

## การสกัด ลักษณะ และสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไปโอพอลิเมอร์ จากสาหร่าย *Nostoc commune* ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูง

บุญยก บุญยะธาน<sup>1</sup> ณิชฐา เลหากุลจิตต์<sup>2\*</sup> อภริณี อุทัยรัตนกิจ<sup>3</sup> และ ญัตติฐพล ไช้แสงศรี<sup>4</sup>

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150

\* Corresponding Author: nutta.lao@kmutt.ac.th

<sup>1</sup> นักศึกษาปริญญาโท สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

<sup>2</sup> รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

<sup>3</sup> รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

<sup>4</sup> นักวิจัย สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ

### ข้อมูลบทความ

### บทคัดย่อ

#### ประวัติบทความ :

รับเพื่อพิจารณา : 6 สิงหาคม 2564

แก้ไข : 14 มีนาคม 2565

ตอบรับ : 16 เมษายน 2565

DOI : 10.14456/kmuttrd.2022.10

#### คำสำคัญ :

การต้านอนุมูลอิสระ / ของไหลแบบซูโดพลาสติก / ไปโอพอลิเมอร์ / สาหร่าย *Nostoc commune* / วิธีการสกัด

สาหร่าย *Nostoc commune* Vaucher หรือสาหร่ายเห็ดลาบ เป็นสาหร่ายในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่อุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะไปโอพอลิเมอร์ (พอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดสารจากสาหร่าย *N. commune* ด้วยน้ำร้อน และน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ในแง่ของสมบัติด้านกายภาพและเคมี น้ำหนักโมเลกุล และพฤติกรรมการไหลของไปโอพอลิเมอร์ที่ได้ ผลการศึกษา พบว่า สภาวะที่ดีที่สุด ทั้งด้านกายภาพและเคมี ในการสกัดไปโอพอลิเมอร์ด้วยน้ำร้อน ได้แก่ สัดส่วนตัวอย่างต่อน้ำ 1:60 (w/v) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง ขณะที่สภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไปโอพอลิเมอร์ด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ได้แก่ สัดส่วนตัวอย่างต่อน้ำ 1:60 (w/v) กำลังไฟฟ้า 400 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที โดยสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง ไปโอพอลิเมอร์ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่สภาวะที่ดีที่สุดมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ  $4.49 \times 10^6$  และ  $2.32 \times 10^6$  ดาลตัน และมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS\* เท่ากับร้อยละ 92.03 และ 95.35 ส่วนประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH\* เท่ากับร้อยละ 39.13 และ 42 ตามลำดับ ไปโอพอลิเมอร์ที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 สภาวะที่ดีที่สุดมีพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติก และสามารถเกิดเจลชนิดอ่อนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 (w/v)

## Extraction, Characterization and Antioxidant Capacity of Biopolymers from *Nostoc commune* using Hot Water and Combined Hot Water and Ultrasound-Assisted Extraction

Boonyakorn Boonyathan<sup>1</sup>, Natta Laohakunjit<sup>2\*</sup>, Apiradee Uthairatanakij<sup>3</sup> and Nattapon Kaisangsri<sup>4</sup>

King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thakam, Bangkhuntein, Bangkok 10150

\* Corresponding Author: [nutta.lao@kmutt.ac.th](mailto:nutta.lao@kmutt.ac.th)

<sup>1</sup> Master's Degree Student, Department of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology.

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology.

<sup>3</sup> Associate Professor, Department of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology.

<sup>4</sup> Researcher, Agricultural and Functional Foods Processing Laboratory, Pilot Plant Development and Training Institute.

### Article Info

### Abstract

#### Article History:

Received: August 6, 2021

Revised: March 14, 2022

Accepted: April 16, 2022

DOI : 10.14456/kmuttrd.2022.10

**Keywords :** Antioxidant Activity / Pseudoplastic Fluids / Biopolymers / *Nostoc commune* / Extraction Methods

*Nostoc commune* Vaucher, commonly known as “HedLarb,” is a species of cyanobacteria (blue-green algae), composing of various bioactive compounds, especially biopolymers (polysaccharides and proteins). The aim of this research was to study the best extraction conditions, in terms of physicochemical properties, molecular weight and rheological behavior, of biopolymers from *N. commune*; hot water extraction and combined hot-water and ultrasound-assisted extraction (UAE) were tested. The best condition for hot-water extraction was four times of extraction, at a ratio of solid to liquid of 1:60 (w/v) and temperature of 90 °C for 3 h. On the other hand, the best condition for combined hot-water and ultrasound-assisted extraction was four times of extraction, at a ratio of solid to liquid of 1:60 (w/v), ultrasonic power of 400 W at 80 °C for 30 min. The biopolymers from the best conditions of both hot water and combined hot-water and ultrasound-assisted extraction exhibited  $M_w$  of  $4.49 \times 10^6$  and  $2.32 \times 10^6$  Da, respectively. The extracted biopolymers via hot-water extraction and combined hot-water and ultrasound-assisted extraction showed ABTS<sup>•+</sup> antioxidant capacity of 92.03% and 95.35%, and DPPH<sup>•</sup> antioxidant capacity of 39.13% and 42%, respectively. Rheological behaviors of the extracted biopolymers were pseudoplastic, with weak gel property at a concentration of 0.8% (w/v).

## 1. บทนำ

ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) เป็นสาหร่ายในกลุ่ม Prokaryotic cells ไม่มีเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ มีสารพันธุกรรมและรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง เช่น คลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll a) ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) ไฟโคอีริทริน (phycoerythrin) และอัลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin) [1] ประโยชน์ของไซยาโนแบคทีเรียมีหลากหลาย เช่น ด้านการเกษตร ด้านอุตสาหกรรมและยา รวมถึงผลิตภัณฑ์ทางด้านเครื่องสำอาง [2]

สาหร่าย *Nostoc commune* Vaucher เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดอยู่ในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย พบกระจายบนดินตามที่ชื้นแฉะหรือแหล่งน้ำ เป็นสาหร่ายที่ประกอบขึ้นจากเส้นใย (filaments) จำนวนมาก เส้นใยของสาหร่ายรวมตัวเป็นกลุ่มขนาดใหญ่และสร้างเมือกที่เป็นสารประกอบประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ล้อมรอบ [3] ในประเทศไทยคนนิยมบริโภคสาหร่าย *N. commune* ในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเฉพาะบริเวณจังหวัดมหาสารคาม ซึ่งเป็นที่รู้จักกันในท้องถิ่นนั้นในนามของสาหร่ายเห็ดปลา [4] องค์ประกอบส่วนใหญ่ ได้แก่ โปรตีน 25-27% ของน้ำหนักแห้ง และคาร์โบไฮเดรต 51.12% [5] ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล เช่น กาแล็กโทส กลูโคส ทรีฮาโลส ฟรุคโทส ไซโลส โพลีไฮดริกแอลกอฮอล์ แลคโตส และกรดยูโรนิก [6] ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหารและสภาวะแวดล้อมของสาหร่ายในระหว่างการเจริญ [7]

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นกลุ่มของพอลิเมอร์เชิงซ้อนที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลและองค์ประกอบอื่น ๆ ได้แก่ กรดอะมิโน โปรตีน ไขมัน หรือเม็ดสี จึงมีสมบัติในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบในแบคทีเรีย เชื้อรา และสาหร่ายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีแดง และสาหร่ายสีน้ำตาล [8] โดยมีรายงานว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่าย *N. commune* ซึ่งอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีความสามารถในการเป็นสารต้านการอักเสบ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย [9] สามารถดูดซับความชื้นและกักเก็บความชื้นได้ดีกว่าไคโตแซน (chitosan) และยูเรีย สามารถเกิดเจลอ่อน (weak gel) [10] และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion) และไฮดรอกซิลแรดดิคัล

(hydroxyl radical) [11] ซึ่งเหมาะสมสำหรับการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหาร อย่างไรก็ตามการนำพอลิแซ็กคาไรด์มาใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพขึ้นกับสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ โครงสร้างขนาดและน้ำหนักโมเลกุล ความมีขี้้ว สมบัติการละลายน้ำ โดยประสิทธิภาพในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ให้ได้สารชีวโมเลกุลทั้งที่มีต่อสมบัติและปริมาณมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ อายุหรือวัยของวัตถุดิบ วิธีการสกัด สภาวะการสกัด และการทำบริสุทธิ์ [12]

โดยทั่วไป วิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์นิยมใช้น้ำในการสกัดที่อุณหภูมิประมาณ 80-90 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณร้อยละ 8-29 ของน้ำหนักแห้ง [13] ถึงแม้พอลิแซ็กคาไรด์ของสาหร่าย *N. commune* มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมาก แต่สาหร่ายนี้มีโครงสร้างผนังเซลล์หนาประกอบด้วยเมือกชั้นนอก เยื่อหุ้มชั้นนอกและเยื่อหุ้มชั้นใน โดยมีองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน และเม็ดสี [14] การใช้น้ำร้อนในการสกัดอาจต้องใช้อุณหภูมิสูงและเวลาการสกัดนาน ปัจจุบันมีการพัฒนากระบวนการสกัดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเทคโนโลยีสะอาด (green technology) เช่น การใช้เอนไซม์ หรือวิธีทางกายภาพ เช่น การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound-assisted extraction; UAE) ร่วมกับน้ำร้อน โดยคลื่นเสียงความถี่สูงทำให้เกิดฟองอากาศ (bubble) ส่งผลต่อการทำลายผนังเซลล์ทั้งพันธะภายนอกและภายในโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์จึงส่งผลต่อการแพร่ของตัวทำละลาย เวลาในการสกัด และขนาดโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ [15] โดยมีรายงานการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีดังกล่าวกับพืชหลายชนิด เช่น ชัลเฟตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายทะเล [15] และพอลิแซ็กคาไรด์ที่จาก *Enteromorpha linza* [16] เป็นต้น

ถึงแม้ว่าสาหร่าย *N. commune* มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และสารชีวภาพที่สำคัญ แต่ยังมีรายงานการวิจัยการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายนี้น้อยมาก รวมทั้งยังไม่มีการนำ UAE มาใช้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดพอลิแซ็ก

คาไรต์ ดังนั้นงานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดและการแยกพอลิแซ็กคาไรด์จาก *N. commune* ด้วยน้ำร้อนเปรียบเทียบกับการใช้ความร้อนร่วมกับการใช้ UAE และศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และพฤติกรรมการไหล เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมต่อไป

## 2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

### 2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำสาหร่าย *N. commune* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่เพาะเลี้ยงอายุ 1 เดือน ล้างทำความสะอาด และทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (ศูนย์เตาอบ กล้วยน้ำไท, ประเทศไทย) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-15 ชั่วโมง (ความชื้นตัวอย่างประมาณ 8-10%) บดและร่อนตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 80 เมช จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีเบื้องต้น ได้แก่ ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต น้ำ และคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [17]

**2.2 การสกัดไปโอพอลิเมอร์จากสาหร่าย *N. commune* ด้วยน้ำร้อน (hot water extraction) ต่อสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ**

#### 2.2.1 การศึกษาสัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำ

นำสาหร่ายที่เตรียมไว้มาสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยแปรสัดส่วนตัวอย่างต่อน้ำ 1:40, 1:60 และ 1:80 (w/v) สกัดเวลา 5 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาสกัดซ้ำเช่นเดิม 4 ครั้ง จากนั้นนำสารละลายทั้งหมดที่ได้ไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ และนำมาตกตะกอนด้วยเอทานอล 95% ในปริมาตร 3 เท่า ของปริมาตรละลาย จากนั้นนำไปโอพอลิเมอร์ที่ได้ไปทำแห้งด้วยการทำแห้งเยือกแข็งแบบสูญญากาศ (รุ่น bulk tray dryer, ประเทศออสเตรเลีย) และนำมาวิเคราะห์สมบัติกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไปโอพอลิเมอร์ ดังข้อ 2.4

