รายงานการวิจัย

การสกัดและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จาก สาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก

Extraction and Characterization of Polysaccharides from *Gracilaria fisheri*, *Ulva rigida* and *Caulerpa racemosa*.

นพรัตน์ มะเห	**Nopparat Mahae**
ปิยรัตน์ ศิริวงษ์ไพศาล	**Piyarat Sirivongpaisal**
อุไรวรรณ วัฒนกุล	**Uraiwan Wattanakul**

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2553

การสกัดและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จาก สาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก

นพรัตน์ มะเห[1] ปิยรัตน์ ศิริวงษ์ไพศาล[2] และอุไรวรรณ วัฒนกุล[1]

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้ศึกษาการสกัดและคุณสมบัติของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก ซึ่งผลการทดลองพบว่าการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายทั้งสามชนิดด้วยน้ำให้ปริมาณพอลิแซคคาไรด์สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ ในขณะที่คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระจากทั้งสองวิธี (วัดค่า reducing power และวัดความสามารถในการจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์) ของพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยเอทานอลให้คุณสมบัติที่ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยเอทานอลสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ สำหรับคุณสมบัติรีโอโลจีนั้นพบว่า พอลิแซคคาไรด์ที่ได้มีลักษณะพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติก ที่ยังค่อนข้างใกล้เคียงแบบนิวโตเนียน (ที่ระดับความเข้มข้น 4 % ,w/v) ผลการทดลองครั้งนี้แสดงถึงศักยภาพของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายทะเลในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารให้ความข้นหนืด เพื่อประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมต่อไป

คำสำคัญ: สาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก สารต้านอนุมูลอิสระ

---

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.สิเกา จ.ตรัง

[2] คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา

Extraction and Characterization of Polysaccharides from *Gracilaria fisheri*, *Ulva rigida* and *Caulerpa racemosa*.

Nopparat Mahae[1] Piyarat Sirivongpaisal[2] and Uraiwan Wattanakul[1]

Abstract

Extraction and characterization of polysaccharides from *Gracilaria fisheri*, *Ulva rigida* and *Caulerpa racemosa* were were evaluated and determined. Ethanol extraction of polysaccharides showed the better quantity than water extraction. The antioxidative activity was measured using the measurement of reducing power and superoxide radical scavivging activity. The results showed that the polysaccharides from ethanol extraction exhibited higher antioxidant activity than water extraction. Furthermore, phenolic compound of polysaccharides from ethanol extraction was higher than water extraction. Rheology tests was performed while the polysaccharides concentration was at 4% w/v. The result demonstrated that pseudoplastic rheological behaviour**,** look like newtonian, was observed. The result from this study illustrated the potential of polysaccharide from seaweed for suitable application as antioxidant and thickening agent.

Keywords: *Gracilaria fisheri*, *Ulva rigida*, *Caulerpa racemosa*, antioxidant agent

---

[1] Faculty of Science and Fisheries Technology. Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang.

[2] Faculty of Agro-Industry. Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ได้ด้วยความอนุเคราะห์จากหลายฝ่าย คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมงในการอนุเคราะห์เครื่องมือและห้องปฏิบัติการในการดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย จากงบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2553 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย
กันยายน 2554

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญ

หน้า

สารบัญ (1)
สารบัญตาราง (2)
สารบัญภาพ (3)
บทนำ 1
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ 3
ผลและวิจารณ์ 8
สรุป 33
ข้อเสนอแนะ 34
เอกสารอ้างอิง 35
ภาคผนวก 40

