



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การห่อหุ้มสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองโดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยและมัลติเฟิล
อิมัลชัน

Encapsulation of *Spirulina* Extract by Spray-Dried and Multiple Emulsion Techniques

نامผู้วิจัย นายธนิตชัย ปรัชญาวารกุล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ศศิธร ตรงจิตภักดี, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์อุทัย กลิ่นเกษร, ป.ร.ด.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจาอนันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การห่อหุ้มสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองโดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย
และมัลติเฟลอิอิมัลชัน

Encapsulation of *Spirulina* Extract by Spray-Dried and Multiple Emulsion Techniques

โดย

นายธนิตชัย ปรัชญาถาวรกุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2552

ชนิดชัย ปรัชญาวารกุล 2552: การห่อหุ้มสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองโดยใช้เทคนิคการทำ
แห้งแบบพ่นฝอยและมัลติเฟลอิมีลชัน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การ
อาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ศศิธร ตรงจิตภักดี, Ph.D. 125 หน้า

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาผลของอุณหภูมิผสมเข้า (inlet temperature) ของการทำแห้งแบบพ่นฝอย
สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ต่อปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (C-phyocyanin) และสมบัติการ
ต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังศึกษาผลของการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยมอลโตเดกซ์ตรินต่อ
ความคงตัวของสารซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชัน รวมทั้งศึกษาการห่อหุ้มสารสกัด
ซี-ไฟโคไซยานินด้วยเทคนิคมัลติเฟลอิมีลชันแบบน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion,
W/O/W) จากผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิผสมเข้าของการทำแห้งแบบพ่นฝอยในช่วงอุณหภูมิ 160-200
องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียว
ทอง ($p>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้าที่ 200 องศาเซลเซียส มีผลทำให้สูญเสีย
โปรตีนมากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ ($p\leq 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าการสลายตัวของสารซี-ไฟโคไซยานิน
เป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง และอัตราการสลายตัวแปรผันตรงกับอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา
เมื่อห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยมอลโตเดกซ์ตริน (สมมูลเดกซ์โทรส (DE) 10 และ 20) โดยใช้
อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตรินเท่ากับ 1:1 1:2 และ 1:3 เก็บรักษาตัวอย่าง
ไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์ ที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 11 พบว่าการ
ห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยมอลโตเดกซ์ตรินช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับสารซี-ไฟโคไซยานิน โดยทำ
ให้ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา (k) การสลายตัวลดน้อยลง และค่าพลังงานกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยา (Ea)
สูงขึ้น โดยการใช้มอลโตเดกซ์ตริน DE 20 สามารถรักษาสารซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้าน
ออกซิเดชันได้ดีกว่า DE 10 นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มอัตราส่วนสารเคลือบช่วยให้สามารถรักษา
สารซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันได้ดีขึ้น เมื่อห่อหุ้มสารสกัดซี-ไฟโคไซยานิน
ด้วยเทคนิคมัลติเฟลอิมีลชันแบบน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion, W/O/W)
โดยใช้ polyglycerol ester of polyricinoleic acid (PGPR) 2% และสารละลายกัมมะอาราบิก 10% เป็น
อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) พบว่าระบบอิมัลชันดังกล่าวสามารถห่อหุ้มสารสกัดซี-ไฟโคไซยานินไว้ได้
ทั้งหมด และมีความคงตัวของอิมัลชันต่อความร้อน (30-90 องศาเซลเซียส) การแช่เยือกแข็ง (3 รอบการ
แช่เยือกแข็งและทำละลาย) และความเป็นกรด-ด่าง (pH 4-8)

Thanitchai Pruchyathawornkul 2009: Encapsulation of *Spirulina* Extract by Spray-Dried and Multiple Emulsion Techniques. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Mrs. Sasitorn Tongchitpakdee, Ph.D. 125 pages.

The objectives of this research were to study the effect of inlet temperatures on C-phycoerythrin content and antioxidant capacity of spray-dried *Spirulina* (*Spirulina platensis*) as well as to study the effect of encapsulation using maltodextrin on stability of C-phycoerythrin content and antioxidant capacity. Encapsulation of C-phycoerythrin using multiple emulsion technique (water-in-oil-in-water emulsion, W/O/W) was investigated. The results showed that there were no significant differences in C-phycoerythrin content and antioxidant capacity of spray-dried *Spirulina* ($p>0.05$). However, the crude protein content of *Spirulina* sample spray-dried at 200 °C was decreased ($p\leq 0.05$). The results also revealed that the degradation of C-phycoerythrin followed first order kinetic and its degradation rate increased with storage temperature. To study the effect of encapsulation using maltodextrin on stability of C-phycoerythrin content and antioxidant capacity, *Spirulina* was encapsulated using maltodextrin (Dextrose Equivalents (DE) 10 and 20) as a wall material with ratios of core to wall material (c/w) at 1:1, 1:2 and 1:3 and stored at 30, 50 and 70 °C (11% relative humidity) for 4 weeks. The results showed that encapsulation using maltodextrin increased C-phycoerythrin stability by decreased rate constant (k) of degradation and increased activation energy (E_a). Maltodextrin DE 20 offered greater protection of C-phycoerythrin and antioxidant capacity than maltodextrin DE 10. In addition, increasing proportion of wall material would increase more protection of C-phycoerythrin and antioxidant capacity. To investigate the encapsulation of C-phycoerythrin using multiple emulsion technique (water-in-oil-in-water emulsion, W/O/W), 2% polyglycerol ester of polyricinoleic acid (PGPR) and 10% gum arabic were used as lipophilic and hydrophilic emulsifier, respectively. The results showed that the multiple emulsion could encapsulate C-phycoerythrin. Moreover, the multiple emulsion was stable to high temperature (30-90 °C), freeze-thaw (3 cycles) and pH (pH 4-8).

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ศศิธร ตรงจิตภักดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ อาจารย์ ดร. อุทัย กลิ่นเกษร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาในการทำวิจัย และตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. จิตศิริ ราชตะนะพันธุ์ประธานการสอบสัมภาษณ์ขั้น สุดท้าย และ รศ. ดร. ทนง ภัทร์พันธุ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกที่ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองในการทำวิจัยครั้งนี้ อีกทั้งขอขอบคุณบริษัท สยามโมดิฟายด์สตาร์ช จำกัด ที่ให้ตัวอย่างมอลโตเดกซ์ตรีนในการทำวิจัยครั้งนี้ และงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ และบัณฑิต วิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้อบรม สั่งสอนให้ความรู้ที่เป็นประโยชน์มากมาย อีกทั้งบุคลากรของภาควิชาที่คอยอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงานทั่วไป รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ต่าง ๆ อีกทั้งเจ้าหน้าที่ห้องสมุดที่คอยให้ความรู้ คำแนะนำที่ดีเสมอมา

ขอบคุณเพื่อน ๆ ปริญญาโททุกท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งมนต์ คุ้ม แอมซ์ คุ้ม และยิมที่คอยให้ความช่วยเหลือ คำชี้แนะ รวมถึงรุ่นพี่ที่จบไปแล้ว และรุ่นน้องในห้องแลปที่คอยเป็นกำลังใจให้เสมอ

ขอขอบพระคุณบริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) ที่ได้ให้อนุญาตข้าพเจ้าในการลาเพื่อ มาศึกษาต่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณลักษณะมี ไพบุลย์ รองกรรมการผู้จัดการอาวุโส ที่เปิดโอกาสดี ๆ ให้กับ ข้าพเจ้าเสมอมา ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ในเครือเจริญโภคภัณฑ์อาหาร (สัตว์น้ำ) ทั้งจากโรงงาน มหาชัย บ้านบึง หนองแค บ้านพรุ และน้ำน้อยที่ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ที่เป็นทั้งกำลังใจ แรงใจ และเข้าใจเสมอมา ขอขอบคุณพี่ ๆ น้อง ๆ ในครอบครัว รวมทั้งหลาน ๆ ทั้งหลายที่เป็นกำลังใจเสมอมา และขอขอบคุณบอมอีกหนึ่งในสมาชิก ใหม่ของครอบครัวเรา ขอขอบคุณสำหรับทุกสิ่งทุกอย่าง

ธนิตชัย ปรัชญาถาวรกุล

พฤษภาคม 2552

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	43
อุปกรณ์	43
วิธีการ	45
ผลและวิจารณ์	57
สรุปและข้อเสนอแนะ	95
สรุป	95
ข้อเสนอแนะ	96
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	97
ภาคผนวก	111
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	125

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายเกลียวทอง	11
2	เทคนิคการห่อหุ้มที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร	27
3	ข้อดีและข้อเสียของเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย	32
4	ลักษณะของวัสดุเคลือบที่นิยมใช้	33
5	ความชื้นของสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน	57
6	ค่าสี (L^* , a^* , b^*) ของสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน	59
7	ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน	62
8	สมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิต่างลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน	63
9	ขนาดอนุภาคของสาหร่ายเกลียวทองผงหลังผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย	68
10	ค่า Regression coefficient (R^2) ระหว่างปฏิกิริยาอันดับศูนย์ และปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของสาหร่ายเกลียวทองผง	74
11	ค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาการสลายตัว ค่าครึ่งชีวิตของสารซี-ไฟโคไซยานิน และค่าพลังงานกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยา (E_a) ในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง	75
12	ค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาการสลายตัว ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส	82
13	ค่าสหสัมพันธ์ (Pearson correlation) ของปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชันที่ตรวจสอบด้วยเทคนิคที่ต่างกัน	82
14	ขนาดอนุภาคของอิมัลชันชั้นแรก และอิมัลชันชั้นที่สอง	85

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
1 ปริมาณคงเหลือของสารซี-ไฟโคไซยานินในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน	112
2 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินกับอัตราส่วน ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโทเดกซ์ทริน ต่อปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน	113
3 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินกับอัตราส่วน ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโทเดกซ์ทริน ต่อสมบัติการต้าน ออกซิเดชันที่ตรวจวัดด้วยวิธี total phenols assay	114
4 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินกับอัตราส่วน ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโทเดกซ์ทริน ต่อสมบัติการต้าน ออกซิเดชันที่ตรวจวัดด้วยวิธี ABTS assay	115
5 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินกับอัตราส่วน ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโทเดกซ์ทริน ต่อสมบัติการต้าน ออกซิเดชันที่ตรวจวัดด้วยวิธี DPPH assay	116

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเรียงตัวของไฟโคบิลิโซมที่เกาะอยู่บริเวณผิวของไทลาคอยด์ของสาหร่าย สีเขียวแกมน้ำเงิน	5
2	ลักษณะไตรโครม และซีทของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	7
3	สาหร่ายเกลียวทอง	9
4	วงจรชีวิตของสาหร่ายเกลียวทอง	10
5	บิลินโครโมฟอร์ที่เป็นส่วนประกอบของไฟโคบิลิโซม	18
6	ลักษณะการจัดเรียงตัวของไฟโคบิลิโซม	19
7	การดูดกลืนแสงของไฟโคไซยานิน	20
8	โครงสร้างของไฟโคไซยานิน และไฟโคไซยานobilin	21
9	โครงสร้างทางเคมีของ DPPH	24
10	โครงสร้างทางเคมีของ ABTS	26
11	เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย	29
12	หัวฉีด (atomizer)	30
13	มัลติเฟสอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ (W/O/W)	37
14	การสูญเสียความคงตัวของอิมัลชันเหลว	39
15	ภาพถ่ายสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิ ลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน	58
16	ชาร์ตแสดงค่าสีของสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน	58
17	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย	61
18	ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้ อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน	64
19	ค่าความสว่าง ค่าสีแดง และค่าสีเหลืองของสาหร่ายเกลียวทองผง	66
20	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของสาหร่ายเกลียวทองผง	67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
21	การกระจายตัวของอนุภาคสำหรับรายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย	69
22	ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินคงเหลือในสำหรับรายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยเมื่อทำการเก็บรักษานาน 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส	72
23	ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของตัวอย่างสำหรับรายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยเมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส	73
24	ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน ($\ln C/C_0$) ในสำหรับรายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยเมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส	73
25	กราฟสื่อมาตรฐานธรรมชาติของค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของสารซี-ไฟโคไซยานินกับอุณหภูมิในการเก็บรักษา	75
26	ปริมาณคงเหลือของสมบัตการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี total phenols assay ในสำหรับรายเกลียวทองที่เก็บรักษาไว้ที่ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์	78
27	ปริมาณคงเหลือของสมบัตการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี ABTS assay ในสำหรับรายเกลียวทองที่เก็บรักษาไว้ที่ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์	79
28	ปริมาณคงเหลือของสมบัตการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี DPPH assay ในสำหรับรายเกลียวทองที่เก็บรักษาไว้ที่ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์	80
29	วัตถุดิบที่ใช้ในการเตรียมซิงเกิลอิมัลชัน (single emulsion) และลักษณะซิงเกิลอิมัลชัน	83
30	วัตถุดิบที่ใช้ในการเตรียมมัลติเฟลอิมัลชัน (multiple emulsion) และลักษณะมัลติเฟลอิมัลชัน	84
31	การกระจายตัวของอนุภาคซิงเกิลอิมัลชัน และมัลติเฟลอิมัลชัน	86
32	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ของซิงเกิลอิมัลชัน	87

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
33	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ของมัลติเพิลอิมัลชัน	88
34	ปริมาณโปรตีนของสารละลายกัมมะธราบิกความเข้มข้น 10% ซึ่งเกิดอิมัลชันชุดทดลองที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง น้ำเฟสนอก และชั้นครีมของมัลติเพิลอิมัลชันที่ได้หลังจากการเหวี่ยงแยก	89
35	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคมัลติเพิลอิมัลชัน เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน	90
36	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคมัลติเพิลอิมัลชัน เมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและทำละลาย	92
37	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคมัลติเพิลอิมัลชัน ที่ pH ต่างกัน	93
ภาพผนวกที่		หน้า
1	กราฟมาตรฐานของซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC)	117
2	ตัวอย่างโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานินโดย HPLC	117
3	กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยเทคนิค total phenols assay	118
4	กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค ABTS assay	118
5	กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay	119
6	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี total phenols assay	119
7	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS assay	120

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay	120
9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (spectrophotometry) และสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี total phenols assay	121
10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (spectrophotometry) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay	121
11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (spectrophotometry) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay	122
12 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี total phenols assay และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay	122
13 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี total phenols assay และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay	123
14 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay	123
15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินที่ตรวจสอบด้วยเทคนิค HPLC และเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี	124
16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของมอลโตเดกซ์ตริน	124

การห่อหุ้มสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย
และมัลติเฟิลอิมัลชัน

**Encapsulation of *Spirulina* Extract by Spray-Dried and Multiple Emulsion
Techniques**

คำนำ

สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) มีองค์ประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยมีโปรตีนสูงถึงกว่าร้อยละ 70 ของน้ำหนักแห้ง (Oliveira *et al.*, 2008) วิตามินต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง วิตามินบี 12 (B12) รวมถึงกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย โดยเฉพาะกรดแกมมาลิโนเลนิก (Gamma linolenic acid, GLA) และรงควัตถุไฟโคไซยานิน (phycocyanin) ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ด้วยเหตุนี้สาหร่ายเกลียวทองจึงถือได้ว่าเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) (Belay, 2002) ทั้งนี้ รงควัตถุไฟโคไซยานินเป็นโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำ มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยมีสมบัติในการป้องกันการทำงานของตับ (hepatoprotective) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และป้องกันการอักเสบ (anti-inflammatory) (Bhat and Madyastha, 2000; Hirata *et al.*, 2000; Pinero Estrada *et al.*, 2001; Reddy *et al.*, 2003; Benedetti *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระก็ขึ้นอยู่กับความคงตัวของสารดังกล่าว (Esposito *et al.*, 2002) เนื่องจากความร้อนที่สูงทั้งในระหว่างกระบวนการผลิต และการจัดเก็บอาจส่งผลทำให้สมบัติต่าง ๆ ดังกล่าวสูญเสียได้ (Desmorieux and Hernandez, 2004; Jespersen *et al.*, 2005) จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาระบบการเพื่อลดอัตราการเสื่อมเสีย หรือเพิ่มความคงตัวให้กับสารดังกล่าว (Schrooyen, 2001) ซึ่งโดยทั่วไปในอุตสาหกรรมใช้การห่อหุ้ม (encapsulation) เช่น เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray-dried) เพื่อลดปฏิกิริยาของวัตถุที่ถูกเคลือบ (core) จากปัจจัยต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม โดยชนิดของสารเคลือบ (wall material) และอัตราส่วนระหว่างวัตถุที่ถูกเคลือบกับสารเคลือบ เป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม (Schrooyen *et al.*, 2001; Gharsallaoui *et al.*, 2007) ดังนั้น จึงได้ทำการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองโดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารเคลือบเพื่อตรวจสอบความสามารถในการรักษาความคงตัวของสารสำคัญในสาหร่ายเกลียวทอง นอกเหนือจากนั้นแล้ว เทคนิคมัลติเฟิลอิมัลชันก็เป็นอีกเทคนิคที่ใช้ในการห่อหุ้มสารที่ง่ายต่อการเสียดสภาพ (Garti, 1997) โดยมัลติเฟิลอิมัลชัน (multiple emulsion) เป็นระบบที่ซับซ้อน สามารถเรียกได้ว่าเป็น อิมัลชันใน

อิมัลชัน (emulsion in emulsions) ที่มีอนุภาคของเฟสที่กระจายตัวอยู่นั้น ภายในยังมีอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่ากระจายตัวอยู่ในอีกชั้นหนึ่งด้วย (Garti, 1997) เนื่องจากระบบอิมัลชันในอาหารหลายประเภทต้องผ่านกระบวนการที่ให้ความร้อน (thermal processing) การแช่เย็น (chilled) หรือแช่เยือกแข็ง (frozen) รวมถึงการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิต การจับเก็บ หรือในขั้นตอนการนำไปใช้ ดังนั้น อิมัลชันที่ดีจึงควรมีความคงตัวต่อสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ดังกล่าว (McClement and Guzey, 2006) จึงได้ทำการเตรียมมัลติเฟลิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion) เพื่อห่อหุ้มสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง และตรวจสอบความคงตัวของมัลติเฟลิมัลชัน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการทำแห้งแบบพ่นฝอย ต่อปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทอง
2. เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์การสลายตัวของสารซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย
3. เพื่อศึกษาผลการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทอง โดยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทอง
4. เพื่อศึกษาการห่อหุ้มสารซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทอง โดยเทคนิคมัลติเพิลอิมัลชัน

การตรวจเอกสาร

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) จัดอยู่ในหมวด (division) Cyanophyta หรืออาจมีชื่อเรียกอื่น เช่น Myxophyta Myxophycophyta Cyanochloronta และ Cyanophycophyta สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีชื่อเรียกว่า cyanophytes แต่ผู้เชี่ยวชาญทางแบคทีเรียจะเรียกว่า cyanobacteria หรือ blue green และนำไปจัดไว้ในชั้น (class) Schizophyceae หมวด Schizomycophyta ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกับแบคทีเรียทั่วไป ทั้งนี้เพราะสาหร่ายชนิดนี้มีโครงสร้างของนิวเคลียสคล้ายคลึงกับนิวเคลียสของแบคทีเรีย และบางชนิดยังมีคุณสมบัติตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ เช่นเดียวกับแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติทางชีวเคมีคล้ายแบคทีเรียด้วย แต่อย่างไรก็ตามนักวิชาการทางด้านสาหร่ายก็ยังจัดกลุ่มของสาหร่ายพวกนี้แยกออกมาจากแบคทีเรีย เพราะสาหร่ายชนิดนี้มีคลอโรฟิลล์เอ และมีการปล่อยออกซิเจนสู่สิ่งแวดล้อมจากกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งไม่พบในแบคทีเรีย (ยูดี, 2549)

รงควัตถุของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วย คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) เป็นคลอโรฟิลล์เอ แครอทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งประกอบด้วยบีตา-แครอทีน (β -carotene) และแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) หลายชนิด ส่วนใหญ่จะเป็นมิกโซแซนทิน (mixoxanthin) มิกโซแซนโทฟิลล์ (mixoxanthophyll) นอกจากนี้แล้วยังมีไฟโคบิลิน (phycobilin) ซึ่งประกอบด้วยซี-ไฟโคไซยานิน (C-phyococyanin) อัลโลไฟโคไซยานิน (allophyococyanin) ซี-ไฟโคเออร์ทริน (C-phycoerythrin) ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่มีคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ชัดเจน แต่มีไทลาคอยด์ (thylakoid) ซึ่งจะอยู่เดี่ยว ๆ ไม่มีเยื่อบาง ๆ หุ้ม และไม่มีการจัดเรียงตัวกันเป็นชั้น ๆ พบเป็นอิสระทั่วไปในเซลล์ หรือบริเวณรอบ ๆ นอกของตัวเซลล์ จึงเรียกบริเวณที่มีรงควัตถุเหล่านี้ว่าโครโมพลาสซึม (chromoplasm) บริเวณไทลาคอยด์นี้เป็นที่อยู่ของคลอโรฟิลล์เอ ส่วนรงควัตถุอื่น จะเกาะอยู่บริเวณผิวของไทลาคอยด์ในลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ ซึ่งเราเรียกว่า ไฟโคบิลิโซม (phycobilisome) (ภาพที่ 1) (ยูดี, 2549)

semi-cellulose อยู่กับพวกพวกนี้ได้ ซีทอาจใสไม่มีสี หรืออาจจะมีสีเหลือง น้ำตาล แดง ม่วง และน้ำเงิน เนื่องจากมีรงควัตถุต่าง ๆ ปนอยู่กับสารเมื่อกลืนในซีทนี้ (ยูวดี, 2549)

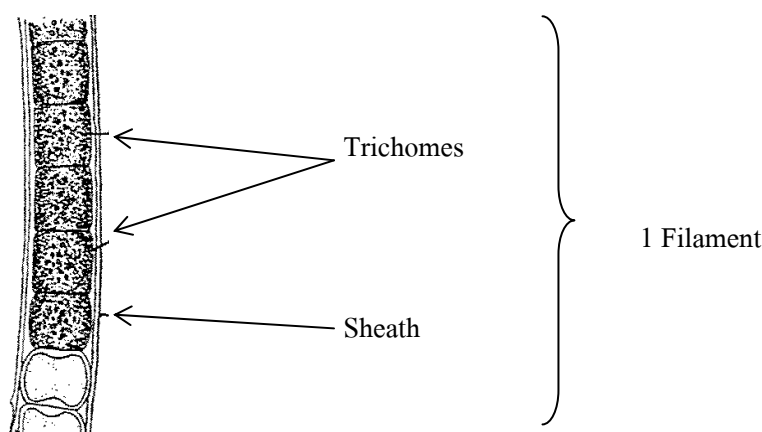
ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ของสาหร่ายชนิดนี้แตกต่างจากสาหร่ายชนิดอื่น กล่าวคืออยู่ถัดจากผนังเซลล์เข้าไปข้างใน มีเยื่อพลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) หุ้มไว้ ไซโตพลาสซึมแบ่งออกเป็น 2 ส่วน บริเวณส่วนในซึ่งไม่มีรงควัตถุจึงไม่มีสี เรียกว่า เซนโทรพลาสซึม (centroplasm) ส่วนบริเวณรอบนอกเป็นบริเวณที่มีรงควัตถุสะสมอยู่ เรียกว่า โครโมพลาสซึม (chromoplasm) การแบ่งเขตของทั้ง 2 บริเวณนี้ไม่แน่นอนอาจจะเหลื่อมล้ำกันบ้าง บริเวณโครโมพลาสซึมจะมีโครงสร้างที่เป็นเม็ดเล็ก ๆ กระจายทั่วไป เรียกว่า ไซยาโนไฟซินแกรนูล (cyanophycin granule) เป็นพวกแป้งชนิดหนึ่ง นอกจากนั้นยังมีไกลโคเจนแกรนูล (glycogen granule) และหยดน้ำมันเล็ก ๆ (lipid granule) กระจายอยู่ทั่วไป สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่มีนิวเคลียสชัดเจนเหมือนสาหร่ายอื่น โดยพบว่ามีสารที่ทำหน้าที่คล้ายนิวเคลียสอยู่ภายใน เซนโทรพลาสซึม เพียงแต่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) เท่านั้น สารที่ทำหน้าที่คล้ายนิวเคลียสก็คือ DNA (deoxyribonucleic acid) ซึ่งอาจจะรวมตัวกันเป็นร่างแหหลวม ๆ หรือเป็นท่อนสั้น ๆ หรืออาจจะจับตัวกันแน่นมากมีรูปร่างต่าง ๆ กันได้ (ยูวดี, 2549)

นอกจากนี้แล้วพบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่มีแวคิวโอลขนาดใหญ่ เหมือนสาหร่ายชนิดอื่น ๆ แต่บางชนิดอาจพบก๊าซแวคิวโอล (gas vacuole) หรือซูโดแวคิวโอล (pseudovacule) ซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ กระจายทั่วไป แต่ถ้าดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายต่ำจะเห็นเป็นสีดำ แต่อาจพบว่ามีสีแดงเนื่องจากการหักเหของแสง ก๊าซที่อยู่ภายในก๊าซแวคิวโอลนี้ คือ ออกซิเจนซึ่งมีเป็นส่วนน้อย ส่วนใหญ่เป็นไนโตรเจน หรือสารประกอบไนโตรเจน ก๊าซแวคิวโอลนี้ช่วยในการลอยตัวของสาหร่าย โดยครั้งแรกสาหร่ายจะจมอยู่ใต้พื้นน้ำ ต่อมาเมื่อมีการสร้างก๊าซแวคิวโอลขึ้นมา ก็จะลอยขึ้นมาที่ผิวน้ำ ถ้าเกิดกับสาหร่ายจำนวนมากอาจเกิดปรากฏการณ์วอเตอร์บลูมขึ้น

อาหารที่เก็บสะสมของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินนี้เป็นพวกคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แป้ง ไซยาโนไฟซิน (cyanophycin starch) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตในรูปไซยาโนไฟซินแกรนูล กระจายอยู่ในชั้นโครโมพลาสซึม นอกจากนั้นยังมีไกลโคเจนแกรนูล และหยดน้ำมัน (ยูวดี, 2549)

รูปร่างของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมี 2 แบบ คือ รูปร่างเป็นเซลล์เดี่ยวหรือโคโลนีไม่เป็นเส้นสาย (single cell or non filamentous form) อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวเดี่ยว ๆ เช่น *Chroococcus*

หรืออาจจะอยู่รวมกันเป็นโคโลนีแบบพามেলা (pamella) เช่น *Merismopedia Eucapsis* และ *Anacystis* เป็นต้น เซลล์ของพวกนี้มีรูปร่างต่าง ๆ กัน เช่น กลม รูปไข่ ทรงกระบอก หรือรูปไข่แบบแหลมหัวแหลมท้าย พวกที่อยู่เป็นโคโลนีแบบพามেলাอาจมีลักษณะของโคโลนีกลมแบน สีเหลือง หรือมีรูปร่างที่แน่นอนก็ได้ อีกรูปแบบหนึ่ง คือ รูปร่างเป็นเส้นสาย (filamentous form) เกิดจากเซลล์หลายเซลล์มาต่อกันจนมีรูปร่างเป็นสายยาว เส้นสายนี้อาจจะตรงและเรียบไม่มีการแตกแขนง เช่น *Oscillatoria* และ *Lyngbya* เป็นต้น บางชนิดเส้นสายนั้นอาจจะมีปลายโค้งงอ และบิดเป็นเกลียว เช่น *Arthospira* และ *Spirulina* เป็นต้น บางชนิดเป็นเส้นสายที่แตกแขนง ซึ่งอาจจะแตกแขนงจริง หรือแตกแขนงไม่แท้จริงก็ได้ ในพวกที่เป็นเส้นสายนี้ ส่วนของเซลล์ที่เรียงกันเป็นแถวเรียกว่า ไตรโครม (trichome) ดังนั้น ในแต่ละเส้นสายจึงประกอบไปด้วยไตรโครม และชีทรวมกัน (ภาพที่ 2) โดยเซลล์ในไตรโครมนี้นี้จะมีการเชื่อมโยงของไซโตพลาสซึมระหว่างเซลล์โดยผ่านทางรูเล็ก ๆ ที่ผนังเซลล์ (ยูวดี, 2549)



ภาพที่ 2 ลักษณะไตรโครม และชีทของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ที่มา: ยูวดี (2549)

การแตกแขนง (branching) ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมี 2 แบบ คือ การแตกแขนงที่แท้จริง (true branching) และการแตกแขนงไม่แท้จริง (false branching) โดยการแตกแขนงที่แท้จริงพบในสาหร่ายหลายชนิด แบ่งออกเป็นแบบย่อย ๆ 3 แบบ คือ (1) การแตกแขนงด้านข้าง เกิดจากเซลล์ใดเซลล์หนึ่งในสายทำการแบ่งตัวในแนวตั้งฉากกับแนวการแบ่งเซลล์ปกติ ต่อจากนั้นเซลล์ใหม่นี้จะแบ่งตัวต่อไปอีก เกิดเป็นแขนงงอกยาวออกไปทางด้านใดด้านหนึ่ง หรือทั้งสองด้าน (2)

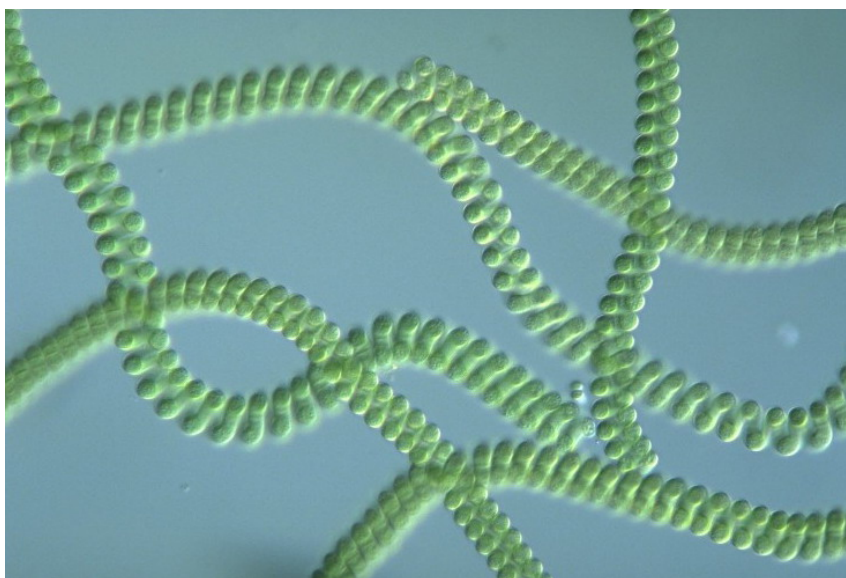
การแตกแขนง 2 กิ่ง เกิดจากเซลล์ยอดเกิดการแบ่งเซลล์ขนานกับแนวแกนของเส้นสาขานั้น แล้ว เซลล์แต่ละเซลล์ที่แบ่งออกมาก็จะทำการแบ่งเซลล์ต่อไปอีกเกิดเป็นแขนง 2 กิ่ง อยู่ตรงปลายของ เส้นสาย และ (3) การแตกแขนงแบบตัววี (V) คว่า เกิดจากการแบ่งเซลล์ตามแนวแกนปกติ ต่อจากนั้นเซลล์ใหม่ทั้ง 2 ที่เกิดใหม่จะยึดตัวออกแล้วดันไปทางเดียวกัน ต่อจากนั้นจะชะงักการเจริญทำให้มีลักษณะเป็นรูปตัว V คว่า การแตกแขนงไม่แท้จริงพบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เท่านั้น เกิดจากเซลล์ในเส้นสายแบ่งตัวตามปกติให้เซลล์ใหม่ 2 เซลล์ที่หลุดออกจากกัน ผนังเซลล์ ด้านปลายของแต่ละเซลล์ที่ชนกันจะ โกงมน ต่อจากนั้นเซลล์ใหม่ทั้ง 2 เซลล์ หรือเซลล์ใดเซลล์หนึ่ง จะทำการแบ่งตัวเกิดเป็นแขนงใหม่ดันชี้ออกไปทางด้านข้างของสายเดิม ทิศทางของการดันออก ทางด้านข้างของทั้ง 2 เซลล์นั้น อาจจะไปทางเดียวกัน อาจจะไปคนละทาง หรืออาจจะไขว้กันก็ได้ (ยูวดี, 2549)

เฮเทอโรซิสต์ (heterocyst) เป็นเซลล์พิเศษที่มีผนังหนา พบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มี ลักษณะเป็นเส้นสายเท่านั้น ถ้าดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาจะเห็นว่าส่วนประกอบของเซลล์เป็น เนื้อเดียวกันหมด แต่ถ้าดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะพบว่าภายในมีระบบเมมเบรน การเกิด เฮเทอโรซิสต์นั้น เกิดได้โดยเซลล์ใดเซลล์หนึ่งในเส้นสายมีขนาดใหญ่ขึ้นมากกว่าเซลล์ธรรมดา แต่ เฮเทอโรซิสต์ของสาหร่ายบางชนิดก็มีขนาดเท่าเซลล์ปกติ จากนั้นผนังเซลล์จะสร้างไฟบรัส (fibrous) เป็นชั้น ๆ ขึ้นมา ทำให้ผนังเซลล์มีลักษณะหนากว่าเดิม หน้าที่ของเฮเทอโรซิสต์นั้นแต่เดิม เข้าใจกันว่าช่วยในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ แต่ต่อมาพบว่าสาหร่ายบางชนิดที่ไม่มีเฮเทอโร- ซิสต์ก็สามารถตรึงไนโตรเจนได้เช่นกัน ดังนั้นความเชื่อที่ว่าเฮเทอโรซิสต์ช่วยในการตรึง ไนโตรเจนจึงลบล้มเลิกไป หน้าที่ของเฮเทอโรซิสต์ที่ชัดเจนก็คือ บริเวณเฮเทอโรซิสต์นี้จะเป็นจุดอ่อน ที่ทำให้เซลล์ขาดออกจากกัน แต่ละท่อนที่ขาดออกจากกันนี้เรียกว่า ฮอร์โมโกน (hormogone) หรือ ฮอร์โมโกเนีย (hormogonia) ซึ่งอาจเป็นสายยาว หรือสายสั้น ๆ ก็ได้ และฮอร์โมโกนดังกล่าว สามารถแบ่งเซลล์ให้เส้นสายที่ยาวต่อไปได้ นอกจากนั้นเฮเทอโรซิสต์ถ้าหลุดออกจากเส้นสายก็จะ สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมมากกว่าเซลล์ธรรมดา เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็ จะงอกเป็นเส้นสายใหม่ได้ (ยูวดี, 2549)

สาหร่ายเกลียวทอง

ลักษณะทางชีววิทยาของสาหร่ายเกลียวทอง

สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanobacteria) ขนาดเล็กมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า (ภาพที่ 3) จัดอยู่ในวงศ์ (family) Oscillatoriaceae พวกที่เป็นเส้นสาย (filament) ประกอบด้วยเซลล์ที่เป็นทรงกระบอกต่อกัน ไม่มีกิ่งก้าน และบิดตัวเป็นเกลียว เรียกว่าไตรโครม (trichome) และเคลื่อนที่ไปตามแนวแกน แต่ละชนิดมีรูปร่างที่แตกต่างกันไปในแต่ละชนิดหรือแม้แต่นิดเดียวกัน เซลล์ของสาหร่ายเกลียวทองสายพันธุ์ที่มีขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางจากไตรโครมตั้งแต่ 1-3 ไมโครเมตร ส่วนสายพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของไตรโครม 3-12 ไมโครเมตร สาหร่ายเกลียวทองที่มีขนาดใหญ่ในไซโตพลาสซึมมีเกรนูลที่มีก๊าซแวกคิวโอล (gas vacuole) ทำให้เซลล์ลอยตัวได้ และเห็นผนังแบ่งเซลล์อย่างชัดเจน ผนังแบ่งเซลล์ประกอบไปด้วยสารจำพวกมิวโคพอลิเมอร์ (mucopolymer) และเพกติน (pectin) สาหร่ายเกลียวทองมีคลอโรพลาสต์ ไม่มีนิวเคลียส ไม่มีราก ไม่มีลำต้น และไม่มีใบที่แท้จริง มีขนาดยาว 200-500 ไมโครเมตร (สมบูรณ์, 2538)

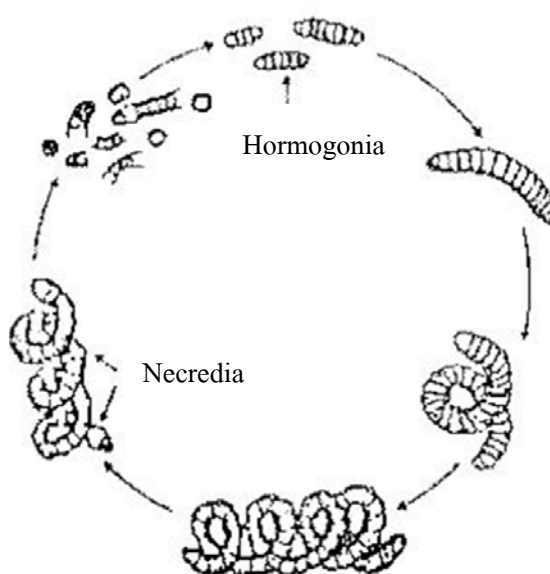


ภาพที่ 3 สาหร่ายเกลียวทอง

ที่มา : Protist information server (2008)

วงจรชีวิตของสาหร่ายเกลียวทอง

วงจรชีวิตของสาหร่ายเกลียวทองเริ่มจากไตรโคมที่โตเต็มที่เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์พิเศษที่เรียกว่านิครีเดีย (necredia) หลังจากนั้น นิครีเดียแตกออกเป็นชิ้นส่วนเล็ก ๆ หลายสาย แต่ละสายประกอบด้วย 2-4 เซลล์ เรียกแต่ละสายว่า ฮอร์โมโกเนีย (hormogonia) จากนั้นปลายทั้งสองด้านของฮอร์โมโกเนียค่อย ๆ ม้วนเป็นเกลียว เซลล์ของฮอร์โมโกเนียเพิ่มจำนวนโดยวิธี cell fusion และเจริญต่อไปเป็นไตรโคม (ภาพที่ 4) ลักษณะเซลล์ของฮอร์โมโกเนียมีสีซีด เพราะในไซโตพลาสซึมมีกรานูล (granule) น้อย แต่เมื่อเจริญไปเป็นไตรโคมที่โตเต็มที่ภายในไซโตพลาสซึมจะมีกรานูลเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์มีสีเขียวเข้มมากขึ้น (Cifferi, 1983)



ภาพที่ 4 วงจรชีวิตของสาหร่ายเกลียวทอง

ที่มา : KMUTT digital library (2551)

นิเวศวิทยาและแหล่งที่อยู่

สาหร่ายเกลียวทองเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในบริเวณน้ำตื้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในที่ที่เป็นน้ำกร่อย หรือน้ำที่มีความเป็นเบส ในธรรมชาติพบสาหร่ายเกลียวทองทั่วไปทั้งในดิน หนอง ทะเล น้ำพุร้อน และน้ำจืด สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ *S. platensis* และ *S. maxima* พบจำนวนมาก

ในทะเลสาบที่น้ำมีความเป็นเบส ในทวีปแอฟริกาและประเทศเม็กซิโก นอกจากนี้แล้วพบว่า คุณสมบัติของน้ำในทะเลสาบเหล่านี้กับชนิดของสาหร่ายนั้นสัมพันธ์กัน โดยพบว่าในทะเลสาบที่มีความเข้มข้นของเกลือ 2.5-30 กรัมต่อลิตร (mesosaline lake) สิ่งมีชีวิตที่มีจำนวนมากคือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งประกอบด้วย *Synechocystis* *Oscillatoria* *Spirulina* และ *Anabaenopsis* ส่วนทะเลสาบที่มีความเข้มข้นของเกลือมากกว่า 30 กรัมต่อลิตร (alkaline lake) พบว่ามีเฉพาะ *Spirulina* sp. เพียงชนิดเดียว (Cifferi, 1983)

องค์ประกอบของสาหร่ายเกลียวทอง

สาหร่ายเกลียวทองมีคุณค่าทางอาหารสูง มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า 70% ของน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 1) (Oliveira *et al.*, 2008) กรดแอมิโนที่จัดเรียงกันอย่างได้สัดส่วนสมดุล 18 ตัว มีวิตามินที่มีคุณค่า เช่น วิตามินบี 1 (B1) บี 2 (B2) บี 3 (B3) บี 12 (B12) วิตามินซี วิตามินอี และบีตา-แคโรทีน นอกจากนี้ประกอบด้วย กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะ (polyunsaturated fatty acid, PUFA) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย โดยเฉพาะกรดแกมมา-ลิโนเลนิก (gamma linolenic acid, GLA) นอกจากนี้แล้วมีรายงานว่าสาหร่ายเกลียวทอง และสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองมีผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulating effects) สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant effects) สมบัติการต้านมะเร็ง (anticancer effects) และสมบัติการต้านไวรัส (antiviral effects) (Belay, 2002)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ (โดยน้ำหนักแห้ง)
โปรตีน	73.8±1.1*
ไขมัน	8.6±0.1
เถ้า	7.3±0.1
คาร์โบไฮเดรต	10.3±0.2

ที่มา : คัดแปลงจาก Oliveira *et al.* (2008)

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ประโยชน์ต่อสุขภาพของสาหร่ายเกลียวทอง

ผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

สาหร่ายเกลียวทอง และสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองสามารถเพิ่มภูมิคุ้มกันได้โดยกระตุ้นการทำงานของแมโครฟาจ (macrophage) กระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) และการผลิตสาร Interluken-1 ในหนู (Hayashi *et al.*, 1994) นอกจากนั้นแล้ว พบว่าไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ทำการเพิ่มสาหร่ายเกลียวทองเข้าไปในความเข้มข้น 1,000 ppm มีปริมาณแบคทีเรียทั้งในกระแสเลือด และม้ามลดลง (Qureshi *et al.*, 1995) อีกทั้ง ปลาอุกที่ได้รับสาหร่ายเกลียวทองมีส่วนของเม็ดเลือดแดง (erythrocytes) ลดน้อยกว่า และมีเม็ดเลือดขาว (lymphocytes) มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับปลาอุกกลุ่มควบคุม (Duncan and Klesius, 1996)

นอกจากนี้แล้ว พบว่าสาหร่ายเกลียวทองกระตุ้นการหลั่งสาร interleukin(IL)-1 β IL-4 และ interferon ในเซลล์ human peripheral blood mononuclear cells (Mao *et al.*, 2000) รวมถึง Saeki *et al.* (2000) ได้ทำการทดลองกับชายอายุ 40 ปีโดยให้ดื่มเครื่องดื่มสาหร่ายเกลียวทองทางการค้า (Dainippon Ink & Chemicals, Inc.) ที่ผสมสารสกัดจากน้ำร้อน (hot water extract) ของสาหร่ายเกลียวทองความเข้มข้น 40% ทุกวันเป็นระยะเวลานาน 4 สัปดาห์พบว่าสามารถช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้