#### 2.2.2 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัด

นำสาหร่ายที่เตรียมไว้มาสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ

90 องศาเซลเซียส โดยใช้สัดส่วนสาหร่ายและน้ำที่ดีที่สุดจากข้อ 2.2.1 โดยแปรเวลาที่ใช้ในการสกัด 1, 3, และ 5 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาสกัดซ้ำเช่นเดิม 4 ครั้ง หลังจากนั้นนำมาทำขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

### 2.2.3 การศึกษาอุณหภูมิในการสกัด

นำสาหร่ายที่เตรียมไว้จากข้อ 2.1 มาสกัดด้วยน้ำร้อน โดยแปรอุณหภูมิในการสกัด 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส ที่สัดส่วนสาหร่ายและน้ำที่ดีที่สุดจากข้อ 2.2.1 และเวลาในการสกัดที่ดีที่สุดจากข้อ 2.2.2 เมื่อครบเวลานำมาสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง หลังจากนั้นนำมาทำขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

**2.3 การสกัดไปโอพอลิเมอร์จากสาหร่าย *N. commune* ด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (UAE) ต่อสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ**

#### 2.3.1 การศึกษาสัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำ

นำสาหร่ายที่เตรียมจากข้อ 2.1 มาสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (รุ่น GT SONIC-P20 ประเทศจีน) โดยแปรสัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำที่ 1:40, 1:60 และ 1:80 (w/v) อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กำลังไฟฟ้า 400 วัตต์ เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาสกัดซ้ำเช่นเดิม 4 ครั้ง หลังจากนั้นนำมาทำขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

#### 2.3.2 การศึกษากำลังไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัด

นำสาหร่ายที่เตรียมจากข้อ 2.1 มาสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง โดยแปรกำลังไฟฟ้าในการสกัด 200, 300 และ 400 วัตต์ ที่สัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำที่ดีที่สุดจากข้อ 2.3.1 อุณหภูมิในการสกัด 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาสกัดซ้ำเช่นเดิม 4 ครั้ง หลังจากนั้นนำมาทำขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

#### 2.3.3 การศึกษาเวลาในการสกัด

นำสาหร่ายที่เตรียมจากข้อ 2.1 มาสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง โดยแปรเวลาในการสกัด 10, 20 และ 30 นาที ที่สัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำที่ดีที่สุดจากข้อ 2.3.1 และกำลังไฟฟ้าในการสกัดที่ดีที่สุดจากข้อ 2.3.2 สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลานำมาสกัดซ้ำเช่นเดิม 4 ครั้ง หลังจากนั้นนำมาทำขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

### 2.3.4 การศึกษาจำนวนครั้งในการสกัด

นำสาหร่ายที่เตรียมจากข้อ 2.1 มาสกัดด้วยน้ำร้อน ร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (รุ่น GT SONIC-P20 ประเทศจีน) ที่สัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำที่ดีที่สุดจากข้อ 2.3.1 กำลังไฟฟ้าในการสกัดที่ดีที่สุดจากข้อ 2.3.2 และเวลาในการสกัดที่ดีที่สุดจากข้อ 2.3.3 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยแปรจำนวนครั้งการสกัด 1, 2, 3 และ 4 ครั้ง เมื่อบริเวณเวลานำมาทำขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

## 2.4 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ-เคมี

### 2.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณร้อยละของผลผลิต (Yield)

วิเคราะห์ปริมาณร้อยละผลผลิตตามวิธีของ Wang และคณะ [18] นำสารที่สกัดได้จากข้อ 2.2 และ 2.3 มาคำนวณปริมาณร้อยละผลผลิต ดังสมการที่ 1

$$\text{ปริมาณร้อยละผลผลิต (น้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักไปโอพอลิเมอร์หลังทำแห้ง}}{\text{น้ำหนักสาหร่ายก่อนการสกัด}} \times 100 \quad (1)$$

### 2.4.2 ค่าสี

วัดการเปลี่ยนแปลงสีในระบบ  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  ของไปโอพอลิเมอร์ที่ได้จากการกระบวนการสกัดทั้ง 2 วิธี ด้วยเครื่อง Colorimeter (รุ่น MiniScanEZ, United Kingdom) โดยค่า  $L^*$  คือ ค่าความสว่าง  $a^*$  คือค่าสีเขียว (-) และค่าสีแดง (+) และค่า  $b^*$  คือ ค่าสีน้ำเงิน (-) และค่าสีเหลือง (+) ด้วยการวัดแบบสุ่มจำนวน 3 ครั้งต่อ 1 ตัวอย่าง และวิเคราะห์ค่าความเข้มสี (Chroma) และค่าเฉดสี ( $h^\circ$ )

### 2.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปน้ำตาลทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ตามวิธีของ Agrawal และคณะ [19] โดยเตรียมสารละลายกลูโคส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้น 5% (w/v) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที หลังจากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร วางไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที และวิเคราะห์ค่าการ

ดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร เทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

### 2.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีของ Lowry และคณะ [19] โดยเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) ความเข้มข้น 0-2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปีเตสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน BSA ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองและเติมสารละลาย Lowry reagent ปริมาตร 0.7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที และเติมสาร Folin phenol reagent 0.1 มิลลิลิตร ในแต่ละหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

## 2.5 การวิเคราะห์การเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไปโอพอลิเมอร์

### 2.5.1 การวิเคราะห์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH scavenging activity assay ดัดแปลงจากวิธีของ Senthil Kumar และคณะ [8] โดยละลายตัวอย่างในน้ำที่ความเข้มข้น 0.5-2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมกับ 150 ไมโครลิตร 0.1 มิลลิโมลาร์ DPPH ใน 95% เอทานอลทิ้งในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนออกที่ 5,000 xg เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณหาร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 2

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{1-(A_s-A_c)}{A} \times 100 \quad (2)$$

โดยที่  $A_s$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

$A_c$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอล

$A$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH<sup>•</sup> และเอทานอล

### 2.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย 2, 2-azobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>•+</sup>)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS scavenging activity assay ดัดแปลงจากวิธีของ Shang และคณะ [21] โดยการผสมสารละลาย 5 มิลลิลิตร ของ ABTS<sup>•+</sup> 7 มิลลิโมลาร์ กับ 1 มิลลิลิตร ของ K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 15 มิลลิโมลาร์ ทั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.7±0.02 จากนั้นปิเปตตัวอย่าง 150 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5, 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย ABTS<sup>•+</sup> 150 ไมโครลิตร ทั้งไว้ในที่มืด 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณหาร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดังสมการที่ 3

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \frac{(A_0 - A_1 - A_2)}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

โดยที่  $A_0$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม (สารละลาย ABTS<sup>•+</sup> และน้ำ)

$A_1$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

$A_2$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารในปฏิกิริยายกเว้นสารละลาย ABTS<sup>•+</sup>

### 2.6 การศึกษาน้ำหนักโมเลกุลและพฤติกรรมการไหลของไบโอพอลิเมอร์

นำไบโอพอลิเมอร์จากสภาวะที่ดีที่สุดที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธี (จากข้อ 2.2 และ 2.3) มาวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลและสมบัติทางรีโอโลยี

#### 2.6.1 การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล

เตรียมตัวอย่างไบโอพอลิเมอร์ (พอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีน) ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งตัวอย่างไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดได้จากสาหร่าย *N. commune*

25 มิลลิกรัม จากนั้นเติม 90 มิลลิโมลาร์ NaNO<sub>3</sub> ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส กวนด้วย magnetic stirrer จนกระทั่งตัวอย่างละลาย จากนั้นทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย Vortex mixer และกรองผ่าน syringe membrane filter 1.2 ไมโครเมตร ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไบโอพอลิเมอร์ด้วยเทคนิค Gel permeation chromatography (GPC) (Shimadzu, Japan) ประกอบด้วย Binary pump, DGU-20A On-line Degassing Unit, SIL-20 Auto sampler, CTO-20A Column Oven, RID-20A Refractive Index Detector และ SPD-M20A Photo-diode Array detector ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นำมาผ่านคอลัมน์ Aqueous SEC (GFC) Columns 3 คอลัมน์ ได้แก่ OHpak SB-G 6B (guard column) ต่อกับ OHpak SB-806M HQ 2 คอลัมน์ (Shodex, Polyhydroxymethylacrylate, column size 8x300 mm, M<sub>w</sub> range 500-2,000,000 ดาลตัน (เทียบกับสารมาตรฐาน Dextran), Showa Denko Singapore (Pte) Ltd, ประเทศสิงคโปร์)

ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตร ต่อนาที เป็นระยะเวลา 50 นาที โดยใช้ 0.1 โมลาร์ NaNO<sub>3</sub> เป็นเฟสเคลื่อนที่

#### 2.6.2 การวิเคราะห์สมบัติเชิงรีโอโลยี

สมบัติเชิงรีโอโลยีดัดแปลงจากวิธีของ Hao และคณะ [22] ด้วยเครื่องวัดกระแสการไหล (Rheometer) ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น HAAKE VT iQ Air ประเทศสหรัฐอเมริกา การวิเคราะห์พฤติกรรมการไหลแบบแรงเฉือนคงตัว (steady shear) ภายใต้แรงเฉือนในช่วง 0.01-300 s<sup>-1</sup> โดยใช้ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ 0.8, 1 และ 1.2% (w/v) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยประเมินพฤติกรรมการไหลด้วย Shear rate curve ส่วนการวัดค่าพารามิเตอร์ของสมบัติวิสโคอิลาสติก ได้แก่ ค่ามอดูลัสกักเก็บ (storage modulus; G') และค่ามอดูลัสสูญเสีย (loss modulus; G'') ด้วยการทดสอบแบบ Frequency sweep ( $\omega$ ) ในช่วงความถี่ตั้งแต่

0.1 ถึง 50 เฮิร์ต ที่ Strain sweep ( $\gamma$ ) เท่ากับ 2% ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

## 2.7 การประเมินผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16.0

ผลผลิตเพิ่มขึ้นมีค่าเท่ากับ  $15.11 \pm 0.04$ ,  $20.15 \pm 0.68$  และ  $20.28 \pm 0.62$  ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (ตารางที่ 1) เนื่องจากการเพิ่มปริมาณน้ำในการสกัดส่งผลต่อการแพร่กระจายมวลของพอลิแซ็กคาไรด์ [5] รวมถึงองค์ประกอบอื่น ๆ ที่อยู่ในผนังเซลล์ เช่น โปรตีน และเม็ดสี เช่น คลอโรฟิลล์ เอ และ scytonemin ที่มีสีเหลืองเขียว [14] ซึ่งสอดคล้องกับค่า  $a^*$  และ  $b^*$  และค่าเดดสี ( $h^\circ$ ) ที่วิเคราะห์ได้ โดยมีค่าอยู่ในช่วงสีเหลือง-เขียว และจากรูปที่ 1 ข โปรตีนที่วิเคราะห์ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเพิ่มสัดส่วนสำหรับย่น้ำจาก 1:60 เป็น 1:80 (w/v) ซึ่งให้ผล

**ตารางที่ 1** ปริมาณร้อยละผลผลิตและค่าสีของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่แปรสัดส่วนสำหรับย่น้ำที่ 1:40, 1:60 และ 1:80 (w/v)

