia, *Colocasia esculenta* (L.) Schott leaves. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, 4(2), 161-164.
- Koca, N., Karadeniz, F., & Burdurlu, H. S. (2007). Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. **Food Chemistry**, 100(2), 609-615.
- Lide, D. R. (2009). **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 90th Ed. CRC Press.
- Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. **Trends in Food Science & Technology**, 52(1), 1-15.
- Oberhuber, M., Berghold, J., Breuker, K., Hörtensteiner, S., & Krautler, B. (2003). Breakdown of chlorophyll: a nonenzymatic reaction accounts for the formation of the colorless “nonfluorescent” chlorophyll catabolites. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 100(12), 6910- 6915.
- Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., & FernándezLópez, J. A. (2009). Production of a red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. **Journal of Food Engineering**, 90(4), 491-479.
- Prangdimurti, E., Muchtadi, D., Astawan, M., & Zakaria, F. R. (2006). **Kapasitas Antioksidan Dan Hipokolesterolemik Ekstrak Daun Suji**. Bogor Agricultural University.
- Rahayuningsih, E., Pamungkas, M. S., Olvianas, M., & Putera, A. D. P. (2018). Chlorophyll extraction from suji leaf (*Pleomele angustifolia* Roxb.) with ZnCl₂ stabilizer. **Journal of Food Science and Technology**, 55(3), 1028-1036.
- Ryan-Stoneham, T., & Tong, C. H. (2000). Degradation kinetics of chlorophyll in peas as a function of pH. **Journal of Food Science**, 65, 1296-1302.
- Salama, M. F., & Moharram, H. A. (2007). Relationship between colour improvement and metallo-chlorophyll complexes during blanching of peas and broccoli. **Alexandria Journal of Food Science and Technology**, 4(2), 11-18
- Sarabandi, K., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., & Mohammadi, A. (2019). Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. **International Journal of Biological Macromolecules**, 140(1), 59-68.
- Schwartz, S. J., & Lorenzo, T. V. (1990). Chlorophyll in foods. **Food Science and Nutrition**, 29(1), 1-17.
- Senklang, P., & Anprung, P. (2010). Optimizing enzymatic extraction of Zn-chlorophyll derivatives from pandan leaf using response surface methodology. **Journal of Food Processing and Preservation**, 34(2010), 759-776.
- Sigurdson, G. T., Tang, P., & Giusti, M. M. (2017). Natural colorants: food colorants from natural sources. **The Annual Review of Food Science and Technology**, 8(1), 261-280.
- Skutnik, E., Rabiza-Swider, J., Wachowicz, M., & Ęukaszewska, A. J. (2004). Senescence of cut leaves of *Zantedeschia aethiopica* and *Z. elliotiana*. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, 3(2), 57- 65.
- Šturm, L., Črnivec, I. G. O., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., Humar, M., Levic, S., Nedović, V., Kopinč, R., Deželak, M., Gonzales, A. P., & Ulrih, N. P. (2019). Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. **Food and Bioproducts Processing**, 116(2019), 196-211.
- Suzuki, T., Kunieda, T., Murai, F., Morioka, S., & Shioi, Y. (2005). Mg-dechelation activity in radish cotyledons with artificial and native substrates, Mg-chlorophyllin a and chlorophyllide a. **Plant Physiology and Biochemistry**, 43(5), 459-464.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, 88(3), 411-418.
- Tonucci, L. H., & von Elbe, J. H. (1992). Kinetic of the formation of zinc complex of chlorophyll derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 40(12), 2341- 2344.
- Wagner, L. A., & Warthesen, J. J. (1995). Stability of spraydried encapsulated carrot carotene. **Journal of Food Science**, 60(5), 1048-1053.
- Weber, B., Wessels, D. C. J., Deutschewitz, K., Dojani, S., Reichenberger, H., & Büdel, B. (2013). Ecological characterization of soilinhabiting and hypolithic soil crusts within the Knersvlakte, South Africa. **Ecological Processes**, 2(1), 1-13.
- Woolf, M. L. (1979). Pigments. In Priestley R. J. (Ed.), **Effect of Heat Processing on Food Stuffs**, pp. 76-120. Applied Science Publishers Ltd.
- Zhang, J. H., Han, C., & Liu, Z. H.. (2009). Absorption spectrum estimating rice chlorophyll concentration: preliminary investigations. **Journal of Plant Breeding and Crop Science**, 1(5), 223-229.