ผลต่อการต้านออกซิเดชัน

สมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทอง และสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองนั้นได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างมากในปัจจุบัน (Belay, 2002) ทั้งนี้ พบว่าสารสกัดแอลกอฮอล์ (alcohol extract) ของสาหร่ายเกลียวทองมีผลยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ (ยับยั้งได้ 65%) สูงกว่าสารเคมีกลุ่มต้านออกซิเดชันหลาย ๆ ชนิด เช่น แอลฟา-โทโคฟีรอล (ยับยั้งได้ 35%) BHA (butyrate hydroxyl anisole) (ยับยั้งได้ 45%) และบีตา-แคโรทีน (ยับยั้งได้ 48%) รวมทั้งพบว่าสารสกัดน้ำ (water extract) ของสาหร่ายเกลียวทองมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน (ยับยั้งได้ 76%) มากกว่ากรดแกลลิก (gallic acid) (ยับยั้งได้ 54%) และกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) (ยับยั้งได้ 56%) (Manoj *et al.*, 1992)

นอกจากนี้แล้ว พบว่าไฟโคไซยานินสามารถต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl) และ อนุมูลอิสระอัลคอกซิล (alkoxyl) โดยมีค่า IC_{50} (inhibitory concentration) = 0.91 mg/ml และ 76 μ g/ml ตามลำดับ ซึ่งเท่ากับไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide, DMSO) ความเข้มข้น 0.038 μ g/ml และยังพบว่าไฟโคไซยานินมีสมบัติในการกำจัดออกซิเจน (oxygen-scavenging activity) น้อยกว่าซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) เพียง 3 เท่า และการเพิ่ม SOD ลงไปในไฟโคไซยานินก็ไม่ทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันเปลี่ยนแปลงไป แสดงให้เห็นว่าสารทั้งสองดังกล่าวมีกลไกการทำงานแตกต่างกัน นอกจากนี้แล้วยังพบว่าไฟโคไซยานินมีสมบัติในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory activity) ด้วย โดยไฟโคไซยานินสามารถลดการอักเสบได้ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น (dose-dependent) โดยทดลองในหนูของหนูที่ทำให้อักเสบด้วยกรดอะราคิโดนิก (arachidonic acid) และในเนื้อเยื่อ plasminogen activator ของหนู รวมถึงในอุ้งเท้าหนูที่ทำให้เกิดการบวมด้วยคาราจีแนน (carageenan-induced rat paw edema) ทั้งนี้ สมบัติในการต้านการอักเสบของไฟโคไซยานินอาจมาจากสมบัติในการต้านออกซิเดชัน และสมบัติในการกำจัดออกซิเจน และอาจรวมถึงสมบัติในการยับยั้งการทำงานของกรดอะราคิโดนิก (arachidonic acid) ด้วย และเมื่อเปรียบเทียบกับอินโดเมทาซิน (indomethacin) ที่เป็นยามาตรฐานสำหรับการต้านการอักเสบ พบว่าไฟโคไซยานินมีฤทธิ์อ่อนกว่า (50-300 mg/kg, per oral; p.o.) เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ของยา (3-10 mg/kg, p.o.) อย่างไรก็ตาม พบว่าค่า LD_{50} (median lethal dose) ซึ่งหมายถึง ปริมาณ (dose) ของสารเคมีที่คาดว่าทำให้สัตว์ทดลองซึ่งได้รับสารนั้นเพียงครั้งเดียวตายไปเป็นจำนวนครึ่งหนึ่งของตัวยำนั้นอยู่ที่ 12 mg/kg, p.o. ในหนู และยังไม่ส่งผลข้างเคียงต่อผู้ได้รับยาอีกด้วย ในขณะที่ไฟโคไซยานินนั้นมีค่า LD_{50} มากกว่า 3 mg/kg, p.o. ซึ่งจริง ๆ แล้วในระดับดังกล่าวก็ไม่พบการตายในหนู (Romay *et al.*, 1998)

Bhat and Madayastha (2000) ได้รายงานไว้ว่าไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทองมีสมบัติในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันแบบ CCl_4 -induced lipid peroxidation ในตับหนู นอกจากนี้แล้วมีรายงานไว้ว่าไฟโคไซยานินบิลิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของไฟโคไซยานิน มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าแอลฟา-โทโคฟีรอล (α -tocopherol) (Hirata *et al.*, 2000) โดยผู้วิจัยได้ทำการศึกษาการเกิดออกซิเดชันของเมทิลลิโนเลอเทต (methyl linoleate) ในระบบไขมัน (hydrophobic system) หรือใน phosphatidylcholine liposome และพบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันของไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำให้เป็นแบบพ่นฝอย และสาหร่ายเกลียวทองสดให้ผลที่เหมือนกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันนั้นอาจเป็นผลจากไฟโคไซยานิน-

บิลินที่เป็น prosthetic group เพราะส่วนของโปรตีนที่ apoprotein ย่อมเสียสภาพธรรมชาติ (denature) เมื่อผ่านการให้ความร้อน (Hirata *et al.*, 2000)

ผลต่อการต้านมะเร็ง

สาหร่ายเกลียวทองมีผลในการลดการเกิดเนื้องอกในเยื่อช่องปาก (oral leukoplakia) ซึ่งเป็นสิ่งบ่งชี้ก่อนการเกิดมะเร็ง (precancerous lesion) ในกลุ่มผู้เคี้ยวหมาก (pan tobacco chewers) โดยในกลุ่มศึกษา (intervention) มีจำนวน 44 คน และในกลุ่มควบคุมที่ให้ยาหลอก (placebo) มีจำนวน 43 คน พบว่าการบริโภคสาหร่ายเกลียวทองในปริมาณ 1 กรัมต่อวัน เป็นระยะเวลาหนึ่งปี สามารถลดร่องรอยการเกิดโรค (lesion) ได้ถึง 45% ในกลุ่มศึกษา และ 7% ในกลุ่มควบคุม (Mathew *et al.*, 1995) นอกเหนือจากนั้นแล้วพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่สกัดได้จากสาหร่ายเกลียวทองสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (proliferation) ของเซลล์ ascetic hepatoma cells ในหนูได้ เมื่อทำการฉีดเข้าไปที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Lisheng *et al.*, 1991) อีกทั้งพบว่าปริมาณของ aberrant crypts ซึ่งเป็นรอยโรคบ่งชี้ถึงการเกิดมะเร็งที่เกิดขึ้นบริเวณลำไส้ใหญ่ของหนูที่ทำการฉีดสาร 1, 2-dimethyl hydrazine (DMH) เข้าไปนั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) เมื่อทำการให้สาหร่ายเกลียวทองกับหนู (Chen and Zhang, 1995) นอกเหนือจากนั้นแล้วพบว่าแคลเซียมสปิรูแลน (calcium spirulan, Ca-SP) ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) มีผลในการยับยั้งการขยายตัวของเนื้องอก (tumor invasion) และการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง (metastasis) (Mishima *et al.*, 1998) นอกจากนี้พบว่าซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทองมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (human leukemia K562 cells) อีกด้วย (Liu *et al.*, 2000)

ผลต่อการต้านไวรัส

ไกลโคลิพิดที่มีกรดซัลโฟนิคเป็นองค์ประกอบ (sulfonic-acid-containing glycolipids) ซึ่งสกัดได้จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Lyngbya lagerheimii* และ *Phormidium tenue* นั้นมีผลในการต่อต้านไวรัส (Gustafson *et al.*, 1989) อีกทั้ง พบว่าสารสกัดน้ำจากสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) นั้นมีผลยับยั้งการขยายพันธุ์ (replication) ของไวรัสโรคเริม (*Herpes simplex*) ในเซลล์ HeLa cells ที่ระดับความเข้มข้น 0.08-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยสารสกัดดังกล่าวไม่ได้มีผลในการฆ่าไวรัส แต่มีผลในการขัดขวางการดูดซับ

(absorption) และแทรกซึม (penetration) ของไวรัสเข้าสู่เซลล์ host (Hayashi *et al.*, 1993) และพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีซัลเฟต (sulfated-polysaccharide) หรือ แคลเซียมสปิรูแลน (calcium spirulan, Ca-SP) จากสาหร่ายเกลียวทองมีผลในการยับยั้งการขยายพันธุ์ (replication) ของไวรัสหลาย ๆ ชนิด ได้แก่ ไวรัสโรคเริม (*Herpes simplex* type I, HSV-1) ไวรัสโรคหัด (measles virus) ไวรัสโรคคางทูม (mumps virus) ไวรัสไข้หวัดใหญ่ (influenza A virus) ไวรัสโรคเอดส์ (HIV-1 virus) รวมถึง human cytomegalovirus (HCMV) (Hayashi *et al.*, 1996) นอกจากนี้แล้ว พบว่า สารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) สามารถยับยั้งการขยายพันธุ์ของไวรัสโรคเอดส์ (HIV-1) ในเซลล์ human T-cell lines peripheral blood mononuclear cells (PBMC) และ langerhans cells ได้ (Ayejunie *et al.*, 1998)

ผลต่อการลดไขมัน

Kato *et al.* (1984) ได้ทำการทดลองในหนู พบว่าปริมาณของคอเลสเตอรอลทั้งหมด (total cholesterol) คอเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein, LDL) และ คอเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำมาก (very low density lipoprotein, VLDL) รวมถึง ฟอสโฟลิพิด (phospholipids) ในเลือดนั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการให้อาหารที่มีปริมาณ คอเลสเตอรอลสูงที่เพิ่มสาหร่ายเกลียวทองในปริมาณ 16% นอกจากนั้นแล้ว พบว่าการให้สาหร่ายเกลียวทองที่ระดับ 5% 10% และ 15% สามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ ฟอสโฟลิพิดได้อย่างมีนัยสำคัญ ในหนูที่ได้รับการกระตุ้นด้วยวิธี fructose-induced hypolipidemic rats แต่อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของค่าไขมันในตับระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มี ฟรุคโตสสูง กับอาหารที่ผสมสาหร่ายเกลียวทอง (Iwata *et al.*, 1987) เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณ ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) และฟอสโฟลิพิดในตับหนูที่ทำการให้อาหารผสมสาหร่ายเกลียวทองที่ระดับ 5% พบว่า หนูที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทองมีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟลิพิดในตับน้อยกว่าหนูกลุ่มควบคุม (De Rivera *et al.*, 1993) อีกทั้ง พบว่าหนูที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทองนั้นมีปริมาณของคอเลสเตอรอลทั้งหมด คอเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein, HDL) และชนิด LDL ลดลง (31% 20% และ 54% ตามลำดับ) เมื่อทำการให้อาหารไป 14 วัน (Fong *et al.*, 2000)

สำหรับการทดลองในมนุษย์นั้น Nakaya *et al.* (1988) ได้ศึกษาในผู้ชาย 30 คนที่มีภาวะไขมัน และความดันสูงเล็กน้อย โดยพบว่าปริมาณคอเลสเตอรอลชนิด LDL นั้นลดลงอย่างมี

นัยสำคัญ เมื่อทำการให้อาหารผสมสาหร่ายเกลียวทองที่ระดับ 4.2 กรัมต่อวันนาน 4 สัปดาห์ หรือ 8 สัปดาห์ แต่เมื่อหยุดการให้อาหารผสมสาหร่ายเกลียวทองพบว่า ระดับคอเลสเตอรอลชนิดดังกล่าว กลับเข้ามาสู่ภาวะปกติหลังผ่านไป 4 สัปดาห์ โดยไม่พบความแตกต่างในระดับคอเลสเตอรอลชนิด HDL อีกทั้ง พบว่าเมื่อทดลองกลุ่มผู้ป่วยโรคหัวใจขาดเลือด (ischemic heart disease) ที่มีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงกว่า 250 กรัมต่อลิตร โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 10 คน โดยกลุ่มที่หนึ่ง และสองให้อาหารที่ผสมสาหร่ายเกลียวทองที่ระดับ 2 กรัม และ 4 กรัมต่อวันตามลำดับ เป็นระยะเวลา 3 เดือน และกลุ่มที่สามเป็นกลุ่มควบคุม พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทองนั้นมีปริมาณคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอลชนิด LDL และ VLDL ลดลง แต่มีปริมาณคอเลสเตอรอลชนิด HDL สูงขึ้น โดยพบว่าที่ระดับ 4 กรัมต่อวันสามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอลทั้งหมด และคอเลสเตอรอลชนิด LDL ได้มากกว่าที่ระดับ 2 กรัมต่อวัน (Ramamoorthy and Premakumari, 1996) และในปี 1998 Mani *et al.* ได้ทำการศึกษาแบบคลินิก (clinical study) กับผู้ป่วยเบาหวาน 15 คนก็พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญในปริมาณไขมันทั้งหมด กรดไขมันอิสระ และไตรกลีเซอไรด์

ผลต่อโพรไบโอติก (Probiotic)

การบริโภคสาหร่ายเกลียวทองที่ระดับ 5% สามารถเพิ่มจำนวนประชากรของ *Lactobacillus* ในอุจจาระของหนูได้ 3 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทอง (Tsuchihashi *et al.*, 1987) ทั้งนี้ Mule *et al.* (1996) ก็ได้ผลเช่นเดียวกันสำหรับเชื้อ *Lactobacillus lactis* และ *Candida albicans* นอกเหนือจากนั้นแล้ว พบว่าสารจากสาหร่ายสามารถกระตุ้นเชื้อต่าง ๆ ได้แก่ *Lactococcus lactis* *Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus casei* *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* (Parada *et al.*, 1998)

ผลต่อเบาหวาน โรคอ้วน และระบบไหลเวียนโลหิต

ส่วนที่ละลายน้ำของสาหร่ายเกลียวทองมีผลในการลดปริมาณกลูโคสในเลือด (Takai *et al.*, 1991) โดยในปี 1998 Mani *et al.* ได้ศึกษาแบบคลินิก (clinical study) ในผู้ป่วยเบาหวานจำนวน 15 คน พบว่าปริมาณน้ำตาลในเลือดลดลงหลังได้รับอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทองที่ระดับ 2 กรัมต่อวัน นาน 21 วัน นอกเหนือจากนั้นแล้ว พบว่าสาหร่ายเกลียวทองสามารถลดระดับความดันโลหิต (blood pressure) ในหนู (Iwata *et al.*, 1990) และพบว่าพอลิ-

แซคคาไรด์ และไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทองส่งผลต่อ peripheral blood และ hematopoietic system ของไขกระดูก (bone marrow) ในหนู พบว่าสารทั้งสองดังกล่าวมี erythropoietin (EPO) ที่สูง (Cheng *et al.*, 1994)

ไฟโคบิลิโซม

ไฟโคบิลิโซม (phycobilisome) ประกอบด้วยโปรตีนที่แตกต่างกันหลายชนิด สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ไฟโคบิลิโปรตีน (phycobiliprotein) และ โปรตีนจับยึด (linker protein) (Yu and Glazer, 1982) โดยไฟโคบิลิโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักที่มีปริมาณกว่า 60-80 % ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในสาหร่ายสีแดง และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Soni *et al.*, 2008) ทั้งนี้ ไฟโคบิลิโซมเป็นโครงสร้างสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทุกชนิด พบอยู่บริเวณผิวนอกของเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ ไฟโคบิลิโซมถูกสกัดให้อยู่ในรูปของสารละลายได้ โดยการทำให้เซลล์แตกเพียงเล็กน้อย

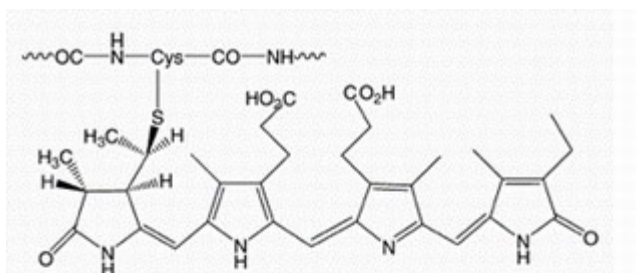
ไฟโคบิลิโปรตีน เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของไฟโคบิลิโซม มีประมาณ 60-80% ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มตามความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดได้ 3 กลุ่ม คือ

1. ไฟโคเออร์ทริน (phycoerythrin, PE) ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 560 นาโนเมตร
2. ไฟโคไซยานิน (phycocyanin, PC) ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 620 นาโนเมตร
3. อัลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin, AP) ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 650 นาโนเมตร

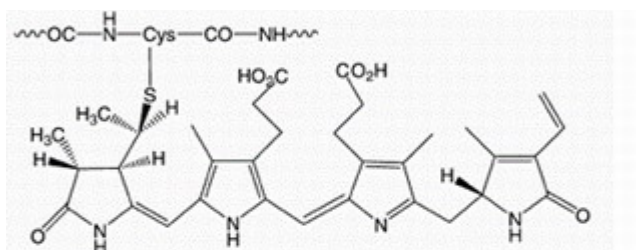
ไฟโคบิลิโปรตีนแต่ละชนิดประกอบขึ้นด้วยหน่วยย่อย ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 2 ชนิด เรียกว่า แอลฟา (α) และบีตา (β) มีขนาดโมเลกุล 15-25 กิโลดาลตัน และ 17-22 กิโลดาลตัน ตามลำดับ แต่ละหน่วยย่อยจับอยู่กับบิลิน โครโมฟอร์ (bilin chromophore) ที่แตกต่างกัน 4 ชนิด คือ

1. ไฟโคไซยานินบิลิน (phycocyanobilin)
2. ไฟโคเออร์ทรินบิลิน (phycoerythrobilin)
3. ไฟโคยูโรบิลิน (phycourobilin)
4. ไฟโคบิลิวิโอลิน (phycobiliviolin)

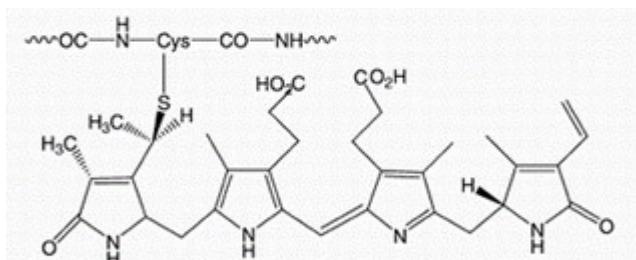
โครโมฟอร์ (chromophore) อีสาระเหล่านี้ มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดวัดได้ที่ 590-670, 535-567, 498 และ 568 นาโนเมตร ตามลำดับ และมีลักษณะเป็นเตตราไพโรลแบบเปิด (open tetrapyrrole) จับกับกรดแอมิโนที่เป็นซิสเทอีน (cysteine) ของสายโปรตีนหน่วยย่อย ด้วยพันธะไทโออีเธอร์ (thioether linkage) (Isailovic *et al.*, 2004; Colyer *et al.*, 2005) ดังแสดงในภาพที่ 5



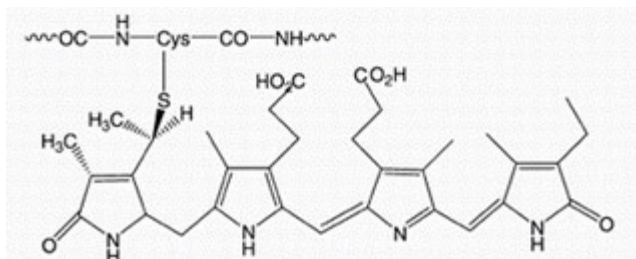
peptide-linked phycocyanobilin



peptide-linked phycoerythrobilin



peptide-linked phycourobilin

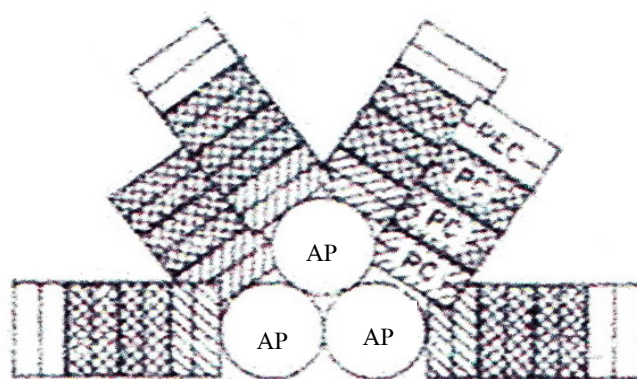


peptide-linked phycobilivadin

ภาพที่ 5 บิลินโครโมฟอร์ที่เป็นส่วนประกอบของไฟโคบิลิโซม

ที่มา: Colyer *et al.* (2005)

อัลโลไฟโคไซยานินสัมผัสกับเยื่อหุ้มไทลาคอยด์โดยตรง ไฟโคไซยานินเป็นตัวเชื่อมระหว่างไฟโคเออร์ทริน และอัลโลไฟโคไซยานิน ลักษณะการจัดเรียงตัวแบบนี้อาจแตกต่างกันได้ในเซลล์ที่เกิดการกลายพันธุ์ที่ไม่สามารถสังเคราะห์ไฟโคบิลิโซมได้สมบูรณ์ การศึกษาการรวมตัวของไฟโคบิลิโปรตีนแต่ละชนิดในไฟโคบิลิโซม พบว่าประกอบด้วยไตรเมอร์ิก (trimeric, $\alpha_3\beta_3$) และเฮกซะเมอร์ิก (hexameric, $\alpha_6\beta_6$) โครงสร้างของไฟโคบิลิโซมมีลักษณะคล้ายรูปพัด (ภาพที่ 6) (Yu and Glazer, 1982) แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นแกนกลาง (core) ซึ่งสัมผัสกับเยื่อหุ้มไทลาคอยด์โดยตรง ประกอบด้วยอัลโลไฟโคไซยานินเป็นส่วนใหญ่ และส่วนที่เรียงตัวเป็นรัศมีออกจากแกนกลาง (rod) ประกอบด้วยไฟโคไซยานิน และไฟโคเออร์ทริน องค์ประกอบของ rod ขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ และสภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโตของเซลล์นั้น ไฟโคบิลิโซมโดยทั่วไปมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 32-70 นาโนเมตร ความสูง 25-45 นาโนเมตร และความหนา 12-40 นาโนเมตร ขนาดของไฟโคบิลิโซมขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ และสภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโต โดยมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง $7 \times 10^6 - 15 \times 10^6$ คาลตัน



Plane of thylakoid membrane

ภาพที่ 6 ลักษณะการจัดเรียงตัวของไฟโคบิลิโซม

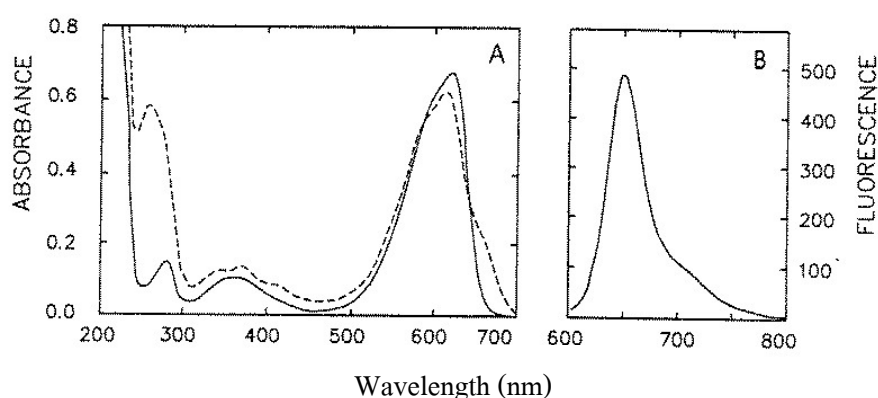
ที่มา: Yu and Glazer (1982)

สำหรับโปรตีนจับยึด (linker protein) เป็นองค์ประกอบที่มีประมาณ 15% ของโปรตีนทั้งหมดในไฟโคบิลิโซม และไม่มีสี มีบทบาทสำคัญต่อองค์ประกอบของไฟโคบิลิโซม ช่วยในการรักษาความคงตัวของไฟโคบิลิโปรตีน และเป็นตัวกำหนดลักษณะการดูดกลืนแสงที่ส่งผ่านจาก rod ไปยังแกนกลาง ทั้งนี้ โปรตีนจับยึดเป็นสารพวกไกลโคไลเซเลท (glycosylate) ที่ส่วนใหญ่มีสมบัติ

เป็นด่าง (basic protein) และเป็นพวกไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) กรดแอมิโนจับอยู่กับน้ำตาลที่ประกอบด้วยกลูโคสจำนวนมาก ประจุที่เป็นด่างของโปรตีนเกิดพันธะไอออนิก (ionic bond) กับหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl) ของกรดแอมิโนที่เป็นกรดกลูตามิก (glutamic acid) และกรดแอสปาร์ติก (aspartic acid) ที่มีอยู่มากบริเวณช่องว่างของบิลิโปรตีนที่รวมตัวกันเป็นเฮกซะเมอร์ (hexamer) (Yu and Glazer, 1982)

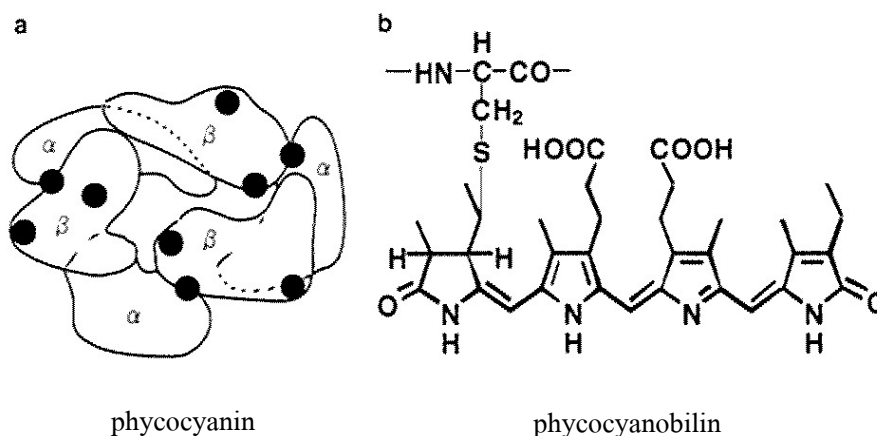
ไฟโคไซยานิน

ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) เป็นรงควัตถุที่พบมากในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิด มีสีฟ้าแกมน้ำเงิน และมีสมบัติเป็นโปรตีน ทำหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์แสงร่วมกับบิลิโปรตีนอื่น ๆ ที่ประกอบขึ้นเป็นไฟโคบิลิโซม มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดระหว่าง 615 และ 620 นาโนเมตร และมีช่วงของการปลดปล่อยฟลูออเรสเซนส์ (fluorescence emission) ที่ประมาณ 640 นาโนเมตร (Boussiba and Richmond, 1979; Minkova *et al.*, 2003) (ภาพที่ 7) หน่วยที่เล็กที่สุดเรียกว่า มอนอเมอร์ (monomer) ซึ่งประกอบขึ้นจากการรวมตัวของหน่วยย่อยที่แตกต่างกันสองชนิด ได้แก่ แอลฟา (α) และบีตา (β) โดยที่ตำแหน่งแอลฟาจับกับหนึ่งโครโมฟอร์ สำหรับตำแหน่งบีตาจับกับสองโครโมฟอร์ ทั้งนี้ หน่วยที่เล็กที่สุดของไฟโคไซยานินที่สามารถทำหน้าที่ภายในเซลล์และมีความคงตัวเกิดจากการรวมตัวของโมโนเมอร์สามหน่วย เรียกว่า ไตรเมอร์ (trimer, $\alpha_3\beta_3$) (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 7 การดูดกลืนแสงของไฟโคไซยานิน

ที่มา: Minkova *et al.* (2003)



ภาพที่ 8 โครงสร้างของไฟโคไซยานิน (a) และไฟโคไซยานobilin (b)

ที่มา: Minkova *et al.* (2003)

การสกัดไฟโคไซยานินมักสกัดในสารละลายที่เป็นน้ำ เนื่องจากเป็นสารที่ละลายได้ดีในน้ำ หรืออาจใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ นอกจากนี้แล้ว พบว่าการสกัดไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสดด้วยวิธีการแช่เยือกแข็งและทำละลาย (freeze/thaw) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดี (Eriksen, 2008)

Soni *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาการสกัดไฟโคไซยานิน โดยพบว่าในขั้นตอนการเหวี่ยงแยกตะกอน (centrifuge) มีค่าความบริสุทธิ์อยู่ที่ 0.42 และเมื่อตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต มีค่าความบริสุทธิ์อยู่ที่ 0.86 และเมื่อผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี (chromatography) ได้ค่าความบริสุทธิ์เป็น 4.52 และพบว่าไฟโคไซยานินมีค่า pI (isoelectric point) ที่ 5.2 เมื่อทำการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลพบว่ามียูสองหน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 19 และ 20 กิโลดาลตัน โดยน้ำหนักโมเลกุลของซีไฟโคไซยานินอยู่ที่ 125 กิโลดาลตัน แสดงให้เห็นว่าโมเลกุลของซีไฟโคไซยานินนั้นอยู่ในการจัดเรียงแบบไตรเมอร์ ($\alpha\beta$)₃

ทั้งนี้ ความบริสุทธิ์ของไฟโคไซยานินกำหนดโดยค่าการดูดกลืนแสง (optical density, O.D.) ที่ 620 เปรียบเทียบกับที่ 280 นาโนเมตร (O.D. ratio 620/280) โดยค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 620 นาโนเมตร แสดงถึงความเข้มข้นของโครโมฟอร์ที่เป็นองค์ประกอบในไฟโคไซยานิน สำหรับค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร แสดงถึงความเข้มข้นของโปรตีน ดังนั้น อัตราส่วนที่ได้จึง

แสดงถึงจำนวนของโครโมฟอร์ต่อ 1 โมเลกุลโปรตีน ทั้งนี้หากค่า O.D. ratio มีค่ามากกว่า 0.7 จัดได้ว่าเป็นเกรดที่รับประทานได้ (food grade) และหากว่ามีค่าที่ 3.9 จัดอยู่ใน reactive grade และหากมีค่ามากกว่า 4.0 จัดอยู่ใน analytical grade ที่มีความบริสุทธิ์สูง (Minkova *et al.*, 2003; Eriksen, 2008)

สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) หมายถึงสารที่มีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับสารตั้งต้น (substrate) ทำหน้าที่ลด หรือยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของสารตั้งต้นนั้น หรือสารที่ยับยั้งปฏิกิริยาที่ก่อให้เกิดออกซิเจน หรือสารเพอร์ออกไซด์ (peroxide) ซึ่งมักใช้ในการถนอมอาหาร หรือหมายถึงสารสังเคราะห์ หรือสารธรรมชาติที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์เพื่อป้องกัน หรือชะลอการเสื่อมเสียอันเนื่องมาจากออกซิเจนในอากาศ หรือหมายถึงสารที่สามารถป้องกันผลจากความเสียหายที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อเยื่อ (Huang *et al.*, 2005; Magalhaes *et al.*, 2008)

เมื่อพิจารณาจากปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้อง การวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลัก ดังนี้

วิธีการที่วัดการแลกเปลี่ยนอะตอมไฮโดรเจน (Based on hydrogen atom transfer (HAT) reaction)

วิธีการนี้เป็นปฏิกิริยาที่เกิดการแข่งขันระหว่างสารต้านออกซิเดชัน กับสารตั้งต้น (substrate) ของปฏิกิริยา โดยมีการกระตุ้นสารประกอบอะโซ (azo compounds) ด้วยความร้อน เพื่อให้เกิดการสลายตัวกลายเป็นอนุมูลเพอร์ออกซิล (peroxyl radical) เพื่อเป็นตัวแทนอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ วิธีการในกลุ่มนี้ได้แก่ oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay และ total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) assay ซึ่งวิธีการกลุ่มนี้วัดปริมาณอะตอมไฮโดรเจนที่มีการแลกเปลี่ยน โดยวัดการเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนต์ที่ลดลงเมื่อเกิดการออกซิเดชัน เมื่อระบบมีสารต้านออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันไปแย่งจับสารเรืองแสง ส่งผลให้ความเข้มสารฟลูออเรสเซนต์ลดลงด้วยความเร็วที่ช้าลง (Huang *et al.*, 2005)

วิธีการวิเคราะห์ในกลุ่มนี้จำเป็นต้องใช้สารตัวแทนเพื่อเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยา (probes or substrates) โดยสารต้านออกซิเดชันแย่งกันทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น ทั้งนี้ในระบบการทดลอง ประกอบด้วย สารกลุ่มอะโซเพื่อผลิตอนุมูลอิสระ (AAPH probes) สารเพื่อติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (สารฟลูออเรสซิน) และสารต้านออกซิเดชัน โดย AAPH ถูกให้ความร้อนเพื่อสร้างอนุมูลเพอร์ออกซิด เมื่อใส่ฟลูออเรสซิน และสารต้านออกซิเดชันแล้ว จะเกิดการแย่งกันทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกซิด โดยสารต้านออกซิเดชันจะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็ว เมื่อสารต้านออกซิเดชันทำปฏิกิริยาจนหมดแล้วสารฟลูออเรสซินจึงเข้าทำปฏิกิริยาต่อ การเรืองแสงของสารฟลูออเรสซินจะยิ่งค่อย ๆ ลดลง

วิธีการวัดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนเดี่ยว (Based on single electron transfer (SET) reaction)

วิธีการนี้วัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในปฏิกิริยาการรับของตัวรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยานี้มีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน โดยการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน คือถ้าสารต้านออกซิเดชันมีความเข้มข้นมาก สีของสารละลายก็จะซีดจางลงอย่างรวดเร็ว วิธีการในกลุ่มนี้ ได้แก่ total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent (FCR) หรือ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay หรือ trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay และ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay

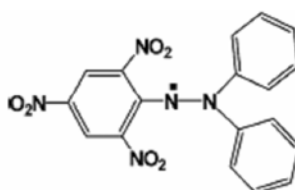
Total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent

Folin-Ciocalteu reagent (FCR) เป็นวิธีในการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ (reducing capacity) ของตัวอย่าง โดยสาร FCR มีส่วนผสมของโซเดียมทังสเตต (sodium tungstate) โซเดียมโมลิบเดต (sodium molybdate) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (concentrated hydrochloric acid) กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) ความเข้มข้น 85% และน้ำ โดยทำการต้มส่วนผสมดังกล่าวนาน 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมลิเทียมซัลเฟต (lithium sulfate) ซึ่งจะได้สารละลายสีเหลือง และเมื่อมีสารที่มีสมบัติรีดิวซ์ผสมเข้าไปก็จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว โดยหากมีการเติมสารออกซิไดซ์ เช่น โบรมีน (bromine) กลับเข้าไป ก็จะได้สีเหลืองกลับคืนมา ทั้งนี้เชื่อว่าโมลิบดีนัม (molybdenum) นั้นเป็นสาร

ที่ถูกรีดิวซ์ และเกิดการถ่ายโอนอิเล็กตรอน นอกเหนือจากนั้นแล้ว สาร FCR ไม่ได้จำเพาะต่อสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เท่านั้น เนื่องจากสามารถถูกรีดิวซ์ได้ด้วยสารชนิดอื่น ๆ อีก เช่น วิตามินซี ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เป็นต้น ทั้งนี้ วิธีการนี้จัดได้ว่าเป็นวิธีการที่สะดวก ง่าย และทำซ้ำได้ดี (reproducible) อีกทั้งการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750-765 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นที่ยาว ช่วยลดการรบกวน (interfere) จากลักษณะของตัวอย่าง (sample matrix) ได้ จึงเป็นที่นิยมในการใช้ตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันในตัวอย่างทั่วไป แต่อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ใช้เวลานาน (ประมาณ 2 ชั่วโมง) อีกทั้งต้องทำการวิเคราะห์ในสารละลายน้ำจึงไม่สามารถใช้วิเคราะห์กับตัวอย่างที่เป็นไขมัน (lipophilic compounds) ได้ (Magalhaes *et al.*, 2008)

2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay

วิธีนี้วัดความสามารถในการยับยั้ง 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) (ภาพที่ 9) โดย DPPH เป็นสารอนุมูลไนโตรเจนที่ค่อนข้างคงตัว ทั้งนี้ขณะเริ่มต้นการทดลองสารละลายอนุมูลอิสระมีสีเข้ม เมื่อเกิดปฏิกิริยามากขึ้นสารจะมีสีซีดจางลง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ตามระยะเวลาที่กำหนด หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันมาก สีของสารละลายก็จะซีดจางลงมาก ค่าที่ได้สามารถแสดงได้หลายรูปแบบ ได้แก่ แสดงเป็นร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity) ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ ร้อยละ 50 จากปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้น (IC_{50}) หรือค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antiradical efficiency, AE)



ภาพที่ 9 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH

ที่มา: Huang *et al.* (2005)

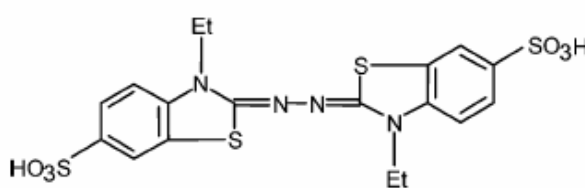
วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความแม่นยำ ใช้เวลาน้อย และใช้เครื่องมือแค่เครื่องวัดการดูดกลืนแสงเท่านั้น เหมาะสำหรับวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในน้ำผัก และน้ำผลไม้ หรือในสารสกัดผักและผลไม้ แต่ไม่เหมาะสำหรับการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในพลาสมา เนื่องจากสาร DPPH ต้องละลายในเมทานอล จึงส่งผลให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน (Magalhaes *et al.*, 2008) ทั้งนี้ การวัดด้วยเทคนิคนี้ปัจจัยด้านตัวทำละลาย (solvent) และความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อการวิเคราะห์เป็นอย่างมาก อีกทั้งพบว่าสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลกับน้ำที่อัตราส่วน 50% โดยปริมาตร พบว่าเหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระทั้งชนิดที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และชอบน้ำมัน (lipophilic) อย่างไรก็ตาม หากมีปริมาณน้ำมากกว่า 60% ก็จะส่งผลทำให้การวัดค่านั้นลดต่ำลง เนื่องจากเกิดการเกาะรวมตัวกัน (coagulate) ของ DPPH ทำให้การเข้าทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระเป็นไปได้ยาก เนื่องจากลักษณะโครงสร้างของ DPPH ส่งผลต่อการวัด โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีขนาดเล็กจะเข้าทำปฏิกิริยาได้ดีกว่าซึ่งก็ส่งผลให้วิเคราะห์ค่าออกมาได้สูง ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระที่มีขนาดใหญ่ซึ่งทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระพวกเพอร์ออกไซด์ได้ดี อาจทำปฏิกิริยาได้ช้ามากเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้

Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay หรือ ABTS assay

วิธีนี้เป็นวิธีการวัดความเข้มข้นของ trolox ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันต่อ 0.1 มิลลิโมลาร์ของสารตั้งต้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical cation, ABTS) โดยสาร ABTS (2, 2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)) มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 10 หลักการของวิธีนี้ คือ การวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการยับยั้งอนุมูลเพอร์ออกซิลของ ABTS วัดได้จากการลดลงของสีในสารละลาย โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยปฏิกิริยาทั้งหมดควบคุมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ทั้งนี้ค่า TEAC กับจำนวนอิเล็กตรอนของสารต้านออกซิเดชันที่สามารถให้ได้นั้น ไม่ได้สัมพันธ์กันนัก เช่น กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีค่า 1.05 แอลฟา-โทโคฟีรอล (α -tocopherol) มีค่า 0.97 กลูตาไทโอน (glutathione) มีค่า 1.28 และกรดยูริก (uric acid) มีค่า 1.01 ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกันมาก แม้จะมีเฉพาะกลูตาไทโอนเท่านั้นที่ให้อิเล็กตรอนได้เพียงตัวเดียว ในขณะที่สารอื่นนั้นให้อิเล็กตรอนได้ถึงสองตัว อย่างไรก็ตามสารอื่นที่ให้สองอิเล็กตรอน เช่น กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) มีค่า 1.9 และกรดคูมาริก (coumaric acid) มีค่า 2.0 แต่กรดคาเฟอิก (caffeic acid) มีค่าเพียง 1.0 ถึงแม้จะมีโครงสร้างใกล้เคียงกับกรดเฟอร์ูลิกก็ตาม อีกทั้งพบว่า

เคอร์เซติน (quercetin) มีค่า 3.0 และแคมเฟอร์อล (kaempferol) มีค่า 1.0 ทั้ง ๆ ที่สารทั้งสองตัวดังกล่าวมีสูตรโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน ทั้งนี้ การวัดค่าที่ความยาวคลื่น 734 นี้มีจุดเด่นตรงที่สามารถลดการรบกวน (interfere) จากการดูดกลืนแสงของสารอื่นได้ดี อีกทั้งปัญหาเรื่องความขุ่น (turbidity) ก็น้อยด้วย นอกเหนือจากนั้นแล้วอนุมูลอิสระ ABTS สามารถละลายได้ทั้งในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ จึงสามารถวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งในตัวอย่างที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และชอบน้ำมัน (lipophilic) (Magalhaes *et al.*, 2008)



ภาพที่ 10 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS

ที่มา: Huang *et al.* (2005)

วิธีการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ เช่น DPPH TEAC และ FRAP จะมีความสัมพันธ์ดีมาก ($R^2 > 0.99$) กับการวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องจากกลไกในการเกิดปฏิกิริยาเป็นกลไกเดียวกัน (Huang *et al.*, 2005) แต่ในบางกรณีสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีประสิทธิภาพดีวัดผลได้รวดเร็ว เมื่อวัดด้วยวิธีอื่นอาจให้ผลที่ไม่ดีหรือให้ผลการยับยั้งช้าเมื่อวัดด้วยวิธีนี้ เนื่องจากเป็นวิธีการวัดกลไกที่แตกต่างกัน

การห่อหุ้ม

การห่อหุ้ม (encapsulation) คือกระบวนการที่อนุภาค หรือหยดขนาดเล็กถูกล้อมรอบด้วยการเคลือบ (coat) หรือเก็บไว้ภายใน (embed) ในโครงสร้างที่เป็นเนื้อเดียวกัน หรือไม่เป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อให้ได้ลักษณะอนุภาคที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งนี้ วัตถุที่ถูกเคลือบ หรือที่เรียกว่า core นั้นอาจเป็นวัตถุชนิดเดียว หรือมีส่วนประกอบหลากหลายก็ได้ ซึ่งส่วนใหญ่มักเป็นกลี้น หรือสารที่ไม่ละลายน้ำ แต่สารที่ละลายน้ำ รวมถึงเชื้อจุลินทรีย์ ก็สามารถนำมาห่อหุ้มได้ ส่วนสารที่ใช้ห่อหุ้มหรือสารเคลือบ (wall/ coat material) ก็อาจมีลักษณะเป็นชั้นเดียว หรือหลายชั้น โดยอาจใช้เป็นวัตถุชนิดเดียว หรือวัตถุหลาย ๆ ชนิดผสมกันก็ได้ (Gharsallaoui *et al.*, 2007)

เหตุผลในการประยุกต์ใช้เทคนิคการห่อหุ้มในอุตสาหกรรมอาหาร

1. เพื่อลดปฏิกิริยาของวัตถุที่ถูกเคลือบ (core) จากปัจจัยต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม
2. เพื่อให้เกิดการจัดการที่ง่ายขึ้น
3. เพื่อควบคุมอัตราการปลดปล่อยของวัตถุที่ถูกเคลือบ
4. เพื่อปกป้องกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของวัตถุที่ถูกเคลือบ
5. เพื่อลดความชื้นของวัตถุที่ถูกเคลือบ ในกรณีที่ต้องนำไปใช้ในปริมาณที่น้อย