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		**หน้า**
1	ค่า L, a และ b ของตัวอย่างสาหร่ายก่อนและหลังการกำจัดสี	10
2	ปริมาณสารสกัดที่สกัดได้จากสาหร่ายผมนางด้วยวิธีต่างๆ	12
3	ปริมาณสารสกัดที่สกัดได้จากสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยวิธีต่างๆ	13
4	ปริมาณสารสกัดที่สกัดได้จากสาหร่ายขนนกด้วยวิธีต่างๆ	14
5	ปริมาณพอลิเซกคาไรด์ทั้งหมดของสาหร่ายผมนางเมื่อสกัดด้วยวิธีต่างๆ	15
6	ปริมาณพอลิเซกคาไรด์ทั้งหมดของสาหร่ายผักกาดทะเลเมื่อสกัดด้วยวิธีต่างๆ	16
7	ปริมาณพอลิเซกคาไรด์ทั้งหมดของสาหร่ายขนนกเมื่อสกัดด้วยวิธีต่างๆ	17
8	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่ายผมนาง	19
9	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่ายผักกาดทะเล	20
10	ค่าความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (k) และค่าดรรชนีพฤติกรรมการไหล (n) ของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง	31
11	ค่าความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (k) และค่าดรรชนีพฤติกรรมการไหล (n) ของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผักกาดทะเล	32

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 ค่า Reducing power ของสาหร่ายผมนางไม่กำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/NDC : การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา1 ชม.และไม่กำจัดสี, WE2/60min/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาที และไม่กำจัดสี, EE20/1hr/NDC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และไม่กำจัดสี) 21

2 ค่า Reducing power ของสาหร่ายผมนางกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/DC : การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา1 ชม.และกำจัดสี, WE2/30min/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 30 นาทีและไม่กำจัดสี, EE20/1hr/DC: การสกัดด้วย เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา1 ชม. และกำจัดสี) 22

3 ค่า Reducing power ของสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา1 ชม.และไม่กำจัดสี, WE2/60min/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาทีและไม่กำจัดสี, EE20/2hr/NDC: การสกัดด้วย เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ20 เป็นเวลา 2 ชม. และไม่กำจัดสี) 23

4 ค่า Reducing power ของสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/DC : การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา 2ชม.และกำจัดสี, WE2/15min/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 15นาทีและกำจัดสี, EE20/1hr/DC: การสกัดด้วย เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และกำจัดสี) 24

5 ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผมนางไม่กำจัดสี สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1ชม. และไม่กำจัดสี, WE2/60 min/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาที และไม่กำจัดสี, EE20/1hr/NDC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และไม่กำจัดสี) 25

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
6	ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผมนางกำจัดสีที่สกัดด้วย วิธีการต่างๆ (WE1/1hr/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา 1 ชม.และกำจัดสี, WE2/30min/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 30 นาที และกำจัดสี, EE20/1hr/DC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และกำจัดสี)	26
7	ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา 1 ชม.และไม่กำจัดสี, WE2/60min/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาที และไม่กำจัดสี, EE20/2hr/NDC:การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 2 ชม.และไม่กำจัดสี)	27
8	ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/2hr/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็น เวลา 2 ชม. และกำจัดสี, WE2/15min/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่2 เป็นเวลา 15 นาทีและกำจัดสี, E20/1hr/DC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และกำจัดสี)	28

ภาพผนวกที่		หน้า
1	สาหร่ายผมนาง (a) สาหร่ายผักกาดทะเล (b) และสาหร่ายขนนก (c)	40

บทนำ

พอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายทะเลมีคุณสมบัติเด่นทางด้านเภสัชกรรมหลายอย่าง เช่น ยับยั้งเนื้องอก (antitumor) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant agent) ป้องกันเลือดจับตัวเป็นก้อน (anticoagulant) ลดน้ำตาลในเลือด (lowering blood glucose) ควบคุมไขมันในเลือด (blood lipid control) และปรับปรุงภูมิคุ้มกันของร่างกาย (body immunity improvement) ซึ่งจากคุณสมบัติดังกล่าวนำไปสู่การใช้เป็นยาชนิดใหม่ (Güven et al., 1990; De Clercq, 1993; Zuhong et al., 1995; Wang and Hu, 2002) ผนังเซลล์ (cell walls) ของสาหร่ายทะเลประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์จำนวนมาก ซึ่งเกิดจาก neutral sugars และ acid sugars เช่นเดียวกับพืชบก แต่สาหร่ายทะเลส่วนใหญ่จะประกอบด้วย sulphated polysaccharides ซึ่งไม่พบในพืชที่อยู่บนบก (Percival, 1979; Kloareg and Quatrano, 1988) และ sulphated polysaccharides มีคุณสมบัติในการต้านไวรัสได้ (Andersson et al., 1979; Ghosh et al., 2004)