สัดส่วนสำหรับย่น้ำ (มิลลิลิตรต่อกรัม)	ปริมาณร้อยละผลผลิต (%)	ค่าสี				
		$L^*$	$a^*$ ns	$b^*$ ns	Chroma ns	$h^\circ$ ns
1:40	$15.11 \pm 0.04^b$	$48.69 \pm 1.39^b$	$-0.24 \pm 0.01$	$5.85 \pm 1.21$	$6.30 \pm 1.16$	$92.68 \pm 1.04$
1:60	$20.15 \pm 0.68^a$	$49.95 \pm 1.66^{ab}$	$-0.25 \pm 0.07$	$6.18 \pm 1.31$	$5.24 \pm 0.59$	$92.05 \pm 0.63$
1:80	$20.28 \pm 0.62^a$	$52.39 \pm 0.51^a$	$-0.27 \pm 0.16$	$6.35 \pm 0.40$	$6.19 \pm 1.48$	$92.53 \pm 2.36$

หมายเหตุ : a,b,c...ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ns ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

## 3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

**3.1 ผลการสกัดไบโอพอลิเมอร์จาก *N. commune* ด้วยน้ำร้อนต่อสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ**

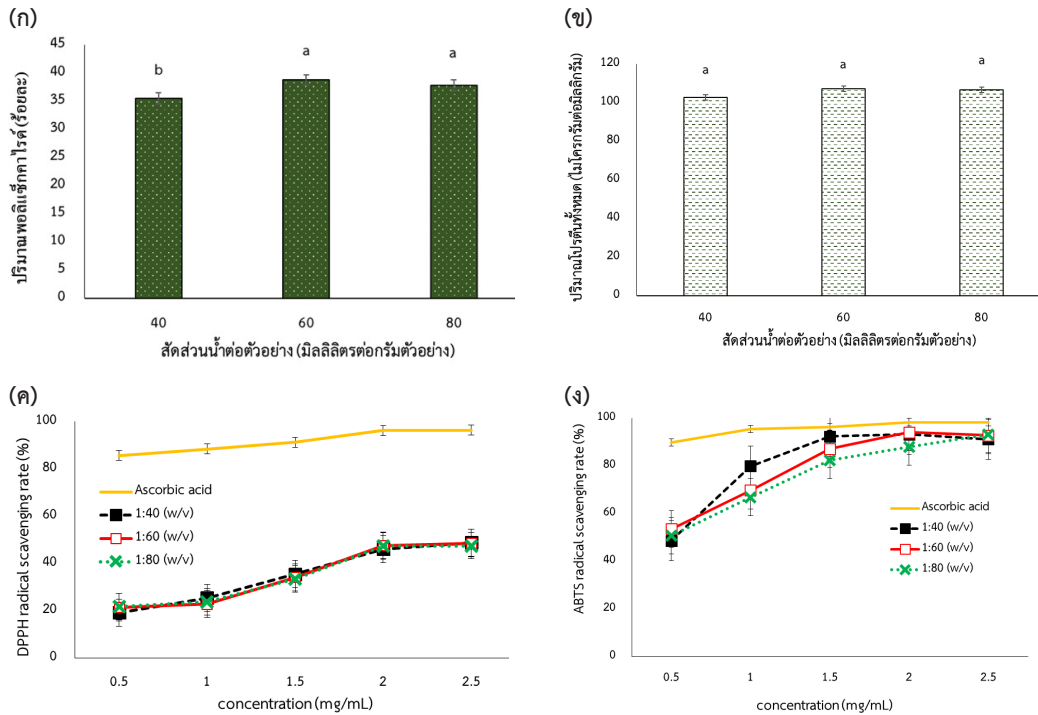
### 3.1.1 ผลของสัดส่วนสำหรับย่น้ำ

จากการศึกษาสัดส่วนสำหรับย่น้ำในการสกัดที่ 1:40, 1:60 และ 1:80 (w/v) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลาการสกัด 5 ชั่วโมง โดยทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง พบว่าสัดส่วนน้ำที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อปริมาณร้อยละผลผลิต ค่าความสว่าง และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำที่ 40, 60 และ 80 มิลลิลิตร ปริมาณร้อยละ

เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Cao และคณะ [23] เนื่องจากถึงจุดอิ่มตัวของตัวทำละลายและสารสกัด และสอดคล้องกับปริมาณร้อยละผลผลิตที่ได้ ขณะที่การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH $^{\cdot}$  และ ABTS $^{\cdot+}$  (รูปที่ 1 ค-ง) พบว่าการเพิ่มสัดส่วนน้ำที่ใช้ในสกัดส่งผลต่อค่าการต้านอนุมูลอิสระที่ได้ ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากปริมาณน้ำส่งผลต่อประสิทธิภาพในการแพร่กระจายสารที่มีขั้วที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์หรือโปรตีน [24] โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS $^{\cdot+}$  และ DPPH $^{\cdot}$  ที่ความเข้มข้นสารละลาย 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับร้อยละ 92.76 และ 48 ตามลำดับ

ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนที่แปรสัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำคือ 1:60 (w/v) มีสมบัติทางกายภาพเคมี และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>+</sup>

และ DPPH<sup>•</sup> ดีที่สุด จึงได้นำสภาวะนี้ไปใช้ในการศึกษาในสภาวะต่อไป



รูปที่ 1 ก) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ข) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ค) การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ง) ABTS<sup>+</sup> ของไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่ใช้สัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำแตกต่างกัน

### 3.1.2 ผลของเวลาในการสกัด

จากการศึกษาเวลาในการสกัดที่ 1, 3 และ 5 ชั่วโมง ที่สัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำ 1:60 (w/v) อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง พบว่าการเพิ่มเวลาในการสกัดทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิต คาร์โบไฮเดรต ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณโปรตีน และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>+</sup> ของไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 2 โดยการเพิ่มเวลาในการสกัดจาก 1 ชั่วโมง เป็น 3 และ 5 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิตเพิ่มขึ้นจาก 15.13±0.32 เป็น 20.16±0.18 และ 20.38±0.22 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เนื่องจากเวลาในการสกัดส่งผลต่อการแพร่เข้า-ออกของตัวทำละลายเข้าสู่เมมเบรนและผนังเซลล์ไปยังไซโต

พลาสซึมของตัวอย่าง [5] และพวงค์ประกอบต่าง ๆ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีนและเม็ดสีออกมานอกเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณโปรตีน (รูปที่ 2 ก-ข) คาร์โบไฮเดรต และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>+</sup> ที่วิเคราะห์ได้ โดยค่าสีของไปโอพอลิเมอร์มีค่า a\* และ b\* เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดซึ่งเป็นผลมาจากเวลาในการแพร่เข้า-ออกของตัวทำละลายในเมมเบรนและมีค่าเฉดสีอยู่ในช่วง 90-100° ซึ่งมีแนวโน้มอยู่ในช่วงสีเหลืองเขียว สอดคล้องกับเม็ดสีที่พบในสาหร่าย *N. commune* [14] เช่นเดียวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS radical scavenging (รูปที่ 2 ค-ง) ที่พบว่าเวลาในการสกัดเป็นพารามิเตอร์สำคัญที่สัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการสกัด เนื่องจากส่งผลต่อการแพร่เข้าและออกของตัวทำละลาย



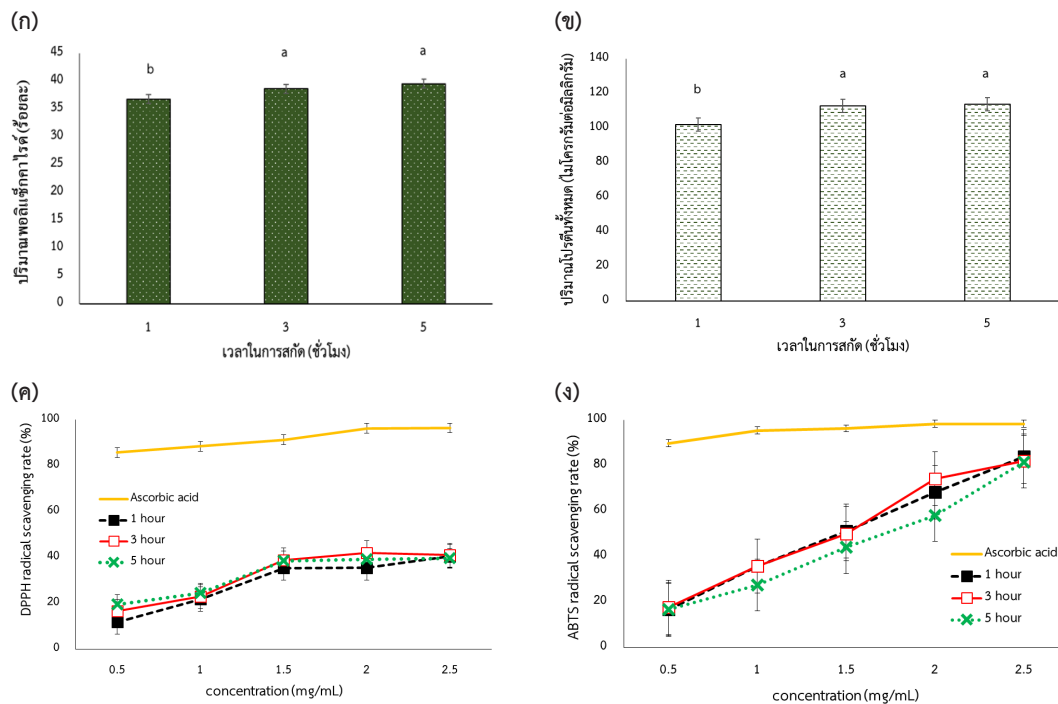
ทำให้สกัดสารไบโอพอลิเมอร์ได้เพิ่มขึ้น ประกอบกับค่าการต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด ซึ่งมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดทั้งวิธี ABTS<sup>+</sup> (87.05) และ DPPH<sup>·</sup> (40.95) ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐาน แอสคอร์บิกในทุกระดับความเข้มข้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lyu และคณะ [25] อย่างไรก็ตามปริมาณร้อยละผลผลิต ค่าสี

ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณโปรตีน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเวลาในการสกัดที่ 3 และ 5 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันทางสถิติเนื่องจากถึงจุดอิ่มตัวระหว่างตัวทำละลายและสารสกัด [23] ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนที่แปรเวลาในการสกัดคือ 3 ชั่วโมง โดยมีสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>+</sup> และ DPPH<sup>·</sup> ที่ดีที่สุด จึงได้นำสภาวะนี้ไปใช้ในการศึกษาในสภาวะต่อไป

ตารางที่ 2 ปริมาณร้อยละผลผลิตและค่าสีของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่แปรเวลาในการสกัดที่ 1, 3 และ 5 ชั่วโมง

เวลาการสกัด (ชั่วโมง)	ปริมาณร้อยละผลผลิต (%)	ค่าสี				
		L*	a*	b*	Chroma	h°
1	15.13±0.32 <sup>b</sup>	49.64±1.30 <sup>ab</sup>	-0.92±0.03 <sup>c</sup>	4.34±0.17 <sup>b</sup>	4.44±0.15 <sup>b</sup>	102.05±0.80 <sup>a</sup>
3	20.16±0.18 <sup>a</sup>	52.02±1.53 <sup>a</sup>	-0.67±0.09 <sup>b</sup>	8.82±1.18 <sup>a</sup>	8.31±1.16 <sup>a</sup>	94.69±1.19 <sup>b</sup>
5	20.38±0.22 <sup>a</sup>	46.79±3.12 <sup>b</sup>	-0.13±0.03 <sup>a</sup>	6.58±1.58 <sup>ab</sup>	6.58±1.58 <sup>ab</sup>	90.76±1.26 <sup>c</sup>