เทคนิคในการห่อหุ้ม

เทคนิคในการห่อหุ้ม (encapsulation techniques) ทำได้หลายวิธี โดยเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) ส่วนเทคนิคการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) เทคนิคการดูดซับ (adsorption) รวมถึงเทคนิคมัลติเฟลิดอิมัลชันก็เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เทคนิคการห่อหุ้มที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

เทคนิคการห่อหุ้ม	ลักษณะที่ได้	อุตสาหกรรม
Coacervation	Paste/ Powder/ Capsule	Chewing gum, toothpaste, baked food
Spray drying	Powder	Confectionery, milk powder, instant dessert, food flavors, instant beverages.
Fluid bed drying	Powder/ granule	Prepared dishes, confectionery
Spray cooling/ chilling	Powder	Prepared dishes, ices
Extrusion	Powder/ granule	Instant beverage, confectionery, teas
Molecular inclusion	Powder	Confectionery, instant drinks, extruded snack

ที่มา : ดัดแปลงจาก Madene *et al.* (2006)

การห่อหุ้มด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย

การประยุกต์ใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) ในการห่อหุ้มสาร ด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) (ภาพที่ 11) เกี่ยวข้องกับขั้นตอนต่าง ๆ ได้แก่ ขั้นตอนการเตรียมของเหลว สารละลาย หรืออิมัลชัน ขั้นตอนการผสมให้เข้ากัน ขั้นตอนการฉีดให้เป็นละอองฝอย และสุดท้ายขั้นตอนการระเหยแห้ง (Gharsallaoui *et al.*, 2007)

ในขั้นตอนแรกของการเตรียมอิมัลชัน ซึ่งต้องการได้อิมัลชันที่มีขนาดเล็ก และมีความคงตัวของสาร core ภายในสารละลายของวัสดุเคลือบ (wall material) ทั้งนี้สาร core มักเป็นสารที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ ซึ่งต้องทำการละลายอยู่ในสารละลายที่ไม่เข้ากัน โดยอาจมีหรือไม่มีการเติมสารอิมัลซิฟายเออร์กี้ได้ ขึ้นอยู่กับสมบัติของวัสดุเคลือบนั้น ๆ ทั้งนี้ขนาดของอิมัลชันโดยทั่วไปอยู่ที่ 1-100 ไมโครเมตร โดยก่อนการทำแห้งแบบพ่นฝอยอิมัลชันดังกล่าวต้องมีความคงตัวที่ดีในระยะเวลาหนึ่ง ควรมีขนาดเล็ก และความข้นหนืดที่ไม่สูงมากนัก ทั้งนี้พบว่าความข้นหนืด และขนาดของอิมัลชันส่งผลต่อการห่อหุ้มอย่างมาก โดยความข้นหนืดที่สูงจะส่งผลกระทบในขั้นตอนการฉีดให้เป็นละอองฝอยทำให้เกิดขนาดหยดที่ใหญ่ ซึ่งส่งผลเสียต่ออัตราการทำแห้ง

การทำแห้งแบบพ่นฝอย

การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นหน่วยปฏิบัติการ (unit operation) ที่ของเหลวถูกฉีดให้เป็นละอองฝอยผ่านเข้าไปยังกระแสนลมร้อน จนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผง (powder) ทั้งนี้ ลมร้อนที่ใช้โดยทั่วไปมักเป็นอากาศร้อนตามปกติ อาจมีบ้างที่ใช้ก๊าซเฉื่อย (inert gas) เช่น ก๊าซไนโตรเจน ส่วนของเหลวที่ฉีดเข้าไปอาจอยู่ในรูปของสารละลาย (solution) อิมัลชัน (emulsion) หรือสารแขวนลอย (suspension) ก็ได้ ผงที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยอาจมีขนาดผงละเอียด (10-50 ไมโครเมตร) หรือขนาดใหญ่ (2-3 มิลลิเมตร) ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ และสถานะในการทำแห้ง (Gharsallaoui *et al.*, 2007)



ภาพที่ 11 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer)

ที่มา : S.F. Engineering WORKS Incorporated (2008)

การฉีดเป็นละอองฝอย

ของเหลวที่เป็นละอองฝอยมีลักษณะเป็นหยดขนาดเล็ก (droplet) สามารถทำได้ด้วยการใช้ความดันหรือแรงเหวี่ยง หัวฉีด (atomizer) ที่ใช้กันอยู่ (ภาพที่ 12) ได้แก่ หัวฉีดแบบใช้แรงลม (pneumatic atomizer) หัวฉีดความดัน (pressured atomizer) จานหมุนเหวี่ยง (spinning disk configuration) รวมถึง หัวฉีดแบบคู่ (two fluid nuzzle) และหัวฉีดแบบใช้คลื่นเสียง (sonic nozzle) จุดประสงค์ของขั้นตอนนี้เพื่อสร้างพื้นที่ผิวในการแลกเปลี่ยนความร้อนให้สูงที่สุด ระหว่างลมร้อนที่แห้ง กับของเหลว เพื่อให้เกิดอัตราการแลกเปลี่ยนมวล และความร้อนที่เหมาะสม ปัจจัยที่นำมาใช้ในการเลือกหัวฉีดขึ้นกับลักษณะ และความข้นหนืดของวัตถุดิบ รวมถึงลักษณะของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ต้องการ โดยหากมีการใช้พลังงานเพิ่มมากขึ้นก็จะได้ลักษณะผงที่ละเอียดมากขึ้น ในกรณีที่ใช้พลังงานเท่ากัน ขนาดของผงจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราป้อนสูงมากขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าขนาดของผงจะใหญ่ขึ้นเมื่อความข้นหนืด และความตึงผิวของของเหลวนั้นสูงขึ้น (Gharsallaoui *et al.*, 2007)



ภาพที่ 12 หัวฉีด (atomizer)

ที่มา : S.F. Engineering WORKS Incorporated. 2008

การสัมผัสกันระหว่างหยดของเหลวกับลมร้อน

การสัมผัสกันระหว่างหยดของเหลวกับลมร้อนเกิดขึ้นในระหว่างการฉีดให้เป็นละอองฝอยในช่วงแรกของการทำแห้ง เมื่อพิจารณาการติดตั้งหัวฉีด และจุดปล่อยลมร้อน สามารถแบ่งลักษณะการทำแห้งได้เป็น 2 ประเภทได้แก่ แบบทิศทางเดียวกัน (co-current flow) และแบบสวนทิศทาง (counter current flow) ในกระบวนการแบบทิศทางเดียวกัน ของเหลวจะถูกฉีดให้เป็นละอองฝอยลงมาในทิศทางเดียวกันกับกระแสของลมร้อนที่อุณหภูมิ 150-220 องศาเซลเซียส โดยการระเหยแห้งจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง และผงที่ได้มีอุณหภูมิอยู่ในระดับปานกลางประมาณ 50-80 องศาเซลเซียส ซึ่งจำกัดการเสื่อมเสียอันเนื่องมาจากความร้อนได้ ในขณะที่การทำแห้งแบบสวนทิศทางของเหลวจะถูกฉีดให้เป็นละอองฝอยในทิศทางตรงข้ามกับกระแสของลมร้อน และผงที่ได้ก็จะสัมผัสกับอุณหภูมิที่สูง จึงเป็นข้อจำกัดของกระบวนการนี้สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ไวต่อความร้อน อย่างไรก็ตาม ข้อดีของการทำแห้งแบบสวนทิศทางก็คือประหยัด และคุ้มค่ามากกว่าในแง่ของการใช้พลังงาน (Gharsallaoui *et al.*, 2007)

การระเหยแห้งของหยดของเหลว

ในช่วงเวลาที่หยดของเหลวสัมผัสกับลมร้อน ความสมดุลระหว่างอุณหภูมิ และแรงดันไอ ถูกสร้างขึ้นระหว่างส่วนของของเหลว และส่วนของก๊าซ ดังนั้น การถ่ายเทความร้อนจะถูกถ่ายเท ออกจากลมร้อนไปสู่ตัวผลิตภัณฑ์ที่มีอุณหภูมิแตกต่างกัน ในขณะที่การถ่ายเทน้ำจะเกิดขึ้นในทิศ ทางตรงข้ามเนื่องจากแรงดันไอที่ต่างกัน ในระหว่างการทำแห้งเมื่อของเหลวสัมผัสกับลมร้อน การ ถ่ายเทความร้อนเกิดขึ้นส่งผลให้หยดของเหลวมีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจนกระทั่งถึงจุดคงที่ จากนั้นการ ระเหยน้ำจากหยดของเหลวก็เกิดขึ้นในสภาวะที่อุณหภูมิคงที่ โดยอัตราการแพร่ของน้ำบริเวณ แกนกลางสู่บริเวณผิวนั้น มักพิจารณาว่าคงที่ และมีค่าเท่ากับอัตราการระเหยของน้ำบริเวณผิว โดย เมื่อปริมาณน้ำในหยดของเหลวถึงจุดวิกฤตก็จะเกิดการสร้างเปลือกแข็ง (dry crust) ขึ้นบริเวณผิว และอัตราการทำแห้งก็จะลดลงอย่างรวดเร็ว โดยการทำแห้งทางทฤษฎีนั้นจะสิ้นสุดเมื่ออุณหภูมิ ของหยดของเหลวนั้นเท่ากับอุณหภูมิของอากาศ (Gharsallaoui *et al.*, 2007) ทั้งนี้ ระยะเวลาใน ขึ้นตอนต่าง ๆ ดังกล่าวนั้นจะไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับลักษณะของวัตถุดิบ รวมถึงอุณหภูมิของลมร้อนขา เข้า (inlet temperature) พบว่าถ้าอุณหภูมิลมร้อนขาเข้ายิ่งสูง การสร้างเปลือกแข็งก็จะเกิดขึ้นเร็ว เพราะอัตราการระเหยน้ำที่เร็ว อีกทั้งอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของของเหลวที่ผ่านการทำให้ เป็นละอองฝอยนั้นมีมาก การทำแห้งหยดของเหลวดังกล่าวในลมร้อนจึงเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ในช่วงแรกที่อากาศร้อนเพิ่มอุณหภูมิให้กับหยดของเหลว ซึ่งทำให้เกิดการระเหยของเหลวจาก บริเวณผิวน้ำ และการหดตัวของหยดของเหลว เกิดการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วของน้ำสู่บริเวณผิวใน อัตราที่คงที่กับอัตราการระเหยแห้ง โดยการทำแห้งแบบพ่นฝอยนี้สามารถใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ สามารถใช้การทำแห้งแบบดั้งเดิมที่ช้าได้ เนื่องจากการเสื่อมคุณภาพที่เกิดขึ้น โดยทั่วไปแล้ว ระยะเวลาในการทำแห้งของการทำแห้งแบบพ่นฝอยอยู่ที่ 5-100 วินาที อย่างไรก็ตามในระบบที่ ได้รับการออกแบบมาอย่างดีระยะเวลาในการทำแห้งอาจลดลงเหลือ 15-30 วินาที (Gharsallaoui *et al.*, 2007)

ปัจจัยที่มีผลต่อการห่อหุ้มด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย

สภาวะในการทำแห้ง

เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการห่อหุ้มที่ดี นอกจากวัสดุเคลือบที่เหมาะสมแล้ว สภาวะใน การทำแห้งที่ดีก็ควรพิจารณาด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ ปัจจัยที่มีผลต่อการทำแห้งแบบพ่นฝอย ได้แก่ อุณหภูมิ

ของวัตถุดิบที่เหมาะสม อุณหภูมิความร้อนขาเข้า และอุณหภูมิความร้อนขาออก ในความเป็นจริงพบว่า อุณหภูมิของวัตถุดิบนั้นมีผลต่อความชื้นหนืดของอิมัลชัน ซึ่งส่งผลกระทบต่อความสม่ำเสมอในการปั่น ฝอย เมื่ออุณหภูมิของวัตถุดิบสูงขึ้น ความชื้นหนืด และขนาดของอิมัลชันลดลง แต่อุณหภูมิที่สูงขึ้น ดังกล่าวก็ส่งผลต่อการระเหย และการเสื่อมคุณภาพของสารที่ไวต่อความร้อนได้ อัตราการป้อน วัตถุดิบเข้าสู่หัวฉีดก็ต้องปรับให้เหมาะสมเพื่อให้มั่นใจว่าได้ระดับการทำแห้งอย่างที่ต้องการ นอกเหนือจากนั้น การปรับอุณหภูมิความร้อนขาเข้ากับอัตราการไหลของวัตถุดิบก็สำคัญเช่นกัน โดยพบว่าอุณหภูมิความร้อนขาเข้าส่งผลโดยตรงต่ออัตราการทำแห้ง และปริมาณความชื้นสุดท้ายของ ผลิตภัณฑ์ เมื่ออุณหภูมิความร้อนขาเข้าต่ำ อัตราการระเหยก็จะต่ำ ส่งผลให้เกิดผงที่มีลักษณะผิวที่มีความหนาแน่นสูง (high density membrane) มีปริมาณความชื้นสูง มีลักษณะการไหลที่ไม่ดี และเกิดการจับรวมตัวกันเป็นก้อนได้ง่าย อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิความร้อนขาเข้าที่สูง อาจก่อให้เกิดการ ระเหยแห้งที่รุนแรงเกินไป ส่งผลให้เกิดการแตกบริเวณผิว ซึ่งนำไปสู่การเสื่อมคุณภาพของสารที่ ทำการห่อหุ้มไว้ (Gharsallaoui *et al.*, 2007) การห่อหุ้มสารด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบปั่นฝอย สามารถเพิ่มประสิทธิภาพได้ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของวัสดุเคลือบ (Gharsallaoui *et al.*, 2007) ซึ่งส่งผลต่อการเกิดการสร้างเปลือกแข็งหุ้มบริเวณหยดของเหลวที่ผ่านการทำแห้งแล้ว ข้อจำกัดของ เทคนิคนี้อยู่ที่ปริมาณของวัสดุเคลือบที่จะนำมาใช้ ซึ่งต้องละลายน้ำได้ดี รวมถึงลักษณะของ ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ ซึ่งมีลักษณะเป็นผงละเอียดที่อาจจะต้องนำไปผ่านกระบวนการอื่น ๆ ต่อไป ทั้งนี้ข้อดีและข้อเสียของเทคนิคดังกล่าวสรุปไว้ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ข้อดีและข้อเสียของเทคนิคการทำแห้งแบบปั่นฝอย

ข้อดี	ข้อเสีย
ค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำ	ขนาดของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ
ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพดี	ข้อจำกัดในการเลือกใช้วัสดุเคลือบ
ผลิตภัณฑ์ที่ได้ละลายน้ำได้ดี	(ต้องมีความหนืดต่ำที่ความเข้มข้นสูง)
ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความคงตัวที่ดี	ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดมาก
ขนาดเล็ก	(ซึ่งอาจจะต้องนำไปผ่านกระบวนการอื่น ๆ ต่อ)
	ไม่เหมาะกับสารที่มีความไวต่อความร้อน

ที่มา : ดัดแปลงจาก Madene *et al.* (2006)

วัสดุเคลือบ

วัสดุเคลือบส่งผลต่อประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม รวมถึงความคงตัวของสาร core ในระหว่างการจัดเก็บ ทั้งนี้สารเคลือบที่นิยมใช้ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต เช่น สตาร์ช มอลโตเดกซ์-ตริน อย่างไรก็ตามวัสดุเคลือบดังกล่าวขาดสมบัติในเชิง interfacial ซึ่งอาจต้องทำการดัดแปรทางเคมีเพื่อเพิ่มสมบัติดังกล่าว ในขณะที่โปรตีนมีสมบัติดังกล่าว จึงถูกนำมาใช้เป็นวัสดุเคลือบเช่นเดียวกัน เช่น เวย์โปรตีน โซเดียมเคซีนต เป็นต้น (Madene *et al.*, 2006) ทั้งนี้ ลักษณะของวัสดุเคลือบที่นิยมใช้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ลักษณะของวัสดุเคลือบที่นิยมใช้

วัสดุเคลือบ	ข้อเด่น
มอลโตเดกซ์ตริน	สมบัติในการสร้างแผ่นฟิล์ม (film forming)
สตาร์ชดัดแปร	สมบัติในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์
กัมอะราบิก	สมบัติในการสร้างแผ่นฟิล์ม เป็นอิมัลซิฟายเออร์
เซลลูโลสดัดแปร	สมบัติในการสร้างแผ่นฟิล์ม
เจลาติน	สมบัติในการสร้างแผ่นฟิล์ม เป็นอิมัลซิฟายเออร์
ไซโคลเดกซ์ตริน	สมบัติในการห่อหุ้ม เป็นอิมัลซิฟายเออร์
เลซิทิน	สมบัติในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์
เวย์โปรตีน	สมบัติในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์

ที่มา : ดัดแปลงจาก Madene *et al.* (2006)

คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ถูกนำมาใช้อย่างมากในการห่อหุ้มสารด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย เช่น สตาร์ช มอลโตเดกซ์ตริน คอรั่นไซรัป และกัมอะคาเซีย เป็นต้น ทั้งนี้ เพราะวัตถุดิบกลุ่มนี้มีความหลากหลาย ราคาถูก และใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารทั่วไป นอกเหนือจากนั้นแล้ววัตถุดิบกลุ่มดังกล่าวยังมีความชื้นหนืดต่ำที่ระดับความเข้มข้นสูง มีความสามารถในการละลายดีซึ่งเป็นสมบัติที่ต้องการของวัสดุเคลือบ สตาร์ช และผลิตภัณฑ์ที่ได้

จากสตาร์ช เช่น มอลโตเดกซ์ตริน บีตาไซโคลเดกซ์ตริน ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีในการนำมาใช้ห่อหุ้มสารให้กลิ่น (aroma compound) (Madene *et al.*, 2006)

สตาร์ช

สตาร์ช (starch) และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสตาร์ช (สตาร์ชดัดแปร มอลโตเดกซ์ตริน บีตาไซโคลเดกซ์ตริน) เป็นที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อรักษาสารที่ระเหยได้ โดยสามารถเป็นวัสดุเคลือบในการห่อหุ้มสารให้กลิ่น ใช้เป็นสารทดแทนไขมัน (fat replacer) และทำให้อิมัลชันคงตัว ได้มีการศึกษาเพื่อเพิ่มจำนวนรูพรุนบนเม็ดสตาร์ชเพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการคงตัวของกลิ่น ทั้งนี้ พบว่าเม็ดสตาร์ชบางชนิดโดยธรรมชาติแล้วจะมีรูพรุนบริเวณผิวขนาดประมาณ 1-3 ไมโครเมตร การกักเก็บกลิ่นโดยสตาร์ชนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทด้วยกัน ได้แก่ แบบแรกการที่สารให้กลิ่นนั้นถูกกักเก็บโดยสายโซ่ของโมเลกุลเอมิโลส ผ่านพันธะ hydrophobic หรือที่เรียกว่า inclusion complex ในอีกแบบเกิดจากปฏิกิริยาบริเวณขั้ว (polar) ซึ่งเกี่ยวกับพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของสตาร์ชและสารให้กลิ่น (Madene *et al.*, 2006)

มอลโตเดกซ์ตริน

มอลโตเดกซ์ตริน (maltodextrin) ผลิตได้จากการย่อยแป้ง หรือสตาร์ชด้วยเอนไซม์หรือกรด ซึ่งแบ่งตามค่าสมมูลเดกซ์โทรส (dextrose equivalent, DE) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกว่าสตาร์ชดังกล่าวนั้นถูกย่อยไปมากน้อยเพียงใด มอลโตเดกซ์ตรินมีสมบัติในการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มที่ดี ทั้งนี้ มอลโตเดกซ์ตรินนิยมใช้เป็นวัสดุเคลือบเนื่องจากให้ประสิทธิภาพที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับราคา เป็นสารที่มีกลิ่นรสอ่อน (bland flavor) ไม่มีสี ละลายน้ำได้ดี อีกทั้งมีความชื้นหนืดต่ำที่ระดับความเข้มข้นสูง (Saenz *et al.*, 2008) โดยมอลโตเดกซ์ตรินที่มีค่า DE สูงกว่าความชื้นหนืดก็จะต่ำกว่า (Loksuwan, 2007) นอกจากนี้แล้ว ชนิดของมอลโตเดกซ์ตรินยังมีให้เลือกหลากหลาย แต่ข้อด้อยก็คือการขาดสมบัติในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ และกักเก็บสารให้กลิ่นได้ไม่ดีนัก (Madene *et al.*, 2006)

กัม

กัม (gum) เป็นสารเพิ่มความหนืด ไม่มีกลิ่นรส แต่ส่งผลต่อกลิ่น และรสชาติของอาหาร โดยทั่วไปแล้วสารกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์จะลดความหวาน เนื่องจากความข้นหนืดที่เพิ่มมากขึ้นทำให้การแพร่ของรสหวานไปสู่ต่อมรับรสนั้นลดน้อยลง ทั้งนี้ กัมอะราบิกเป็นกัมที่นิยมใช้กันมากในการห่อหุ้มสารให้กลิ่น เนื่องจากละลายน้ำได้ดี มีความข้นหนืดต่ำ มีสมบัติในการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ ให้ความคงตัวที่ดีกับอิมัลชัน และกักเก็บสารให้กลิ่นได้ดี อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของกัมอะราบิกก็คือราคาที่สูง และหาได้ยาก (Madene *et al.*, 2006; Loksuan, 2007)

โปรตีน

โปรตีน (protein) เช่น โซเดียมเคซีนต เวย์โปรตีน และโปรตีนถั่วเหลือง มีสมบัติ amphiphilic สามารถรวมตัวกันเอง (self-associate) และทำปฏิกิริยากับสารชนิดอื่น ๆ ได้มากมาย มีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่ และมีสายโซ่โมเลกุลที่มีความยืดหยุ่น นอกจากนั้นแล้วโปรตีนดังกล่าวยังมีสมบัติเชิงหน้าที่ (functional properties) ที่ดี เช่น ความสามารถในการละลาย ความข้นหนืด การเป็นอิมัลซิฟายเออร์ และการสร้างแผ่นฟิล์ม จึงสามารถนำมาใช้เป็นวัสดุเคลือบได้ (Madene *et al.*, 2006)

อิมัลชัน

อิมัลชัน (emulsion) เป็นระบบคอลลอยด์ระบบหนึ่งที่พบในอาหาร โดยมีของเหลวชนิดหนึ่งกระจายตัวเป็นหยดขนาดเล็ก อยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ของเหลวทั้งสองชนิดนี้ไม่รวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน อิมัลชันที่เกิดขึ้นจึงไม่คงตัว ต้องใช้อิมัลซิฟายอิงเอเจนต์ หรือ surface active agents เป็นสารช่วยป้องกันไม่ให้อนุภาคคอลลอยด์รวมตัวกัน ทำให้อนุภาคคอลลอยด์สามารถกระจายตัว และคงตัวอยู่ในตัวกลางได้ (นิธิยา, 2551)

กลไกการเกิดอิมัลชัน

ของเหลวทุกชนิดมีแรงดึงดูดตัวของมันเอง เมื่อนำของเหลวสองชนิดที่ไม่ผสมกันมาเขย่ารวมกันเพื่อให้เกิดอิมัลชัน แรงดึงดูดจะพยายามทำให้อนุภาคของของเหลวรวมตัวเข้าหากันเอง

และแยกตัวออกจากของเหลวอีกชนิดหนึ่ง เพื่อลดให้มีพื้นที่ผิวที่น้อยที่สุด เพราะเมื่อของเหลวมีอนุภาคใหญ่ขึ้นจะมีพื้นที่ผิวลดลง ของเหลวใดที่มีความถ่วงจำเพาะ หรือความหนาแน่นน้อยจะแยกตัวลอยอยู่ชั้นบน ส่วนของเหลวที่มีความถ่วงจำเพาะสูงจะแยกตัวอยู่ชั้นล่าง

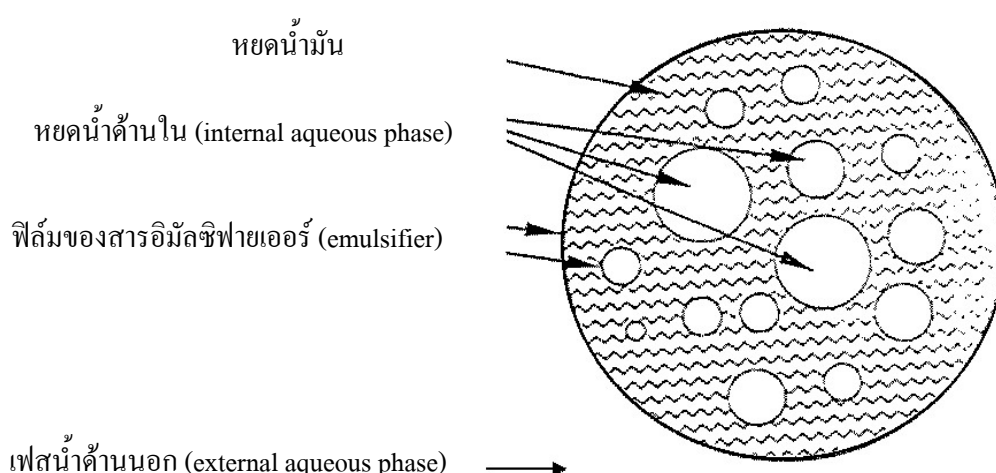
การทำอิมัลชันต้องทำให้ของเหลวที่เป็นอนุภาคคอลลอยด์แตกตัวเป็นหยดเล็ก ๆ กระจายตัวอยู่ในตัวกลาง ของเหลวที่มีปริมาตรเท่ากันถ้าทำให้มีขนาดของอนุภาคเล็กมากจะมีพื้นที่ผิวมาก แต่ถ้าขนาดของอนุภาคใหญ่จะมีพื้นที่ผิวน้อย เช่น การเขย่าน้ำมันในน้ำ น้ำมันจะแตกตัวเป็นอนุภาคเล็ก ๆ กระจายตัวอยู่ในน้ำ เมื่อตั้งทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่ง อนุภาคน้ำมันขนาดเล็กนั้นจะค่อย ๆ รวมตัวกันเป็นอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ และแยกตัวออกจากน้ำ ทำให้อิมัลชันสลายไป การเกิดอิมัลชันชั่วคราวเวลาสั้น ๆ นี้ เรียกว่า อิมัลชันชั่วคราว (temporary emulsion) การทำให้อิมัลชันมีความคงตัว ทำได้โดยการเติมอิมัลซิฟายเออร์ลงไป โดยอิมัลซิฟายอิงเอเจนต์จะแทรกตัวอยู่ระหว่างผิวของอนุภาค และตัวกลาง อนุภาคคอลลอยด์จะไม่สามารถรวมตัวกันได้ ทำให้ได้อิมัลชันที่มีความคงตัว เรียกว่า อิมัลชันถาวร (permanent emulsion) (นิธิยา, 2551)

อิมัลชันที่พบในอาหารมี 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดแรกคือพวกที่ตัวกลางเป็นน้ำและอนุภาคคอลลอยด์เป็นน้ำมัน เรียกว่า อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil-in-water) มีสัญลักษณ์ย่อว่า O/W emulsion เช่น นำนม น้ำสลัด และมายองเนส และชนิดที่สองได้แก่พวกที่ตัวกลางเป็นน้ำมันและอนุภาคคอลลอยด์เป็นน้ำ เรียกว่า อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil) มีสัญลักษณ์ย่อว่า W/O emulsion เช่น เนย และเนยเทียม โดยอิมัลชันทั้งสองชนิดนี้ เรียกว่า two-phase emulsion แต่ในบางกรณีอาจมีอนุภาคของตัวกลางกระจายตัวอยู่ในอนุภาคคอลลอยด์อีกชั้นหนึ่ง ทำให้ได้เป็นอิมัลชันในอิมัลชัน ซึ่งเรียกว่า มัลติเฟลออิมัลชัน (multiple emulsion) (นิธิยา, 2551)

มัลติเฟลออิมัลชัน

มัลติเฟลออิมัลชัน เป็นระบบที่ซับซ้อนสามารถเรียกได้ว่าเป็น อิมัลชันในอิมัลชัน (emulsion in emulsions) กล่าวคือ อนุภาคของเฟสที่กระจายตัวอยู่นั้น ภายในยังมีอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่ากระจายตัวอยู่อีกชั้นหนึ่งด้วย (Garti, 1997) มัลติเฟลออิมัลชันสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ น้ำมันในน้ำในน้ำมัน (oil-in-water-in-oil emulsions, O/W/O) และน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion, W/O/W) (Garti, 1997; Su *et al.*, 2006) โดยลักษณะของมัลติเฟลออิมัลชันชนิด W/O/W แสดงดังภาพที่ 13 ทั้งนี้ มีการศึกษาอย่างมากในการใช้เทคนิคมัลติเฟลออิมัลชันชนิด

W/O/W ในการนำส่งยาที่มีสมบัติในการละลายน้ำ เช่น วิตามิน โซรโมน และเอนไซม์ (Sugiura *et al.*, 2004) โดยในปัจจุบันได้นำมาประยุกต์ทางด้านเภสัชกรรม และเครื่องสำอาง เช่น การทำครีมที่มีการกระจายตัวที่ง่าย (easily spreadable) (Van der Graaf *et al.*, 2005; Su *et al.*, 2006; Bonnet *et al.*, 2009) และยังเป็นวิธีการที่มีศักยภาพในการห่อหุ้ม (encapsulation) และใช้ในการลดไขมัน (fat reduction) ในอุตสาหกรรมอาหาร (Su *et al.*, 2008) ซึ่งมีการนำเทคนิค W/O/W นี้มาใช้ในการบดบังกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ (taste-masking) รวมถึงมีการนำมาใช้เพื่อปกป้องจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) จากน้ำย่อย และน้ำดีในระบบย่อยอาหารด้วย (Bonnet *et al.*, 2009)



ภาพที่ 13 มัลติเฟลอิอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ (W/O/W)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Garti (1997)

โดยทั่วไปวิธีการที่นิยมในการทำมัลติเฟลอิอิมัลชัน คือการใช้กระบวนการผลิตอิมัลชันสองขั้น (two-step emulsification) โดยใช้อิมัลซิฟายเออร์ 2 ชนิดด้วยกัน โดยชนิดแรกเป็นอิมัลซิฟายเออร์ที่ชอบน้ำมัน (lipophilic emulsifier) ที่มีค่า HLB (hydrophilic lipophilic balance) ต่ำ ซึ่งใช้ในขั้นตอนการสร้างซิงเกิลอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil, W/O) และชนิดที่สองเป็นอิมัลซิฟายเออร์ที่ชอบน้ำ (hydrophilic emulsifier) ที่มีค่า HLB สูง ซึ่งใช้ในขั้นตอนการสร้างอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil-in-water, O/W) โดยซิงเกิลอิมัลชันเตรียมด้วยการใช้แรงเฉือนที่สูง โดยอาจใช้วิธีอัลตราโซนิก (ultrasonification) หรือการปั่นผสมความดันสูง (homogenization) ส่วนขั้นตอนถัดมาที่ใช้สร้างมัลติเฟลอิอิมัลชันนั้นจะใช้แรงเฉือนที่น้อยกว่าเพื่อป้องกันการแตก (rupture) ของหยดซิงเกิลอิมัลชัน (Garti, 1997; Sugiura *et al.*, 2004)

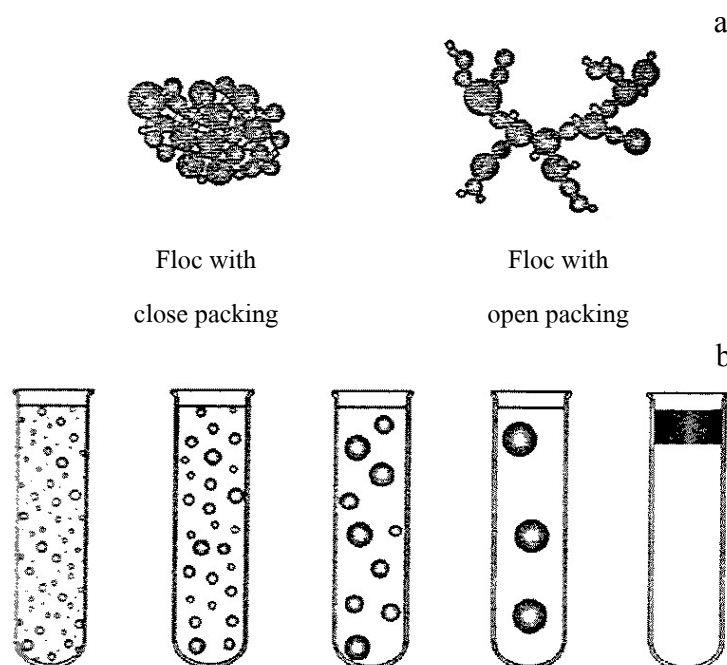
มัลติเฟลิมัลชัน ประกอบด้วยหยดอิมัลชันขนาดใหญ่ และมีการกระจายตัวที่หลากหลาย (polydispersed) ส่งผลให้เกิดความไม่คงตัวทางเทอร์โมไดนามิก (thermodynamically unstable) มีแนวโน้มเกิดการเกาะกลุ่ม (flocculation) การหลอมรวมตัว (coalescence) และการเกิดครีม (Benichou *et al.*, 2007) โดยการสูญเสียความคงตัวของมัลติเฟลิมัลชันชนิด W/O/W นั้นสามารถเป็นไปได้จากหลายกลไกด้วยกัน ได้แก่ การหลอมรวมตัว (coalescence) ของน้ำเฟสใน (internal aqueous phase) จนกลายเป็นหยดขนาดใหญ่ การเกาะกลุ่มกันของหยดไขมันจนแขวนลอยบนเฟสน้ำด้านนอก (external aqueous phase) การแตกของหยดไขมันที่กั้นระหว่างน้ำเฟสในและน้ำเฟส นอก และการหลุดของน้ำเฟสในผ่านแผ่นฟิล์มของหยดไขมันออกมาสู่น้ำในเฟสนอก ซึ่งอาจเกิดจากการเคลื่อนย้ายผ่านไมเซลล์ผกผัน หรือเกิดจากการแพร่ของน้ำผ่านผิวหยดไขมันบริเวณที่บาง (Sugiura *et al.*, 2004; Van der Graaf *et al.*, 2005)

การสูญเสียความคงตัวของระบบอิมัลชัน

การสูญเสียความคงตัวของระบบอิมัลชันมีหลายระดับดังแสดงในภาพที่ 14 ซึ่งเป็นตัวอย่าง การสูญเสียความคงตัวของอิมัลชันเหลว อิมัลชันที่มีความคงตัวจะเริ่มสูญเสียความคงตัวจากการที่อนุภาคในเฟสที่กระจายตัวมาเกาะกลุ่ม (flocculation) เนื่องจากการเคลื่อนที่แบบบราวน์เนียน (brownian movement) ซึ่งเกิดขึ้นตามปกติในธรรมชาติ ทำให้อนุภาคมีโอกาสชนกัน หากการเกาะกลุ่มกันของอนุภาคในเฟสที่กระจายตัวยังดำเนินต่อไป จะเกิดการหลอมรวมตัว (coalescence) ของอนุภาคคอลลอยด์ เป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

ความแตกต่างระหว่างการเกาะกลุ่มกับการหลอมรวมตัวกันมี 2 ประการ ประการแรก อนุภาคของเฟสที่กระจายตัว (dispersed phase) ในขั้นตอนของการเกาะกลุ่มกันนั้นจะยังคงขนาด และรูปร่างของอนุภาคเดิม ในขณะที่ในขั้นของการหลอมรวมตัว อนุภาคในเฟสที่กระจายตัวจะสูญเสียรูปร่าง และมีขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากการหลอมรวมกัน ประการที่สอง การเกิดการเกาะกลุ่มของอนุภาคในเฟสที่กระจายตัวแบบการเกาะกลุ่ม สามารถแก้ไขหรือทำให้ปฏิกิริยาย้อนกลับ (reversible) ได้ โดยการปรับความเข้มข้นของไอออน (ionic strength) หรือความเป็นกรด-ด่าง (pH) แต่การหลอมรวมตัวของอนุภาคจะไม่สามารถทำให้ปฏิกิริยาย้อนกลับด้วยวิธีดังกล่าวได้ ต้องทำการเพิ่มอุณหภูมิ และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันใหม่อีกครั้ง การหลอมรวมตัวต่อไปเรื่อย ๆ เมื่อเวลาผ่านไปจะทำให้้อนุภาคในเฟสที่กระจายตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น เรียกปรากฏการณ์นี้ว่าการรวมมวล (aggregation) หากความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นของเฟสที่กระจายตัวและเฟสต่อเนื่องมาก

เช่น น้ำมันกับน้ำ จะเกิดการแยกชั้นหรือเป็นครีม (creaming) ของน้ำมันลอยอยู่ด้านบนของของเหลว (ปาริณิตร์, 2549)



ภาพที่ 14 การสูญเสียความคงตัวของอิมัลชันเหลว
การเกาะกลุ่มกัน (a) การเกิดครีม (b)

ที่มา: McClement (1999)

ทั้งนี้ ในกรณีของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่ออิมัลชันได้รับการทำให้เย็น (cool) จนถึงอุณหภูมิที่ให้น้ำเกิดผลึก (crystal) จะทำให้เกิดกระบวนการต่าง ๆ ขึ้นมากมาย ที่ทำให้อิมัลชันสูญเสียความคงตัว ได้แก่ ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในเฟสของน้ำทำให้หยดไขมันเข้าใกล้กันมากขึ้น หรืออาจทำให้มีปริมาณน้ำอิสระไม่เพียงพอที่ให้โมเลกุลอิมัลซิฟายเออร์มาดูดซับบริเวณพื้นผิว ซึ่งทำให้เกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างหยดไขมันมากขึ้น อีกทั้งผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นส่งผลให้ความแข็งแรงของประจุ (ionic strength) ทั้งส่วนที่แข็งตัวเข้มข้น (freeze-concentrate) กับเฟสน้ำที่ไม่แข็งตัวระหว่างหยดไขมันนั้นเพิ่มมากขึ้น ซึ่งส่งผลให้แรงผลัก (electrostatic repulsion) ระหว่างหยดอิมัลชันลดลง หรืออาจเป็นไปได้ว่าผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นระหว่างการแช่แข็งนั้นอาจแทรกซึมเข้าไปในหยดไขมัน และทำให้ผิวของหยดไขมันนั้นแตก ส่งผลให้เกิดการหลอมรวมตัว

(coalescence) เมื่อทำการละลายน้ำแข็ง (thaw) นอกจากนั้นแล้ว อิมัลซิฟายเออร์อาจดูดซับที่บริเวณผิวของผลึกน้ำแข็ง ซึ่งทำให้มีปริมาณน้อยลง และไม่เพียงพอที่จะดูดซับบริเวณหยดไขมัน รวมถึงอิมัลซิฟายเออร์อาจสูญเสียสมบัติเชิงหน้าที่เมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงในระดับหนึ่ง (McClement, 2004)

นอกจากนี้แล้ว กลไกที่ทำให้เกิดการรั่วของสารที่ละลายอยู่ในน้ำ (hydrophilic) ที่ห่อหุ้มไว้ใน W/O/W นั้นเกิดได้จาก 2 กลไก ได้แก่ การบวมตัวจนก่อให้เกิดการระเบิดของหยดน้ำมันซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างของแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ระหว่างสารละลายชั้นในและชั้นนอก ส่วนอีกกลไกได้แก่การเคลื่อนย้ายผ่านไมเซลล์ผกผัน (reversed micells) (Shima *et al.*, 2004) ทั้งนี้ Jager-Lezer *et al.* (1997) พบว่ากลไกที่ทำให้เกิดการปลดปล่อยสารภายในเฟสน้ำด้านในของ W/O/W นั้นเกิดจากการบวมจนกระทั่งเกิดการแตกของหยดไขมัน โดยพบว่าความสามารถในการบวมของหยดไขมันใน W/O/W อิมัลชันจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้น lipophilic emulsifier ซึ่งจะส่งผลให้การปลดปล่อยของสารภายในเฟสน้ำด้านในลดน้อยลง เนื่องจากปริมาณของ lipophilic surfactant ที่เพิ่มมากขึ้นนั้นทำให้เกิดความแข็งแรงของฟิล์มบริเวณพื้นผิวร่วม (interfacial film) มีมากขึ้น ในทางตรงข้ามกลับพบว่าปริมาณของ hydrophilic emulsifier ที่เพิ่มมากขึ้นจะเป็นตัวทำให้อิมัลชันสลายตัว

การรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชัน

การรักษาความคงตัวโดยประจุบนพื้นผิวของอนุภาคคอลลอยด์ (charge stabilization)

ความคงตัวของระบบคอลลอยด์ขึ้นอยู่กับระยะห่างระหว่างอนุภาคคอลลอยด์ซึ่งสามารถเกิดพันธะต่อกันได้ พันธะที่เกี่ยวข้องนี้เป็นพันธะในกลุ่มของแรงช่วงยาว ซึ่งได้แก่ อันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals) และแรงผลักระหว่างอนุภาคของคอลลอยด์ที่มีประจุเหมือนกัน (electrical repulsion) ผลรวมของแรงดึงดูด และแรงผลักระหว่างอนุภาคคอลลอยด์ที่มีประจุเหมือนกัน (electrical potentials) ขึ้นอยู่กับระยะห่างระหว่างอนุภาคคอลลอยด์ เมื่ออนุภาคของคอลลอยด์อยู่ห่างกัน ถึงแม้ผลรวมของศักย์ไฟฟ้าจะมีค่าเป็นลบ คือ แรงดึงดูดมากกว่าแรงผลักระหว่างอนุภาคคอลลอยด์ จะไม่เกิดการเกาะกลุ่ม เนื่องจากอนุภาคอยู่ไกลกันเกินกว่าจะเกิดพันธะในกลุ่มของแรงช่วงสั้น เช่น พันธะโควาเลนต์ (covalence bond) เมื่ออนุภาคของคอลลอยด์เข้ามาใกล้กันมากขึ้น ผลรวมของศักย์ไฟฟ้าจะมีค่าเป็นบวก คือแรงผลักระหว่างอนุภาคคอลลอยด์จะมากกว่าแรงดึงดูด อนุภาคคอลลอยด์จะไม่เกิดการเกาะกลุ่ม

กันหรือรวมตัวกัน ทำให้ระบบคอลลอยด์รักษาความคงตัวไว้ได้ ไม่เกิดการตกตะกอนหรือแยกชั้น แต่เมื่อมีการเติมไอออนลงในระบบคอลลอยด์ หรือทำให้ประจุที่ผิวของอนุภาคเปลี่ยนแปลง ประจุไฟฟ้าของไอออนจะไปเปลี่ยนศักย์ไฟฟ้าของระบบคอลลอยด์ทั้งในเฟสที่กระจายตัว และเฟสต่อเนื่อง ดังนั้นศักย์ไฟฟ้าที่ระยะห่างระหว่างอนุภาคของคอลลอยด์จะเปลี่ยนไป ทำให้แรงผลักลดลงที่ระยะห่างระหว่างอนุภาคคอลลอยด์สั้น ๆ ผลรวมศักย์ไฟฟ้าจะมีค่าเป็นลบ คือ แรงดึงดูดมากกว่าแรงผลักระหว่างอนุภาคคอลลอยด์จึงเกิดการเกาะกลุ่ม และทำให้ระบบคอลลอยด์เสียความคงตัว (ปาริฉัตร, 2549)

การรักษาความคงตัวโดยโมเลกุลที่ผิวร่วมระหว่างเฟสที่กระจายตัวกับเฟสต่อเนื่องทำหน้าที่ยึดขวาง (steric stabilization)

การรักษาความคงตัวของระบบคอลลอยด์โดยโมเลกุลที่ผิวร่วม เกิดขึ้นได้เนื่องจากสารประกอบที่มีส่วนของโมเลกุลที่ละลายได้ทั้งในเฟสที่กระจายตัว (dispersed phase) และเฟสต่อเนื่อง (continuous phase) มีขนาดโมเลกุลใหญ่เพียงพอที่จะกีดขวางการรวมตัวของอนุภาคคอลลอยด์ เช่น โปรตีน ซึ่งมีโมเลกุลค่อนข้างใหญ่ จะถูกดูดซับหรือละลายได้ในเฟสของน้ำมัน (oil phase) และมีบางส่วนที่ละลายได้ในเฟสของน้ำ (aqueous phase) ดังนั้นที่ผิวร่วมระหว่างน้ำมันกับน้ำ (oil-water interface) จึงเกิดโครงสร้างซึ่งสามารถทำหน้าที่กีดขวางการรวมตัวกันของหยดไขมัน เพราะ โปรตีนมีโมเลกุลขนาดใหญ่พอที่จะทำหน้าที่เป็นเครื่องกีดขวางไม่ให้อนุภาคของคอลลอยด์เกาะกลุ่มกันได้ (ปาริฉัตร, 2549)

ทั้งนี้ พอลิแซ็กคาไรด์ก็มักนำมาใช้ในการรักษาความคงตัวของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W) เพื่อเพิ่มความหนืดของเฟสน้ำ ซึ่งทำให้ได้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ต้องการ และเป็นการยับยั้งการเคลื่อนที่ขึ้นด้านบน หรือที่เรียกว่าการเกิดครีม (creaming) ของหยดไขมัน หากพอลิแซ็กคาไรด์มีความเข้มข้นที่มากเพียงพอสามารถสร้างโครงสร้างสามมิติ (three-dimensional network) ที่สามารถห่อหุ้มหยดไขมัน และป้องกันการเคลื่อนที่ได้ (McClement, 2000)

การรักษาความคงตัวโดยอนุภาคที่ผิวร่วมระหว่างเฟสที่กระจายตัวกับเฟสต่อเนื่อง (particle stabilization)

ความสามารถในการรักษาความคงตัวของระบบคอลลอยด์โดยอนุภาค ขึ้นอยู่กับความสามารถในการจัดเรียงตัวของอนุภาคนั้น ๆ ที่ผิวสัมผัสระหว่างเฟสที่กระจายตัวกับเฟสต่อเนื่อง โดยความสามารถในการรักษาความคงตัวโดยกลไกนี้ จะขึ้นอยู่กับชนิดของอนุภาคและมุมที่อนุภาคสัมผัสกับผิวร่วม ซึ่งเรียก มุมสัมผัส (contact angle) ถ้าอนุภาคละลายได้ง่ายในน้ำมัน อนุภาคจะมีส่วนที่อยู่ในน้ำมันมากกว่าในน้ำ (มุมน้อยกว่า 90°) ประสิทธิภาพในการเป็นเครื่องกีดขวางจะไม่มากเท่าอนุภาคที่สามารถละลายในน้ำและน้ำมันเท่า ๆ กัน (มุมเท่ากับ 90°) และถ้าอนุภาคละลายในน้ำได้ดี อนุภาคจะมีส่วนที่อยู่ในน้ำมากกว่าน้ำมัน (มุมมากกว่า 90°) ทำให้เป็นเครื่องกีดขวางได้ไม่ดีเท่ากับเมื่อมีมุม 90° เพราะอนุภาคจะหลุดออกจากส่วนที่เป็นน้ำมันได้ง่าย (ปาริฉัตร, 2549)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุดิบ

- 1.1 สหราชอาณาจักร (โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา)
- 1.2 มอลโตเดกซ์ตรินชนิด DE 10 และ DE 20 (บริษัท สยามโมดิฟายด์สตาร์ช จำกัด)
- 1.3 กัมอะราบิก (Gum arabic powder KB-120 บริษัท จัมโบ้ เทรคคิง จำกัด กรุงเทพฯ)
- 1.4 น้ำมันถั่วเหลือง (ตรางูเห่า บริษัท น้ำมันพืชไทย จำกัด นครปฐม)

2. สารเคมี

- 2.1 กรดแกลลิก (Gallic acid; $(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$: Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)
- 2.2 โฟลีน-ซีโอคาลเทอ (Folin-ciocalteu reagent; Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)
- 2.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate; Na_2CO_3 : Analytical grade, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)
- 2.4 โพแทสเซียม ได-ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (Potassium di-hydrogen phosphate; KH_2PO_4 : Analytical grade, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)
- 2.5 ได-โพแทสเซียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (Di-potassium hydrogen phosphate; K_2HPO_4 : Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)
- 2.6 2, 2'-อะโซบิส (2-อะมิโนโนโพรเพน) ไฮโดรคลอริก; (2, 2',-azobis-(2-amidinopropane) HCl: AAPH, Aldrich, Steinheim, Germany)
- 2.7 2, 2'-อะซีนอบิส (3-เอทิลเบนซอไทอะโซลีน-6-ซัลโฟนิก แอซิด); (2, 2',-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt): ABTS, Aldrich, Steinheim, Germany)

2.8 2, 2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล; (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Aldrich, Steinheim, Germany): DPPH, Aldrich, Steinheim, Germany)

2.9 แอมโมเนียมซัลเฟต; (Ammonium sulfate, $\text{NH}_4(\text{SO}_4)_2$: Analytical grade, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

2.10 เมทานอล (Methanol; CH_3OH : Analytical grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, USA)

2.11 กรดแอสคอร์บิก (L(+)-Ascorbic acid; $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, Polskie Odczynniki, Chemiczne, S.A.)

2.12 อะซีโตรไนไทรล์ (Acetonitrile; CH_3CN , HPLC grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, USA)

2.13 Polyglycerol ester of polyricinoleic acid (PGPR 4125, HLB=2, Palsgaard Ltd., Denmark)

2.14 ลิเทียมคลอไรด์ (Lithium chloride; LiCl , Analytical grade, Ajax, Finechem, Auckland, New Zealand)

2.15 กรดไตรฟลูออโรอะซิติก (Trifluoroacetic acid, TFA, $\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$, Fluka, USA)

2.16 สารมาตรฐานซี-ไฟโคไซยานิน (Standard C-phycoerythrin, P2172, CAS number 11016-15-2, Sigma-Aldrich, USA.)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (GAE Niro A/S, Denmark)

3.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Model Spectronic Genesys 10 UV Scanning (Thermo Electron Corporation, USA)

3.3 เครื่องเหวี่ยงแยก (Sorvall RC 5C Plus Superspeed Centrifuge, Minnesota, USA)

3.4 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, Schwach, Germany)

3.5 อ่างน้ำให้ความร้อน (Mettler, Model WB 7/14/22/29/45, Schwach, Germany)

3.6 เครื่องทำความสะอาดด้วยระบบคลื่นเสียง (Bandelin Sonorex, Model RK 52, Berlin, Germany)

3.7 เครื่องวัดขนาดอนุภาคอิมัลชัน (Zeta sizer nano, Zen 3600, Malvern Instrument Ltd., Worcestershire, UK.)

- 3.8 เครื่องปั่นผสมความดันสูง (High pressure homogeneizer, 15 MR-8TA, APV GAULIN, INC., Wilmington, Massachusetts, USA.)
- 3.9 เครื่องปั่นผสมแบบมือถือ (Hand homogeneizer, IKA-ULTRA_TURRAX® T25 basic, KIKA®-WERKE GMBH & CO.KG, Germany)
- 3.10 กล้องจุลทรรศน์ (Axiolab®, Carl Zeiss Ple Ltd., Germany)
- 3.11 ตู้อบลมร้อน (Memmert, Schwach, Germany)
- 3.12 เครื่อง HPLC (Waters, Milford, Massachusetts, USA)
- 3.13 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JEOL, JSM-5800LV, Japan)
- 3.14 เครื่องวัดขนาดอนุภาคของแข็ง (Mastersizer-S, Malvern instruments Limited, Worcestershire, UK)
- 3.15 เครื่องวัดสี (ColorFlex, Hunter Lab, USA.)
- 3.16 พีเอชมิเตอร์ (Orion 2 Star, Beverly, Massachusetts., USA.)
- 3.17 เครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์ (Testo 400, Testo GmbH & Co., Lenzkirch, Germany)
- 3.18 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (LECO-FP2000, LECO Cooperation, Michigan, USA.)

วิธีการ

1. การศึกษาการห่อหุ้มสารร้ายเกลียวทองด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย

1.1 การเตรียมตัวอย่างสารร้ายเกลียวทอง

นำตัวอย่างสารร้ายเกลียวทองสดเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส แล้วนำมาทำละลายในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้

1.2 ผลของอุณหภูมิในการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อความชื้น ค่าสี ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชัน

ทำแห้งแบบพ่นฝอยสารร้ายเกลียวทองจากข้อ 1.1 ด้วยเครื่อง spray dryer (GAE Niro A/S, Denmark) โดยกำหนดอุณหภูมิลมเข้า 160 180 และ 200 องศาเซลเซียส (°C) ความดัน 1.8 บาร์

และอัตราการไหลของตัวอย่างเข้าเครื่อง 222 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจสอบค่าสี ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี และสมบัติการต้านออกซิเดชัน

1.3 ผลของชนิด และความเข้มข้นของสารเคลือบต่อสี ขนาด และการกระจายตัวของอนุภาค สันฐานวิทยา ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน จลนพลศาสตร์การสลายตัว และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองผง

1.3.1 ผลของการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองต่อสี ขนาด และการกระจายตัวของอนุภาค และลักษณะทางสันฐานวิทยา

ทำแห้งแบบพ่นฝอยสาหร่ายเกลียวทองจากข้อ 1.1 เพื่อใช้เป็นชุดควบคุม (control) และสาหร่ายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 โดยละลายมอลโตเดกซ์ตรินในน้ำกลั่นแล้วผสมกับสาหร่ายเกลียวทอง อัตราส่วน 1:1 (10DERt1 และ 20DERt1) อัตราส่วน 1:2 (10DERt2 และ 20DERt2) และอัตราส่วน 1:3 (10DERt3 และ 20DERt3) โดยน้ำหนักแห้งและปรับให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) ที่ 10% กำหนดอุณหภูมิผสมเข้า 180 องศาเซลเซียส อุณหภูมิผสมออก 80 องศาเซลเซียส ความดันที่ 1.8 บาร์ และอัตราการไหลของตัวอย่างเข้าเครื่อง 222 มิลลิลิตรต่อนาที นำตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองผงที่ได้ตรวจสอบค่าสี ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาค และลักษณะทางสันฐานวิทยา

1.3.2 ผลของการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองต่อปริมาณของสารซี-ไฟโคไซยานิน จลนพลศาสตร์การสลายตัว และสมบัติการต้านออกซิเดชัน

นำตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองผงที่ได้จากข้อ 1.3.1 เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส ในตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ด้วยสารละลายเกลือลิเทียมคลอไรด์อิ่มตัว (11% relative humidity) นำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี และ high performance liquid chromatography (HPLC) ตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการตรวจสอบสมบัติการให้อิเล็กตรอน โดยวิธี total phenols assay สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2'-azobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) ทุกสัปดาห์ นาน 4

สปีดค่า และคำนวณค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา (reaction rate constant, k) ค่าครึ่งชีวิต (half life, $t_{1/2}$) และค่าพลังงานกระตุ้น (activation energy, E_a)

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณรังควัตถุซี-ไฟโคไซยานิน สมบัติการต้านออกซิเดชัน และคุณลักษณะของสารห่วยเกลียวทองผง

1.4.1 การทำบริสุทธิ์ซี-ไฟโคไซยานิน

ทำบริสุทธิ์ซี-ไฟโคไซยานินโดยดัดแปลงจากวิธีของ Patel *et al.* (2005) นำตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองผง ปริมาณ 0.3 กรัม เติมน้ำใน 5 มิลลิลิตรของโพแตสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 100 มิลลิโมลาร์ pH 7.0 จากนั้นนำไปแยกด้วยเครื่องผสมสารละลายระบบอัลตราโซนิก (Bandelin Sonorex, Model RK 52, Berlin, Germany) เป็นเวลา 60 วินาที แล้วแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง และทำละลายในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสมาตกตะกอนด้วยเอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 25% นำไปเหวี่ยงแยกตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำส่วนใสมาตกตะกอนด้วยเอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 50% นำไปเหวี่ยงแยกตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตะกอนที่ได้มีซี-ไฟโคไซยานินเป็นหลัก ละลายตะกอนที่ได้ในโพแตสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 100 มิลลิโมลาร์ pH 7.0 เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปวิเคราะห์

1.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

โดยดัดแปลงจากวิธีของ Benedetti *et al.* (2006) โดย high performance liquid chromatography (HPLC) (Waters, Milford, MA, USA) ระบบประกอบด้วย Waters 600 pumps (Waters, Milford, MA, USA) Waters 996 UV diode-array detector และ Waters 717 plus autosampler ทำการฉีดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ตัวอย่างละ 3 ครั้ง เข้าสู่คอลัมน์ชนิด C4 (Vertisep™ BIO, 4.6 mm. x250 mm., Vertical Chromatography Co.,Ltd., Bangkok, Thailand) โดยมีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็น 100% acetonitrile (A)

และ 20% acetonitrile ที่มีกรดไตรฟลูออโรอะซิติกความเข้มข้น 0.1% เป็นส่วนผสม (B) ด้วยอัตราการไหล (flow rate) 0.8 มิลลิลิตร/นาที โดยกำหนด gradient ของวัฏภาคเคลื่อนที่ A:B จาก 25:75 เป็น 75:25 ด้วย linear gradient ภายในเวลา 40 นาที และใช้ UV diode-array detector ตรวจวัดสารที่ความยาวคลื่น 214 นาโนเมตร ประมวลผลที่ได้โดยโปรแกรมสำเร็จรูป เทียบกับกราฟมาตรฐานของซี-ไฟโคไซยานินความเข้มข้น 20-500 ppm รายงานผลเป็น ซี-ไฟโคไซยานิน (กรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

1.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี

นำตัวอย่างที่ได้หลังจากการทำบริสุทธิ์จากข้อ 1.4.1 วิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี (UV-Vis Spectrophotometer Spectronic Genesys10, Thermo Electron Corporation, USA) ตามวิธีของ Patel *et al.* (2005) แล้วคำนวณตามสมการ (1) โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 และ 652 นาโนเมตรนั้น บ่งบอกปริมาณของซี-ไฟโคไซยานิน และอัลโลไฟโคไซยานิน ตามลำดับ

$$\text{C-phycocyanin (mg/ml)} = [\text{OD}_{620} - 0.474 (\text{OD}_{652})] / 5.34 \quad (1)$$

1.4.4 การตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชัน

1.4.4.1 การตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี total phenols assay (TP)

ตรวจสอบสมบัติการให้อิเลคตรอน (reducing property) โดยวิธี total phenols assay ตามวิธีของ Kim and Lee (2002) ดูดสารสกัด 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม folin-ciocalteu reagent 0.1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้นาน 6 นาที จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 7% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นสมบัติการต้านออกซิเดชัน (กรัมสมมูลของกรดแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) และคำนวณผลเป็นร้อยละคงเหลือ (% retention) ตามสมการที่ 2

$$\% \text{ Retention} = [(C_{\text{initial}} - C_{\text{storage}}) / C_{\text{initial}}] * 100 \quad (2)$$

เมื่อ C_{initial} คือ ค่าสมบัติการต้านออกซิเดชัน ณ วันเริ่มต้น

C_{storage} คือ ค่าสมบัติการต้านออกซิเดชัน ณ วันที่ทำการเก็บตัวอย่าง

1.4.4.2 การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2'-azobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (ABTS radical scavenging capacity)

ตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS คัดแปลงจากวิธีของ Kim *et al.* (2002) โดยนำขวดของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer saline, PBS) 100 มิลลิลิตร pH 7.4 ไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารละลาย AAPH เข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ และ สารละลาย ABTS เข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ (27.117 มิลลิกรัม AAPH + 137.175 มิลลิกรัม ABTS) / 100 มิลลิลิตร PBS) ให้ความร้อน 20 นาที โดยกวนทุก 5 นาที และตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นกรองสารละลายอนุมูลอิสระ (radical solution) โดย GHP Acrodisc[®] 25 mm Syringe Filter GHP membrane ขนาด 0.45 μm ปรับความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จนกระทั่งได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.650 ± 0.020 นาโนเมตร บ่มสารละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ผสมตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร สารละลายอนุมูลอิสระ 980 ไมโครลิตร นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และคำนวณผลเป็นร้อยละคงเหลือ (% retention) ตามสมการที่ 2

1.4.4.3 การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (DPPH radical scavenging capacity)

ตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้วิธีของ Singh *et al.* (2002) นำสารสกัดมา 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH 0.1 มิลลิโมลาร์ 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (กรัมสมมูลของวิตามินซี/ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และคำนวณผลเป็นร้อยละ (% retention) ตามสมการที่ 2

1.4.5 การตรวจสอบสี

ตรวจสอบสีของสาหร่ายเกลียวทองผง โดยดัดแปลงจากวิธีของ Obon *et al.* (2009) โดยบรรจุตัวอย่างลงในภาชนะใส่ตัวอย่าง ปรับค่า day light 65 วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (ColorFlex, Hunter Lab) แสดงผลเป็นค่า L^* , a^* , b^* คำนวณค่าความแตกต่างของค่าสี (ΔE^*) ตามสมการที่ 3

$$\Delta E^* = [(L_i^* - L_o^*)^2 + (a_i^* - a_o^*)^2 + (b_i^* - b_o^*)^2]^{0.5} \quad (3)$$

เมื่อ L_i^* , a_i^* , b_i^* เป็นค่าสีที่ใช้เป็นค่าอ้างอิง

L_o^* , a_o^* , b_o^* เป็นค่าสีของที่ต้องการเปรียบเทียบ

โดย ΔE^* มีค่า 0-1.5 หมายความว่ามีความแตกต่างน้อยมากซึ่งอาจไม่สามารถแยกแยะด้วยสายตาได้

มีค่า 1.5-5 หมายความว่าค่าสีมีความแตกต่างกัน และสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยสายตา

มีค่ามากกว่า 5 หมายความว่ามีความแตกต่างของค่าสีเป็นอย่างมาก

1.4.6 การตรวจสอบขนาด และการกระจายตัว

นำตัวอย่างบรรจุลงในภาชนะของ dry powder feed unit แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง Mastersizer S (Malvern Instrument Limited) โดยเทคนิค laser diffraction technique ใช้อากาศเป็นตัวกลาง (dispersing medium) และค่าดัชนีหักเหของตัวอย่างเป็น 1.450

1.4.7 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำตัวอย่างวางลงบนแท่นวางตัวอย่าง จากนั้นนำไปฉายด้วยทองคำ แล้วนำเข้าป้อนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (JEOL, JSM-5800LV) ที่ 15 kV

1.4.8 การตรวจสอบลักษณะสาหร่ายเกลียวทองผงด้วยกล้องจุลทรรศน์

นำตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย 1 กรัมละลายน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าป้อนด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Axiolab®, Carl Zeiss Ple Ltd., Germany) ที่กำลังขยาย 400 เท่า

1.4.9 การวิเคราะห์ความชื้น

ตามวิธีการของ AOAC (2000) โดยการอบแห้งที่ 135 องศาเซลเซียส ในตู้อบลมร้อน (Memmert, Schwach) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบน้ำหนักตัวอย่างก่อนและหลังอบ แล้วรายงานค่าเป็น % ความชื้น

1.4.10 การวิเคราะห์โปรตีน

บรรจุตัวอย่างลงในภาชนะบรรจุตัวอย่าง (boat) แล้วทำการเผาไหม้ (combustion) ที่อุณหภูมิ 1050 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (LECO-FP2000) คำนวณค่าโปรตีนด้วยการนำค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้คูณด้วย 6.25

1.4.11 การคำนวณค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัว (reaction rate constant, k) ค่าครึ่งชีวิต (half life, $t_{1/2}$) และค่าพลังงานกระตุ้น (activation energy, E_a)

1.4.11.1 การคำนวณค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัว (reaction rate constant, k)

สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมธรรมชาติของปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน ($\ln C/C_0$) หรือสมบัตการต้านออกซิเดชัน กับระยะเวลาการเก็บรักษาในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษา โดยค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาได้จากค่าความชันของกราฟตามสมการที่ 4

$$-k = \ln (C/C_0)/t \quad (4)$$

เมื่อ k ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัว
 C ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน หรือสมบัตการต้านออกซิเดชัน ณ เวลานั้น ๆ
 C_0 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน หรือสมบัตการต้านออกซิเดชันเริ่มต้น
 t ระยะเวลา (วัน)
 $\ln$ ลอการิทึมธรรมชาติ

1.4.11.2 การคำนวณค่าครึ่งชีวิต (half life, $t_{1/2}$)

นำค่า k ที่ได้จากข้อ 1.4.11.1 คำนวณค่าครึ่งชีวิต ซึ่งบ่งบอกระยะเวลาที่สารมีปริมาณลดลงเป็นครึ่งหนึ่งของปริมาณเริ่มต้น ตามสมการที่ 5

$$t_{1/2} = \ln (0.5)/k \quad (5)$$

เมื่อ $t_{1/2}$ คือค่าครึ่งชีวิต (half life)
 $\ln (0.5)$ ลอการิทึมธรรมชาติของ 0.5 มีค่าเท่ากับ -0.653
 k ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัว

1.4.11.3 การคำนวณค่าพลังงานกระตุ้น (activation energy, E_a)

สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมของค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัว กับอุณหภูมิในหน่วยเคลวินซึ่งค่าพลังงานกระตุ้น (E_a) สามารถคำนวณได้จากค่าความชันของกราฟเส้นตรงของอาร์เรเนียส (สมการที่ 6)

$$\ln k = \ln A - E_a/RT \quad (6)$$

เมื่อ	k	คือ ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา (reaction rate constant)
	E_a	คือ ค่าพลังงานกระตุ้น (Activation energy)
	R	คือ Universal gas constant ($8.3144 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$)
	T	คือ อุณหภูมิ (เคลวิน)
	A	คือ preexponential factor

2. การศึกษาการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยเทคนิคมัลติเพิลล์

2.1 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดซี-ไฟโคไซยานินเพื่อทำมัลชัน

นำสาหร่ายเกลียวทองจากข้อ 1.1 ละลายกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.0 จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องผสมสารละลายระบบอัลตราโซนิก (Bandelin Sonorex, Model RK 52, Berlin, Germany) เป็นเวลา 60 วินาที นำตัวอย่างดังกล่าวไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นทำละลายที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ แล้วนำไปเหวี่ยงแยกเอากากเซลล์ออกด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที (rpm) นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกสารละลายที่ได้ซึ่งเป็นสารสกัดซี-ไฟโคไซยานินเพื่อใช้ในการเตรียมมัลชันต่อไป และตรวจสอบความบริสุทธิ์ตามวิธีการของ Patel *et al.* (2005) ด้วยเทคนิค O.D. Ratio โดยสารละลายที่สกัดได้ในครั้งนี้มีความบริสุทธิ์อยู่ที่ 1.03 ± 0.10 และตรวจสอบความเข้มข้นของซี-ไฟโคไซยานินด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีตามสมการที่ 3 ได้ค่าเท่ากับ 0.07 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 การเตรียมมัลติเฟลิมัลชันแบบ W/O/W

การเตรียมมัลติเฟลิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion, W/O/W) เป็นการเตรียมโดยวิธีทำอิมัลชันแบบ 2 ขั้นตอน (two step emulsifications) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Su *et al.* (2006) โดยแบ่งตัวอย่างเป็นชุดที่ไม่เติมสารสกัดซี-ไฟโคไซยานิน (ชุดควบคุม) และชุดที่ทำการเติมสารสกัดซี-ไฟโคไซยานิน (ชุดทดลอง)

การเตรียมซิงเกิลอิมัลชัน (single emulsion) ชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil emulsion, W₁/O) โดยเติม PGPR เป็นอิมัลซิฟายเออร์ที่ความเข้มข้น 2% (โดยน้ำหนัก) ผสม PGPR ในน้ำมันด้วยเครื่องปั่นผสมแบบมือถือ (hand homogeneizer, IKA-ULTRA TURRAX® T25 basic) ที่ระดับความเร็วเบอร์ 3 (13,500 rpm) นาน 1 นาที จากนั้นนำไปผ่านเครื่องปั่นผสมความดันสูง (high pressure homogeneizer, 15 MR-8TA, APV GAULIN) ที่ความดัน 3,000 psi แล้วผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.0 (ชุดควบคุม) หรือ สารสกัดซี-ไฟโคไซยานินที่อัตราส่วนน้ำต่อน้ำมัน 1:4 (โดยน้ำหนัก) แล้วนำไปผสมให้เข้ากันก่อนด้วยเครื่องปั่นผสมแบบมือถือ (hand homogeneizer, IKA-ULTRA TURRAX® T25 basic) ที่ระดับความเร็วเบอร์ 3 (13,500 rpm) นาน 1 นาที จากนั้นนำไปผ่านเครื่องปั่นผสมความดันสูง (high pressure homogeneizer, 15 MR-8TA, APV GAULIN) ที่ความดัน 3,000 psi

การเตรียมมัลติเฟลิมัลชัน (multiple emulsion) ชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion, W₁/O/W₂) ที่อัตราส่วนของซิงเกิลอิมัลชันต่อน้ำ 1:2 (โดยน้ำหนัก) โดยผสมซิงเกิลอิมัลชันกับสารละลายกัมมะรายิกความเข้มข้น 10% (โดยน้ำหนัก) ซึ่งใช้เป็นอิมัลซิฟายเออร์ด้วยเครื่องปั่นผสมแบบมือถือ (hand homogeneizer) ที่ระดับความเร็วเบอร์ 3 (13,500 rpm) นาน 1 นาที จากนั้นนำไปผ่านเครื่องปั่นผสมความดันสูง (high pressure homogeneizer) ที่ความดัน 3,000 psi เก็บรักษามัลชันไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบ

2.3 การให้ความร้อน การแช่เยือกแข็ง และความเป็นกรด-ด่างต่อความคงตัวของมัลติเฟลิมัลชัน

2.3.1 การให้ความร้อนมัลติเฟลิมัลชัน

ทดสอบผลของการให้ความร้อนต่อความคงตัวของมัลติเฟลิมัลชัน ตามวิธีการของ Klinkesorn *et al.* (2005) โดยนำตัวอย่างมัลติเฟลิมัลชัน (10 มิลลิลิตร) บรรจุลงใน

หลอดทดลองขนาดสูง 10 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 15 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางด้านใน 13 มิลลิเมตร จากนั้นเก็บไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 30 60 และ 90 องศาเซลเซียส นำมาทำให้เย็น และเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปวัดขนาดอนุภาค

2.3.2 การแช่เยือกแข็งมัลติเฟลอิมีลชัน

ทดสอบผลของการแช่เยือกแข็งต่อความคงตัวของมัลติเฟลอิมีลชันตามวิธีการของ Klinkesorn *et al.* (2005) โดยนำตัวอย่างมัลติเฟลอิมีลชัน (10 มิลลิลิตร) บรรจุลงในหลอดพลาสติกขนาดสูง 90 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 20 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางด้านใน 19 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส นาน 22 ชั่วโมง แล้วทำละลายในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง โดยรอบของการแช่แข็งและทำละลายจำนวน 1 รอบ (FT1) จำนวน 2 รอบ (FT2) และจำนวน 3 รอบ (FT3) และเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปวัดขนาดอนุภาค

2.3.3 การปรับความเป็นกรด-ด่างของมัลติเฟลอิมีลชัน

ทดสอบผลของความเป็นกรด-ด่างต่อความคงตัวของมัลติเฟลอิมีลชันตามวิธีการของ Klinkesorn *et al.* (2005) โดยนำตัวอย่างมัลติเฟลอิมีลชันปรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ pH 4 pH 5 pH 6 pH 7 และ pH 8 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล แล้วบรรจุลงในหลอดทดลองขนาดสูง 10 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 15 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางด้านใน 13 มิลลิเมตร จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปวัดขนาดอนุภาค

2.4 การวัดประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม (Encapsulation efficiency, EE)

วัดประสิทธิภาพในการห่อหุ้ม โดยดัดแปลงจากวิธีของ Su *et al.* (2006) โดยทำการแช่เยือกแข็งมัลติเฟลอิมีลชันที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส นาน 22 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกเอาส่วนน้ำเฟสนอก (W_2) ออกจากส่วนครีม (W_1/O) ด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกตะกอนที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในส่วนน้ำเฟสนอกเพื่อ

หาปริมาณซี-ไฟโคไซยานินที่หลุดออกมา (leak) หรือที่ไม่ได้รับการห่อหุ้ม โดยการวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (LECO-FP2000) แล้วคำนวณเป็นปริมาณโปรตีน

2.5 การวัดขนาดอิมัลชัน

ตรวจวัดขนาดอิมัลชัน โดยดัดแปลงจากวิธีของ Su *et al.* (2006) ทำการวัดขนาดของอิมัลชันด้วยเครื่อง Zeta Sizer Nano (Malvern Master Sizer) โดยทำการเจือจางอิมัลชันที่ระดับ 10 เท่า จากนั้นบรรจุอิมัลชันลงในเซลล์ DTS-0012 disposable sizing cuvette สำหรับซิงเกิลอิมัลชัน ตั้งค่า reflective index 1.460 และค่า absorbance 0.001 โดยใช้ mineral oil เป็น disperstant ซึ่งมีค่า reflective index 1.467 และค่าความหนืดเท่ากับ 50 เซนติพอยส์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ส่วนมัลติเฟิลอิมัลชันตั้งค่า reflective index 1.095 และค่า absorbance 0.001 โดยใช้น้ำกลั่นเป็น disperstant ซึ่งมีค่า reflective index 1.330 และค่าความหนืดเท่ากับ 0.8872 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Su *et al.*, 2008)

2.6 การตรวจสอบลักษณะอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์

ตรวจสอบลักษณะอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Klinkesorn *et al.* (2005) โดยทำการเจือจางอิมัลชัน 50 เท่า จากนั้นหยดอิมัลชันบนแผ่นสไลด์และปิดทับด้วยแผ่นกระจก (cover glass) แล้วส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Axiolab®, Carl Zeiss Ple Ltd., Germany) กำลังขยาย 400 และ 1,000 เท่า

3. การประเมินผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยเทคนิค ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Range Test

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย

1.1 ผลของอุณหภูมิในการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อความชื้น ค่าสี ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชัน

จากผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่สูงขึ้น ส่งผลให้ความชื้นของตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5 ทั้งนี้ อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่สูงขึ้นส่งผลให้มีการระเหยน้ำออกจากตัวอย่างมากขึ้น โดยพบว่าอุณหภูมิลมร้อนขาเข้านั้นส่งผลโดยตรงต่ออัตราการทำให้แห้ง และปริมาณความชื้นสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ (Gharsallaoui *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างทั้งหมดยังอยู่ภายใต้มาตรฐานความชื้นสำหรับสาหร่ายเกลียวทองอบแห้งซึ่งกำหนดไว้ที่ไม่เกิน 7% (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2549)

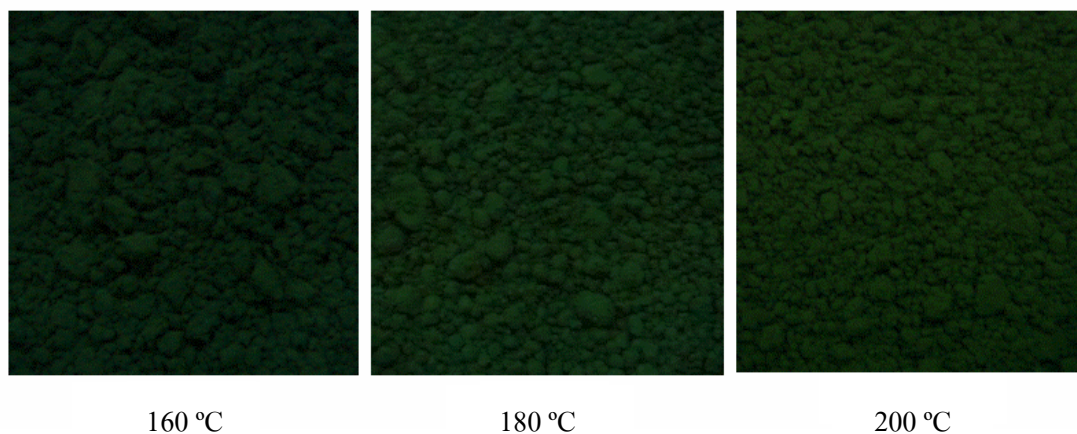
ตารางที่ 5 ความชื้นของสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน

อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า (°C)	ความชื้น* (% น้ำหนักแห้ง)
160	5.51±0.22 ^a
180	4.98±0.06 ^b
200	3.69±0.39 ^c

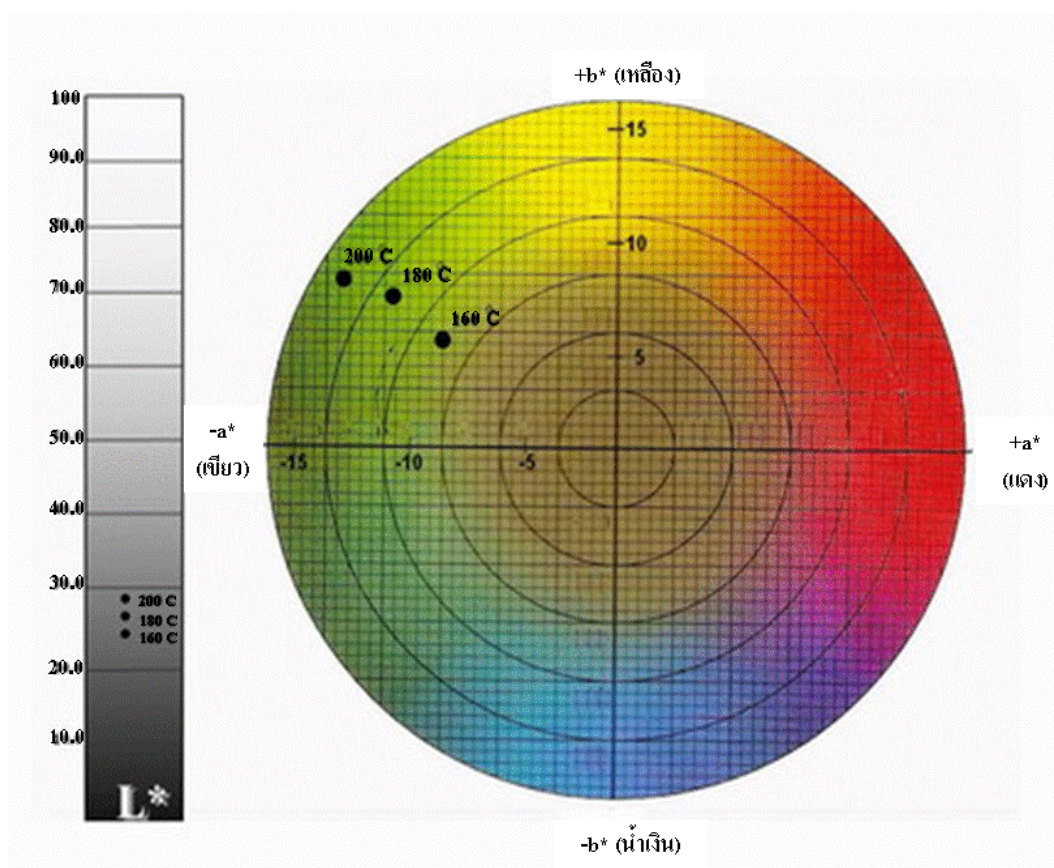
หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จำนวนตัวอย่าง = 3)

ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อตรวจสอบสีของสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน พบว่าลักษณะผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีสีที่ต่างกันไป (ภาพที่ 15 และ 16)



ภาพที่ 15 ภาพถ่ายสำหรับรายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบฟนฝอยโดยใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้าที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 16 ชาร์ตแสดงค่าสีของสำหรับรายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบฟนฝอยโดยใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้าที่แตกต่างกัน

เมื่อตรวจสอบค่าสีในสาหร่ายเกลียวทองพบว่าคุณค่าความสว่างหรือความขาว (lightness/whiteness, L*) ของสาหร่ายเกลียวทองมีค่าสูงเพิ่มมากขึ้น เมื่ออุณหภูมิเลี้ยงสาหร่ายสูงขึ้น และพบว่าสาหร่ายเกลียวทองมีค่าสีแดง (a*) ลดน้อยลง ส่วนค่าสีเหลือง (b*) เพิ่มมากขึ้น ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ค่าสี (L*, a*, b*) ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำให้แห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิเลี้ยงสาหร่ายที่ต่างกัน

อุณหภูมิเลี้ยงสาหร่าย	ค่าสี**		
	L*	a*	b*
160 องศาเซลเซียส	24.87±0.03 ^c	-9.76±0.04 ^c	5.51±0.09 ^b
180 องศาเซลเซียส	27.90±0.02 ^b	-11.20±0.10 ^b	8.18±0.14 ^a
200 องศาเซลเซียส	28.35±0.07 ^a	-13.16±0.08 ^a	8.31±0.14 ^a

หมายเหตุ **ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จำนวนตัวอย่าง = 3)

ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

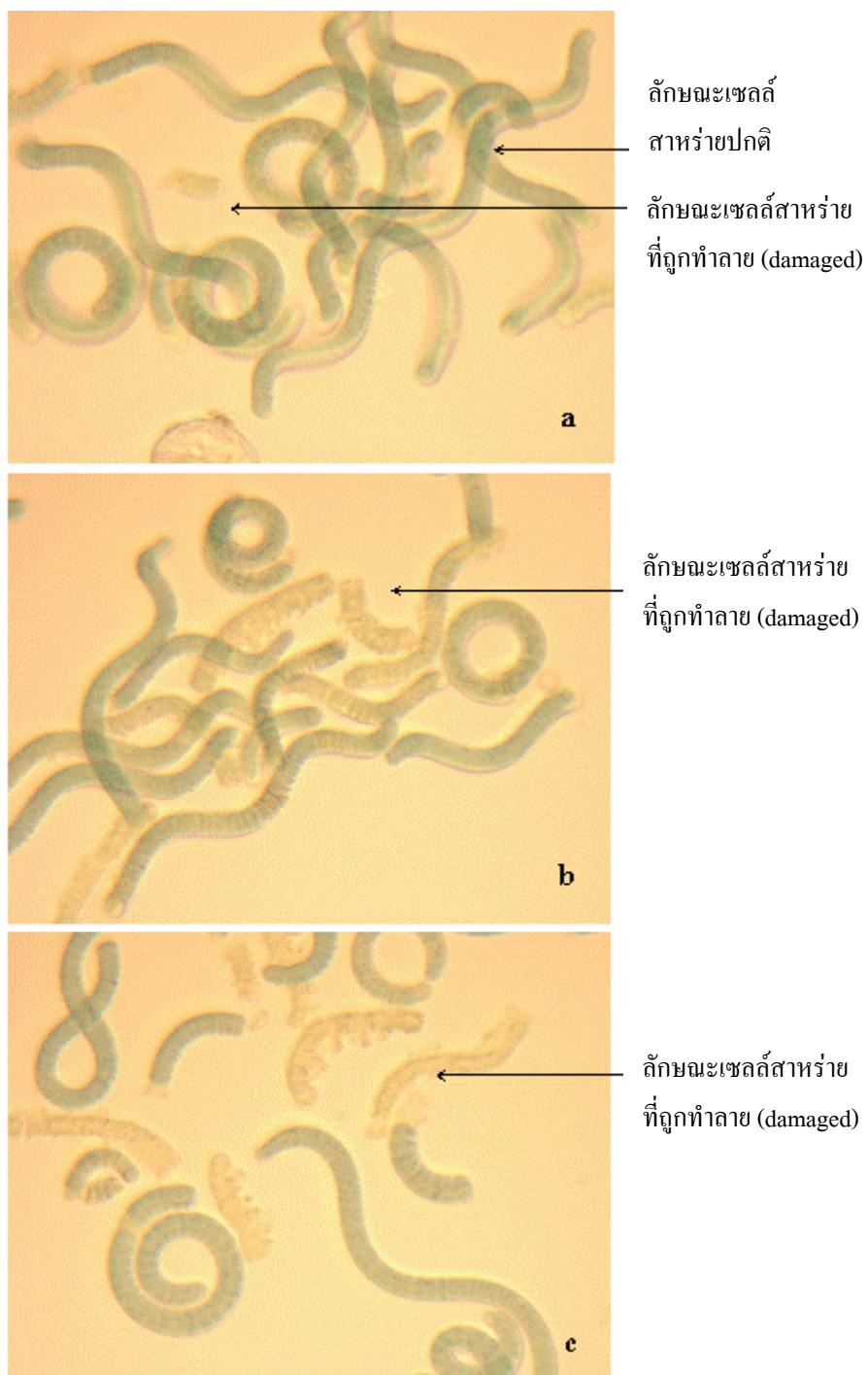
ทั้งนี้ การที่อุณหภูมิเลี้ยงสาหร่ายส่งผลให้ค่าสีของสาหร่ายเกลียวทองเปลี่ยนแปลง อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิเลี้ยงสาหร่ายที่สูงขึ้นทำให้เซลล์ของสาหร่ายแตกมากขึ้น (Gharsallaoui *et al.*, 2007; Soni *et al.*, 2008) จึงเห็นส่วนสีเขียวที่ชัดเจนขึ้น อีกทั้งอุณหภูมิเลี้ยงสาหร่ายที่สูงขึ้น อาจส่งผลให้รงควัตถุคลอโรฟิลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเป็นสีเขียวน้ำตาล (Lajallo and Lanfer, 1982) นอกจากนี้แล้ว อุณหภูมิเลี้ยงสาหร่ายที่สูงขึ้นอาจทำให้รงควัตถุซี-ไฟโคไซยานิน สลายตัว (Sarada *et al.*, 1999) ทำให้มีค่าสีน้ำเงินลดน้อยลง และเนื่องจากในสาหร่ายนั้นมี องค์ประกอบของโปรตีน และน้ำตาล (Oliveira *et al.*, 2008) ซึ่งเมื่ออุณหภูมิเลี้ยงสาหร่ายสูงมากขึ้นอาจทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนมีสีเหลืองจนถึงน้ำตาลจากปฏิกิริยามเมลลาร์ด โดยพบว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวจะสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น (นิธิยา, 2551; Fennema, 1996)

จากการตรวจสอบด้วยสายตา และค่าสี พบว่าลักษณะสีของสาหร่ายเกลียวทองมีความแตกต่างกัน จึงยืนยันความแตกต่างของค่าสีดังกล่าว ด้วยการคำนวณค่าความแตกต่างของค่าสี