หมายเหตุ : a,b,c... ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )



รูปที่ 2 ก) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ข) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ค) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>·</sup> และ ง) ABTS<sup>+</sup> ของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่ใช้เวลาการสกัดแตกต่างกัน

### 3.1.3 ผลของอุณหภูมิในการสกัด

จากการศึกษาอุณหภูมิในการสกัดที่ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส ที่สัดส่วนสารหยาดต่อน้ำ 1:60 (w/v) เวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง โดยทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง พบว่าอุณหภูมิในการสกัดส่งผลต่อปริมาณร้อยละผลผลิต ค่าสี ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>•+</sup> ของไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจาก 70 เป็น 80 และ 90 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิตเพิ่มขึ้นจาก 8.88±0.07 เป็น 14.12±0.29 และ 19.93±0.75 ตามลำดับ เช่นเดียวกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (รูปที่ 3 ก) เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดทำให้ความหนืดของสารละลายลดลง จึงทำให้ค่าการต้านทานการไหลลดลง [26] จึงสกัดไปโอพอลิเมอร์รวมถึงองค์ประกอบอื่น ๆ ได้ง่ายขึ้น ส่วนค่าสี (ตารางที่ 3) พบว่าค่า a\* และ b\* มีแนวโน้มไปทางบวกเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด เนื่องจากอุณหภูมิส่งผลต่อการแพร่เข้า-ออกของตัวทำละลาย จึงพามาเม็ดสีที่พบในสารหยาด *N. commune* เช่น คลอโรฟิลล์ เอ (สีเขียว), scytonemin (สีเหลือง-น้ำตาล) และแคโรทีนอยด์ (สีส้ม) เป็นต้น [27] สอดคล้องกับค่าเจดสีที่อยู่ในช่วง 80-100° ซึ่งแสดงความเป็นสีเหลืองเขียว ขณะที่ปริมาณโปรตีนที่แปรอุณหภูมิในการสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 3 ข) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Connor และคณะ [28] รายงานว่าอุณหภูมิในการสกัดที่ 70-90 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อการ

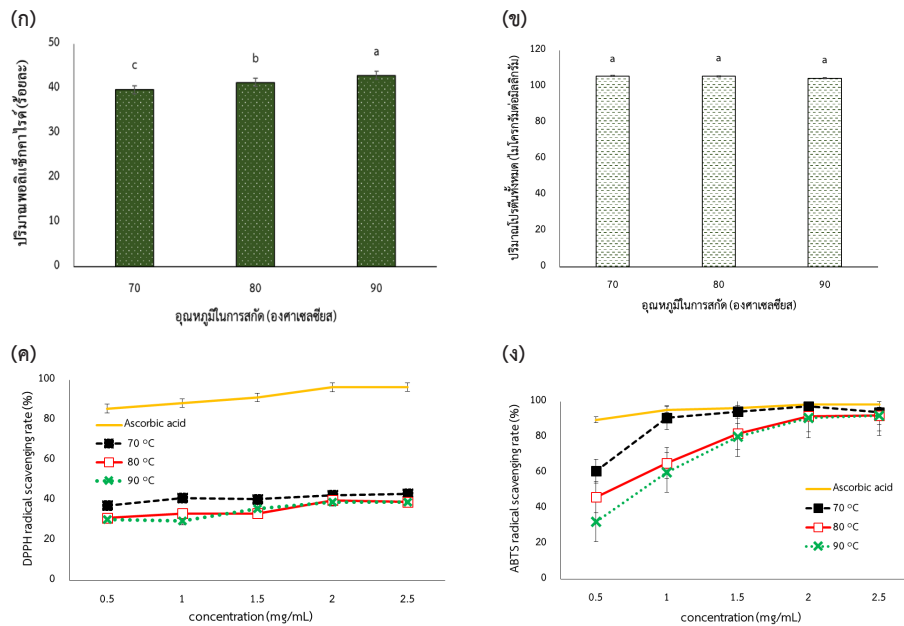
เสีสภาพทางธรรมชาติของโปรตีนเพียงเล็กน้อย แต่ถ้าอุณหภูมิในการสกัดมากกว่า 200 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อการละลายและโครงสร้างของโปรตีน เช่น การเปลี่ยนจาก L-amino acid เป็น D-amino acid อย่างไรก็ตามการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging ลดลง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด (รูปที่ 3 ค-ง) ซึ่งเป็นผลมาจากความร้อนต่อโครงสร้างและน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Khoa และคณะ [5] พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิตและน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงเนื่องจากความยาวของสายโซ่ของพอลิแซ็กคาไรด์ไม่เอื้อต่อการออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>•+</sup> และ DPPH<sup>•</sup> ที่ความเข้มข้นสารละลาย 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับร้อยละ 90.03 และ 39.13 ตามลำดับ

ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนที่แปรอุณหภูมิในการสกัดคือ 90 องศาเซลเซียส โดยได้ค่าคุณภาพทางกายภาพ-เคมีที่ดีที่สุด และมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>•+</sup> และ DPPH<sup>•</sup> ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนคือสัดส่วนสารหยาดต่อน้ำ 1:60 (w/v) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง

**ตารางที่ 3** ปริมาณร้อยละผลผลิตและค่าสีของไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่แปรอุณหภูมิการสกัดที่ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิการสกัด (องศาเซลเซียส)	ปริมาณร้อยละ ผลผลิต (%)	ค่าสี				
		L*	a*	b*	Chroma	h°
70	8.89±0.07 <sup>c</sup>	48.69±1.39 <sup>b</sup>	-0.92±0.03 <sup>b</sup>	4.34±0.17 <sup>a</sup>	4.44±0.16 <sup>a</sup>	102.05±0.81 <sup>a</sup>
80	14.12±0.29 <sup>b</sup>	49.95±1.66 <sup>b</sup>	0.17±0.30 <sup>a</sup>	1.92±0.29 <sup>c</sup>	1.94±0.32 <sup>c</sup>	85.58±7.83 <sup>b</sup>
90	19.93±0.75 <sup>a</sup>	52.39±0.57 <sup>a</sup>	0.02±0.04 <sup>a</sup>	3.19±0.40 <sup>b</sup>	3.19±0.30 <sup>b</sup>	86.46±0.68 <sup>b</sup>

หมายเหตุ : a,b,c... ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



รูปที่ 3 ก) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ข) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ค) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ง) ABTS<sup>•+</sup> ของไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่ใช้อุณหภูมิการสกัดแตกต่างกัน

3.2 ผลการสกัดไปโอพอลิเมอร์จาก *N. commune* ด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงต่อสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

### 3.2.1 ผลของสัดส่วนสารหยาดต่อน้ำ

จากการศึกษาสัดส่วนสารหยาดต่อน้ำในการสกัดที่ 1:40, 1:60 และ 1:80 (w/v) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กำลังไฟฟ้า 400 วัตต์ เวลาในการสกัด 30 นาที โดยทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง พบว่าสัดส่วนน้ำที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อปริมาณร้อยละผลผลิต ค่าสี ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณโปรตีน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>•+</sup> ของไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปริมาณร้อยละผลผลิตมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มสัดส่วนน้ำที่ใช้ในการสกัดที่ 40, 60 และ 80 มิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ  $7.86 \pm 0.35$ ,  $9.89 \pm 0.10$  และ  $9.92 \pm 0.15$  ตามลำดับ (ตารางที่ 4) เนื่องจากปริมาณน้ำที่สูงยิ่งเอื้อต่อการแพร่มวลขององค์ประกอบภายในผนังเซลล์ออกสู่ตัวทำละลาย [29] รวมถึงการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในการสกัดช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการ

สกัด โดยสร้างฟองอากาศรอบ ๆ เซลล์จึงเกิดพลังงานในการทำลายผนังเซลล์ทำให้สกัดองค์ประกอบต่าง ๆ ได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณร้อยละผลผลิตของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำในปริมาตร 60 และ 80 มิลลิลิตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากถึงจุดอิ่มตัวระหว่างตัวทำละลายและสารสกัด [23] เช่นเดียวกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ (รูปที่ 4 ก-ข) ในส่วนของค่าสี (ตารางที่ 4) ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  มีทิศทางไปทางลบมากขึ้นเมื่อเพิ่มสัดส่วนสารหยาดต่อน้ำซึ่งส่งผลต่อการแพร่ขององค์ประกอบภายในผนังเซลล์ เช่น เม็ดสี เป็นต้น [27] ส่วนค่าเฉดสี ( $h^\circ$ ) อยู่ในช่วงสีเหลืองเขียว ซึ่งสอดคล้องกับเม็ดสีที่พบในสารหยาด *N. commune* [14] ซึ่งเป็นผลมาจากการแพร่เข้า-ออกของตัวทำละลาย ขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>•+</sup> (รูปที่ 4 ค-ง) พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย โดยมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกาะโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ [31] และโปรตีน

เช่น mycosporine-like amino acids (MAAs) ที่มีโมเลกุลของกรดอะมิโน เช่น เซอรีน (Ser) ไกลซีน (Gly) เป็นต้น โดย Matsui และคณะ [31] รายงานว่า MAAs ที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งการเพิ่มสัดส่วนของน้ำที่ใช้ทำให้การต้านอนุมูลอิสระมีค่าสูงขึ้นทั้งการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>•+</sup> เนื่องจากปริมาณน้ำส่งผลต่อการแพร่ของตัวทำละลายเข้าสู่ตัวอย่าง จึงสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้มากขึ้น โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ

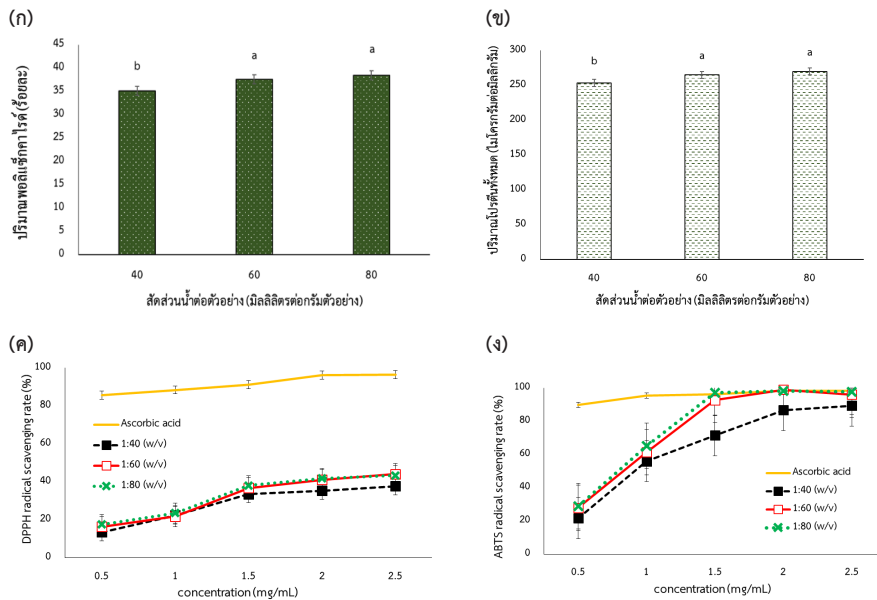
สูงที่สุดในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>•+</sup> และ DPPH<sup>•</sup> ที่ความเข้มข้นสารละลาย 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 96.05 และ 44.12 ตามลำดับ

ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่แปรสัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำคือ 1:60 (w/v) โดยมีสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>•+</sup> และ DPPH<sup>•</sup> ดีที่สุด จึงได้นำสภาวะนี้ไปใช้ในการศึกษาในสภาวะต่อไป