(ΔE^*) ตามสมการที่ 3 โดยหากกำหนดให้ค่าสีของสาหร่ายเกลียวทองผงที่ใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้า 160 องศาเซลเซียส เป็นมาตรฐานเพื่อหาความแตกต่างของค่าสี (ΔE^*) ในแต่ละอุณหภูมิร้อนขาเข้าของการทำแห้ง พบว่าที่อุณหภูมิร้อนขาเข้า 180 องศาเซลเซียส มีค่า ΔE^* เป็น 4.3 และที่ 200 องศาเซลเซียส มีค่า ΔE^* เป็น 5.6 แสดงว่าการใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้า 180 และ 200 องศาเซลเซียส นั้นให้ค่าสีแตกต่างจากการใช้อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส อย่างเห็นได้ชัดซึ่งสามารถแยกแยะได้ด้วยตาเปล่า (ΔE^* 1.5-5) โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ 200 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างอย่างชัดเจน (ΔE^* มากกว่า 5) หากพิจารณาเปรียบเทียบค่าสี ระหว่างตัวอย่างที่ใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้า 180 กับ 200 องศาเซลเซียส พบว่าค่า ΔE^* มีค่าเท่ากับ 2.0 แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างกันของสีที่ไม่มากนัก แต่ก็สามารถแยกแยะได้ด้วยตาเปล่า (Obon *et al.*, 2009)

จากการตรวจสอบลักษณะของสาหร่ายเกลียวทองผงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ กำลังขยาย 400 เท่า โดยการนำสาหร่ายเกลียวทองผงมาละลายน้ำเพื่อให้คืนตัวอีกครั้ง (rehydration) พบว่า สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้า 160 องศาเซลเซียส เซลล์สาหร่ายเกลียวทองมีลักษณะขดตัว และมีการคลายตัวบ้าง ยังคงมีสีเขียวภายในเซลล์ โดยพบร่องรอยความเสียหายของเซลล์บางส่วน (ภาพที่ 17a) ในขณะที่อุณหภูมิร้อนขาเข้าที่ 180 องศาเซลเซียส พบว่าสาหร่ายเกลียวทองมีการคลายเกลียวมากขึ้น และพบความเสียหายของเซลล์มากขึ้น (ภาพที่ 17b) และที่อุณหภูมิร้อนขาเข้า 200 องศาเซลเซียส พบความเสียหายของเซลล์อย่างชัดเจน โดยเซลล์มีลักษณะใส (ไม่มีสีเขียว) และมีการฉีกขาดอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 17c) ทั้งนี้ อาจเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลให้เซลล์ของสาหร่ายเกลียวทองเกิดความเสียหายมากขึ้น (Gharsallaoui *et al.*, 2007) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Desmoreux and Hernandez (2004) ที่ได้ทำการตรวจสอบลักษณะสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบใช้ลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 40 60 และ 120 องศาเซลเซียส โดยคณะผู้วิจัยพบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลให้เซลล์สาหร่ายเกลียวทองมีความเสียหายมากขึ้น

เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี ในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้าที่ต่างกัน พบว่าสาหร่ายเกลียวทองผงมีปริมาณซี-ไฟโคไซยานินอยู่ระหว่าง 12.4 – 12.9 % (น้ำหนักแห้ง) โดยอุณหภูมิร้อนขาเข้า (inlet temperature) ที่ใช้ในการทำแห้งแบบพ่นฝอยไม่ส่งผลต่อการสูญเสียปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน ($p > 0.05$) (ตารางที่ 7)



ภาพที่ 17 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่าของไส้เดือนกบฏที่ผ่านการทำ
แห้งแบบฟ้นฝอยโดยโดยใช้อุณหภูมิร้อนเข้า 160 องศาเซลเซียส (a) 180 องศา
เซลเซียส (b) และ 200 องศาเซลเซียส (c)

ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ เป็นแบบทิศทางเดียวกัน (co-current flow) ทำให้การระเหยแห้งเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง และผงที่ได้มีอุณหภูมิอยู่ในระดับปานกลาง ไม่สูงมากจึงสามารถลดการเสื่อมเสียอันเนื่องมาจากความร้อนได้ (Gharsallaoui *et al.*, 2007) โดยผลที่ได้แตกต่างจากการศึกษาของ Sarada *et al.* (1999) ซึ่งพบว่า การอบแห้งสาหร่ายเกลียวทอง ทั้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 150 องศาเซลเซียส และการใช้ลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการสูญเสียของปริมาณซี-ไฟโคไซยานินประมาณ 50% ความแตกต่างดังกล่าว อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ของสาหร่ายเกลียวทองแตกต่างกัน โดยสาหร่ายสายพันธุ์ทนร้อน (thermophile) จะมีซี-ไฟโคไซยานินที่ทนต่ออุณหภูมิมากกว่า (Edward *et al.*, 1997) หรืออาจเกิดจากกรรมวิธี หรือเครื่องจักรที่ใช้ในการทำแห้งที่ต่างกัน โดยทั่วไปแล้ว ระยะเวลาในการทำแห้งของการทำแห้งแบบพ่นฝอยนี้อยู่ที่ 5-100 วินาที อย่างไรก็ตาม ในระบบที่ได้รับการออกแบบมาอย่างดีระยะเวลาในการทำแห้งอาจลดลงเหลือเพียง 15-30 วินาที (Gharsallaoui *et al.*, 2007)

ตารางที่ 7 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้ อุณหภูมิลมร้อนเข้าที่ต่างกัน

ตัวอย่าง	ซี-ไฟโคไซยานิน* (% น้ำหนักแห้ง)
สาหร่ายเกลียวทองสด	12.90±1.57 ^{ns}
สาหร่ายเกลียวทองผง : อุณหภูมิลมร้อนเข้า 160 °C	12.93±1.16
สาหร่ายเกลียวทองผง : อุณหภูมิลมร้อนเข้า 180 °C	12.85±0.70
สาหร่ายเกลียวทองผง : อุณหภูมิลมร้อนเข้า 200 °C	12.40±0.64

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จำนวนตัวอย่าง = 3)

ตัวอักษร ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

เมื่อตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่าง ๆ ได้แก่ วิธี total phenols assay สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พบว่าอุณหภูมิลมร้อนเข้าที่ใช้ในการทำแห้งแบบพ่นฝอยนั้น ไม่ส่งผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทอง ($p>0.05$) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน

ตัวอย่าง	สมบัติการต้านออกซิเดชัน*		
	Total phenols assay (g GAE/ 100 g DW)	ABTS assay (g VEAC/ 100 g DW)	DPPH assay (g VEAC/ 100 g DW)
สาหร่ายเกลียวทองสด	1.174±0.149 ^{ns}	0.637±0.043 ^{ns}	0.350±0.042 ^{ns}
สาหร่ายเกลียวทองผง : อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า 160 °C	1.190±0.103	0.618±0.067	0.323±0.065
สาหร่ายเกลียวทองผง : อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า 180 °C	1.145±0.073	0.584±0.091	0.335±0.054
สาหร่ายเกลียวทองผง : อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า 200 °C	1.131±0.051	0.596±0.080	0.328±0.054

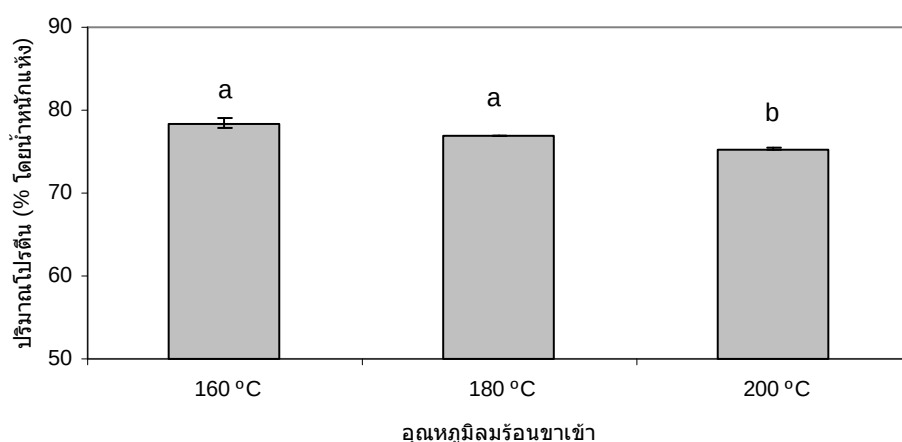
หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จำนวนตัวอย่าง = 3)

ตัวอักษร ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

นอกจากนั้นยังพบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยไม่มีความแตกต่างจากสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองสด ($p>0.05$) ทั้งนี้ อาจเนื่องจากซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารซึ่งมีโครงสร้างประกอบด้วยส่วนของโปรตีน (apoprotein) และไฟโคไซยาโนบิลิน (phycocyanobilin) ที่เป็น prosthetic group ดังนั้นความร้อนจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า 160-200 องศาเซลเซียส อาจส่งผลทำให้โปรตีนนั้นเสียสภาพธรรมชาติ (denature) แต่ไม่ส่งผลต่อไฟโคไซยาโนบิลิน (phycocyanobilin) ที่เป็น prosthetic group โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hirata *et al.* (2000) ที่พบว่า ซี-ไฟโคไซยานินที่โปรตีนยังคงอยู่ในสภาพธรรมชาติ (native protein) และซี-ไฟโคไซยานินที่โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติแล้ว (denatured protein) มีสมบัติการต้านออกซิเดชันไม่แตกต่างกัน โดยสันนิษฐานว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันส่วนใหญ่เป็นอิทธิพลของ

ไฟโคไซยานินบิลิน (phycocyanobilin) ที่เป็น prosthetic group ของไฟโคไซยานิน (Bhat and Madyastha, 2000; Hirata *et al.*, 2000)

อย่างไรก็ตาม เมื่อตรวจสอบปริมาณโปรตีนในสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้าที่ต่างกัน ด้วยเทคนิคการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด พบว่าสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้า 160 180 และ 200 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ 78.4% 76.9% และ 75.3% โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ (ภาพที่ 18) ทั้งนี้ อุณหภูมิร้อนขาเข้าที่ 200 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายเกลียวทองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งอาจเป็นเพราะปริมาณไนโตรเจนบางส่วนสูญเสียไประหว่างการทำแห้ง โดยอาจเป็นสารจำพวกแอมโมเนียมที่สาหร่ายเก็บไว้ในเซลล์ ภายหลังการตรึงไนโตรเจนจากอากาศเพื่อการเปลี่ยนเป็นกรดแอมิโน (วันเพ็ญ, 2549) ซึ่งจากผลที่ได้อาจชี้ให้เห็นว่า การใช้อุณหภูมิร้อนขาเข้าในการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่สูงมากเกินไป อาจส่งผลให้สารอาหารอื่น ๆ ในสาหร่ายเกลียวทองเกิดการสูญเสียได้



ภาพที่ 18 ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้อุณหภูมิลมร้อนขาเข้าที่ต่างกัน

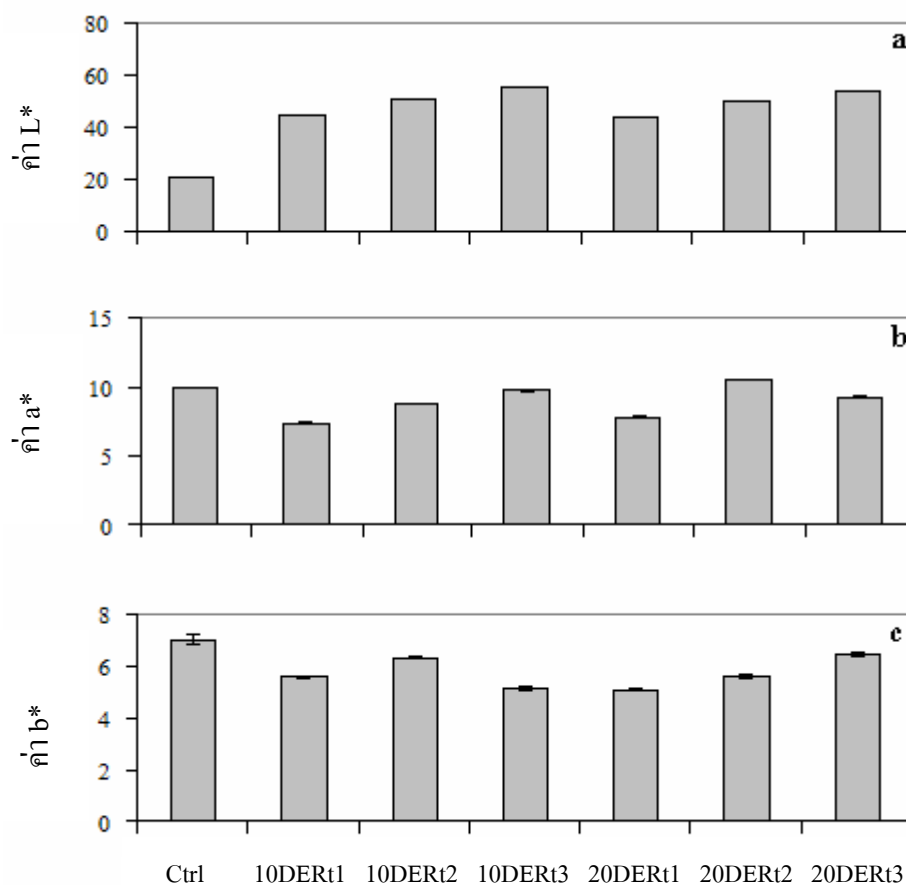
จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าอุณหภูมิร้อนขาเข้าจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยไม่ส่งผลต่อการสูญเสียปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชัน ดังนั้น การทำแห้งสาหร่ายเกลียวทองด้วยความร้อนโดยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย จึงสามารถใช้ความร้อนที่สูง (160-180 องศาเซลเซียส) ได้ เพื่อให้เกิดการระเหยน้ำออกจากสาหร่ายอย่างรวดเร็ว เป็นการเพิ่ม

กำลังการผลิต ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับความชื้นสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ อย่างไรก็ตามพบว่าที่อุณหภูมิความร้อนเข้า 200 องศาเซลเซียส ปริมาณโปรตีนสูญเสียมากกว่าที่อุณหภูมิ 160-180 องศาเซลเซียส ดังนั้น ในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้อุณหภูมิความร้อนเข้าที่ 180 องศาเซลเซียส

1.2 ผลของชนิด และความเข้มข้นของสารเคลือบต่อสี ขนาด และการกระจายตัวของอนุภาค สัณฐานวิทยา ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน จลนพลศาสตร์การสลายตัว และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองผง

1.2.1 ผลของการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองต่อสี ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาค และลักษณะทางสัณฐานวิทยา

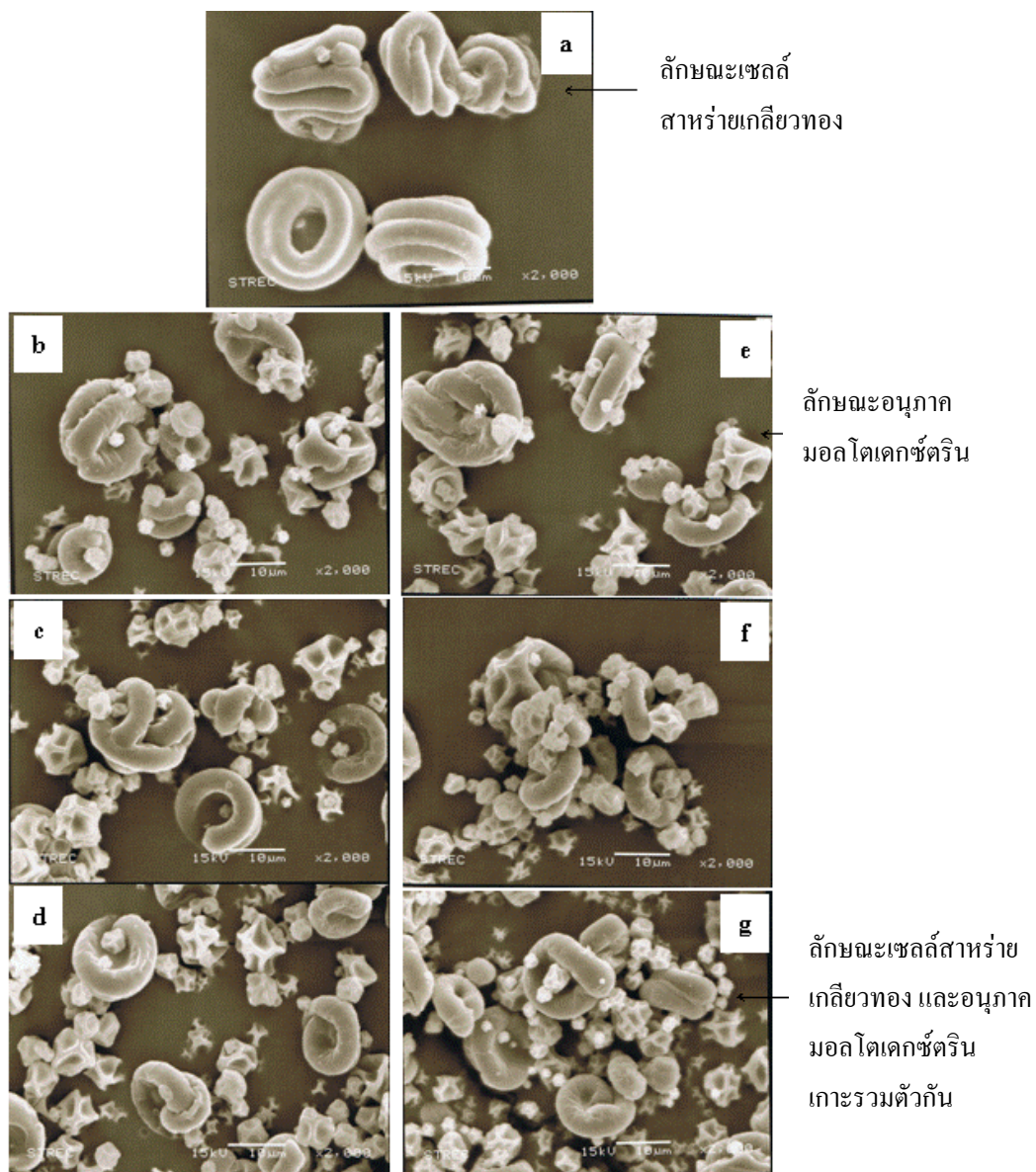
เมื่อห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองโดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารเคลือบ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 รวมทั้งปรับอัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทอง (สาร core) ต่อมอลโตเดกซ์ตรินที่อัตราส่วน 1:1 1:2 และ 1:3 โดยน้ำหนักแห้ง โดยพบว่าการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยมอลโตเดกซ์ตรินส่งผลให้ค่าความสว่างของสาหร่ายเกลียวทองผงนั้นมากขึ้น โดยตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ไม่ได้ผสมมอลโตเดกซ์ตรินมีค่า L^* เท่ากับ 20.5 ในขณะที่ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผสมมอลโตเดกซ์ตรินมีค่า L^* เพิ่มขึ้นเป็น 44-55 โดยเมื่อคำนวณเปรียบเทียบค่าความสว่าง ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองผงที่ไม่ได้ผสม กับสาหร่ายเกลียวทองที่ผสมมอลโตเดกซ์ตริน พบว่าค่าความสว่างเพิ่มขึ้นเป็น 17% 48% และ 69% สำหรับชุดที่ผสมด้วยมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 ที่อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตรินที่ 1:1 1:2 และ 1:3 ตามลำดับ และมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 12% 44% และ 62% สำหรับชุดที่ผสมด้วยมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 ที่อัตราส่วน 1:1 1:2 และ 1:3 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่ามอลโตเดกซ์ตริน DE 10 ให้ค่า L^* มากกว่า DE 20 และพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตรินทั้ง DE 10 และ DE 20 จาก 1:1 เป็น 1:2 และ 1:3 ค่าความสว่างของตัวอย่างก็เพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนเช่นกัน (ภาพที่ 19a) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากสีของมอลโตเดกซ์ตรินที่มีลักษณะเป็นผงสีขาวหลังผ่านการทำแห้งจึงทำให้ค่าความสว่าง หรือความขาว (L^*) ของผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีค่าเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อพิจารณาค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองชุดที่ไม่ได้ผสมมอลโตเดกซ์ตริน กับชุดที่ผสมมอลโตเดกซ์ตรินก็พบว่าค่าทั้งสองดังกล่าวมีค่าลดลง (ภาพที่ 19b และ 19c) แสดงให้เห็นว่ามอลโตเดกซ์ตรินส่งผลต่อค่าสีแดง และค่าสีเหลืองของสาหร่ายเกลียวทองเมื่อผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยเช่นเดียวกัน



ภาพที่ 19 ค่าความสว่าง (a) ค่าสีแดง (b) และค่าสีเหลือง (c) ของสาหร่ายเกลียวทองผงชุดควบคุม (control) สาหร่ายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 อัตราส่วน 1:1 (10DERt1) อัตราส่วน 1:2 (10DERt2) อัตราส่วน 1:3 (10DERt3) สาหร่ายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 อัตราส่วน 1:1 (20DERt1) อัตราส่วน 1:2 (20DERt2) อัตราส่วน 1:3 (20DERt3)

จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของสาหร่ายเกลียวทอง และสาหร่ายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 ที่อัตราส่วนต่างกัน พบว่าสาหร่ายเกลียวทองที่ไม่ได้ผสมมอลโตเดกซ์ตริน (ชุดควบคุม) มีลักษณะเป็นเกลียวคล้ายขดสปริง ในขณะที่บางเซลล์มีการคลายเกลียว และพบร่องรอยการเสียหายของเซลล์บางส่วน (ภาพที่ 20a) เมื่อพิจารณาในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผสมกับมอลโตเดกซ์ตริน พบว่าประกอบด้วยสองส่วน ได้แก่ ส่วนของเซลล์สาหร่ายที่มีลักษณะบิดเป็นเกลียว และส่วนของอนุภาคมอลโตเดกซ์ตรินที่มีลักษณะเป็นทรงกลม มีขนาดไม่สม่ำเสมอ (irregular spherical shape) โดยพบว่ามีทั้งขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ผสมกัน (ภาพที่ 20b-20g) นอกเหนือจากนั้นแล้ว พบว่ามีรอยขยุบ (dent) บริเวณผิวของ

อนุภาคมอลโตเดกซ์ตรินด้วย ทั้งในมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 โดยรอยยุบบริเวณผิวนั้น อาจเกิดจากการหดตัว (shrinkage) ของอนุภาคของมอลโตเดกซ์ตรินในระหว่างขั้นตอนการทำแห้ง (Saenz *et al.*, 2008)



ภาพที่ 20 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 2000 เท่าของสำหรับเกลียวทองผงชุดควบคุม (a) สำหรับเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 อัตราส่วน 1:1 (b) อัตราส่วน 1:2 (c) อัตราส่วน 1:3 (d) สำหรับเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 อัตราส่วน 1:1 (e) อัตราส่วน 1:2 (f) อัตราส่วน 1:3 (g)

ทั้งนี้ พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของมอลโตเดกซ์ตรินมากขึ้น พบปริมาณของอนุภาคมอลโตเดกซ์ตรินมากขึ้นเช่นกัน โดยอนุภาคมอลโตเดกซ์ตรินบางส่วนกระจายตัวอยู่ทั่วไป และบางส่วนเกาะอยู่บริเวณผิวของสาหร่ายเกลียวทอง นอกเหนือจากนั้นแล้ว พบว่าอนุภาคมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 นั้นเกาะรวมตัวกัน (agglomeration) อยู่บริเวณผิวของสาหร่ายเกลียวทอง มากกว่ามอลโตเดกซ์ตริน DE 10 อาจเป็นเพราะขนาดอนุภาคของมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 ที่ผ่านการย่อยมากกว่า มีขนาดเล็กกว่า และมีสมบัติในการยึดเกาะดีกว่ามอลโตเดกซ์ตริน DE 10 จึงทำให้ตรวจพบอนุภาคเกาะอยู่ที่บริเวณพื้นผิวมากกว่า (Finotelli and Rocha-Leao, 2005; Madene *et al.*, 2006) นอกจากนี้แล้ว พบว่าบนอนุภาคของมอลโตเดกซ์ตรินนั้นมีรู (pore) (ภาพผนวกที่ 16) ซึ่งบริเวณรูดังกล่าว อาจเป็นจุดที่สารซี-ไฟโคไซยานินแทรกซึมเข้าไป ทำให้เกิดการห่อหุ้มสารดังกล่าวไว้ (Desobry *et al.*, 1999)

เมื่อทำการตรวจสอบขนาดอนุภาค และการกระจายตัวของอนุภาคสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าสาหร่ายเกลียวทองผง (ชุดควบคุม) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยที่ 17.4 ไมโครเมตร และเมื่อทำการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยมอลโตเดกซ์ตรินทั้งชนิด DE 10 และ DE 20 พบว่าขนาดอนุภาคมีแนวโน้มใหญ่ขึ้น (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ขนาดอนุภาคของสาหร่ายเกลียวทองผงหลังการทำการทำแห้งแบบพ่นฝอย

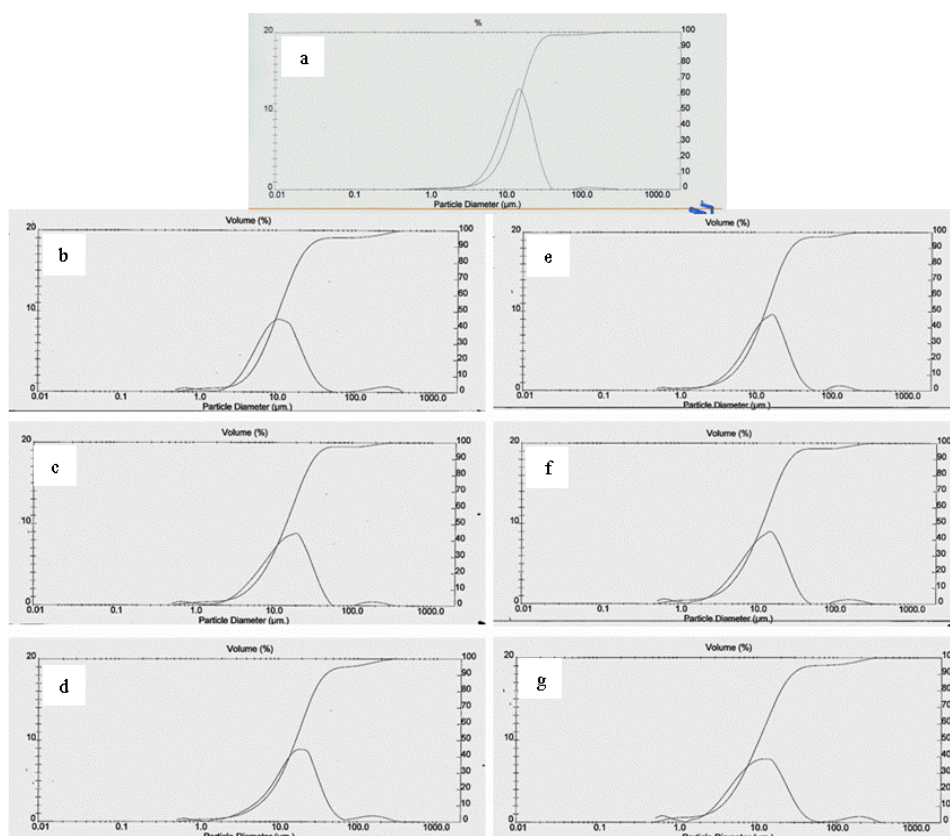
อัตราส่วนระหว่างสาหร่าย เกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตริน	ขนาดอนุภาค* (ไมโครเมตร)	
	มอลโตเดกซ์ตริน DE 10	มอลโตเดกซ์ตริน DE 20
1:1	21.42±0.74 ^{b, A}	18.51±0.38 ^{b, B}
1:2	21.83±1.36 ^{ab, A}	18.72±0.26 ^{ab, B}
1:3	26.02±1.50 ^{a, A}	21.05±0.66 ^{a, B}

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จำนวนตัวอย่าง = 3)

ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอัตราส่วนสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตริน
ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกันในแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดมอลโตเดกซ์ตริน

ทั้งนี้ พบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของตัวอย่างสำหรับยาเกลียวทองผงที่ห่อหุ้มด้วยมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 มีแนวโน้มใหญ่กว่า DE 20 ($p \leq 0.05$) นอกจากนั้นแล้ว พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของสารเคลือบมากขึ้นก็ทำให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยใหญ่ขึ้นเช่นกัน โดยเฉพาะที่อัตราส่วน 1:3 ซึ่งอาจเกิดจากการที่ระบบมีความหนืดมากขึ้นทำให้การกระจายตัวของละอองฝอยจาก atomizer นั้นมีประสิทธิภาพน้อยลง (Lee and Rosenberg, 2000; Gharsallaoui *et al.*, 2007)

เมื่อตรวจสอบการกระจายตัวของอนุภาคสำหรับยาเกลียวทองผงที่ไม่ได้ทำการผสมมอลโตเดกซ์ตรินนั้น พบว่ามีการกระจายตัวแบบปกติ (ภาพที่ 21a) กล่าวคือ ขนาดอนุภาคสำหรับยาเกลียวทองผงมีขนาดที่สม่ำเสมอ ใกล้เคียงกัน ในขณะที่สำหรับยาเกลียวทองที่ผสมมอลโตเดกซ์ตรินนั้นมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่กว้าง โดยมีลักษณะเป็นแบบ bimodal (ภาพที่ 21b-21g)



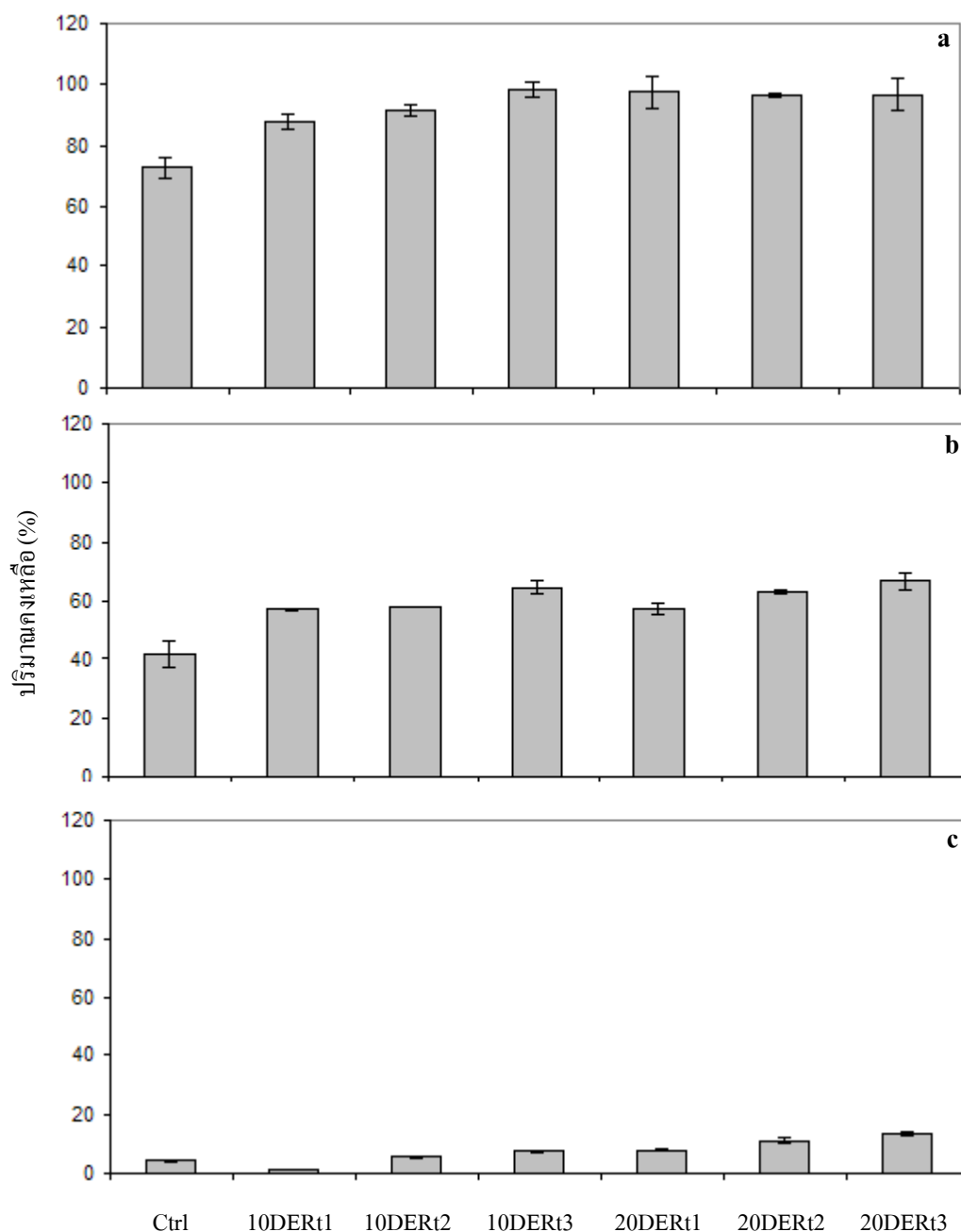
ภาพที่ 21 การกระจายตัวของอนุภาคสำหรับยาเกลียวทองผงชุดควบคุม (a) สำหรับยาเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 อัตราส่วน 1:1 (b) อัตราส่วน 1:2 (c) อัตราส่วน 1:3 (d) สำหรับยาเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 อัตราส่วน 1:1 (e) อัตราส่วน 1:2 (f) อัตราส่วน 1:3 (g)

ทั้งนี้ การกระจายตัวแบบ bimodal พบในตัวอย่างที่ห่อหุ้มด้วยมอลโตเดกซ์ตรินทั้ง DE 10 และ DE 20 แสดงให้เห็นว่าในตัวอย่างนั้นประกอบด้วยอนุภาคที่มีขนาดไม่สม่ำเสมอแตกต่างกัน คือประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็ก และอนุภาคขนาดใหญ่ ซึ่งอาจเป็นผลจากการที่ในตัวอย่างดังกล่าวประกอบด้วยองค์ประกอบสองชนิดด้วยกัน ได้แก่ สาหร่ายเกลียวทอง และอนุภาคมอลโตเดกซ์ตริน อีกทั้งอาจเกิดอนุภาคที่มีการเกาะตัวของอนุภาคมอลโตเดกซ์ตรินที่บริเวณผิวของสาหร่ายเกลียวทอง (สามารถพิจารณาเปรียบเทียบได้จากภาพแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา ภาพที่ 20) ซึ่งสอดคล้องกับ Finotelli and Rocha-Leao (2005) ได้ทำการศึกษาการห่อหุ้มกรดแอสคอร์บิกโดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารเคลือบ พบว่าการกระจายตัวของอนุภาคเป็นแบบ multi-modal และ bimodal

1.2.2 ผลของการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองต่อปริมาณของสารซี-ไฟโคไซยานิน จนพลศาสตร์การสลายตัว และสมบัติการต้านออกซิเดชัน

เมื่อห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 รวมถึงปรับอัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตรินที่อัตราส่วน 1:1 1:2 และ 1:3 แล้วทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส ทำการตรวจสอบหาปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินด้วยเทคนิค HPLC พบว่าปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานิน หลังเก็บรักษาไว้นาน 4 สัปดาห์นั้นลดลง โดยพบว่าปริมาณซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการห่อหุ้มทั้งจากมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 มีปริมาณคงเหลือมากกว่าตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ไม่ได้ผ่านการห่อหุ้ม แสดงให้เห็นว่าการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองโดยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารเคลือบนั้น สามารถช่วยรักษาปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินจากการเสื่อมสลายได้

ทั้งนี้ พบว่าในทุกอุณหภูมิเมื่อห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยมอลโตเดกซ์ตรินทั้ง DE 10 และ DE 20 หากเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทองกับมอลโตเดกซ์ตรินมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินคงเหลือมากขึ้น (ภาพที่ 22a-22c) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มอัตราส่วนของมอลโตเดกซ์ตรินทำให้มีปริมาณสารเคลือบมากเพียงพอในการห่อหุ้มสารไว้ภายใน เนื่องจากบนอนุภาคของมอลโตเดกซ์ตรินนั้นมีรู (ภาพผนวกที่ 16) ที่สารซี-ไฟโคไซยานินอาจแทรกซึมเข้าไป (Desobry *et al.*, 1999) อีกทั้งปริมาณสารเคลือบที่มากขึ้นอาจช่วยป้องกันเซลล์สาหร่ายที่เสียหายจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Gharsallaoui *et al.*, 2007)

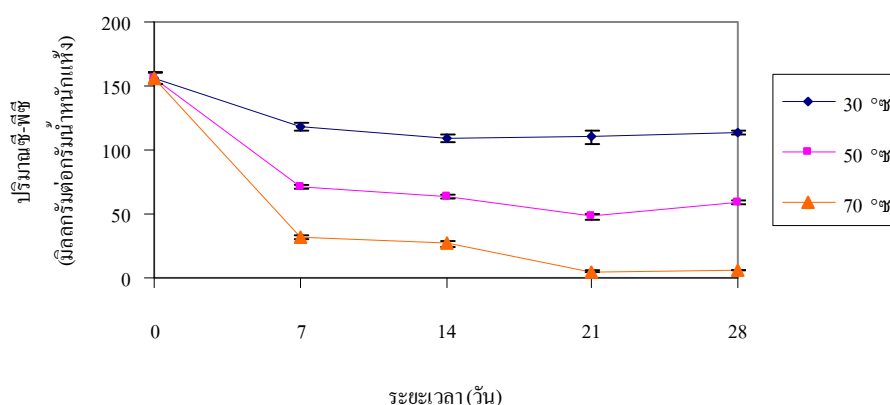


ภาพที่ 22 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินคองกลีอของตัวอย่างสำหรับเกี่ยวข้องกับของผงชุดควบคุม (Ctrl) สำหรับเกี่ยวข้องกับผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 อัตราส่วน 1:1 (10DERt1) อัตราส่วน 1:2 (10DERt2) อัตราส่วน 1:3 (10DERt3) สำหรับเกี่ยวข้องกับผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 อัตราส่วน 1:1 (20DERt1) อัตราส่วน 1:2 (20DERt2) อัตราส่วน 1:3 (20DERt3) หลังผ่านการเก็บรักษาไว้นาน 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (a) 50 องศาเซลเซียส (b) และ 70 องศาเซลเซียส (c)

โดยการไปเกาะรวมตัวบริเวณผิวของสาหร่ายเกลียวทอง ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจสอบลักษณะของสาหร่ายเกลียวทองด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ภาพที่ 20) โดยพบว่ามีอนุภาคมอลโตเดคซ์ตรินบางส่วนไปเกาะรวมตัวอยู่บริเวณผิวของสาหร่ายเกลียวทอง นอกจากนี้แล้วอาจเป็นเพราะการที่ขนาดของอนุภาคโดยเฉลี่ยของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผสมกับมอลโตเดคซ์ตรินที่อัตราส่วน 1:3 นั้นมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าที่อัตราส่วนอื่น (ตารางที่ 9) ทำให้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรน้อยกว่า อาจทำให้การสลายตัวของสารนั้นน้อยลง (Desobry *et al.*, 1999)

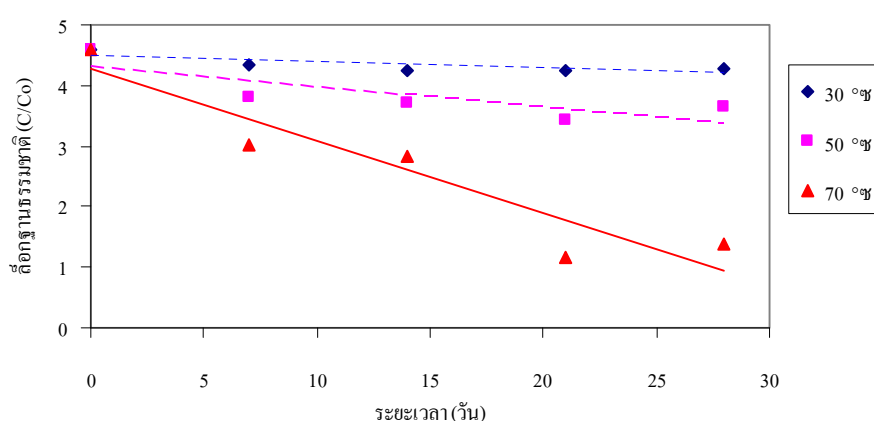
จากผลการทดลอง ยังพบว่าเมื่อห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองด้วยมอลโตเดคซ์ตรินชนิด DE 20 ช่วยรักษาปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินได้มากกว่ามอลโตเดคซ์ตริน DE 10 ซึ่งอาจเนื่องมาจากมอลโตเดคซ์ตริน DE 20 ซึ่งถูกย่อยมากกว่า มีปริมาณของพอลิแซคคาไรด์สายสั้นมากกว่า ส่งผลให้โครงสร้างที่ห่อหุ้มสารนั้นมีความยืดหยุ่น และมีช่องว่างน้อยกว่า จึงสามารถเก็บรักษาปริมาณสารได้ดีกว่า (Desobry *et al.*, 1999) ในขณะที่มอลโตเดคซ์ตรินที่มีค่า DE 10 ซึ่งถูกย่อยน้อยกว่า มีอัตราส่วนของพอลิแซคคาไรด์สายยาวที่มากกว่า ส่งผลให้โครงสร้างที่ห่อหุ้มสารนั้นขาดความยืดหยุ่น และมีช่องว่างให้ออกซิเจนผ่านเข้าออกได้มากกว่า จึงอาจส่งผลให้ความคงตัวของสารภายในนั้นเสื่อมสลายได้รวดเร็วกว่า (Wagner and Warthesen, 1995; Ersus and Yurdagel, 2007)

การศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของสารซี-ไฟโคไซยานินในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ไม่ได้ผ่านการห่อหุ้ม (ชุดควบคุม) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการห่อหุ้มด้วยมอลโตเดคซ์ตริน ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์ แล้วตรวจสอบการลดลงของสารซี-ไฟโคไซยานินเมื่อเวลาผ่านไป โดยหากปริมาณสารมีการลดลงแบบเป็นเส้นตรงแสดงว่าจลนพลศาสตร์การสลายตัวเป็นแบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (zero order kinetic) แต่หากลดลงแบบเอกโพเนนเชียล (exponential) แสดงว่าจลนพลศาสตร์การสลายตัวอาจเป็นแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first order kinetic) ซึ่งจากการทดลอง พบว่าสารซี-ไฟโคไซยานินมีแนวโน้มการลดลงแบบเอกโพเนนเชียล (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 23 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายเกลียวทอง (ชุดควบคุม) ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยเมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส เมื่อระยะเวลาผ่านไป

นอกจากนั้นแล้ว สามารถพิจารณาค่า regression coefficient (R^2) ของอัตราการสลายตัวของสารซี-ไฟโคไซยานิน เพื่อเปรียบเทียบระหว่างปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารต่อระยะเวลา, ภาพที่ 23) และปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเปรียบเทียบกับปริมาณสารตั้งต้นในสื่อฐานธรรมชาติต่อระยะเวลา, ภาพที่ 24) พบว่าค่า R^2 ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งมีค่ามากกว่าจึงอาจสรุปได้ว่าการสลายตัวของสารดังกล่าวเป็นแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ตารางที่ 10)