**ตารางที่ 4** ปริมาณร้อยละผลผลิตและค่าสีของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่แปรสัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำที่ 1:40, 1:60 และ 1:80 (w/v)

สัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำ (มิลลิลิตรต่อกรัม)	ปริมาณร้อยละผลผลิต (%)	ค่าสี				
		L* ns	a*	b*	Chroma	h°
40	7.86±0.35 <sup>b</sup>	65.76±0.48	-0.44±0.05 <sup>a</sup>	2.57±0.14 <sup>a</sup>	6.63±0.15 <sup>a</sup>	96.53±7.70 <sup>b</sup>
60	9.89±0.10 <sup>a</sup>	66.71±0.32	-0.62±0.04 <sup>b</sup>	1.36±0.04 <sup>b</sup>	5.24±0.59 <sup>b</sup>	102.11±12.91 <sup>b</sup>
80	9.92±0.15 <sup>a</sup>	66.67±0.69	-0.75±0.07 <sup>c</sup>	1.32±0.22 <sup>b</sup>	6.19±1.48 <sup>b</sup>	120.62±0.29 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : a,b,c... ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



**รูปที่ 4** ก) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ข) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ค) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ง) ABTS<sup>•+</sup> ของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ใช้สัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำแตกต่างกัน

### 3.2.2 ผลของกำลังไฟฟ้าในการสกัด

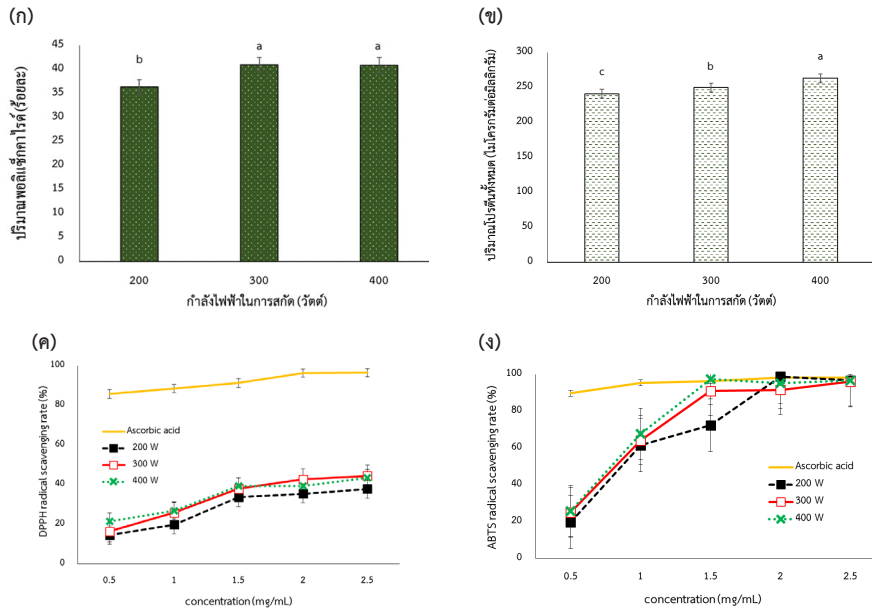
จากการศึกษากำลังไฟฟ้าในการสกัดที่ 200, 300 และ 400 วัตต์ ที่สัดส่วนสารหยาดน้ำ 1:60 (w/v) อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 30 นาที โดยทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง พบว่ากำลังไฟฟ้าในการสกัดไบโอพอลิเมอร์ส่งผลต่อสมบัติทางด้านกายภาพ-เคมี และการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>•+</sup> (ตารางที่ 5; รูปที่ 5 ก-ง) โดยการเพิ่มกำลังไฟฟ้าในการสกัดทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิต ค่าสี ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณโปรตีน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5; รูปที่ 5 ก-ง) ปริมาณร้อยละผลผลิตของกำลังไฟฟ้าในการสกัดที่ 200, 300 และ 400 วัตต์ มีค่าเท่ากับ 9.20±0.41, 10.16±0.17 และ 10.69±0.07 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ ดังรูปที่ 5 ก-ข เนื่องจากการเพิ่มกำลังไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดช่วยเพิ่มการละลายของสารละลายด้วยการทำลายพันธะระหว่างโมเลกุลขององค์ประกอบต่าง ๆ จึงเพิ่มประสิทธิภาพในการเกิดพันธะระหว่างพันธะที่ชอบน้ำ (hydrophilic group) ของสารละลายกับตัวทำละลาย [9] และกำลังไฟฟ้ายังช่วยในการเกิดฟองอากาศแรงดันสูงซึ่งส่งผลต่อการทำลายผนังเซลล์ของตัวอย่าง [32] อย่างไรก็ตามที่กำลังไฟฟ้า 400 วัตต์ ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้มีค่าลดลงเล็กน้อย เนื่องจากการเสียสภาพของโครงสร้างเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Cui และคณะ [32] ในการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Volvariella volvacea* จากการสกัดด้วย

คลื่นเสียงความถี่สูง ส่วนค่าสีของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดได้ (ตารางที่ 5) พบว่าค่าความสว่าง L\* มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่า a\* และ b\* มีทิศทางลบเมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าในการสกัด เนื่องจากผลของกำลังไฟฟ้าตัวทำละลายสามารถแทรกซึมและพาเม็ดสีที่อยู่ภายในเซลล์สารหยาดออกมาได้มากขึ้นเมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าในการสกัด [32] สอดคล้องกับค่าเฉดสี (h°) ของกำลังไฟฟ้า 300 และ 400 วัตต์ ที่มีค่ามากกว่าการสกัดที่กำลังไฟฟ้าที่ 200 วัตต์ เช่นเดียวกับการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>•+</sup> (รูปที่ 5 ค-ง) พบว่ากำลังไฟฟ้าในการสกัดส่งผลต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยกำลังไฟฟ้าที่ดีที่สุดสำหรับการสกัดไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงสูงที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 400 วัตต์ ทั้งในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> (43.42) และ ABTS<sup>•+</sup> (96.69) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Wang และคณะ [33] ที่พบว่ากำลังไฟฟ้าที่ดีที่สุดสำหรับการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Ophiopogon japonicas* มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดที่ 400 วัตต์ เนื่องจากการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงทำให้เกิดฟองอากาศมากขึ้นส่งผลต่อผนังเซลล์ของตัวอย่างจึงพาสารประกอบมีขี้และไม่ขี้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีน เป็นต้น [24] ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่แปรกำลังไฟฟ้าในการสกัดคือ 400 วัตต์ โดยมีสมบัติทางด้านกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>•+</sup> และ DPPH<sup>•</sup> ดีที่สุด จึงได้นำสภาวะนี้ไปใช้ในการศึกษาในสภาวะต่อไป

ตารางที่ 5 ปริมาณร้อยละผลผลิตและค่าสีของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่แปรกำลังไฟฟ้าในการสกัดที่ 200, 300 และ 400 วัตต์

กำลังไฟฟ้า (วัตต์)	ปริมาณร้อยละผลผลิต (%)	ค่าสี				
		L* ns	a*	b*	Chroma	h°
200	9.20±0.41 <sup>b</sup>	67.34±2.02	0.41±0.07 <sup>a</sup>	2.47±0.08 <sup>a</sup>	2.50±0.08 <sup>a</sup>	99.58±1.33 <sup>b</sup>
300	10.16±0.17 <sup>a</sup>	67.07±0.91	-0.65±0.02 <sup>b</sup>	1.07±0.36 <sup>b</sup>	1.26±0.29 <sup>b</sup>	122.84±9.94 <sup>a</sup>
400	10.69±0.07 <sup>a</sup>	65.95±0.78	-0.81±0.03 <sup>c</sup>	1.23±0.06 <sup>b</sup>	1.48±0.03 <sup>b</sup>	123.40±2.31 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : a,b,c... ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)  
ns ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ



รูปที่ 5 ก) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ข) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ค) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ง) ABTS<sup>•+</sup> ของโพลีฟีนอลที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ใช้กำลังไฟฟ้าแตกต่างกัน

### 3.2.3 ผลของเวลาในการสกัด

จากการศึกษาเวลาในการสกัดที่ 10, 20 และ 30 นาที ที่สัดส่วนสารละลายต่อน้ำ 1:60 (w/v) อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กำลังไฟฟ้า 400 วัตต์ โดยทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง พบว่าเวลาในการสกัดส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพ-เคมี และ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6; รูปที่ 6 ก-ง) เมื่อเพิ่มเวลาการสกัดจาก 10, 20 และ 30 นาที ปริมาณร้อยละผลผลิตเพิ่มขึ้นเท่ากับ 5.75±0.53, 6.99±0.77 และ 9.71±0.68 ตามลำดับ เช่นเดียวกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีน (รูปที่ 6) ซึ่งพบร้อยละของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีนมากที่สุดที่เวลาในการสกัด 30 นาที มีค่าเท่ากับ 41.49 และ 268.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ เป็นผลมาจากจากระยะเวลาของกำลังไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำละลายผนังเซลล์ [34] จึงถ่ายเทมวลของตัวทำละลายเข้าสู่ตัวอย่างได้มากขึ้น ส่วนค่าสีของโพลีฟีนอลที่แปรเวลาในการสกัด (ตารางที่ 6) พบว่าค่าความสว่างไม่แตกต่างกันทางสถิติมีค่าอยู่ในช่วง 66-68 ขณะที่ค่า a\* และ b\* มีค่าเป็นลบมากขึ้น เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดเนื่องจากการแพร่ของเม็ดสีออกจากเซลล์ ซึ่งสอดคล้องค่าเฉดสี (h°) ที่อยู่ในช่วง 100-

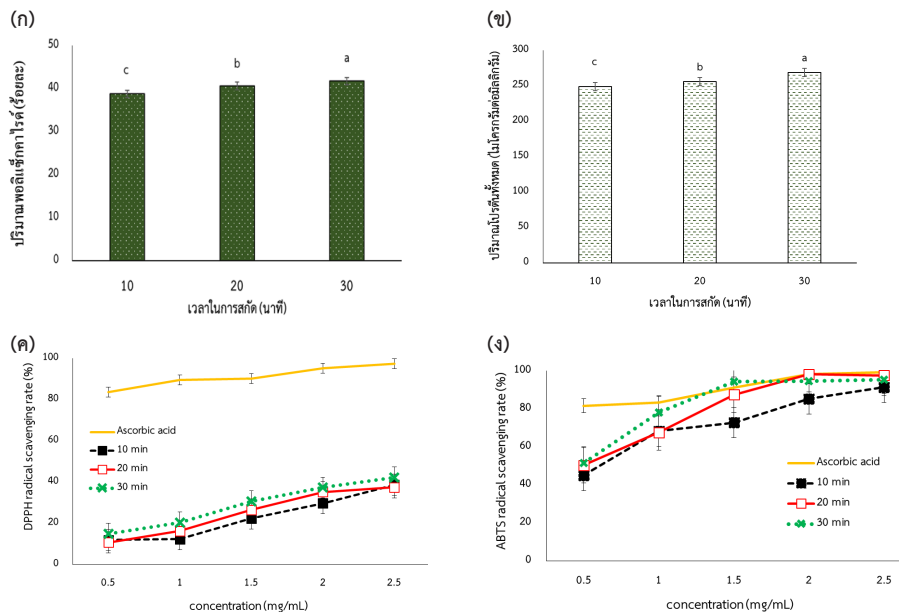
120° ซึ่งเป็นสีของเม็ดสีที่พบในสาหร่าย *N. commune* เช่น เม็ดสีในกลุ่มไฟโคบิลินโปรตีน (แดง-น้ำเงิน) [1] ที่สกัดได้ด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และเม็ดสีชนิดอื่น เช่น คลอโรฟิลล์ เอ และ scytonemin เป็นต้น [15] และจากรูปที่ 6 ค-ง พบว่าเวลาในการสกัดเป็นพารามิเตอร์สำคัญที่มีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการสกัด เนื่องจากส่งผลการแพร่เข้า-ออกของตัวทำละลาย ซึ่งส่งผลต่อการสกัดสารประกอบมีชีวิตที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีนที่ละลายในน้ำและเม็ดสี เป็นต้น โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>•+</sup> (95.35) และ DPPH<sup>•</sup> (42.12) ที่ความเข้มข้นสารละลาย 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่าย *N. commune* มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกในทุกระดับความเข้มข้น

ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่แปรเวลาในการสกัดคือ 30 นาที โดยมีสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>•+</sup> และ DPPH<sup>•</sup> ดีที่สุด จึงได้นำสภาวะนี้ไปใช้ในการศึกษาในสภาวะต่อไป

ตารางที่ 6 ปริมาณร้อยละผลผลิตและค่าสีของไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่แปรเวลาการสกัดที่ 10, 20 และ 30 นาที

เวลาการสกัด (นาที)	ปริมาณร้อยละ ผลผลิต (%)	ค่าสี				
		L* ns	a*	b*	Chroma	h°
10	5.75±0.53 <sup>c</sup>	66.63±0.51	0.46±0.28 <sup>a</sup>	2.54±0.09 <sup>a</sup>	3.59±0.15 <sup>a</sup>	100.64±0.45 <sup>b</sup>
20	6.99±0.77 <sup>b</sup>	66.51±0.79	-0.64±0.02 <sup>b</sup>	1.20±0.18 <sup>b</sup>	1.27±0.33 <sup>b</sup>	118.68±4.01 <sup>a</sup>
30	9.71±0.68 <sup>a</sup>	66.87±0.73	-0.78±0.02 <sup>c</sup>	1.23±0.06 <sup>b</sup>	1.48±0.03 <sup>b</sup>	122.01±2.60 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : a,b,c... ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )  
ns ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ



รูปที่ 6 ก) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ข) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ค) การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ง) ABTS<sup>•+</sup> ของไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ใช้เวลาการสกัดแตกต่างกัน

### 3.2.4 ผลของจำนวนครั้งในการสกัด

จากการศึกษาจำนวนครั้งในการสกัด 1, 2, 3 และ 4 ครั้ง ที่สัดส่วนสารหยาดต่อน้ำ 1:60 (w/v) อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กำลังไฟฟ้า 400 วัตต์ เวลาในการสกัด 30 นาที พบว่าผลการศึกษานี้จำนวนครั้งในการสกัดพบว่าจำนวนครั้งในการสกัดส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical

scavenging (ตารางที่ 7; รูปที่ 7 ก-ง) เนื่องจากสำหรับ *N. commune* ประกอบด้วยผนังเซลล์ที่ค่อนข้างหนา จึงยากต่อการสกัดองค์ประกอบต่าง ๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ [15] โดยจำนวนครั้งในการสกัดที่ 1, 2, 3 และ 4 ครั้ง มีปริมาณร้อยละผลผลิตเท่ากับ  $4.26 \pm 0.72$ ,  $5.84 \pm 0.30$ ,  $8.82 \pm 0.18$  และ  $10.12 \pm 0.57$  ตามลำดับ (ตารางที่ 7) สอดคล้องกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนที่มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มจำนวนครั้ง

ในการสกัด ดังรูปที่ 7 ก-ข ซึ่งพบว่า การเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัดเป็นการเพิ่มเวลาในการสกัดส่งผลต่อการถ่ายเทและการแพร่ขององค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ออกมาภายนอกเซลล์ [34] อีกทั้งกำลังไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อการทำลายผนังเซลล์ของตัวอย่างจึงเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Cui และคณะ [32] โดยมีแนวโน้มเดียวกับค่าสีดังตารางที่ 7 พบว่าค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  มีแนวโน้มไปทางลบเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัด สอดคล้องกับค่าเฉดสี ( $h^\circ$ ) ของจำนวนครั้งในการสกัดมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัด โดยมีค่าอยู่ในช่วง  $70-120^\circ$  เนื่องจากการเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัดเป็นการเพิ่มเวลาจึงส่งผลต่อการถ่ายเทและแพร่ขององค์ประกอบภายในเซลล์ [34] จึงสกัดเม็ดสีที่เป็นองค์ประกอบที่พบในสาหร่าย *N. commune* [27] สำหรับการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>·</sup> และ ABTS<sup>·+</sup> มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัด (รูปที่ 7 ค-ง) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนที่วิเคราะห์ได้เนื่องจาก

องค์ประกอบ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีนมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ [24] เช่นเดียวกับการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ใน *Ganoderma lucidum* [32] ซึ่งพบว่า การเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัดส่งผลต่อปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่าย *G. lucidum* ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจึงทำให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัด โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>·+</sup> (95.35) และ DPPH<sup>·</sup> (42) ที่ความเข้มข้นสารละลาย 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่แปรจำนวนครั้งในการสกัดคือ 4 ครั้ง โดยมีสมบัติทางกายภาพ-เคมี และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>·+</sup> และ DPPH<sup>·</sup> ดีที่สุด ดังนั้นสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงคือสัดส่วนสาหร่ายต่อน้ำ 1:60 (w/v) 30 นาที กำลังไฟฟ้า 400 วัตต์ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยทำการสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง

ตารางที่ 7 ปริมาณร้อยละผลผลิตและค่าสีของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่แปรจำนวนครั้งในการสกัดที่ 1, 2, 3 และ 4 ครั้ง

จำนวนครั้งการสกัด	ปริมาณร้อยละผลผลิต (%)	ค่าสี				
		$L^*$	$a^*$	$b^*$	Chroma	$h^\circ$
1	4.26±0.72 <sup>b</sup>	66.66±1.80 <sup>ab</sup>	-0.37±0.13 <sup>a</sup>	1.38±1.02 <sup>ab</sup>	1.84±0.41 <sup>a</sup>	78.37±2.02 <sup>b</sup>
2	5.84±0.30 <sup>b</sup>	68.07±0.78 <sup>a</sup>	-0.41±0.05 <sup>a</sup>	2.36±0.13 <sup>a</sup>	1.12±0.47 <sup>b</sup>	81.23±3.10 <sup>b</sup>
3	8.82±0.18 <sup>a</sup>	65.85±0.82 <sup>b</sup>	-0.65±0.02 <sup>b</sup>	1.07±0.36 <sup>b</sup>	0.88±0.06 <sup>b</sup>	122.84±9.94 <sup>a</sup>
4	10.12±0.57 <sup>a</sup>	66.52±1.01 <sup>ab</sup>	-0.81±0.03 <sup>c</sup>	1.23±0.06 <sup>b</sup>	0.88±0.06 <sup>b</sup>	123.40±2.31 <sup>a</sup>

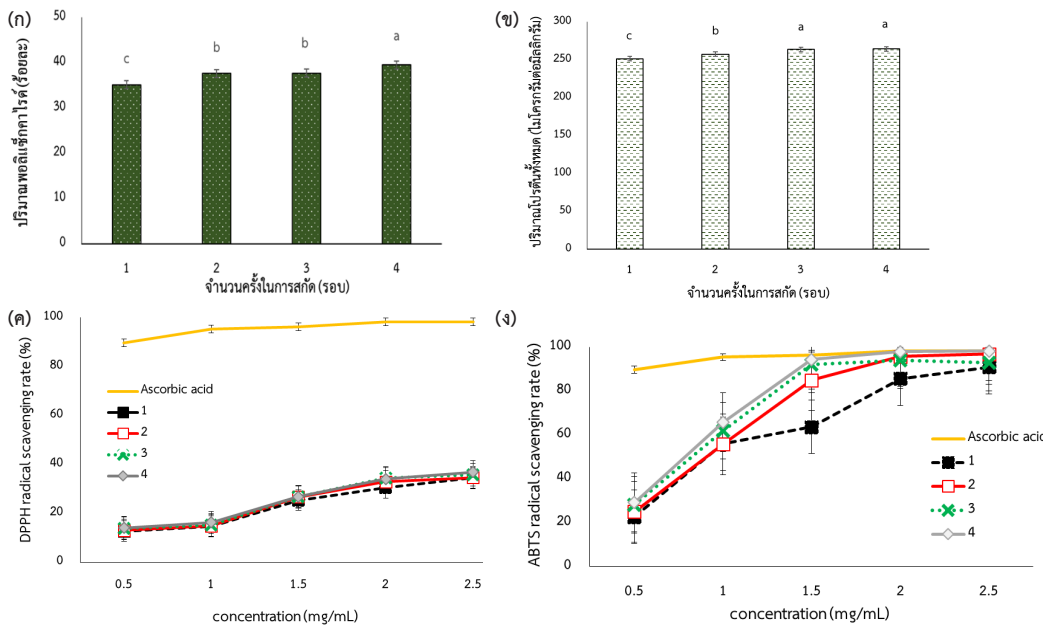
หมายเหตุ : a,b,c... ที่กำกับอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

### 3.3 การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลของไบโอพอลิเมอร์จากสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

การกระจายของน้ำหนักโมเลกุลของไบโอพอลิเมอร์จากสภาวะที่ดีที่สุดในการกระบวนการสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเปรียบเทียบกับสาร

มาตรฐานเดกซ์แทรน (dextran) พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล 3 ช่วง ได้แก่  $4.49 \times 10^6$ , 9829 และ 1478 ดาลตัน ในปริมาณร้อยละ 96.26, 2.24 และ 1.49 ตามลำดับ เช่นเดียวกับพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่มีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล 3 ช่วง ได้แก่  $2.32 \times 10^6$ ,





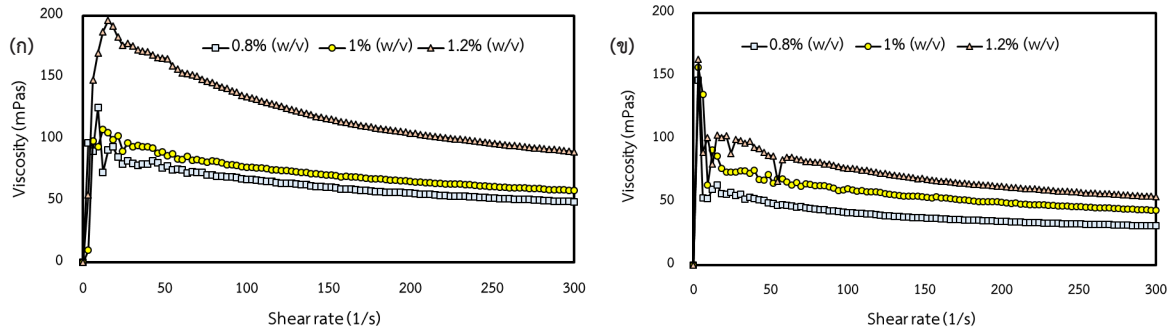
รูปที่ 7 ก) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ข) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ค) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ง) ABTS<sup>•+</sup> ของโอบีโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ใช้จำนวนครั้งการสกัดแตกต่างกัน

1169 และ 515 ดาลตัน มีปริมาณร้อยละเท่ากับ 93.59, 2.29 และ 3.4 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัด 2 วิธี พบว่าการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนเนื่องจากโครงสร้างของสายโซ่พอลิแซ็กคาไรด์ถูกทำลายด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงที่ใช้ในการสกัดเช่นเดียวกับงานวิจัยของ lida และคณะ [35] ซึ่งพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของแป้งข้าวโพดหลังผ่านการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงลดลงจาก  $3 \times 10^6$  ดาลตัน เหลือ  $5 \times 10^5$ ,  $3 \times 10^5$  และ  $2 \times 10^5$  ดาลตัน ที่เวลา 30, 60 และ 120 นาที ตามลำดับ

#### 3.4 พฤติกรรมการไหลของโอบีโอพอลิเมอร์จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

จากการศึกษาพฤติกรรมการไหลของโอบีโอพอลิเมอร์จากสาหร่าย *N. commune* ที่สภาวะการสกัดที่ดีที่สุดทางด้านกายภาพและเคมีของกระบวนการสกัดทั้ง 2 วิธี (รูปที่ 8) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายทำให้ค่าความหนืดที่ได้มีค่าสูงขึ้น เนื่องจากในสารละลายประกอบ

ด้วยโมเลกุลของตัวถูกละลายจำนวนมากที่มีพันธะระหว่างกันภายในโมเลกุลจึงเกิดโครงสร้างที่แข็งแรงทำให้ต้องใช้แรงจำนวนมากในการทำลายพันธะ [22] อย่างไรก็ตามค่าความหนืดของโอบีโอพอลิเมอร์จากกระบวนการสกัดด้วยน้ำร้อนมีค่าสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเนื่องจากวิธีการสกัดส่งผลต่อความยาวสายโซ่ของโอบีโอพอลิเมอร์เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ [16] ในการเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ของ *Volvariella volvacea* ที่ได้จากการสกัดน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงและการสกัดด้วยน้ำร้อน โดยพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผ่านการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีน้ำหนักโมเลกุลลดลง ซึ่งส่งผลต่อการทำพันธะภายในระหว่างโมเลกุลจึงทำให้ค่าความหนืดที่ได้ลดลงในขณะที่พฤติกรรมการไหลของโอบีโอพอลิเมอร์จากวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่าการเพิ่มอัตราเฉือนทำให้ค่าความหนืดของโอบีโอพอลิเมอร์มีค่าลดลง เนื่องมาจากการเพิ่มแรงเฉือนส่งผลต่อการทำลายพันธะภายในโมเลกุล [36] ซึ่งจากแนวโน้มดังกล่าวระบุได้ว่าโอบีโอพอลิเมอร์จากสาหร่าย *N. commune* ที่ได้จากการ



รูปที่ 8 สมบัติการไหลแบบคงตัว (Steady shear) ของไปโอพอลิเมอร์จากสาหร่าย *N. commune* ความเข้มข้นร้อยละ 0.8-1.2 (w/v) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ก) สกัดด้วยน้ำร้อน (ข) สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นความถี่สูง

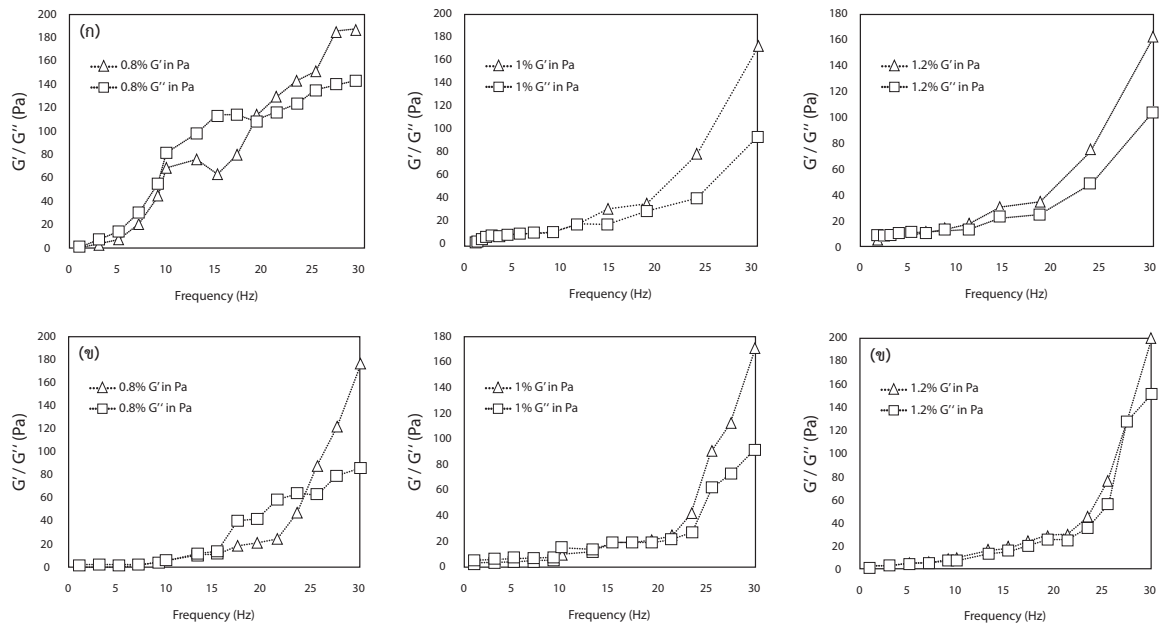
สกัดทั้ง 2 วิธีการมีพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติก (pseudoplastic fluids) ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายชนิดอื่น เช่น *Anabaena sp.* ATCC 33047 [36]

สมบัติวิสโคอีลาสติก (viscoelastic properties) เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของมอดูลัสกักเก็บ (storage modulus;  $G'$ ) และมอดูลัสสูญเสีย (loss modulus;  $G''$ ) ของพอลิแซ็กคาไรด์ ถ้าค่า  $G''$  มีค่ามากกว่า  $G'$  แสดงลักษณะคล้ายของเหลว แต่ถ้า  $G''$  มีค่าน้อยกว่า  $G'$  แสดงว่ามีลักษณะคล้ายของแข็ง [37] ซึ่งจากผลการศึกษาพอลิแซ็กคาไรด์จากทั้ง 2 วิธีการสกัด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 ถึง 1.2 (w/v) ภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความถี่ 0 ถึง 50 เฮิรตซ์ การสั่นที่ 2% (รูปที่ 9) พบว่าที่ความถี่ต่ำค่า  $G'$  ของพอลิแซ็กคาไรด์มีค่าสูงกว่า  $G''$  แต่เมื่อความถี่สูงค่า  $G'$  มีค่าสูงกว่า  $G''$  บ่งบอกถึงปริมาณและขนาดของ junction zone ที่เพิ่มขึ้น [38, 39] แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสารละลายจากของเหลวเป็นของแข็งที่มีความยืดหยุ่น จึงเป็นจุดที่แสดงถึงความสามารถในการเกิดเจลชนิดอ่อน (weak gel) เมื่อเปรียบเทียบกับสมบัติในการเป็นวิสโคอีลาสติกระหว่างกระบวนการสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงพบว่าไปโอพอลิเมอร์จากการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงเกิดจุดตัดระหว่าง  $G'$  และ  $G''$  ที่ความถี่สูงกว่าไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน ซึ่งเป็นผลมาจากน้ำหนักโมเลกุลและโครงสร้างของสายไปโอพอลิเมอร์ที่มีสายโซ่สั้นกว่าไปโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ [32] ที่พบว่าการ

ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในการสกัดทำให้สมบัติการยืดหยุ่นลดลงและเพิ่มสมบัติการเป็นของเหลวหนืด

### 3.5 การเปรียบเทียบสถานะในการสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนใช้เวลาการสกัดนานและอุณหภูมิสูงได้ ปริมาณร้อยละผลผลิตและปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่ากระบวนการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ส่วนการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงสามารถระยะเวลาในการสกัดได้ ได้ปริมาณโปรตีนสูงและมีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อน ทั้งนี้เนื่องจากผลของคลื่นเสียงความถี่สูงและน้ำร้อนที่ช่วยทำลายพันธะภายนอกและในผนังเซลล์ [32] จึงเกิดการแพร่ของน้ำผ่านเข้าและพาสารต่าง ๆ ทั้งไปโอพอลิเมอร์ (พอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน) ตลอดจนรงควัตถุ ออกจากเซลล์เมมเบรน ซึ่งสารสกัดจากทั้งสองวิธีดังกล่าวในทุกสถานะของการสกัดมีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS<sup>+</sup> สูงกว่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>+</sup> เนื่องจากอนุมูลอิสระ ABTS<sup>+</sup> สามารถรับอิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมได้ทั้งสารละลายที่มีขั้ว (hydrophilic) และสารละลายที่ไม่มีขั้ว (lipophilic) ขณะที่อนุมูลอิสระ DPPH<sup>+</sup> สามารถรับโปรตอนหรือถูกรีดิวซ์ได้เพียงสารละลายที่ไม่มีขั้ว [40, 41] ซึ่งสอดคล้องกับสารพอลิแซ็กคาไรด์และ



**รูปที่ 9** โมดูลัสกักเก็บ  $G'$  ( $\Delta$ ) และโมดูลัสสูญเสีย  $G''$  ( $\square$ ) ของไบโอพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.8-1.2 (w/v) ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ก) ไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน (ข) ไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

โปรตีน รวมทั้งรงควัตถุที่เป็นองค์ประกอบทั้งหมดที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตที่สกัดได้จากน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงซึ่งสามารถให้โปรตอนและไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระ ABTS<sup>•+</sup> ได้มากกว่า DPPH<sup>•</sup> และยังพบว่าสารสกัดไบโอพอลิเมอร์ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง มีเอนทาลปี ( $h^\circ$ ) อยู่ในช่วงเอนทาลปี-เขียว ส่วนน้ำหนักโมเลกุลของไบโอพอลิเมอร์จากสถานะที่ดีที่สุดของการสกัดด้วยน้ำร้อนและน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีค่าเท่ากับ  $4.49 \times 10^6$  และ  $2.32 \times 10^6$  ดาลตัน ตามลำดับ อีกทั้งมีพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติกและสามารถเกิดเจลชนิดอ่อนได้ที่ความเข้มข้นสารละลาย 0.8% (w/v)

#### 4. สรุปผลการทดลอง

การสกัดไบโอพอลิเมอร์ด้วยน้ำร้อนที่สัดส่วนสำหรับอัตราส่วน 1:60 (w/v) อุณหภูมิการสกัด 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง ได้

ปริมาณร้อยละผลผลิตและพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากับ 19.93 และ 42.93 ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 104.53 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging ร้อยละ 39.13 และ 92.03 ตามลำดับ ส่วนการสกัดไบโอพอลิเมอร์ด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงด้วยสัดส่วนสำหรับอัตราส่วน 1:60 (w/v) กำลังไฟฟ้าในการสกัด 400 วัตต์ อุณหภูมิการสกัด 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยสกัดซ้ำเช่นเดิมทั้งหมด 4 ครั้ง ได้ปริมาณร้อยละผลผลิตและพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากับ 10.12 และ 39.53 ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 264.51 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS radical scavenging ร้อยละ 42 และ 95.35 ตามลำดับ ขณะที่น้ำหนักโมเลกุลของไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีค่าเท่ากับ  $4.49 \times 10^6$  และ  $2.32 \times 10^6$  ดาลตัน ตามลำดับ และมีพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติกและมีความสามารถเกิดเจลชนิดอ่อน อย่างไรก็ตาม