ภาพที่ 24 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน ($\ln C/C_0$) ในสาหร่ายเกลียวทอง (ชุดควบคุม) ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยเมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส เมื่อระยะเวลาผ่านไป

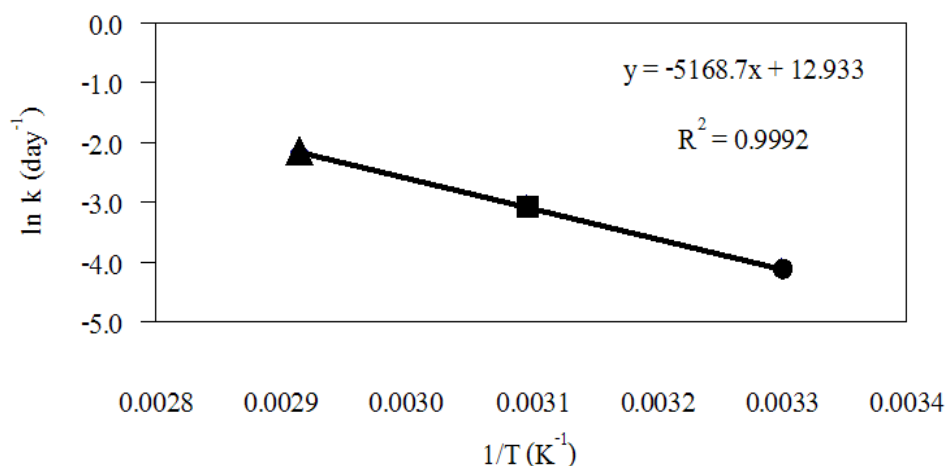
ตารางที่ 10 ค่า Regression coefficient (R^2) ระหว่างปฏิกิริยาอันดับศูนย์ และปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง
ของสารร้ายเกลียวทองผง

ตัวอย่าง	อุณหภูมิการเก็บรักษา (องศาเซลเซียส)	Regression coefficient (R^2)	
		Zero order kinetic	First order kinetic
สารร้ายเกลียวทองผง	30	0.56	0.57
	50	0.62	0.67
	70	0.67	0.88

ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Antelo *et al.* (2008) ที่ศึกษา
จลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของสารสกัดจากสารร้ายเกลียวทองในรูปของเหลว ซึ่งพบว่าการ
สลายตัวของสารสกัดดังกล่าวลดลงแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง โดยการสลายตัวของซี-ไฟโคไซยานิน
มีลักษณะเช่นเดียวกันกับรงควัตถุอื่น ๆ เช่น แครอทิน และแอนโทไซยานินซึ่งมีการสลายตัวเป็นไป
ตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเช่นเดียวกัน (Wagner and Warthesen, 1995; Ersus and Yurdagel, 2007)

นอกจากนี้แล้ว พบว่าค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของซี-
ไฟโคไซยานินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาสูงขึ้น โดยอัตราการเกิดปฏิกิริยาอาจ
เพิ่มขึ้น 2-3 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทุก ๆ 10 องศาเซลเซียส (สมพล, 2544) ทั้งนี้ Sarada *et al.*
(1999) พบว่าซี-ไฟโคไซยานินจากสารร้ายเกลียวทองสูญเสียความคงตัว (stability) อย่างมากที่
อุณหภูมิสูงกว่าหรือเท่ากับ 45 องศาเซลเซียส อีกทั้ง Chronakis (2001) กล่าวว่าอุณหภูมิในการ
สูญเสียสภาพธรรมชาติของซี-ไฟโคไซยานินบริสุทธิ์จากสารร้ายเกลียวทองนั้นอยู่ที่ 67 องศา
เซลเซียส เมื่อทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง differential scanning calorimetry (DSC) จึงอาจเป็นเหตุให้
ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสารร้ายเกลียวทองลดลงอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษา
สูงขึ้น

จากผลการทดลองที่ได้ เมื่อนำมาคำนวณค่าคงที่อัตราการสลายตัวของสาร
ซี-ไฟโคไซยานิน (สมการที่ 4) และค่าครึ่งชีวิตของสาร (สมการที่ 5) รวมถึงค่าพลังงานกระตุ้นการ
เกิดปฏิกิริยา (สมการที่ 6) ที่ได้จากกราฟอาร์เรเนียส (ภาพที่ 25) ทั้งในตัวอย่างสารร้ายเกลียวทองที่
ไม่ได้ทำการผสมมอลโตเดกซ์ตริน (ชุดควบคุม) และสารร้ายเกลียวทองที่ผ่านการห่อหุ้มได้ผลดัง
แสดงในตารางที่ 11



ภาพที่ 25 กราฟล็อกฐานธรรมชาติของค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของสารซี-ไฟโคไซยานิน กับอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 30 (▲) 50 (■) และ 70 (●) องศาเซลเซียส

ตารางที่ 11 ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัว (k) ค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของซี-ไฟโคไซยานิน และค่าพลังงานกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยา (E_a) ในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง

ตัวอย่าง	30 °ซ		50 °ซ		70 °ซ		E_a (kJ/mol)
	k (วัน ⁻¹)	$t_{1/2}$ (วัน)	k (วัน ⁻¹)	$t_{1/2}$ (วัน)	K (วัน ⁻¹)	$t_{1/2}$ (วัน)	
สาหร่ายเกลียวทอง (Pure)	0.0099	70	0.0354	20	0.1182	6	53.5
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน							
DE10 อัตราส่วน 1:1 (10DERt1)	0.0043	161	0.0199	35	0.1613	4	77.9
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน							
DE10 อัตราส่วน 1:2 (10DERt2)	0.0019	365	0.0200	35	0.1063	7	87.1
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน							
DE10 อัตราส่วน 1:3 (10DERt3)	0.0008	866	0.0143	48	0.1029	7	105.1
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน							
DE20 อัตราส่วน 1:1 (20DERt1)	0.0033	210	0.0180	39	0.0887	8	71.0
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน							
DE20 อัตราส่วน 1:2 (20DERt2)	0.0007	990	0.0146	47	0.0782	9	102.3
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน							
DE20 อัตราส่วน 1:3 (20DERt3)	0.0004	1733	0.0141	49	0.0682	10	111.7

จากผลการทดลอง พบว่าค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของสาร ซี-ไฟโคไซยานินนั้นสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาสูงขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากอุณหภูมิที่ไป กระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวนั่นเอง (สมพล, 2544) ทั้งนี้ค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอก ถึงระยะเวลาที่สารมีปริมาณลดลงเป็นครึ่งหนึ่งของปริมาณตั้งต้น ของสารซี-ไฟโคไซยานินก็มีค่า ลดลง เมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาสูงมากขึ้นเช่นเดียวกัน เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่าง สำหรับกล้วยทองที่ไม่ได้ทำการผสมมอลโตเดกซ์ตริน กับตัวอย่างที่ผสมด้วยมอลโตเดกซ์ตริน พบว่าค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวลดน้อยลง เมื่อทำการผสมสำหรับกล้วยทองด้วย มอลโตเดกซ์ตริน (ตารางที่ 11)

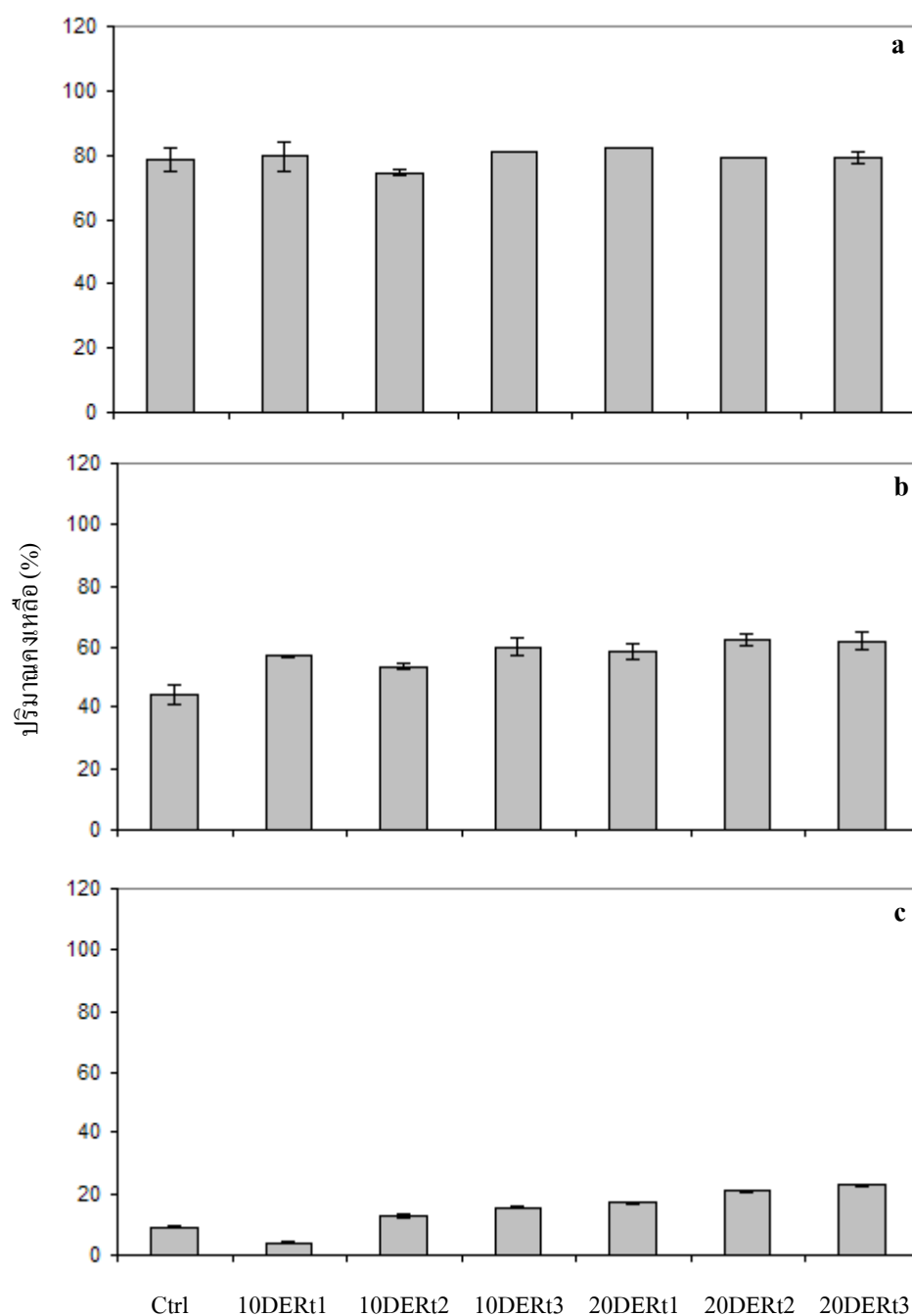
อีกทั้ง พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนสารเคลือบให้มากขึ้นก็ส่งผลให้ค่าคงที่อัตราการสลายตัวลดลงเช่นกัน โดยหากพิจารณาที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 30 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อ ห่อหุ้มสำหรับกล้วยทองด้วยมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 ค่าครึ่งชีวิตเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่าและ 20 เท่าที่ อัตราส่วน 1:1 และ 1:3 ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปริมาณมอลโตเดกซ์ตรินที่มากเพียงพอใน การห่อหุ้มสารสำคัญที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น รวมถึงชนิดของมอลโตเดกซ์ตรินที่ใช้ ซึ่งพบว่า มอลโตเดกซ์ตรินชนิด DE 20 ส่งผลให้ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของสาร ซี-ไฟโคไซยานินลดลงได้ดีกว่า DE 10 และสามารถเพิ่มค่าครึ่งชีวิตได้นานกว่า โดยหากพิจารณาที่ อุณหภูมิการเก็บรักษา 30 องศาเซลเซียส พบว่ามอลโตเดกซ์ตริน DE 20 สามารถเพิ่มค่าครึ่งชีวิตได้ มากกว่า DE 10 ประมาณ 2 เท่า ซึ่งอาจเป็นผลมาจากพอลิแซ็กคาไรด์สายสั้นในมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 ที่มีมากกว่าช่วยอุดช่องว่าง และทำให้โครงสร้างที่ห่อหุมนั้นมีความยืดหยุ่น สามารถรักษา ปริมาณสารได้ดีกว่า ดังที่ได้กล่าวมาแล้วเช่นกัน

ทั้งนี้ ผลที่ได้สอดคล้องกับผลการตรวจสอบค่าพลังงานกระตุ้นการเกิด ปฏิกิริยา (E_a) ในตัวอย่างสำหรับกล้วยทองผง ที่คำนวณได้จากสมการอาร์เรเนียส (ภาพที่ 25) ซึ่ง พบว่าสำหรับกล้วยทองที่ผสมด้วยมอลโตเดกซ์ตรินทั้ง DE 10 และ DE 20 มีค่าพลังงานกระตุ้น การเกิดปฏิกิริยาสูงมากขึ้น (ตารางที่ 11) ซึ่งการที่ค่าพลังงานกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาสูงมากขึ้นนี้ แสดงให้เห็นว่าการเกิดปฏิกิริยา หรือการสลายตัวของสารในตัวอย่างดังกล่าวเกิดขึ้นได้ยาก แสดง ว่าการห่อหุ้มสำหรับกล้วยทองด้วยเทคนิคการทำแบบพ่นฝอยโดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็น สารเคลือบนี้สามารถช่วยรักษาปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินในสำหรับกล้วยทองไว้ได้ โดยเมื่อ พิจารณาเปรียบเทียบที่อัตราส่วนระหว่างสำหรับกล้วยทองกับมอลโตเดกซ์ตรินที่ 1:1 1:2 และ 1:3 ก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา (k) การสลายตัว และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) กล่าวคือ

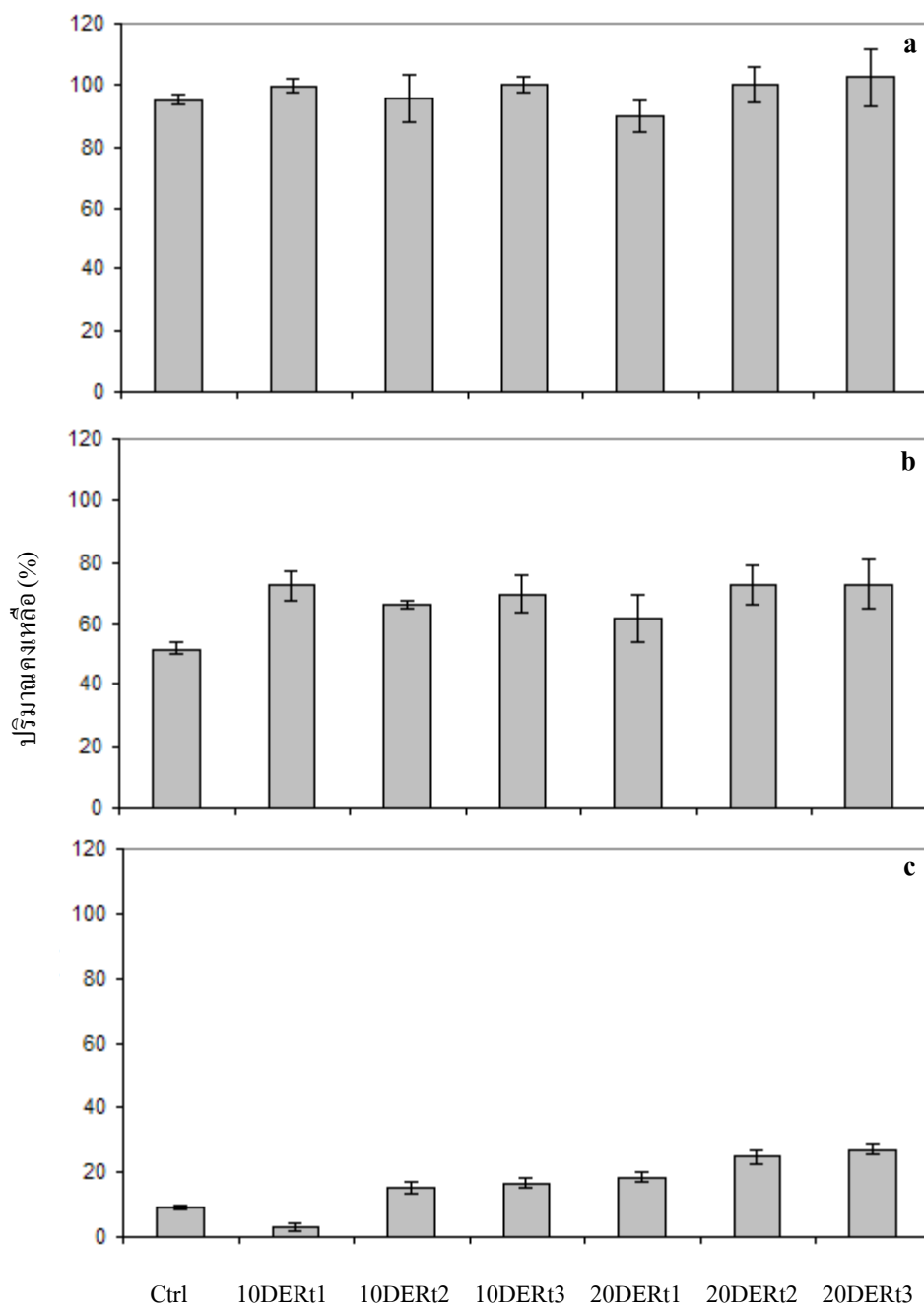
เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของมอลโตเดกซ์ตรินมากขึ้น ค่าพลังงานกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาก็เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างชนิดของมอลโตเดกซ์ตรินระหว่าง DE 10 และ DE 20 ก็ให้ผลเช่นกัน กล่าวคือมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 ให้ค่าพลังงานกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาสูงกว่านั่นเอง

ทั้งนี้ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Wagner and Warthesen (1995) ที่ศึกษาเปรียบเทียบมอลโตเดกซ์ตริน 3 ชนิด ได้แก่ DE 4 DE 15 และ DE 25 ที่ใช้เป็นสารเคลือบในการรักษาความคงตัวของแครอทที่นึ่งจากแครอท โดยใช้การห่อหุ้มด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย รวมถึง Ersus and Yurdagel (2007) ซึ่งศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินจากแครอทม่วง โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยเช่นกัน โดยเปรียบเทียบสารเคลือบ 3 ชนิดระหว่างมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 DE 20 และ DE 30 ซึ่งคณะผู้วิจัยทั้งสองทีมพบว่ามอลโตเดกซ์ตริน DE สูงสามารถรักษาสมบัติของสารได้ดีกว่า DE ต่ำ

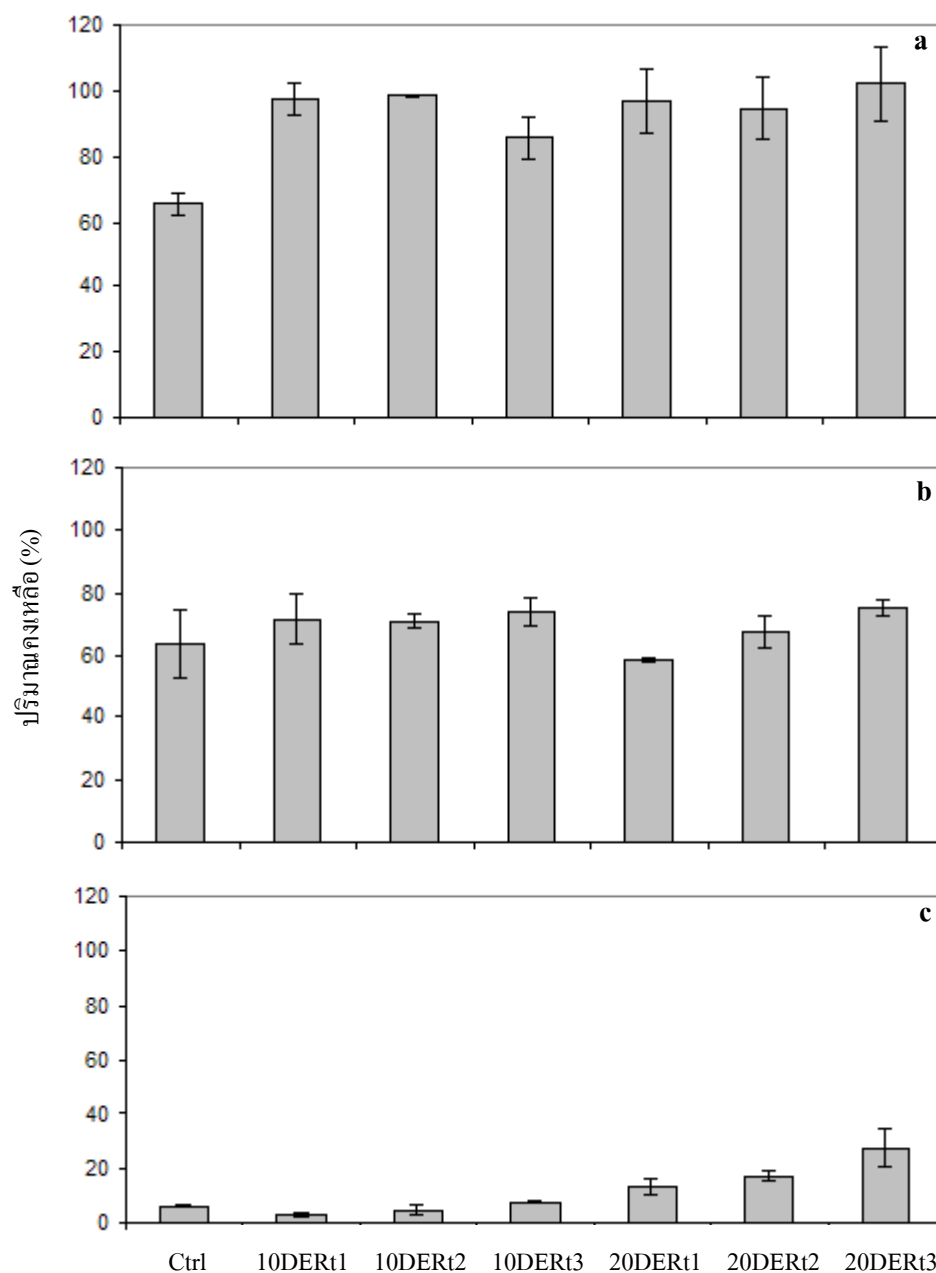
เมื่อพิจารณาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารห่อหุ้มกล้วยทองชุดควบคุมที่ไม่ได้ทำการผสมมอลโตเดกซ์ตริน และสารห่อหุ้มกล้วยทองที่ผสมด้วยมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 รวมถึงปรับอัตราส่วนระหว่างสารห่อหุ้มกล้วยทองต่อมอลโตเดกซ์ตรินที่อัตราส่วน 1:1 1:2 และ 1:3 แล้วทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าหลังเก็บรักษาไว้นาน 4 สัปดาห์ สมบัติการต้านออกซิเดชันที่ตรวจวัดด้วยวิธี total phenols assay (ภาพที่ 26) รวมถึงวิธี ABTS และ DPPH radical scavenging capacity (ภาพที่ 27 และ 28 ตามลำดับ) มีค่าลดลง ทั้งนี้ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 30 องศาเซลเซียส สมบัติการต้านออกซิเดชันที่ตรวจสอบด้วยวิธีทั้ง 3 วิธีดังกล่าวลดลงเพียงเล็กน้อย แต่ลดลงมากขึ้นที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 50 องศาเซลเซียส และลดลงอย่างมากที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 70 องศาเซลเซียส โดยพบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารห่อหุ้มกล้วยทองที่ผ่านการผสมด้วยมอลโตเดกซ์ตรินทั้งชนิด DE 10 และ DE 20 มีปริมาณของสมบัติการต้านออกซิเดชันที่ตรวจสอบด้วยวิธีทั้ง 3 วิธี คงเหลือมากกว่าตัวอย่างสารห่อหุ้มกล้วยทองชุดควบคุมที่ไม่ได้ทำการผสมมอลโตเดกซ์ตริน แสดงให้เห็นว่าการห่อหุ้มสารห่อหุ้มกล้วยทองด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารเคลือบนั้น สามารถช่วยรักษาสมบัติการต้านออกซิเดชันจากการเสื่อมสลายได้ เช่นเดียวกับปริมาณของสารซี-ไฟโคไซยานิน



ภาพที่ 26 ปริมาณคงเหลือสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี total phenols assay ในสารละลายเกลียวทองชุดควบคุม (Ctrl) สารละลายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 อัตราส่วน 1:1 (10DERt1) 1:2 (10DERt2) และ 1:3 (10DERt3) สารละลายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 อัตราส่วน 1:1 (20DERt1) 1:2 (20DERt2) และ 1:3 (20DERt3) หลังผ่านการเก็บรักษาไว้นาน 4 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 30 °C (a) 50 °C (b) และ 70 °C (c)



ภาพที่ 27 ปริมาณคงเหลือสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS assay ในสาหร่ายเกลียวทอง ชุดควบคุม (Ctrl) สาหร่ายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 อัตราส่วน 1:1 (10DERt1) 1:2 (10DERt2) และ 1:3 (10DERt3) สาหร่ายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 อัตราส่วน 1:1 (20DERt1) 1:2 (20DERt2) และ 1:3 (20DERt3) หลังผ่านการเก็บรักษาไว้นาน 4 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 30 °C (a) 50 °C (b) และ 70 °C (c)



ภาพที่ 28 ปริมาณคลงเหลือสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH assay ในสาหร่ายเกลียวทอง ชูดควบคุม (Ctrl) สาหร่ายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 อัตราส่วน 1:1 (10DERt1) 1:2 (10DERt2) และ 1:3 (10DERt3) สาหร่ายเกลียวทองผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20 อัตราส่วน 1:1 (20DERt1) 1:2 (20DERt2) และ 1:3 (20DERt3) หลังผ่านการเก็บรักษาไว้นาน 4 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 30 °C (a) 50 °C (b) และ 70 °C (c)

เมื่อพิจารณาสมบัตการต้านออกซิเดชันในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อตรวจวัดด้วยวิธี total phenols assay พบว่าสาหร่ายเกลียวทองชุดควบคุมมีสมบัตการต้านออกซิเดชันคงเหลือ 44% ในขณะที่สาหร่ายเกลียวทองที่ห่อหุ้มด้วยมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 นั้นสมบัตการต้านออกซิเดชันคงเหลือที่ 53-60% และ 58-62% ตามลำดับ ผลการตรวจสอบสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ ABTS พบว่าการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองนั้นเพิ่มปริมาณคงเหลือของสมบัตการต้านออกซิเดชันเป็นกว่า 30% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายเกลียวทองชุดควบคุมนั้นมีสมบัตการต้านออกซิเดชันคงเหลือ 63% โดยหากทำการห่อหุ้มแล้วสามารถทำให้สมบัตการต้านออกซิเดชันคงเหลือเพิ่มขึ้นเป็น 70% ทั้งนี้ผลที่ได้จากการตรวจสอบสมบัตการต้านออกซิเดชันด้วยเทคนิคต่าง ๆ ในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ไม่ได้ทำการผสมมอลโตเดกซ์ตริน กับสาหร่ายเกลียวทองที่ห่อหุ้มด้วยมอลโตเดกซ์ตริน DE 10 และ DE 20 ที่อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตรินที่ 1:1 1:2 และ 1:3 ก็แสดงผลสอดคล้องกันกับผลการตรวจสอบปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินที่ได้รายงานไว้แล้วข้างต้น กล่าวคือเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของมอลโตเดกซ์ตรินมากขึ้นก็สามารถรักษาปริมาณของสารไว้ได้มากขึ้น

โดยเมื่อนำค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของสมบัตการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี total phenols assay (TP) ABTS และ DPPH -radical scavenging assay ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มาคำนวณหาค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ได้ค่าดังตารางที่ 12

พบว่าการห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทองโดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารเคลือบช่วยเพิ่มค่า $t_{1/2}$ ให้กับสาหร่ายเกลียวทองผงมากขึ้น เมื่อพิจารณาผลของอัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทองกับมอลโตเดกซ์ตรินก็พบว่าการเพิ่มอัตราส่วนมอลโตเดกซ์ตรินมากขึ้น ก็ส่งผลให้ค่า $t_{1/2}$ เพิ่มมากขึ้นด้วย และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของมอลโตเดกซ์ตรินก็พบว่าชนิด DE 20 ให้ค่า $t_{1/2}$ มากกว่าชนิด DE 10 ซึ่งก็สอดคล้องกับค่าคงที่อัตราการสลายตัว และค่าครึ่งชีวิตของสารซี-ไฟโคไซยานินตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น (ตารางที่ 11)

เมื่อตรวจสอบสมบัตการต้านออกซิเดชัน และปริมาณซี-ไฟโคไซยานินพบว่าปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัตการต้านออกซิเดชันต่าง ๆ มีความสัมพันธ์เชิงบวก (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 12 ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัว (k) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของสมบัติการออกซิเดชันด้วยวิธีการต่าง ๆ เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 70 °ซ

ตัวอย่าง	TP		ABTS		DPPH	
	k (วัน ⁻¹)	$t_{1/2}$ (วัน)	k (วัน ⁻¹)	$t_{1/2}$ (วัน)	k (วัน ⁻¹)	$t_{1/2}$ (วัน)
สารละลายกลีเซอรอล (Pure)	0.087	8	0.088	8	0.112	6
สารละลายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10						
อัตราส่วน 1:1 (10DERt1)	0.126	6	0.142	5	0.134	5
สารละลายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10						
อัตราส่วน 1:2 (10DERt2)	0.075	9	0.057	12	0.095	7
สารละลายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10						
อัตราส่วน 1:3 (10DERt3)	0.067	10	0.061	11	0.084	8
สารละลายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20						
อัตราส่วน 1:1 (20DERt1)	0.063	11	0.072	10	0.067	10
สารละลายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20						
อัตราส่วน 1:2 (20DERt2)	0.054	13	0.056	12	0.067	10
สารละลายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20						
อัตราส่วน 1:3 (20DERt3)	0.051	13	0.039	18	0.045	15

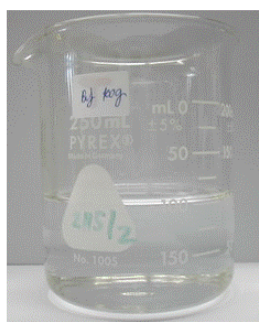
ตารางที่ 13 ค่าสหสัมพันธ์ (Pearson correlation) ของปริมาณซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการออกซิเดชันที่ตรวจสอบด้วยเทคนิคที่ต่างกัน

	ซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC)	ซี-ไฟโคไซยานิน (Spectrophotometry)	Total phenols assay	ABTS assay
ซี-ไฟโคไซยานิน (Spectrophotometry)	0.997			
Total phenols assay	0.959	0.967		
ABTS assay	0.972	0.974	0.935	
DPPH assay	0.897	0.907	0.900	0.896

2. ผลของการห่อหุ้มสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองด้วยเทคนิคมัลติเฟลอิอิมัลชัน

เตรียมมัลติเฟลอิอิมัลชันแบบ 2 ขั้นตอน โดยเตรียมซิงเกิลอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (water-in-oil emulsion) จากนั้นนำซิงเกิลอิมัลชันที่ได้มาเตรียมมัลติเฟลอิอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion)

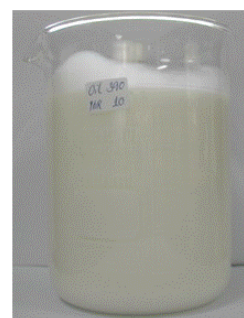
ซิงเกิลอิมัลชันเตรียมโดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ซึ่งมีลักษณะใส (ชุดควบคุม) หรือสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองซึ่งมีสีน้ำเงิน (ชุดทดลอง) ผสมกับน้ำมันถั่วเหลืองและ PGPR โดยพบว่าเฟสน้ำซึ่งหนักรวมน้ำมันแยกชั้นอยู่บริเวณด้านล่าง (ภาพที่ 29) เมื่อนำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมแบบมือถือ (hand homogenizer) และผ่านเครื่องปั่นผสมความดันสูง (high pressure homogenizer) น้ำมันถั่วเหลือง PGPR และเฟสของน้ำผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นซิงเกิลอิมัลชันที่มีลักษณะเป็นสีขาวสำหรับชุดควบคุม และสีฟ้าสำหรับชุดทดลอง (ภาพที่ 29)



บัฟเฟอร์



น้ำมันถั่วเหลืองผสมกับบัฟเฟอร์



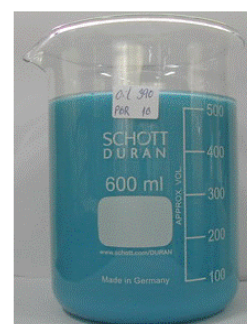
ซิงเกิลอิมัลชันชุดควบคุม



สารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง



น้ำมันถั่วเหลืองผสมกับ
สารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง



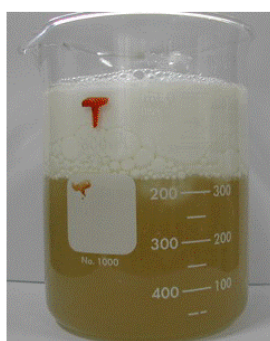
ซิงเกิลอิมัลชันชุดทดลอง

ภาพที่ 29 วัตถุดิบที่ใช้เตรียมซิงเกิลอิมัลชัน (single emulsion) และลักษณะซิงเกิลอิมัลชัน

การเตรียมมัลติเฟลอิมีลชันในขั้นตอนที่ 2 เตรียมโดยใช้ซิงเกลิอิมัลชันชุดควบคุม หรือชุดทดลอง ผสมกับสารละลายกัมอะราบิก ที่มีลักษณะเป็นสีเหลือง พบว่าซิงเกลิอิมัลชันแยกตัวอยู่บริเวณด้านบน (ภาพที่ 30) เมื่อนำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมแบบมือถือ (hand homogenizer) และผ่านเครื่องปั่นผสมความดันสูง (high pressure homogenizer) มัลติเฟลอิมีลชันที่ได้มีลักษณะเป็นสีขาวสำหรับชุดควบคุม และเป็นสีฟ้าอ่อนสำหรับชุดทดลอง (ภาพที่ 30)



ซิงเกลิอิมัลชันชุดควบคุม
กับสารละลายกัมอะราบิก



ซิงเกลิอิมัลชันชุดควบคุม
ผสมสารละลายกัมอะราบิก



มัลติเฟลอิมีลชันชุดควบคุม



ซิงเกลิอิมัลชันชุดทดลอง
กับสารละลายกัมอะราบิก



ซิงเกลิอิมัลชันชุดทดลอง
ผสมสารละลายกัมอะราบิก



มัลติเฟลอิมีลชันชุดทดลอง

ภาพที่ 30 วัสดุที่ใช้เตรียมมัลติเฟลอิมีลชัน (multiple emulsion) และลักษณะมัลติเฟลอิมีลชัน

เมื่อตรวจสอบขนาดอนุภาคของอิมัลชัน พบว่าซิงเกลิอิมัลชันมีขนาดอยู่ที่ 0.7-0.9 ไมโครเมตร (ตารางที่ 14) โดยพบว่าเมื่อเติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองทำให้ซิงเกลิอิมัลชันมีขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น ($p < 0.05$) อาจเนื่องจากการเติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง ซึ่งเป็นโปรตีนทำให้ระบบมีความหนืดมากขึ้น โดยความหนืดที่เพิ่มมากขึ้นนี้ส่งผลให้ประสิทธิภาพของการทำให้เกิดหยดอิมัลชันขนาดเล็กของเครื่องปั่นผสมความดันสูงนั้นลดลง (Floury *et al.*, 2000) จึงทำให้ขนาดอนุภาคใหญ่กว่าชุดควบคุม เมื่อผ่านเครื่องปั่นผสมความดันสูงที่สภาวะเดียวกัน (McClement, 1999) เมื่อตรวจสอบขนาดอนุภาคของมัลติเฟลอิมีลชัน พบว่ามีขนาดอนุภาคอยู่ที่ 1.9-2.0

ไมโครเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าซิงเกิลอิมัลชัน โดยผ่านเครื่องปั่นผสมความดันสูงที่สภาวะเดียวกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความหนืดของสารละลายกัมมะราบิกนั้นเอง นอกจากนั้นแล้ว พบว่าขนาดอนุภาคของมัลติเฟลลิมัลชันทั้งชุดควบคุม และชุดทดลองที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองมีขนาดไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)

ตารางที่ 14 ขนาดอนุภาคของซิงเกิลอิมัลชัน และมัลติเฟลลิมัลชัน

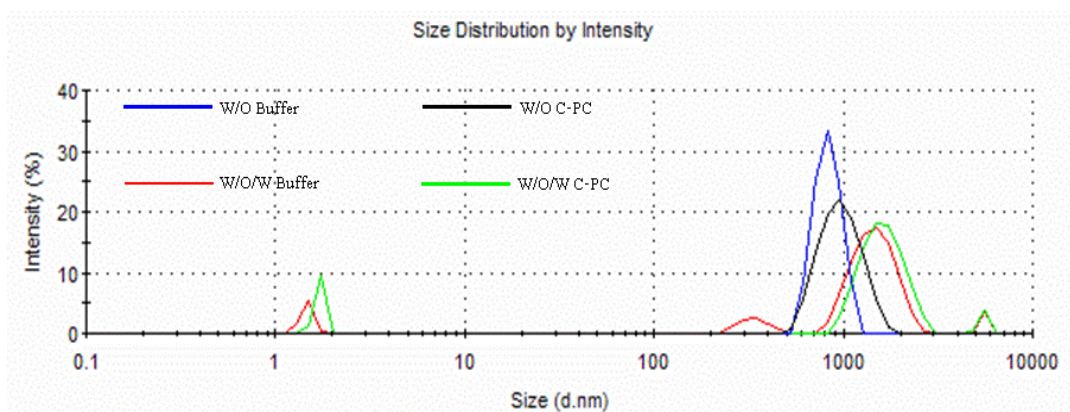
ตัวอย่าง		ขนาดอนุภาค* (ไมโครเมตร)
ซิงเกิล	ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (W/O Buf)	0.7 ± 0.2^b
อิมัลชัน	ที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (W/O CPC)	0.9 ± 0.2^a
มัลติเฟลลิมัลชัน	ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (W/O/W Buf)	2.0 ± 0.3^{ns}
อิมัลชัน	ที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (W/O/W CPC)	1.9 ± 0.1^{ns}

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จำนวนตัวอย่าง = 2)

ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

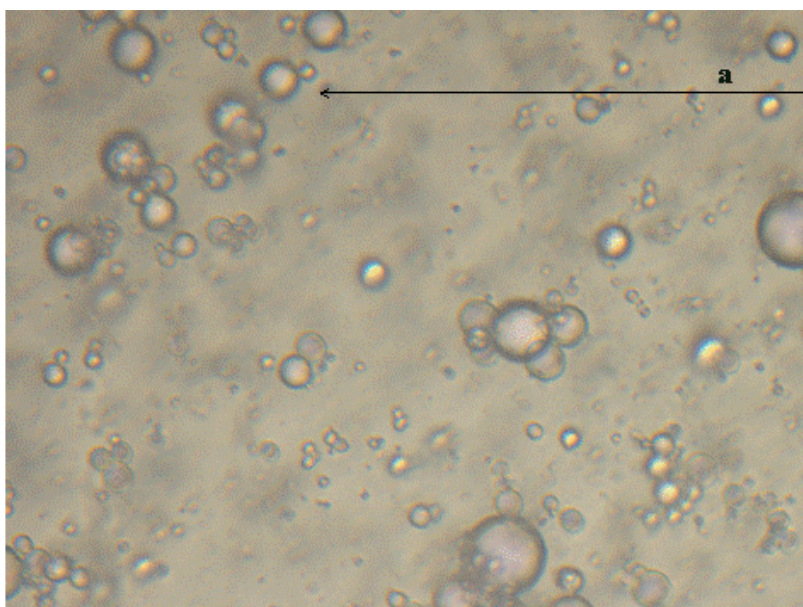
เมื่อตรวจสอบลักษณะการกระจายตัวของขนาดอนุภาค พบว่าซิงเกิลอิมัลชันมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคแบบปกติ (monomodal distribution) คือ ขนาดอนุภาคส่วนใหญ่มีขนาดใกล้เคียงกัน สม่่าเสมอ (ภาพที่ 31) ส่วนมัลติเฟลลิมัลชันมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเป็นแบบ poly-modal distribution (ภาพที่ 31) คือ ขนาดอนุภาคมีการกระจายตัวสูง มีขนาดไม่สม่่าเสมอกัน โดยอนุภาคขนาดเล็กอาจเกิดจากแรงเฉือนในขั้นตอนการปั่นผสมด้วยเครื่องปั่นผสมความดันสูง (high-pressure homogenizer) ส่งผลให้อนุภาคอิมัลชันบางส่วนแตกตัวออกมาเป็นอนุภาคขนาดเล็ก (Garti, 1997) ทั้งนี้ ขนาดอนุภาคของมัลติเฟลลิมัลชันส่วนใหญ่อยู่ที่ 2 ไมโครเมตร นอกจากนี้แล้ว พบอนุภาคที่มีขนาดประมาณ 0.7 ไมโครเมตร ซึ่งอาจเป็นอนุภาคอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ และพบอนุภาคบางส่วนมีขนาดประมาณ 8-9 ไมโครเมตร อาจเป็นอนุภาคของกัมมะราบิก ส่วนอนุภาคที่มีขนาดระหว่าง 2-3 นาโนเมตรนั้น อาจเป็นฟองอากาศ เนื่องจากอนุภาคอิมัลชันโดยทั่วไปมีขนาดเล็กสุดอยู่ที่ประมาณ 10 นาโนเมตร (ปาริฉัตร, 2549)



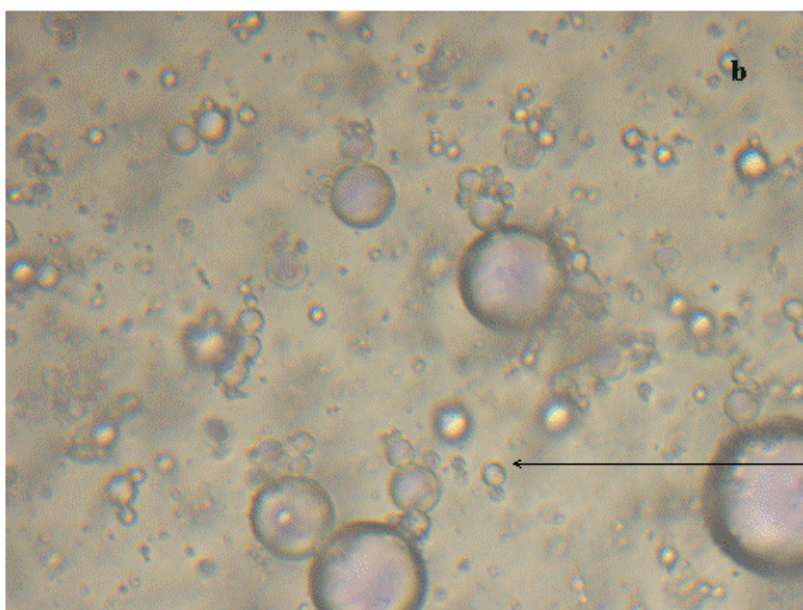
ภาพที่ 31 การกระจายตัวของอนุภาคซึ่งเกิดอิมัลชันชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (W/O Buffer) ชุดทดลองที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (W/O C-PC) และมัลติเฟิลอิมัลชันชุดควบคุม (W/O/W Buffer) และชุดทดลอง (W/O/W C-PC)

ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Su *et al.* (2008) ที่วัดขนาดมัลติเฟิลอิมัลชันชนิด W/O/W ซึ่งเตรียมจากการใช้ PGPR 2% และสารละลายกัมมะธราบิก 10% ซึ่งพบว่ามัลติลักษณะเป็น bimodal distribution คือมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคอยู่สองขนาดด้วยกัน ได้แก่ ขนาดที่ 0.8 และขนาดที่ 8 ไมโครเมตร รวมทั้ง Bonnet *et al.* (2009) ได้เตรียมมัลติเฟิลอิมัลชันชนิด W/O/W โดยขนาดของซึ่งเกิดอิมัลชัน (W/O) มีลักษณะการกระจายตัวเป็นแบบ monodisperse โดยมีขนาดส่วนใหญ่อยู่ที่ประมาณ 1 ไมโครเมตร และเมื่อเป็นมัลติเฟิลอิมัลชันแล้วมีการกระจายตัวเป็นแบบ trimodal distribution โดยมีอนุภาคส่วนใหญ่มีขนาดอยู่ที่ประมาณ 9-10 ไมโครเมตร แล้วอนุภาคขนาดเล็กบางส่วนอยู่ที่ประมาณ 2 ไมโครเมตร และอนุภาคขนาดใหญ่ที่ 20 ไมโครเมตร

เมื่อตรวจสอบลักษณะของซึ่งเกิดอิมัลชัน และมัลติเฟิลอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ภาพที่ 32 และ 33 ตามลำดับ) พบว่าซึ่งเกิดอิมัลชันทั้งชุดควบคุม และชุดทดลองมีลักษณะเป็นหยดน้ำกระจายตัวอยู่ในเฟสต่อเนื่อง (continuous phase) ที่เป็นน้ำมันถั่วเหลือง ทั้งนี้ อาจสังเกตพบว่าหยดน้ำของซึ่งเกิดอิมัลชันชุดทดลองที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองมีขนาดที่ใหญ่กว่าหยดน้ำของซึ่งเกิดอิมัลชันชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจวัดขนาดอนุภาค (ตารางที่ 14)



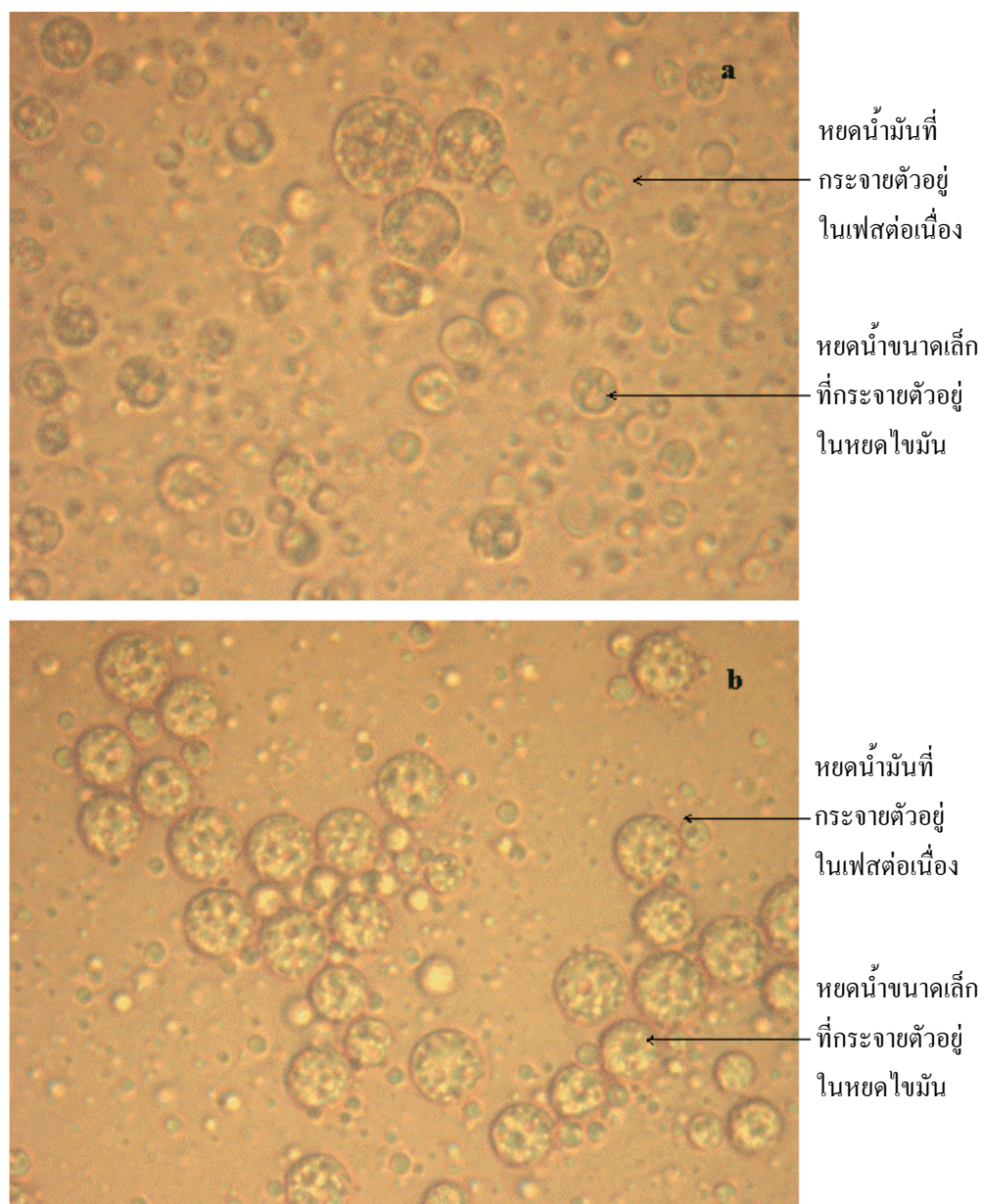
ลักษณะหยดน้ำ
ที่กระจายตัวอยู่ในเฟส
ต่อเนื่องที่เป็นน้ำมัน
(water-in-oil emulsion)



ลักษณะหยดน้ำ
ที่กระจายตัวอยู่ในเฟส
ต่อเนื่องที่เป็นน้ำมัน
(water-in-oil emulsion)

ภาพที่ 32 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่าของซิงเกิลอีมัลชัน (single emulsion)
ชุดควบคุม (a) ชุดทดลอง (b)

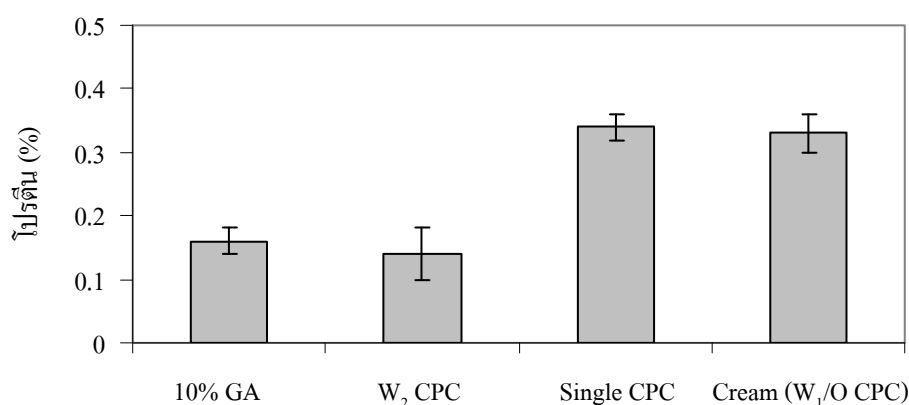
ลักษณะของมัลติเฟสอีมัลชันทั้งในชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ มีหยดน้ำที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ (ชุดควบคุม) หรือสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (ชุดทดลอง) ขนาดเล็กกระจายตัวอยู่ในหยดไขมัน ซึ่งหยดไขมันดังกล่าวก็กระจายตัวอยู่ในเฟสต่อเนื่องที่เป็นน้ำ (external water phase) ดังแสดงในภาพที่ 33 แสดงให้เห็นถึงการห่อหุ้มสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (internal water phase, W_1) ไว้ภายในหยดไขมัน



ภาพที่ 33 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่าของมัลติเฟลิมัลชัน (multiple emulsion) ชุดควบคุม (a) ชุดทดลอง (b)

เนื่องจากสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง หรือสารซี-ไฟโคไซยานินมีสมบัติเป็นโปรตีน ดังนั้นจึงตรวจสอบประสิทธิภาพการห่อหุ้ม (encapsulation efficiency) โดยการตรวจสอบปริมาณโปรตีนของเฟสน้ำด้านนอก (external water phase, W_2) เพื่อหาปริมาณโปรตีนของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองที่หลุดออกมาจากเฟสน้ำด้านในของซิงเกิลอิมัลชัน (single emulsion, W_1/O) แล้วเปรียบเทียบกับค่าโปรตีนของสารละลายกัมอะราบิกที่เป็นเฟสน้ำด้านนอก

จากผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในการห่อหุ้มของมัลติเฟลิมัลชันชุดทดลองที่เดิมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง พบว่าปริมาณโปรตีนที่ตรวจวัดได้ในน้ำเฟสนอก (external water phase, W_2) ภายหลังการเหวี่ยงแยกนั้นมีค่า 0.14 ± 0.06 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าโปรตีนของสารละลายกัมอะราบิก ความเข้มข้น 10% ที่ใช้เป็นองค์ประกอบในน้ำเฟสนอกซึ่งมีค่าอยู่ที่ 0.16 ± 0.02 (ภาพที่ 34) แสดงว่าไม่มีการหลุดออกมาของโปรตีนซี-ไฟโคไซยานินจากน้ำเฟสใน (internal water phase) สู่น้ำเฟสนอก (external water phase) นอกจากนั้นแล้ว ยังยืนยันได้โดยค่าโปรตีนของซิงเกิลมัลชันมีค่า 0.34 ± 0.02 ซึ่งก็ใกล้เคียงกับค่าโปรตีนของส่วนครีมที่ได้ภายหลังการเหวี่ยงแยกซึ่งมีค่า 0.33 ± 0.03 แสดงว่า ระบบมัลติเฟลิมัลชันนี้สามารถห่อหุ้มสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองไว้ได้ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าว สอดคล้องกับ Su *et al.* (2008) ที่พบว่าปริมาณ PGPR ที่ใช้ในการเตรียม W/O อิมัลชันที่ระดับ 2% และสารละลายกัมอะราบิกที่ 10% สามารถสร้าง W/O/W ที่มีประสิทธิภาพการห่อหุ้มได้มากกว่า 90%

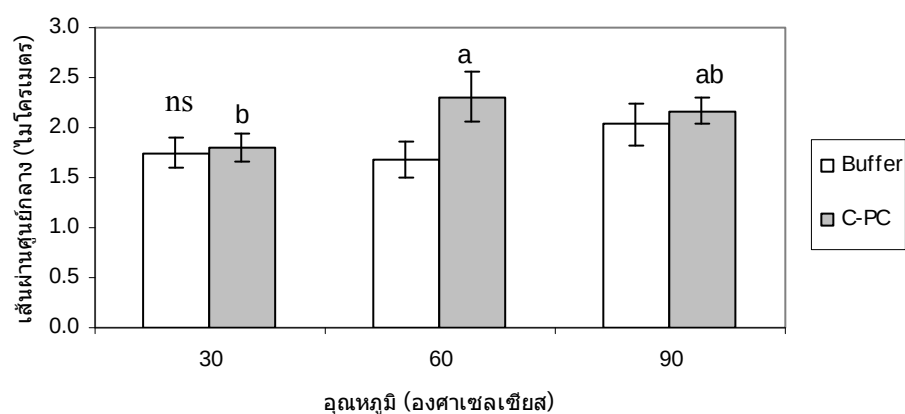


ภาพที่ 34 ปริมาณโปรตีนของสารละลายกัมอะราบิกความเข้มข้น 10% (10% GA) ซิงเกิลมัลชันชุดทดลองที่เดิมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (Single CPC) น้ำเฟสนอก (W_2 CPC) และชั้นครีม (Cream W_1/O CPC) ของมัลติเฟลิมัลชันที่ได้หลังจากการเหวี่ยงแยก

ทั้งนี้เมื่อทำการเก็บรักษามัลติเฟลิมัลชันไว้นาน 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจสอบการแยกชั้น หรือการเกิดครีม (creaming) พบว่าอิมัลชันทั้งสองคงตัวได้ดี ไม่พบการเกิดครีม แสดงให้เห็นว่า ระบบในการผลิตอิมัลชันครั้งนี้มีความคงตัวที่ดี ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะกัมอะราบิกนั้นสร้างชั้นที่หนา (thick) และมีขนาดใหญ่ ล้อมรอบหยดอิมัลชัน (emulsion droplet) ส่งผลให้อิมัลชันเกิดความคงตัว (Dickinson, 2003) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Su *et al.*

(2008) ที่เตรียมมัลติเพิลอิมัลชันซึ่งมีความคงตัว โดยใช้ซิงเกิลอิมัลชันที่ประกอบด้วยบัฟเฟอร์ pH 6.6 กับน้ำมันถั่วเหลืองที่มี PGPR ความเข้มข้น 2% เป็นอิมัลซิฟายเออร์ และใช้สารละลายกัมอะราบิกความเข้มข้น 10% เป็นอิมัลซิฟายเออร์และน้ำเฟสนอก

เนื่องจากระบบอิมัลชันในอาหารหลายประเภท ต้องผ่านกระบวนการผลิตที่ให้ความร้อน (thermal processing) เช่น กระบวนการฆ่าเชื้อแบบพาสเตอร์ (pasteurization) หรือการทำไร้เชื้อ (sterilization) ดังนั้น ระบบอิมัลชันที่เตรียมขึ้น ควรมีความคงตัวต่อการให้ความร้อนดังกล่าว (McClement and Guzey, 2006) จากการทดสอบความคงตัว (stability) ของมัลติเพิลอิมัลชันที่เตรียมขึ้นต่อการให้ความร้อน (ภาพที่ 35) โดยการนำมัลติเพิลอิมัลชันไปให้ความร้อนที่ 30 60 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที แล้วนำมาตรวจสอบขนาดอนุภาค พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ ไม่ส่งผลให้ขนาดอนุภาคของมัลติเพิลอิมัลชันชุดควบคุมเปลี่ยนแปลงไป ($p>0.05$) โดยมีขนาดอยู่ระหว่าง 1.7-2.0 ไมโครเมตร ในขณะที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 และ 90 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ขนาดอนุภาคของมัลติเพิลอิมัลชันชุดทดลอง (เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง) มีขนาดใหญ่ขึ้น ($p\leq 0.05$) จาก 1.8 เพิ่มขึ้นเป็น 2.3 และ 2.2 ไมโครเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 35



ภาพที่ 35 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคมัลติเพิลอิมัลชัน เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน

หมายเหตุ ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$)

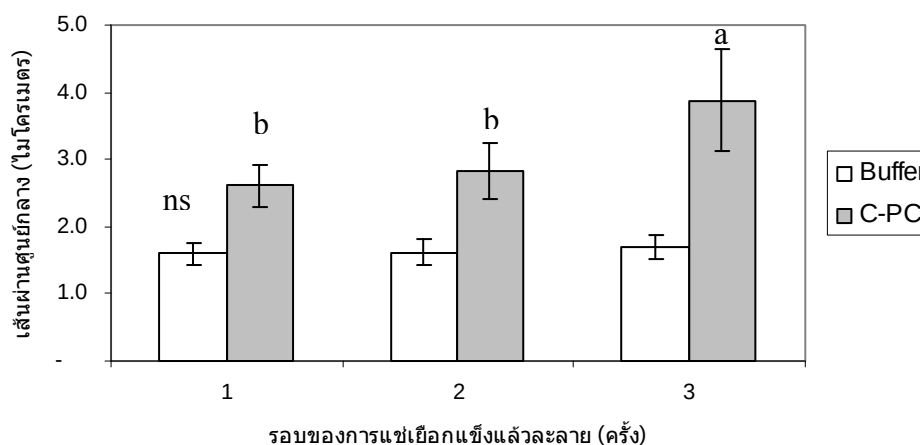
ตัวอักษร ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

Buffer หมายถึงมัลติเพิลอิมัลชันชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง

C-PC หมายถึงมัลติเพิลอิมัลชันชุดที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง

จากผลการทดลองดังกล่าว เมื่อพิจารณาในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง แม้ว่ามีการให้ความร้อนซึ่งอาจส่งผลทำให้โปรตีนบางส่วนของกัมอะราบิกเกิดการคลายตัวเผยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ออกมา ทำให้เกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำด้วยกันได้ แต่ขนาดก็ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ แสดงให้เห็นว่ากลไกการรักษาความคงตัวด้วยขนาด (steric stabilization) ของกัมอะราบิกมีผลมากกว่า จึงรักษาขนาดของมัลติเพิลอิมัลชันไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ (McClement, 1999; Dickinson, 2003) ในขณะที่ ชุดทดลองที่มีการเติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง หรือสารซี-ไฟโคไซยานิน มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่ความร้อนทำให้สารสกัดสาหร่ายเกลียวทองซึ่งเป็นโปรตีนนั้นเกิดเสียสภาพธรรมชาติ (denature) เกิดการเกาะรวมตัวกัน (aggregation) จึงส่งผลให้ขนาดของอิมัลชันใหญ่ ทั้งนี้ Jerpersen *et al.* (2005) และ Mishra *et al.* (2008) พบว่าไฟโคไซยานินจะเสียสภาพธรรมชาติเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส อีกทั้ง Edwards *et al.* (1997) กล่าวว่า โปรตีนของซี-ไฟโคไซยานินนั้นถูกทำให้เปลี่ยนรูปได้ที่อุณหภูมิสูงกว่าหรือเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม ไม่พบการเกิดคริมทั้งในมัลติเพิลอิมัลชันชุดควบคุม และชุดทดลองที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง

นอกเหนือไปจากกระบวนการให้ความร้อน การประยุกต์ใช้อิมัลชันในกระบวนการแช่เย็น (chilled) หรือแช่เยือกแข็ง (frozen) ในระหว่างการจัดเก็บ แล้วก็นำมาทำละลายก่อนการนำไปใช้ก็พบได้มากในอุตสาหกรรมอาหารทั่วไป เช่น ผลิตภัณฑ์นม ของหวาน ซอส หรือไอศกรีม ทั้งนี้ กระบวนการให้ความเย็นดังกล่าวเป็นการป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ทั้งจากเชื้อจุลินทรีย์และปฏิกิริยาทางเคมีต่าง ๆ ดังนั้นระบบอิมัลชันที่เตรียมขึ้นมาจึงควรมีความคงตัวต่อการแช่เยือกแข็งและทำละลาย (McClement and Guzey, 2006) จากผลการทดสอบความคงตัวของมัลติเพิลอิมัลชันต่อการแช่เยือกแข็ง พบว่า มัลติเพิลอิมัลชันชุดที่ไม่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองมีความคงทนต่อการแช่เยือกแข็ง โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงของขนาดของอนุภาคเมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและทำละลายถึงสามรอบ ($p > 0.05$) โดยมีขนาดอนุภาคอยู่ระหว่าง 1.6-1.7 ไมโครเมตร ในขณะที่มัลติเพิลอิมัลชันชุดที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองตรวจพบขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นเมื่อทำการแช่เยือกแข็งและทำละลายรอบที่ 3 ($p \leq 0.05$) โดยขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นจาก 1.6 เป็น 3.9 ไมโครเมตร ดังแสดงในภาพที่ 36



ภาพที่ 36 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคมัลติเฟลอิอิมัลชัน เมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและทำละลาย

หมายเหตุ ตัวอักษร a-b ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

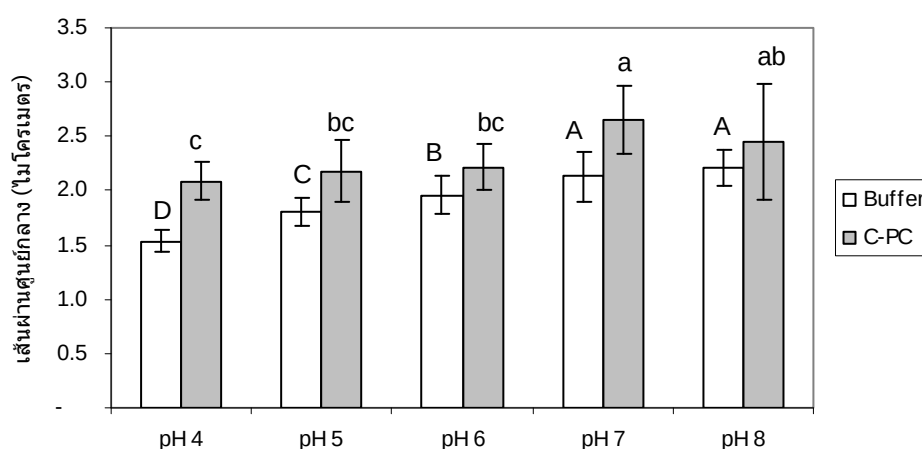
ตัวอักษร ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

Buffer หมายถึงมัลติเฟลอิอิมัลชันชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง

C-PC หมายถึงมัลติเฟลอิอิมัลชันชุดที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง

จากผลการทดลองดังกล่าว เมื่อพิจารณาในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง แม้ผ่านการแช่เยือกแข็งและทำละลายถึง 3 รอบ ขนาดอนุภาคก็ไม่เปลี่ยนแปลงไป แสดงให้เห็นว่ากัมมะราบิกนั้นสามารถรักษาความคงตัวของอิมัลชันไว้ได้ ซึ่งอาจเป็นเพราะโมเลกุลของกัมมะราบิกที่เป็นไฮโดรคอลลอยด์ซึ่งสามารถอุ้มน้ำไว้ในโครงสร้างได้ ทำให้ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก (Fernandez *et al.*, 2007) เมื่อผ่านการทำละลายจึงไม่ก่อให้เกิดความเสียหายกับหยดไขมัน ในขณะที่ชุดทดลองที่มีการเติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองลงไป ตรวจพบขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นเมื่อผ่านการแช่เยือกแข็งและทำละลายในรอบที่ 3 ซึ่งอาจเป็นเพราะโปรตีนในสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง มีผลในการลดจุดเยือกแข็งของสารละลายทำให้การแช่เยือกแข็งเกิดขึ้นในอัตราที่ช้า ก่อให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ (Hartel, 1996) จึงก่อให้เกิดความเสียหายกับหยดไขมันเมื่อผ่านการทำละลาย จนอาจทำให้เกิดการเกาะกลุ่ม (flocculation) หรือหลอมรวม (coalescence) ของหยดอิมัลชันได้ อย่างไรก็ตาม ไม่พบการแยกชั้นของอิมัลชันภายหลังการแช่เยือกแข็งและทำละลายในรอบที่สาม ในมัลติเฟลอิอิมัลชันทั้งสองชุด

ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ค่าความเป็นกรด-ด่างอาจมีค่าอยู่ในช่วงเป็นกรด (pH 2.5-4) เช่น ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มทั่วไป หรืออยู่ในช่วงที่เป็นด่าง (pH 7-7.4) เช่น ผลิตภัณฑ์นมบางชนิด ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างดังกล่าวอาจมีการเปลี่ยนแปลงทั้งในระหว่างกระบวนการผลิต การจัดเก็บ หรือในขั้นตอนการนำไปใช้ ดังนั้น อิมัลชันที่ดีจึงควรมีความคงตัวต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วงที่กว้าง (McClement and Guzey, 2006) เมื่อทดสอบความคงตัว (stability) ของมัลติเฟลอิอิมัลชันที่เตรียมขึ้นต่อความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยมัลติเฟลอิอิมัลชันที่เตรียมขึ้นโดยอิมัลชันเริ่มต้นนั้นมีค่า pH ที่ 5.7 และ 6.2 ในมัลติเฟลอิอิมัลชันชุดที่ไม่ได้เติมและชุดที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง ตามลำดับ พบว่ามัลติเฟลอิอิมัลชันชุดที่ไม่ได้เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองมีขนาดเป็น 1.5 และ 1.8 เมื่อทำการปรับ pH ให้ได้ pH 4 และ pH 5 ตามลำดับ และเมื่อปรับ pH เพื่อให้ได้ pH 6 pH 7 และ pH 8 ขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นเป็น 2.0 2.1 และ 2.2 ไมโครเมตร ตามลำดับ ส่วนมัลติเฟลอิอิมัลชันชุดที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองมีขนาดเป็น 2.1 2.2 และ 2.2 เมื่อทำการปรับ pH ให้ได้ pH 4 pH 5 และ pH 6 ตามลำดับ เมื่อปรับ pH เพื่อให้ได้ pH 7 และ pH 8 ขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นเป็น 2.6 และ 2.5 ไมโครเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 37



ภาพที่ 37 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคมัลติเฟลอิอิมัลชัน ที่ pH ต่างกัน

หมายเหตุ ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร A-D ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

Buffer หมายถึงมัลติเฟลอิอิมัลชันชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง

C-PC หมายถึงมัลติเฟลอิอิมัลชันชุดที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง

จากผลการทดลองที่ได้ พบว่าการเติมกรดลงไปในระบบส่งผลให้ขนาดอนุภาคมีแนวโน้ม
เล็กลง ในขณะที่การเติมด่างนั้นส่งผลให้ขนาดอนุภาคมีแนวโน้มใหญ่ขึ้น ทั้งในส่วนมัลติเฟล
อิมัลชันชุดควบคุม และชุดทดลองที่เติมสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยน
แปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำให้กัมอะราบิกที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในน้ำเฟสนอกเปลี่ยนแปลง
ไป ทั้งนี้ Vernon-Carter *et al.* (1998) พบว่า กัมอะราบิกสร้างชั้น (layer) ล้อมรอบหยดอนุภาคที่ไม่
มีความหนามากนัก แต่แข็งแรง และแน่นที่ pH ช่วงกรด ส่วนช่วง pH ที่เป็นด่างโมเลกุลของกัม
อะราบิกนั้นจะขยายตัว และมีแนวโน้มในการสร้างชั้นที่หนาล้อมรอบหยดอนุภาค โดยชั้นดังกล่าว
มีลักษณะที่หลวม ถึงแม้ว่าการปรับค่าความเป็นกรดด่างลงไป pH 5 ซึ่งเข้าใกล้ช่วงค่า pI
(Isoelectric point) ของสารซี-ไฟโคไซยานินที่มีค่า pI ที่ประมาณ 5.2 (Soni *et al.*, 2008) รวมถึงค่า
pH 4 ที่เข้าใกล้ค่า pI ของกัมอะราบิกที่อยู่ประมาณ 2.5 (Buffo *et al.*, 2001; Dluzewska *et al.*, 2005)
ซึ่งอาจทำให้ประจุรวมเป็นศูนย์ แรงผลักระหว่างโมเลกุลลดน้อยลง จนอาจก่อให้เกิดการรวมตัวกัน
ของอนุภาคอิมัลชันได้ แต่จากผลการทดลองไม่พบแนวโน้มดังกล่าว อีกทั้งไม่พบการแยกชั้นครีม
ของมัลติเฟลอิมัลชันในทุกช่วง pH แสดงให้เห็นว่า ความหนืด และการกีดขวาง (steric hindrance)
จากกัมอะราบิกเป็นอิทธิพลหลักในการรักษาความคงตัวของมัลติเฟลอิมัลชันที่เตรียมขึ้นในครั้งนี้
ซึ่งสอดคล้องกับ Su *et al.* (2008) ได้ทดสอบความคงตัวของมัลติเฟลอิมัลชันที่สร้างขึ้นต่อความ
เป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้กัมอะราบิกเป็น hydrophilic emulsifier พบว่าอิมัลชันมี
ความคงตัวตลอดช่วง pH 2-7

จากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่าระบบมัลติเฟลอิมัลชันที่ใช้ไขมันถั่วเหลืองเป็น
เฟสน้ำมัน เพื่อห่อหุ้มสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทอง โดยใช้ PGPR ที่ความเข้มข้น 2% เป็น
lipophilic emulsifier และใช้สารละลายกัมอะราบิกความเข้มข้น 10% เป็น hydrophilic emulsifier
และเฟสน้ำด้านนอก สามารถสร้างระบบมัลติเฟลอิมัลชันที่มีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสารไว้ได้
และมีความคงตัวที่ดีเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 4 สัปดาห์ นอกจากนี้แล้วยัง
พบว่ามัลติเฟลอิมัลชันดังกล่าวคงตัวต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้แก่ การให้ความร้อน การแช่เยือก
แข็ง และความเป็นกรด-ด่าง

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การทำแห้งแบบพ่นฝอยด้วยอุณหภูมิร้อนขาเข้า 160-200 องศาเซลเซียส ไม่ส่งผลต่อการสูญเสียปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทอง อย่างไรก็ตาม การทำแห้งแบบพ่นฝอยด้วยอุณหภูมิร้อนขาเข้า 200 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายเกลียวทองลดลง

2. จลนพลศาสตร์การสลายตัวของสารซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย เมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

3. การห่อหุ้มสาหร่ายเกลียวทอง โดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารเคลือบช่วยรักษาปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชันไว้ได้ โดยมอลโตเดกซ์ตรินชนิด DE 20 สามารถรักษาปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานิน และสมบัติการต้านออกซิเดชันไว้ได้ดีกว่าชนิด DE 10 ทั้งนี้ อัตราส่วนระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตรินที่ใช้เป็นสารเคลือบ พบว่าที่อัตราส่วน 1:3 สามารถรักษาปริมาณสาร และสมบัติการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าที่อัตราส่วน 1:2 และ 1:1

4. การห่อหุ้มสารสกัดซี-ไฟโคไซยานินด้วยเทคนิคมัลติเฟลอิมีลชัน แบบน้ำในน้ำมันในน้ำ (water-in-oil-in-water emulsion, W/O/W) โดยใช้ PGPR เป็นอิมัลซิไฟเออร์ ในน้ำมันถั่วเหลือง และใช้สารละลายกัมอะราบิกเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของน้ำเฟสนอก พบว่ามัลติเฟลอิมีลชันดังกล่าวสามารถห่อหุ้มสารสกัดดังกล่าวไว้ได้ทั้งหมด และมีความคงตัวที่ดีเมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนาน 4 สัปดาห์ นอกจากนั้นแล้ว มัลติเฟลอิมีลชันดังกล่าว มีความคงตัวต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้แก่ การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30 60 และ 90 องศาเซลเซียส การแช่เยือกแข็งและทำละลาย 3 รอบ รวมถึงความเป็นกรด-ด่างในช่วง pH 4-8 ได้ดี

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาผลการห่อหุ้มด้วยสารเคลือบชนิดอื่นนอกเหนือจากมอลโตเดกซ์ตริน รวมถึงการใช้สารเคลือบแบบผสม เช่น มอลโตเดกซ์ตรินผสมกับกัมอะราบิก
2. ควรทำการห่อหุ้มสารด้วยเทคนิคมัลติเฟลิมัลชัน และนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย แล้วศึกษาในลำดับต่อไป
3. ควรศึกษาถึงการปลดปล่อยสาร (release) ที่ทำการห่อหุ้มไว้ทั้งจากเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย และมัลติเฟลิมัลชัน

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

นิธิยา รัตนานนท์. 2551. **เคมีอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 3. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

ปาริฉัตร หงสประภาส. 2549. **ระบบคอลลอยด์ในอาหาร**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (อค์สำเนา)

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. **สาหร่ายวิทยา**. พิมพ์ครั้งที่ 2. โชตนาพรินท์, เชียงใหม่.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. **วิทยาศาสตร์สาหร่าย**. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สมบุญ ผู้พัฒน์. 2538. **การเพาะเลี้ยงและการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายเซลล์เดียว**. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สมพล. 2544. **จุลณพลศาสตร์เคมี**. ศูนย์เอกสารและตำรา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2549. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนสาหร่ายสไปรูลินาแห้ง**. มอก. 1229-2549.

Association of Official Analytical Chemists. 2000. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 17th edition. Gaithersburg, Maryland.

Antelo, F.S., J.A.V. Costa and S.J. Kalil. 2008. Thermal degradation kinetics of the phycocyanin from *Spirulina platensis*. **Biochemical Engineering Journal**. 41: 43-47.

Ayehunei, S., A. Belay, T.W. Baba and R.M. Ruprecht. 1998. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospora platensis*). **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology**. 18: 7-12.

- Bhat, V.B. and K.M. Madyastha. 2000. C-Phycocyanin: a potent peroxy radical scavenger in vivo and *in vitro*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 275: 20-25.
- Belay, A. 2002. The potential application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. **The Journal of the American Nutraceutical Association**. 5: 27-48.
- Benedetti, S., F. Benvenuti, S. Pagliarani, S. Francogli, S. Scoglio and F. Canestrari. 2004. Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*. **Life Science**. 75: 2353-2362.
- _____, S. Rinalducci, F. Benvenuti, S. Francogli, S. Pagliarani, L. Giorgi, M. Micheloni, G.M. D'Amici, L. Zolla and F. Canestrari. 2006. Purification and characterization of phycocyanin from the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*. **Journal of Chromatography B**. 833: 12-18.
- Benichou, A., A. Aserin and N. Garti. 2007. W/O/W double emulsions stabilized with WPI-polysaccharide complexes. **Colloids and Surfaces A**. 294: 20-32.
- Bermejo, P., E. Pinero and A.M. Villar. 2008. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. **Food Chemistry**. 110: 436-445.
- Bhattacharya, S. and M.K. Shivaprakash. 2005. Evaluation of three *Spirulina* species grown under similar conditions for their growth and biochemicals. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 85: 333-336.

- Binder, A., K. Wilson and H. Zuber. 1972. C-phycocyanin from thermophilic blue green alga *Mastigocladus laminosus* isolation, characterization and subunit composition. **FEBS Letters**. 20: 111-116.
- Bonnet, M., M. Cansell, A. Berkaoui, M.H. Ropers, M. Anton and F. Leal-Calderon. 2009. Release rate profile of magnesium from multiple W/O/W emulsions. **Food Hydrocolloids**. 23: 92-101.
- Boussiba S. and A.E. Richmond. 1979. Isolation and characterization of phycocyanins from blue-green alga *Spirulina platensis*. **Archives of Microbiology**. 120: 155-159.
- Chen, T., Y.S. Wong and W. Zheng. 2006. Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. **Phytochemistry**. 67: 2424-2430.
- Chen, F. and Q. Zhang. 1995. Inhibitive effect of *Spirulina* on aberrant crypts in colon induced by dimethylhydrazine. **Zhongguo Yu Fang Yi Xue Za Zhi**. 29: 13-17.
- Cheng-wu, Z., T. Chao-tsi and Z. Yuan-zhen. 1994. The effect of polysaccharide and phycocyanin from *Spirulina platensis* on peripheral blood and hematopoietic system of bone marrow in mice. Book of Abstracts. **2nd Asia Pacific Conference on Algal Biotechnology**. 58.
- Chronakis, I.S. 2001. Gelation of edible blue-green algae protein isolate (*Spirulina platensis* Strain Pacifica): thermal transitions, rheological properties, and molecular forces involved. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49 (2): 888-898.
- Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. **Microbiological Reviews**. 47: 551.

- Colyer, C.L., C.S. Kinkade, P.J. Viskari and J.P. Landers. 2005. Analysis of cyanobacterial pigments and proteins by electrophoretic and chromatographic methods. **Analytical Bioanalytical Chemistry**. 382: 559-569.
- Desmorieux, H. and F. Hernandez. 2004. Biochemical and physical criteria of *Spirulina* after different drying processes. pp. 900-907. *In* **Proceeding of the 14th International Drying Symposium**. IDS. Brazil.
- Desobry, S.A., F.M. Netto and T.P. Labuza. 1999. Influence of maltodextrin systems at an equivalent 25DE on encapsulated β -carotene loss during storage. **Journal of Food Processing Preservation**. 23: 39-55.
- De Rivera, C., R. Miranda-Zamora, J.C. Diaz-Zagoya and M. Juarez-Opopeza. 1993. Preventive effect of *Spirulina maxima* on the fatty liver induced by a fructose-rich diet in the rat. **Life Sciences**. 53: 57-61.
- Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**. 17: 25-39.
- Dluzewska, E., K. Smiechowski and M. Kowalska. 2005. Influence of pH on properties the selected hydrocolloids stabilized model beverage emulsions. **Journal of Food Technology**. 4: 542-545.
- Duncan, P. and P. Klesius. 1996. Effect of *Spirulina* on specific and non specific immune responses in channel catfish. **Journal of Aquatic and Animal Health**. 8: 308-313.
- Edwards, M.R., C. Hauer, R.F. Stack, L.E. Eisele and R. MacColl. 1997. Thermophillic C-phycocyanin: effect of temperature, monomer stability and structure. **Biochemica et Biophysica Acta**. 1321: 157-164.

- Eriksen, N.T. 2008. Production of phycocyanin a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. **Apply Microbiology Biotechnology**. 80: 1-14.
- Ersus, A. and U. Yurdagel. 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota* L.) by spray drier. **Journal of Food Engineering**. 80: 805-812.
- Esposito, E., F. Cervellati, E. Menegatti, C. Nastruzzi, and R. Cortesi. 2002. Spray dried Eudragit microparticles as encapsulation devices for vitamin C. **International Journal of Pharmaceutics**. 242 : 329-334.
- Fennema, O.R. 1996. **Food Chemistry**. 3rd edition. Marcel Dekker, New York.
- Fernandez, P.P., M.N. Martino, N.E. Zaritzky, B. Guignon and P.D. Sanz. 2007. Effects of locust bean, xanthan and guar gums on the ice crystals of sucrose solution frozen at high pressure. **Food Hydrocolloid**. 21: 507-515
- Finotelli, P.V. and M.H.M. Rocha-Leao. 2005. Microencapsulation of ascorbic acid in maltodextrin and capsul using spray drying. pp. 1-11. In **2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering, 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering**. Enpromer. Brazil.
- Floury, J., A. Desrumaux and J. Lardieres. 2000. Effect of high-pressure homogeneization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 1: 127-134.
- Fong, B., M. Cheung and M. Lee. 2000. Effect of dietary *Spirulina* on plasma cholesterol and triglyceride levels in mice. In Abstracts. **4th Asia-Pacific Conference on algal Biotechnology**. 150.

- Fukui, K., T. Saito, Y. Noguchi, Y. Kodera, A. Matsushima, H. Nishimura and Y. Inada. 2004. Relationship between color development and protein conformation in the phycocyanin molecule. **Dyes and Pigments**. 63: 89-94.
- Garti, N. 1997. Double emulsions scope, limitations and new achievements. **Colloids and Surfaces A**. 123-124: 233-246.
- Gharsallaoui, A., G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley and R. Saurel. 2007. Application of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**. 40; 1107-1121.
- Gustafson, K.R., J.H. Cardellina, R.W. Fuller, O.S. Weslow, R.F. Kiser, K.M. Snader, G.M. Paterson and M.R. Boyd. 1989. AIDS-antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue green algae). **Journal of Nutrition and Cancer Institute**. 81: 1254-1258.
- Guzey, D. and D.J. McClements. 2006. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**. 128-130: 227-248.
- Hartel, R.W. 1996. Ice crystallization during the manufacture of ice cream. **Trends in Food Science and Technology**. 7: 315-321
- Hayashi, K., T. Hayashi and N. Morita. 1993. An extract from *Spirulina platensis* is a selective inhibitor of Herpes simplex virus type I penetration into HeLa cells. **Phytotherapy Research**. 7: 76-80.
- Hayashi, O., T. Katoh and Y. Okuwaki. 1994. Enhancement of antibody production in mice by dietary *Spirulina platensis*. **Journal of Nutrition Science and Vitamin**. 40: 431-441.

- Hirata, T., M. Tanaka, M. Ooike, T. Tsunomura and M. Sakaguchi. 2000. Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**. 12: 435-439.
- Huang, D., B. Ou and R.L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53: 1841-1856.
- Isailovic, D., H.W. Li and E.S. Yeung. 2004. Isolation and characterization of R-phycoerythrin subunits and enzymatic digests. **Journal of Chromatography A**. 1051: 119-130.
- Iwata, K., K. Munakata, T. Inayama and T. Kato. 1990. Effect of *Spirulina platensis* on blood pressure in rats. **Bulletin of Kagawa Nutrition University**. 21: 63-70.
- Iwata, K., T. Inayama and T. Kato. 1987. Effect of *Spirulina platensis* on fructose-induced hyperlipidemia in rats. **Journal of Japanese Society Nutrition and Food Science**. 40: 463-467.
- Jager-Lezer, N., I. Terrisse, F. Bruneau, S. Tokgoz, L. Ferreira, D. Clausse, M. Seiller and J-L. Grossiord. 1997. Influence of lipophilic surfactant on the release kinetics of water-soluble molecules entrapped in a W/O/W multiple emulsion. **Journal of Controlled Release**. 45: 1-13.
- Jespersen, L., L.D. Stromdahl, K. Olsen and L.H. Skibsted. 2005. Heat and light stability of tree natural blue colorants for use in confectionery beverages. **European Food Research and Technology**. 220: 261-266.
- Kagami, Y., S. Sugimura, N. Fujishima, K. Matsuda, T. Kometani and Y. Matsumura. 2003. Oxidative stability, structure, and physical characteristics of microcapsules formed by spray drying of fish oil with protein and dextrin wall materials. **Journal of Food Science**. 68: 2248-2255.

- Kanouni, M., H.L. Rosano and N. Naouli. 2002. Preparation of a stable double emulsion ($W_1/O/W_2$): role of the interfacial films on the stability of the system. **Advances in Colloid and Interface Science**. 99: 229-254.
- Kato, T., K. Takemoto, H. Katayama and Y. Kuwabara. 1984. Effect of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) on dietary hypercholesterolemia in rats. **Journal of Japanese Society Nutrition and Food Science**. 37: 323-332.
- Kim, D.O. and C.Y. Lee. 2002. Extraction and isolation of polyphenolics. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. R.E. Wrolstad. New York, Wiley: 11.2.1-11.2.12.
- _____, _____, H.J. Lee, and C.Y. Lee. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50: 3713-3717.
- Kim, C.K., S.C. Kim, H.J. Shin, K.M. Kim, K.H. Oh, Y.B. Lee and I.J. Oh. 1995. Preparation and characterization of cytarabine-loaded W/O/W multiple emulsions. **International Journal of Pharmaceutics**. 124: 61-67.
- Klinkesorn, U., P. Sophanodora, P. Chinachoti, E.A. Decker and D.J. McClements. 2005. Encapsulation of emulsified tuna oil in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. **Food Hydrocolloids**. 19: 1044-1053.
- KMUTT digital library. 2008. *Spirulina*. Available source: [http:// digital.lib.kmutt.ac.th](http://digital.lib.kmutt.ac.th), 24 September, 2008
- Lajallo, F.M. and M.U.M. Lanfer. 1982. Degradation in spinach system at low and intermediate water activity. **Journal of Food Science**. 47: 1365-2621.

- Lee, S.J. and M. Rosenberg. 2000. Microencapsulation of theophylline in whey proteins: effects of core-to-wall ratio. **International Journal of Pharmaceutics**. 205: 147-158.
- Lisheng, L., G. Baojiang, R. Jihong, Q. Guangquan and W. Botang. 1991. Inhibitive effect and mechanism of polysaccharide of *Spirulina platensis* on transplanted tumor in mice. **Marine Science**. 5: 33-38.
- Liu, Y., L. Xu, N. Cheng, L. Lin and C. Zhang. 2000. Inhibitory effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cells. **Journal of Applied Phycology**. 12: 125-130.
- Loksuwan, J. 2007. Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**. 21: 928-935.
- Madene, A., M. Jacquot, J. Scher and S. Desobry. 2006. Flavor encapsulation and controlled release: a review. **International Journal of Food Science and Technology**. 41: 1-21.
- Magalhaes, L.M., M.A. Marcela, S. Reis and J.L.F.C. Lima. 2008. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. **Analitica Chimica Acta**. 613 (1): 1-19.
- MacColl, R. 1998. Cyanobacterial phycobilisomes. **Journal of Structural Biology**. 124: 311-334.
- Mani, S., U. Iyer and S. Subramanian. 1998. Studies on the effect of *Spirulina* supplementation in control of diabetes mellitus. **Cyanobacterial Biotechnology**. 301-304.
- Manoj, G., L.V. Ventakaraman and L. Srinivas. 1992. Antioxidant properties of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) In Seshadri and Bai. *Spirulina*. **Murugappa Chettiar Research Center**. 48-154.

- Mao, T.K., J. Van de Water and M.E. Gershwin. 2000. Effect of *Spirulina* on the secretion of cytokines from peripheral blood mononuclear cells. **Journal of Medicinal Food**. 3: 135-140.
- Mathew, B. R. Sankaranarayanan, P. Nair, C. Varghese, T. Somanathan, P. Amma, N. Amma and M. Nair. 1995. Evaluation of chemoprevention of oral cancer with *Spirulina fusiformis*. **Nutrition Cancer**. 24: 197-202.
- McClement, D.J. 1999. **Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques**. CRC Press, Florida.
- _____. 2000. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides. **Food Hydrocolloids**. 14: 173-177.
- _____. 2004. Protein-stabilized emulsions. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**. 9: 305-313.
- _____ and D. Guzey. 2006. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interfacial Science**. 128-130: 227-248.
- Minkova, K.M., A.A. Tchernov, M.I. Tchorbadjieva, S.T. Fournadjieva, R.E. Antova and M.Ch. Busheva. 2003. Purification of c-phycoerythrin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*. **Journal of Biotechnology**. 102: 55-59.
- Mishima, T., J. Murata, M. Toyoshima, K. Fujii, M. Nakajima, T. Hayashi, T. Kato and I. Saiki. 1998. Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from a blue-green alga, *Spirulina platensis*. **Clinical Experimental Metastasis**. 16: 541-550.

- Mishra, S.K., A. Shrivastav and S. Mishra. 2008. Effect of preservatives for food grade C-PC from *Spirulina platensis*. **Process Biochemistry**. 43: 339-345.
- Mule, M.C., G. De Clair and M. De Cano. 1996. Bioactive substances from *Spirulina platensis* (Cyanobacteria). **International Journal of Experiment Botany**. 58: 93-96.
- Nakaya, N., Y. Homa and Y. Goto. 1988. Cholesterol lowering effect of *Spirulina*. **Nutrition Reports Interantional**. 37: 1329-1337.
- Obon, J.M., M.R. Castellar, M. Alacid and J.A. Fernandez-Lopez. 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: 471-479.
- Oliviera, E.G., G.S. Rosa, M.A. Moraes and L.A.A. Pinto. 2008. Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. **Journal of Food Process Engineer**. 31: 34-50.
- Patel, A., S. Mishra, R. Pawar and P.K. Ghosh. 2005. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and fresh water habitat. **Protein Expression and Purification**. 40: 248-255.
- Pinero Estrada, J.E., P.B. Bescos and A.M. Villar del Fresno. 2001. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **Il Farmaco**. 56: 497-500.
- Protist information server. 2008. **Microbial digital specimen achieves**. Available source: <http://protist.i.hosei.ac.jp> , September 24, 2551.
- Quek, S.Y., N.K. Chok and P. Swedlund. 2007. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing**. 46: 386-392.

- Qureshi, M.A., M.T. Kidd and R.A. Ali. 1995. *Spirulina platensis* extract enhances chicken macrophage functions after *in vitro* exposure. **Journal of Nutrition and Immunology**. 3: 35-44.
- Ramamoorthy, A. and S. Premakumari. 1996. Effect of supplementation of *Spirulina* on hypercholesterolemic patients. **Journal of Food Science and Technology**. 33: 124-128.
- Reddy, M.D., J. Subhashini, S.V.K. Mahipal, V.B. Bhat, P. S. Reddy, G. Kiranmai, K.M. Madyastha, and P. Reddanna. 2003. C-Phycocyanin, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 304: 385-392.
- Romay, C. 1998. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue green algae. **Inflammation Research**. 47: 36-41.
- Saeki, Y., M. Matsumoto, A. Hyashi, I. Azuma, K. Toyoshima and T. Seya. 2000. The effect of *Spirulina* hot water extract to the basic immune activation. **Summary of Paper Presented at the 30th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**. 14-16.
- Saenz, C., S. Tapia, J. Chavez and P. Robert. 2008. Microencapsulation of spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**. 114 (2): 616-622.
- Sarada, R., M.G. Pillai and G.A. Ravishankar. 1999. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. **Process Biochemistry**. 34: 795-801.
- Schrooyen, P.M.M., R. van der Meer and C.G. De Kruif. 2001. Microencapsulation: its application in nutrition. **Proceeding of the Nutrition Society**. 60: 475-479.

S.F. Engineering WORKS Incorporated. 2008. **Spray dryer**. Available source:

[http:// www.sf-engg.net](http://www.sf-engg.net) , September 24, 2551.

Shima, M., M. Tanaka, Y. Kimura, S. Adachi and R. Matsuno. 2004. Hydrolysis of the oil phase of a W/O/W emulsion by pancreatic lipase. **Journal of Controlled Release**. 94: 53-61.

Silveira, S.T., J.F.M. Burkert, J.A.V. Costa, C.A.V. Burkert and S.J. Kalil. 2007. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**. 98: 1629-1634.

Singh, R.P., K.N. Chidambara Murthy, and G.K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of Pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50: 81-86.

Soni, B., U. Trivedi and D. Madamwar. 2008. A novel method of single step hydrophobic interaction chromatography for the purification of phycocyanin from *Phormidium fragile* and its characterization for antioxidant property. **Bioresource Technology**. 99: 188-194.

Su, J., J. Flanagan and H. Singh. 2008. Improving encapsulation efficiency and stability of water-in-oil-in-water emulsions using a modified gum Arabic (Acacia (sen) SUPER GUMTM). **Food Hydrocolloids**. 22: 112-120.

_____, _____, Y. Hemar, and H. Singh. 2006. Synergistic effects of polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilization of water-oil-water emulsions. **Food Hydrocolloids**. 20: 261-268.

Shu, B., W. Yu, Y. Zhao and X. Liu. 2006. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. **Journal of Food Engineering**. 76: 664-669.

- Sugiura, S., M. Nakajima, K. Yamamoto, S. Iwamoto, T. Oda, M. Satake and M. Seki. 2004. Preparation characteristics of water-in-oil-in-water multiple emulsions using microchannel emulsification. **Journal of Colloid and Interface Science**. 270: 221-228.
- Takai, Y., Y. Hossayamada and T. Kato. 1991. Effect of water soluble and water insoluble fractions of *Spirulina* over serum lipids and glucose resistance of rats. **Journal of Japanese Society Nutrition and Food Science**. 44: 273-277.
- Tsuchihashi, N., T. Watanabe and Y. Takai. 1987. Effect of *Spirulina platensis* on caecum content in rats. **Bull Chiba Hygiene College**. 5: 27-30.
- University of Bristol. 2008. **School of chemistry**. Available source: <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/oec/images/phyco.gif> , September 24, 2551.
- Van der Graaf, S., C.G.P.H. Schroen and R.M. Boom. 2005. Preparation of double emulsion by membrane emulsification-a review. **Journal of Membrane Science**. 251: 7-15.
- Wagner, L.A. and J.J. Warthesen. 1995. Stability of spray-dried encapsulated carrot carotenes. **Journal of Food science**. 60: 1048-1053.
- Yu, M.H. and A.N. Glazer. 1982. Cyanobacterial phycobilisomes: role of linker polypeptides in the assembly of phycocyanin. **The Journal of Biology Chemistry**. 257: 3429-3433.
- Zhou, Z.P., L.N. Liu, X.L. Chen, J.X. Wang, M. Chen, Y.Z. Zhang and B.C. Zhou. 2005. Factors that effect antioxidant activity of C-phycocyanin from *Spirulina platensis*. **Journal of Food Biochemistry**. 29: 313-322.
- Zolla, L., M. Bianchetti and S. Rinalducci. 2002. Funtional studies of the *Synechocystis* phycobilisomes organization by high performance liquid chromatography on line with a mass spectrometer. **European Journal of Biochemistry**. 269: 1534-1542.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณคงเหลือของสารซี-ไฟโคไซยานินในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน

ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง	ปริมาณคงเหลือซี-ไฟโคไซยานิน* (%)		
	ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา		
	30 °ซ	50 °ซ	70 °ซ
สาหร่ายเกลียวทอง (Pure)	72.69±3.25	41.51±4.71	4.42±0.29
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10			
อัตราส่วน 1:1** (10DERt1)	87.68±2.61	57.16±0.16	1.04±0.00
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10			
อัตราส่วน 1:2 (10DERt2)	91.55±2.05	58.25±0.12	5.54±0.31
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 10			
อัตราส่วน 1:3 (10DERt3)	98.41±2.59	64.62±2.22	7.48±0.33
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20			
อัตราส่วน 1:1 (20DERt1)	97.43±5.26	57.23±1.99	7.94±0.06
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20			
อัตราส่วน 1:2 (20DERt2)	96.28±0.70	63.23±0.37	11.16±0.99
สาหร่ายผสมมอลโตเดกซ์ตริน DE 20			
อัตราส่วน 1:3 (20DERt3)	96.58±5.24	66.96±2.86	13.22±0.56

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จำนวนตัวอย่าง = 3)

ตารางผนวกที่ 2 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชนิดของมอลโตเดกซ์ตรินกับอัตราส่วน
ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตริน ต่อปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน

Descriptive Statistics				
Dependent variable : CPC				
DE	RT	Mean	Std. Deviation	N
10	11	1.0450	7.071E-03	2
	12	5.5400	.3111	2
	13	7.4750	.3323	2
	Total	4.6867	2.9576	6
20	11	7.9350	6.364E-02	2
	12	11.1600	.9899	2
	13	13.2250	.5586	2
	Total	10.7733	2.4384	6
Total	11	4.4900	3.9781	4
	12	8.3500	3.2996	4
	13	10.3500	3.3409	4
	Total	7.7300	4.0967	12

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: CPC					
Source	Type III of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	183.105 ^a	5	36.621	146.152	.000
Intercept	717.035	1	717.035	2861.653	.000
DE	111.143	1	111.143	443.565	.000
RT	70.986	2	35.493	141.650	.000
DE*RT	.976	2	.488	1.949	.223
Error	1.503	6	.251		
Total	901.643	12			
Corrected Total	184.608	11			

a. R Squared = .992 (Adjusted R Squared = .985)

ตารางผนวกที่ 3 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชนิดของมอลโตเดกซ์ตรินกับอัตราส่วน
ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตริน ต่อสมบัตการด้านออกซิเดชันที่
ตรวจวัดด้วยวิธี Total phenols assay

Descriptive Statistics				
Dependent variable : TP				
DE	RT	Mean	Std. Deviation	N
10	11	57.3000	.4243	2
	12	53.7500	1.4849	2
	13	60.1500	2.8991	2
	Total	57.0667	3.2222	6
20	11	58.6000	2.6870	2
	12	62.6000	2.1213	2
	13	61.9500	2.8991	2
	Total	61.0500	2.7769	6
Total	11	57.9500	1.7407	4
	12	58.1750	5.3238	4
	13	61.0500	2.5852	4
	Total	59.0583	3.5428	12

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: TP					
Source	Type III of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	107.154 ^a	5	21.431	8.159	.056
Intercept	41854.641	1	41854.641	8123.171	.000
DE	47.601	1	47.601	9.238	.023
RT	23.902	2	11.951	2.319	.179
DE*RT	35.652	2	17.826	3.460	.100
Error	30.915	6	5.152		
Total	41992.710	12			
Corrected Total	138.069	11			

a. R Squared = .776 (Adjusted R Squared = .589)

ตารางผนวกที่ 4 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชนิดของมอลโตเดกซ์ตรินกับอัตราส่วน
ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตริน ต่อสมบัตการต้านออกซิเดชันที่
ตรวจวัดด้วยวิธี ABTS assay

Descriptive Statistics					
Dependent variable : ABTS					
DE	RT	Mean	Std. Deviation	N	
10	11	2.8000	1.2728	2	
	12	15.1500	1.6263	2	
	13	16.6000	1.6971	2	
	Total	11.5167	6.8875	6	
20	11	18.4500	1.4849	2	
	12	24.7500	2.1920	2	
	13	26.9000	1.5556	2	
	Total	23.3667	4.1611	6	
Total	11	10.6250	9.1058	4	
	12	19.9500	5.7622	4	
	13	21.7500	6.0934	4	
	Total	17.4417	8.2298	12	

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: ABTS					
Source	Type III of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	728.454 ^a	5	145.691	52.739	.000
Intercept	3650.541	1	3650.541	1321.463	.000
DE	421.268	1	421.268	152.495	.000
RT	285.282	2	142.641	51.635	.000
DE*RT	21.905	2	10.953	3.965	.080
Error	16.575	6	2.763		
Total	4395.570	12			
Corrected Total	745.029	11			

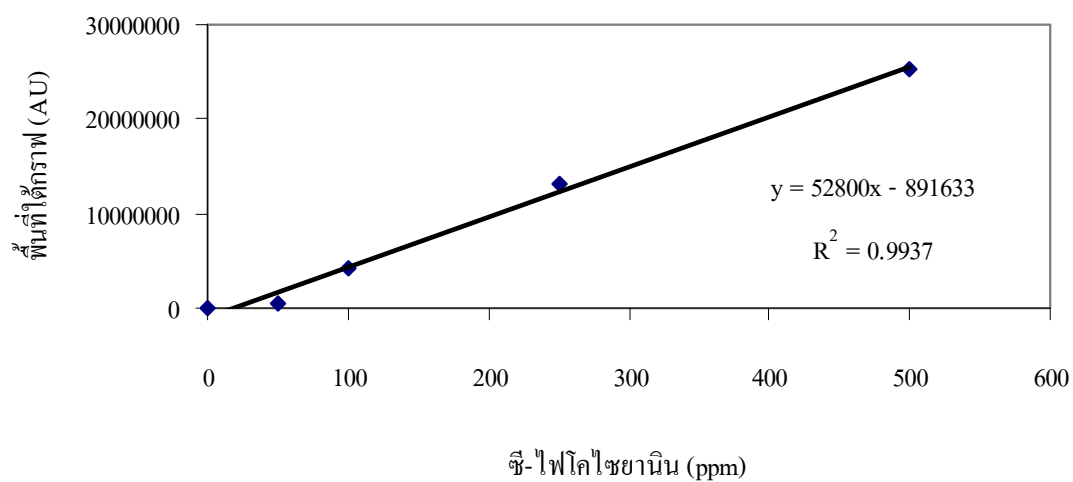
a. R Squared = .978 (Adjusted R Squared = .959)

ตารางผนวกที่ 5 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างชนิดของมอลโตเดกซ์ตรินกับอัตราส่วน
ระหว่างสาหร่ายเกลียวทองต่อมอลโตเดกซ์ตริน ต่อสมบัตการต้านออกซิเดชันที่
ตรวจวัดด้วยวิธี DPPH assay

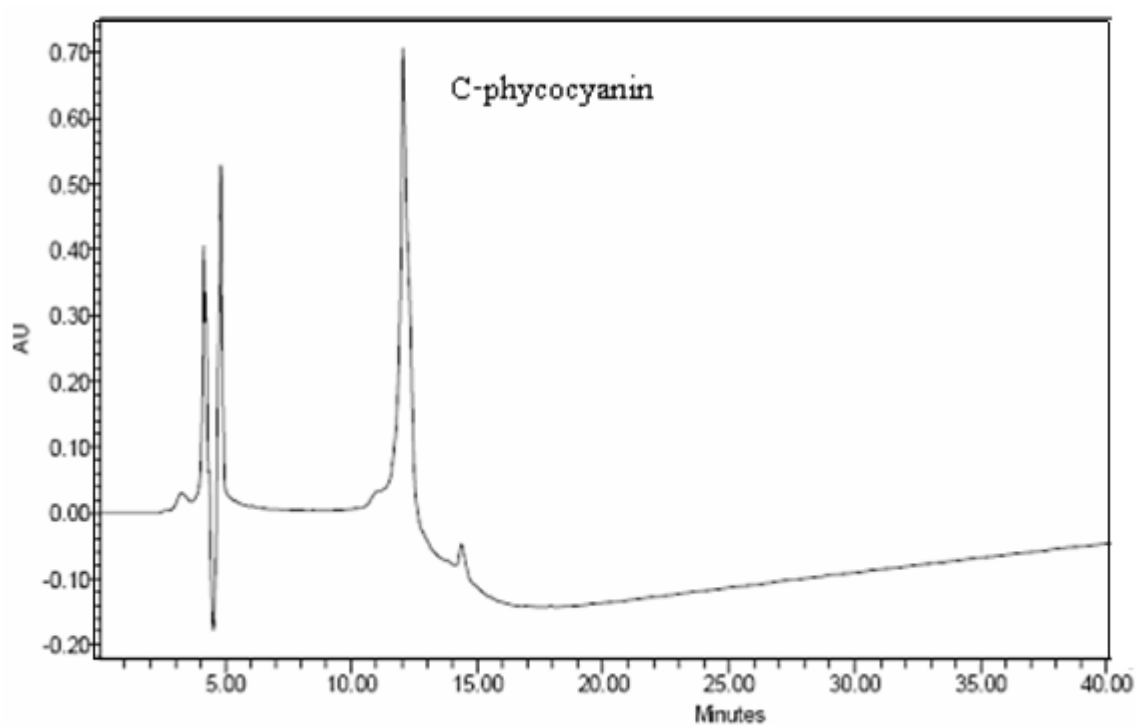
Descriptive Statistics					
Dependent variable : DPPH					
DE	RT	Mean	Std. Deviation	N	
10	11	2.9500	.9192	2	
	12	4.6500	1.6263	2	
	13	7.6000	.2828	2	
	Total	5.0667	2.2677	6	
20	11	13.2500	2.7577	2	
	12	17.2000	1.6971	2	
	13	27.3000	6.9296	2	
	Total	19.2500	7.3282	6	
Total	11	8.1000	6.1790	4	
	12	10.9250	7.3717	4	
	13	17.4500	12.0581	4	
	Total	12.1583	9.0339	12	

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: DPPH					
Source	Type III of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	835.654 ^a	5	167.131	16.154	.002
Intercept	1773.901	1	1773.901	171.460	.000
DE	603.501	1	603.501	58.333	.000
RT	183.972	2	91.986	8.891	.016
DE*RT	48.182	2	24.091	2.329	.178
Error	62.075	6	10.346		
Total	2671.630	12			
Corrected Total	897.729	11			

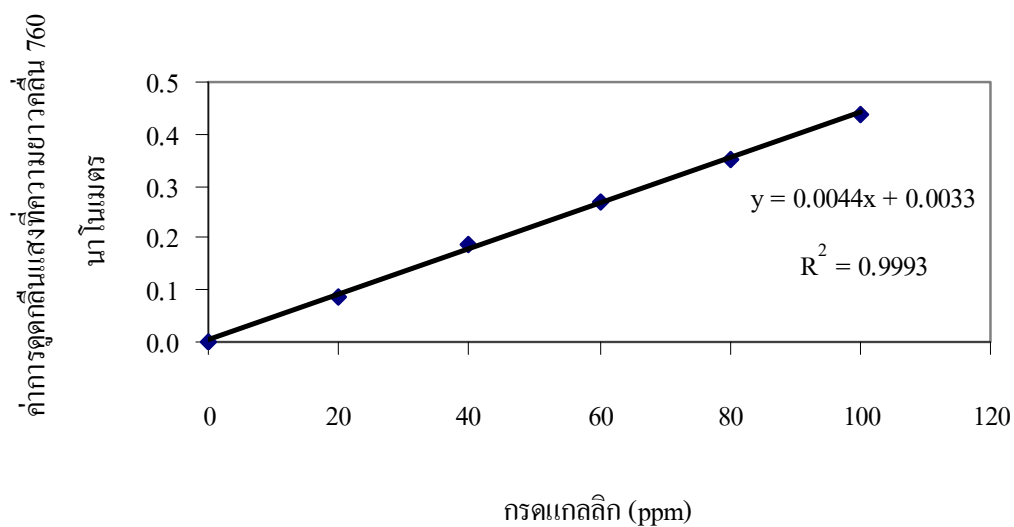
a. R Squared = .931 (Adjusted R Squared = .873)



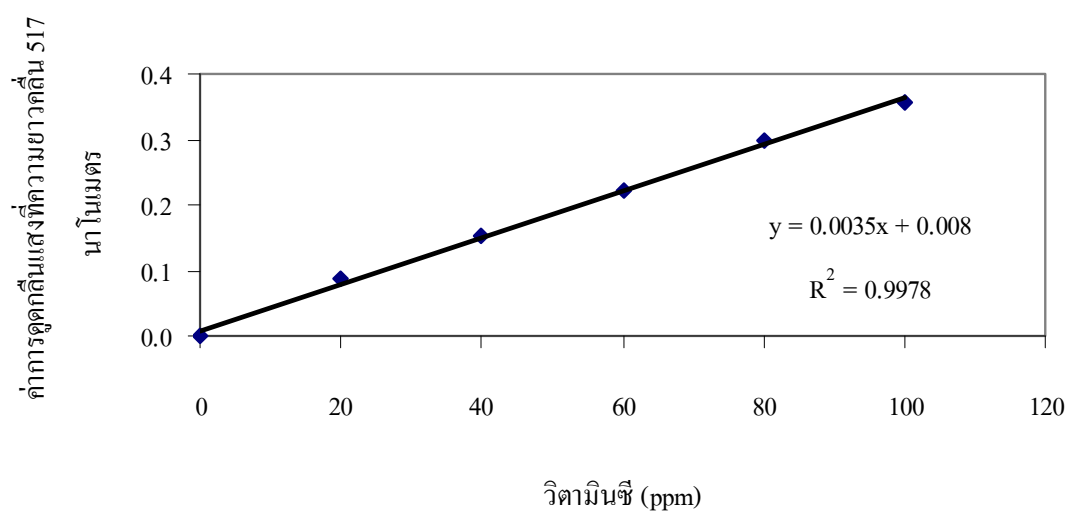
ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC)



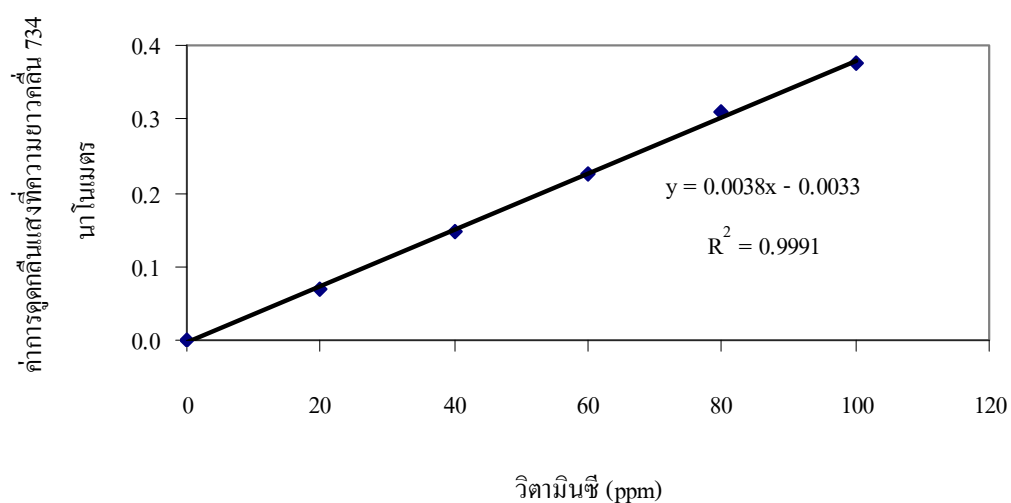
ภาพผนวกที่ 2 ตัวอย่างโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานินโดย HPLC ที่ความยาวคลื่น 214 นาโนเมตร



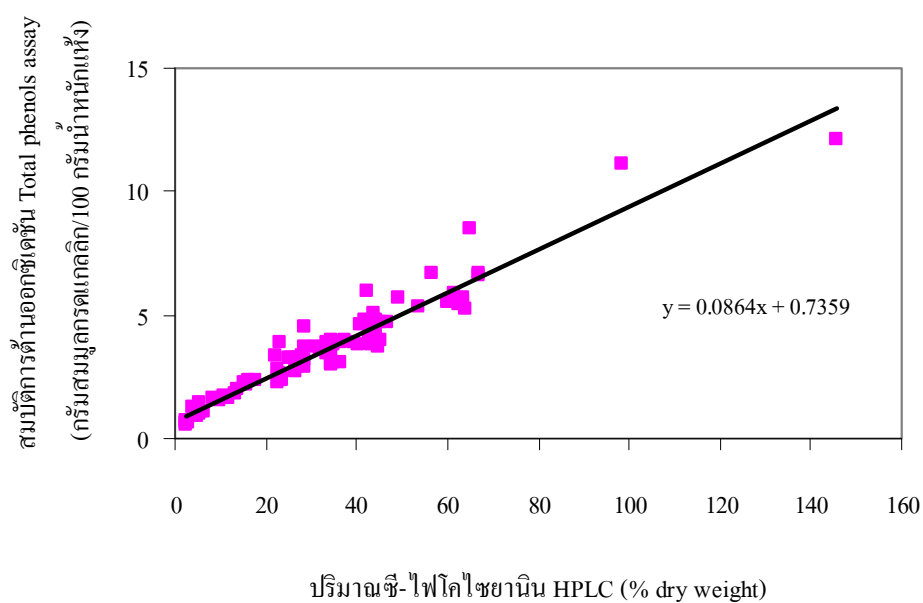
ภาพผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชัน
โดยเทคนิค total phenols assay



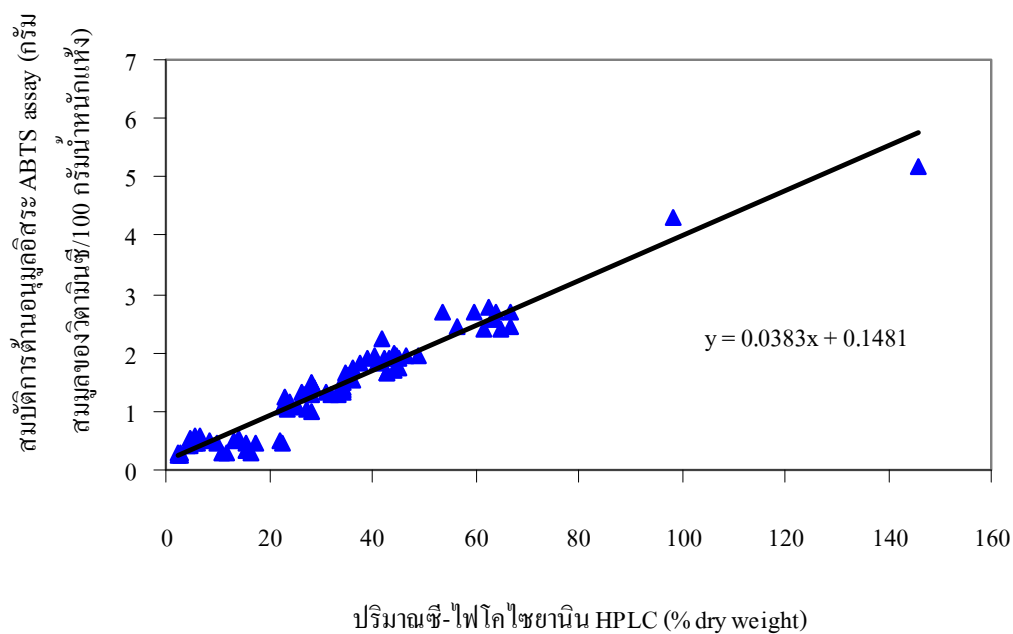
ภาพผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดย
เทคนิค ABTS assay



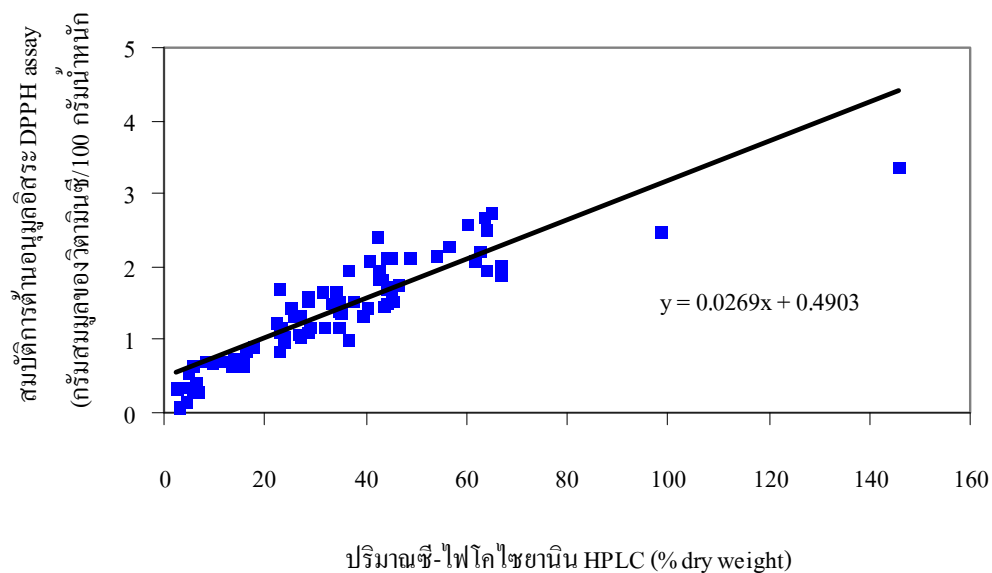
ภาพผนวกที่ 5 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิค DPPH assay



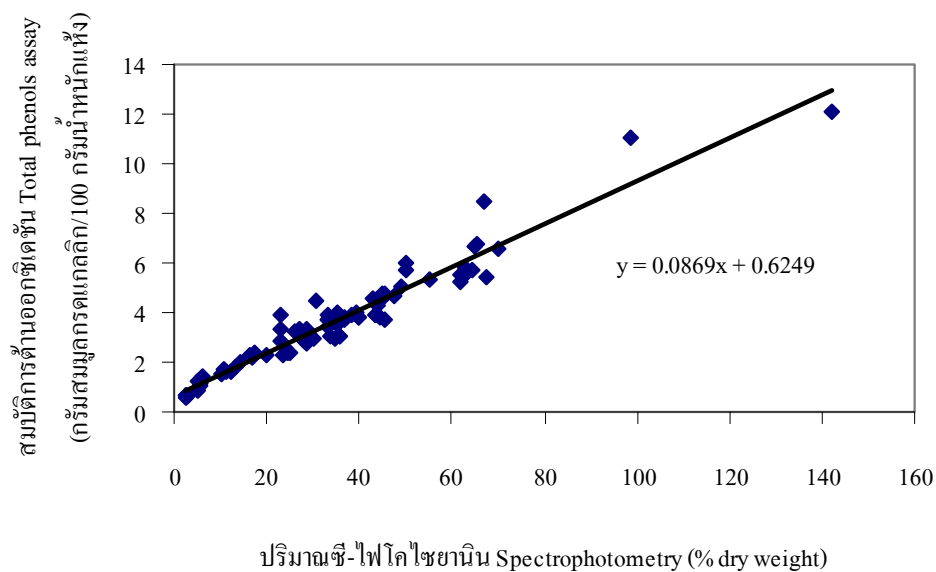
ภาพผนวกที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี total phenols assay



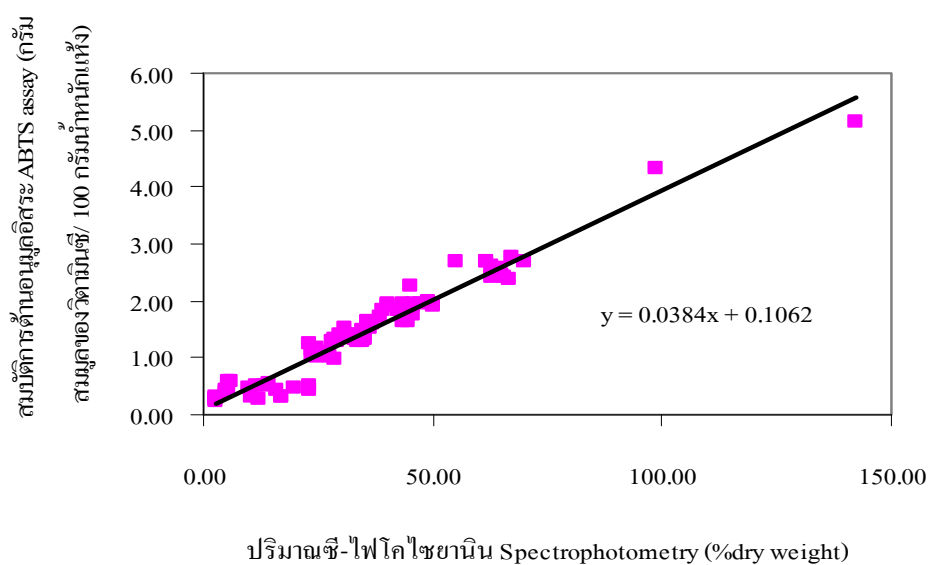
ภาพผนวกที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัตการต้านอนุมูล
อิสระ โดยวิธี ABTS assay



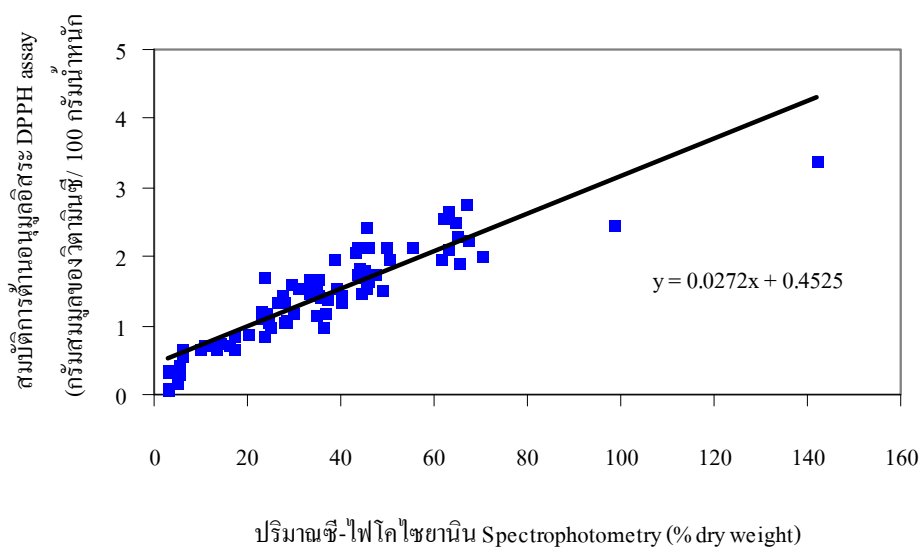
ภาพผนวกที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัตการต้านอนุมูล
อิสระ โดยวิธี DPPH assay



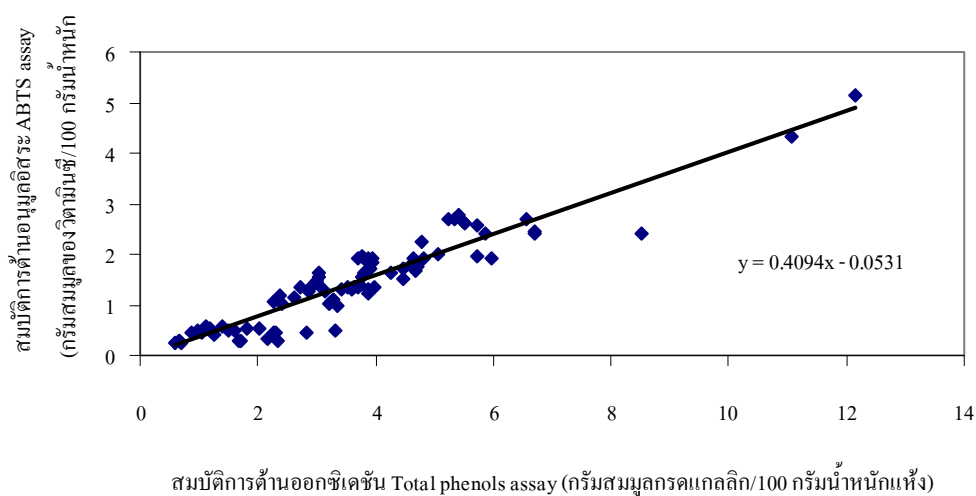
ภาพผนวกที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (spectrophotometry) และสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี total phenols assay



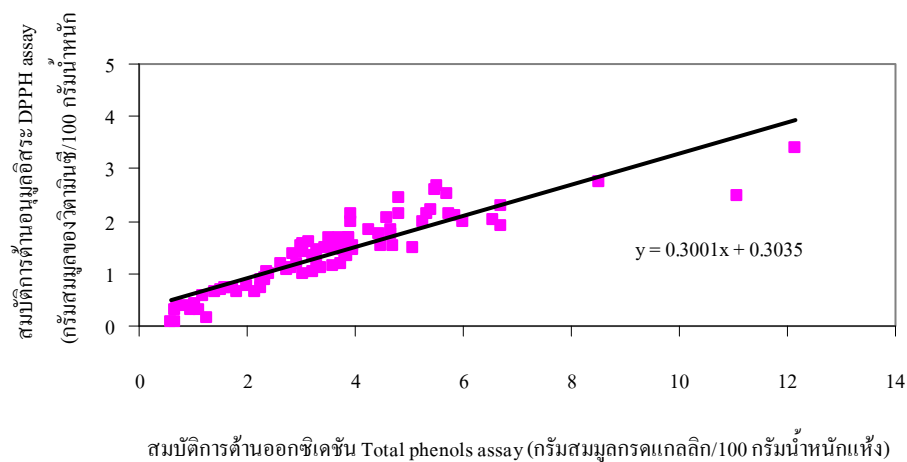
ภาพผนวกที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (spectrophotometry) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay



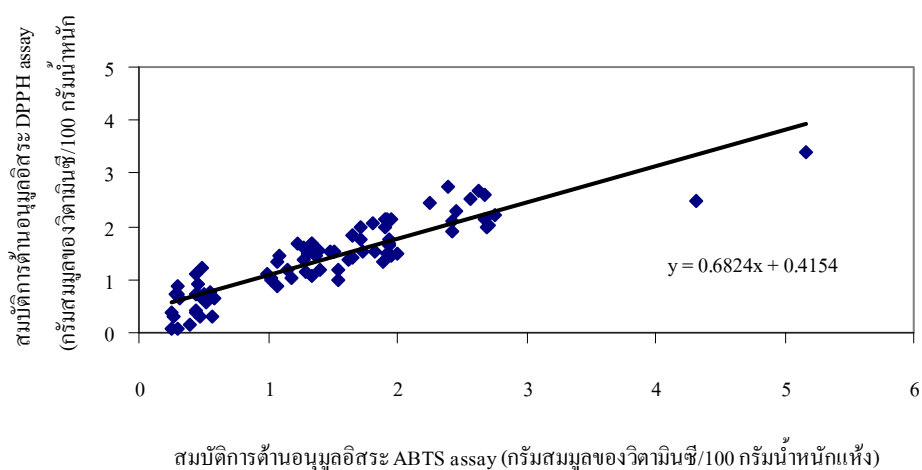
ภาพผนวกที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (spectrophotometry) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay



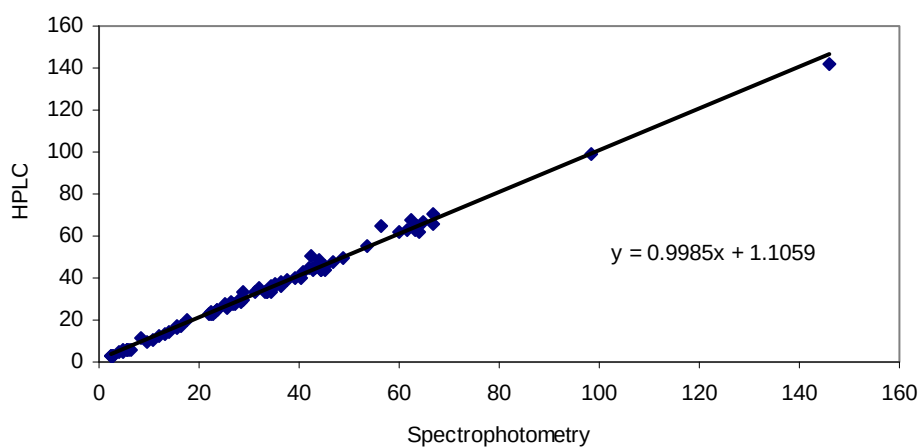
ภาพผนวกที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี total phenols assay และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS assay



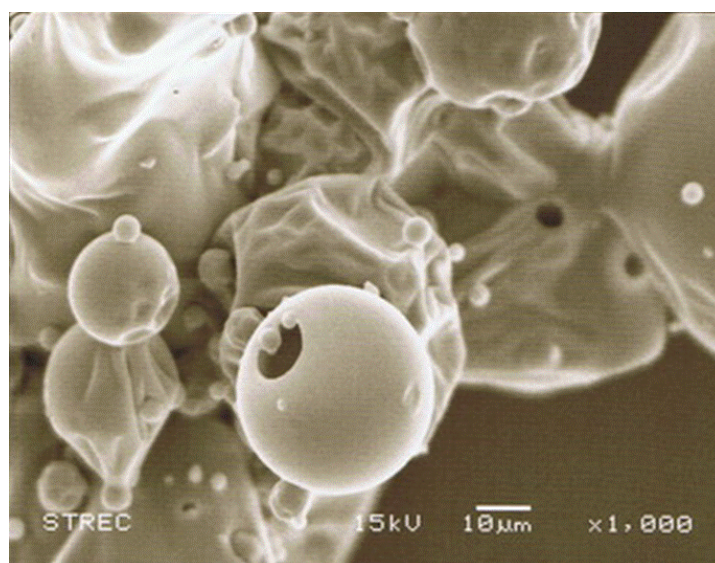
ภาพผนวกที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัตการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี total phenols assay และสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay



ภาพผนวกที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay และสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay



ภาพผนวกที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินในสาหร่ายเกลียวทองที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC และเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี



ภาพผนวกที่ 16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 1000 เท่าของมอลโตเดกซ์ตริน

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายธนิตชัย ปรัชญาถาวรกุล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	26 เมษายน 2520
สถานที่เกิด	อำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ผู้จัดการฝ่ายพัฒนาระบบคุณภาพ
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	หน่วยวิชาการอาหารสัตว์น้ำ บมจ. เจริญโภคภัณฑ์อาหาร (มหาชน)
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	