ก็ตามการสกัดด้วยน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ให้ปริมาณร้อยละผลผลิตน้อยกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนประมาณร้อยละ 9 แต่ช่วยลดระยะเวลาในการสกัดถึง 10 ชั่วโมงหรือคิดเป็น 83% และมีปริมาณโปรตีนและประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH<sup>•</sup> และ ABTS<sup>•+</sup> สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อน แต่ขนาดน้ำหนักโมเลกุลมีขนาดเล็กกว่า ดังนั้นไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดจาก *N. commune* สกัดด้วยน้ำร้อนสามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร (ให้ความข้นหนืด) ส่วนไบโอพอลิเมอร์ที่สกัดด้วยน้ำร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงสามารถนำไปใช้ในเครื่องสำอางได้ในอนาคต

## 5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากบริษัทโลอ้อนประเทศไทย จำกัด และขอขอบคุณคุณวราวุธ จันทร์ปลอดจากบริษัทโลอ้อน ประเทศไทย ในการส่งตัวอย่างวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุล และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

## 6. เอกสารอ้างอิง

1. Danyuthasin, Y. and Laloknam, S., 2016, "Increasing of Oxygen Contents in Waste Water from Sansab Canal under Laboratory Room using Filamentous Cyanobacteria," *Advanced Science*, 13 (2), pp. 24-34. (In Thai)
2. Phobangwai, J., Umphan, M., Phonthip, R. and Jindaporn, R., 2019, "Research about Waste Water using *Spirulina* sp. [Online], Available, <http://library.kmutnb.ac.th/projects/sci/AT/at0011t.html>. [1 July 2021] (In Thai)
3. Kim, S.Y., 2018, "Chemical Composition and Antioxidant Activity of Crude Polysaccharide from Citron (*Citrus junos* Sieb. Ex Tanaka) Seed," *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 23 (4), pp. 335-340.
4. Narin, C., Sukjai, C. and Aparat, M., 2019, "Sugar Compositions of Polysaccharide of "Hed Lap" Alga (*Nostoc commune*, Cyanophyta)," *BRT Research Reports*, pp. 94-104. (In Thai)
5. Khoa, T.V., Hieu, L.T., Son, L.L., Vu, H.X.A., Kiet, T.T. and Thi, T.T.V., 2019, "Effect of Extraction Temperatures on In Vitro Antioxidant Activities of Polysaccharides from *Ophiocordyceps sobolifera*," *Hue University Journal of Science*, 128 (1), pp. 17-21.
6. Staats, N., Winder B., D., Stal, L.J. and Mur, L.R., 2014, "Isolation and Characterization of Extracellular Polysaccharides from the Epipelagic Diatoms *Cylindrothe caecostereum* and *Navicula salinarum*," *European Journal of Phycology*, 34, pp. 61-169.
7. Marinho-Soriano, E., 1999, "Biomass and Agar Yield of *Gracilaria bursapastoris* in a Mediterranean Lagoon," *Seaweed Research and Utilisation*, 21 (12), pp. 1-8.
8. Senthil Kumar, C., Sivakumar, M. and Ruckmani, K., 2016, "Microwave-Assisted Extraction of Polysaccharides from *Cyphomandra betacea* and its Biological Activities," *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, pp. 682-693.
9. Wang, J., Zhang, J., Zhao, B., Wang, X., Wu, Y. and Yao, J., 2010, "A Comparison Study on Microwave-Assisted Extraction of *Potentilla anserina* L. Polysaccharides with Conventional Method: Molecule Weight and Antioxidant Activities Evaluation," *Carbohydrate Polymers*, 80, pp. 84-93.
10. Rodriguez, S., Torres, F.G. and Lopez, D., 2017, "Preparation and Characterization of Polysaccharide Films from the Cyanobacteria *Nostoc commune*," *Polymers from Renewable Resources*, 8 (4), pp. 133-150.
11. Quan, Y., Yang, S., Su, T., Zhang, J. and Wang, Z., 2015, "Optimization for the Extraction of Polysaccharides from *Nostoc commune* and its Antioxidant and Antibacterial Activities," *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 52, pp. 14-21.
12. Lahaye, A. and Robic, A., 2007, "Structure and Functional Properties of Ulvan, a Polysaccharide

from Green Seaweeds,” *Biomacromolecules*, 8 (6), pp. 1765-1774.

13. Li, Z.B., Jiang, F.F., Li, Y., Zhang, X. and Tan, T.W., 2013, “Lipid Extraction from Non-Broken and High Water Content Microalgae *Chlorella* spp. by Three-Phase Partitioning,” *Journal of Algal Research*, 149, pp. 218-223.

14. Thomas, E.J., 1965, “The Fine Structure of Certain Members of the Order Nostocales,” *Retrospective and Dissertations*, pp. 31-32.

15. Hanaa, E., Daisy, F., Dalia, R., Shady, S. and Mayyada, E.S., 2018, “Towards Optimizing the Conventional and Ultrasonic-Assisted Extraction of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae,” *Materials Science and Engineering*, 464, pp. 7-10.

16. Zhang, Z., Wang, X., Mo, X. and Qi, H., 2013, “Degradation and the Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Enteromorpha linza*,” *Carbohydrate Polymers*, 92, pp. 2084-2087.

17. Association of Analytical Communities, 2000, Official Methods of Analysis of AOAC, International 17<sup>th</sup> ed., Gaithersburg, Maryland, p. 2200.

18. Wang, H.B., Wu, S.J. and Liu, D., 2014, “Preparation of Polysaccharides from Cyanobacteria *Nostoc commune* and Their Antioxidant Activities,” *Carbohydrate Polymers*, 99, pp. 553-555.

19. Agrawal, N., Minj, D.K. and Rani, K., 2015, “Estimation of Total Carbohydrate Present in Dry Fruits,” *IOSR Journal of Environmental Science*, 1 (6), pp. 24-27.

20. Lowry, O.H., Rosbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951, “Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent,” *Journal of Biological Chemistry*, 193 (1), pp. 265-275.

21. Shang, H.M., Zhou, H.Z., Yang, J.Y., Li, R., Song, H. and Wu, H.X., 2018, “In Vitro and In Vivo Antioxidant Activities of Inulin,” *PLOS ONE*, 23 (2), pp. 1-12.

22. Hao, Z.Q., Chen, Z.J., Chang, M.C., Meng, J.L., Liu, J.Y. and Feng, C.P., 2018, “Rheological Properties and Gel Characteristics of Polysaccharides from Fruit-Bodies of *Sparassis crispa*,” *International Journal of Food Properties*, 21 (1), pp. 2283-2295.

23. Cao, X., Li, C., Wen, H. and Gu, Z., 2010, “Extraction Technique and Characteristics of Soluble Protein in Germinated Brown Rice,” *International Journal of Food Properties*, 13 (4), pp. 810-820.

24. Zheng, S., Zhang, W. and Liu, S., 2020, “Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Polysaccharides and Triterpenoids from the Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* and Evaluation of Their In Vitro Antioxidant Capacities,” *PLOS ONE*, 15 (12), pp. 1-16.

25. Lyu, J.I., Ryu, J., Seo, K.S., Kang, K.Y., Park, S.H., Ha, T.H., Ahn, J.W. and Kang, S.Y., 2022, “Comparative Study on Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Hop (*Humulus lupulus* L.) Strobile Extracts,” *MDPI*, 11 (135), pp. 1-10.

26. Shang, H., Wang, M., Li, R. Duan, R., Wu, H. and Zhou, H., 2018, “Extraction Condition Optimization and Effects of Drying Methods on Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Polysaccharides from *Astragalus cicer* L.,” *Scientific Reports*, 8, p. 3359.

27. Sakamoto, T., Kumihashi, K., Kunita, S., Masuara, T., Sakamoto, K.I. and Yamaguchi, M., 2011, “The Extracellular-Matrix-Retaining Cyanobacterium *Nostoc verrucosum* Accumulates Trehalose, but is Sensitive to Desiccation,” *FEMS Microbiology Ecology*, 77 (2), pp. 385-394.

28. Connor, J.O., Meaney, S., Williams, G.A. and Hayes, M., 2020, “Extraction of Protein from Four Different Seaweeds using Three Different Physical Pre-Treatment Strategies,” *Molecules*, 25 (8), pp. 4-11.

29. Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., Triratana, P., Loha, V., Tia, S. and Bunnag, B., 2013, "Polysaccharide Extraction from *Spirulina* sp. and Its Antioxidant Capacity," *International Journal of Biological Macromolecules*, 58, pp. 73-78.
30. Siriluck, S., Phisit, S., Prodpran, T., Sanguan, Y. and Yutthana, P., 2018, "Antioxidant and Antimicrobial Properties of Polysaccharide from Rice Brans," *Chiang Mai Journal of Science*, 45 (3), pp. 1372-1382.
31. Matsui, K., Nazifi, E., Kunita, S., Wada, N., Matsugo, S. and Sakamoto, T. 2011, "Novel Glycosylated Mycosporine-like Amino Acids with Radical Scavenging Activity from the Cyanobacterium *Nostoc commune*," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 105 (1), pp. 81-89.
32. Cui, F.J., Qian, L.S., Sun, W.J., Zhang, J.S., Yang, Y., Li, N., Zhuang, H.N. and Wu, D., 2018, "Ultrasound-Assisted Extraction of Polysaccharides from *Volvariella volvacea*: Process Optimization and Structural Characterization," *Molecules*, 23 (7), p. 1706.
33. Wang, Y., Zhang, X., Ma, X., Zhang, K., Li, S., Wang, X. and Zhu, X., 2018, "Study on the Kinetic Model, Thermodynamic and Physicochemical Properties of *Glycyrrhiza* Polysaccharide by Ultrasonic-Assisted Extraction," *Ultrasonics Sonochemistry*, pp. 249-257.
34. Dey, S. and Rathod, V.K., 2013, "Ultrasound Assisted Extraction of  $\beta$ -Carotene from *Spirulina platensis*," *Ultrasonics Sonochemistry*, 20 (1), pp. 271-276.
35. Iida, Y., Tuziuti, T., Yasui, K., Towata, A. and Kozuka, T., 2008, "Control of Viscosity in Starch and Polysaccharide Solutions with Ultrasound After Gelatinization," *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9 (2), pp. 140-146.
36. Bernaerts, T.M.M., Gheysen, L., Foubert, I., Hendrickx, M.E. and Van Loey, A.M., 2019, "Evaluating Microalgal Cell Disruption Upon Ultra High Pressure Homogenization," *Algal Research*, 42, p. 101616.
37. Moreno, J., Vargas, M.A. and Madiedo, J.M., 2000, "Chemical and Rheological Properties of Extracellular Polysaccharide Produced by the Cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047," *Biotechnology and Bioengineering*, 67, pp. 283-290.
38. Guo, X., Shang, X., Zhou, X., Zhao, B. and Zhang, J., 2017, "Ultrasound-Assisted Extraction of Polysaccharides from *Rhododendron naganniphun*: Antioxidant Activity and Rheological Properties," *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, pp. 246-255.
39. Brito, A.C.F., Sierakowski, M.R., Reicher, F., Feitosa, J.P.A. and Paula, R.C.M., 2005, "Dynamic Rheological Study of *Sterculia stirata* and Karaya Polysaccharides in Aqueous Solution," *Food Hydrocolloids*, 19, pp. 861-867.
40. Aloglu, H.S. and Oner, Z., 2011, "Determination of Antioxidant Activity of Bioactive Peptide Fractions Obtained from Yogurt," *Journal of Dairy Science*, 94, pp. 5305-5314.
41. Phowichit, S., Ratanachamnon, P. and Matsathit, U., 2019, "Antioxidant Activity, Phenolic and Flavonoid Constituents of Crude Extracts from *Piper ribesiods* and *Zanthoxylum limonella* Traditional Herbal Medicine in Northern Thailand," *Research Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi*, 18 (1), pp. 2651-2289. (In Thai)