Gracilaria spp. เป็นสาหร่ายทะเลสีแดง (red seaweed) ที่อยู่ใน Gracilariaceae family แพร่กระจายอย่างแพร่หลายในเขต tropical atlantic water และเป็นแหล่งผลิต agars ที่สำคัญ (Lai and Lii, 1997) โดย agar เป็นของผสมของ polysaccharide ที่พบในเซลล์เมทริก (cell matrix) ของสาหร่ายสีแดง (Rhodophyta) โดยเฉพาะ Gelidiaceae families และ Gracilariaceae families (Armisen and Galactas, 1987) agar ประกอบด้วยองค์ประกอบที่แตกต่างกัน 2 องค์ประกอบคือ agarose และ agaropectin ซึ่ง agarose เป็น neutral polysaccharide ที่มีโครงสร้างเป็นสายโซ่ของหน่วยย่อย dissaccharide agarobiose ซึ่งประกอบด้วย D-galactose และ 3,6-L-galactose ส่วน agaropectin เป็น acid polysaccharides ประกอบด้วย sulfate ester, pyruvic acid และ D-glucuronic acid และ agarobiose (Araki, 1966). สาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri*) เป็นสาหร่ายที่มีการนำมาบริโภคอย่างแพร่หลายในภาคใต้ของไทย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ยำสาหร่ายผมนางของเกาะยอ จังหวัดสงขลาซึ่งเป็นอาหารขึ้นชื่ออีกชนิดหนึ่ง

สาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) เป็นสาหร่ายสีเขียวชนิดหนึ่ง (green seaweed Ulvales, Chlorophyta). การศึกษาเกี่ยวกับ cell wall polysaccharides ของ Ulvales จะมุ่งเน้นไปที่ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (physicochemical property) และคุณสมบัติทางชีวภาพ (biological property) เพื่อศึกษาศักยภาพที่น่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านอาหาร เภสัชกรรม เกษตรกรรม และทางเคมี สาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) สามารถสังเคราะห์ water-soluble polysaccharide ซึ่งเรียกว่า ulvan (Ray and Lahaye, 1995) ulvan เป็น complex acidic sulfated polysaccharide ที่มีคุณสมบัติทางด้านเคมีกายภาพ และชีวภาพที่หลากหลาย (Lahaye and Robic, 2007) เช่น

คุณสมบัติในการต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) (Zhang et al., 2008) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Morelli &Chiellini, 2010; Qi et al., 2006) ยับยั้งเนื้องอก (antitumor) และควบคุมภูมิคุ้มกัน immune modulator (Kaeffer et al., 1999) ลดระดับ LDL-cholesterol (Yu et al., 2003) พอลิแซคคาไรด์ชนิดนี้เป็น water-soluble dietary fiber ซึ่งไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้ของมนุษย์ และ colonic bacteria (Andrieux et al., 1998; Bobin-Dubigeon et al., 1997) นอกจากนั้น *Ulva rigida* ยังเป็นแหล่งของ โปรตีนที่มีคุณภาพดี คาร์โบไฮเดรต วิตามินและเกลือแร่ (Taboada, Millán, & Míguez, 2010).

สาหร่ายขนนก *Caulerpa racemosa.* เป็นสาหร่ายสีเขียว จัดอยู่ใน family Caulerpaceae สาหร่ายชนิดนี้ประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติด้าน immunomodulatory effects ต่อ T lymphocyte subgroup และ natural killer cell ในหนู (Tuo et al, 2007) ซึ่ง natural killer cell จะมีหน้าที่ในการยับยั้งเนื้องอก และเซลล์ที่ถูกจับโดยไวรัส และจากการศึกษาของ Ghosh et al. (2004) พบว่าการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่าย *Caulerpa racemosa* ด้วยน้ำร้อนได้พอลิแซคคาไรด์ 3 กลุ่มคือ 1) sulfated heteropolysaccharides 2) พอลิเมอร์ซึ่งประกอบด้วย xylose และ glucose (xyloglucans) และ 3) skeletal xylans นอกจากนั้นยังพบว่า sulfated heteropolysaccharide มีคุณสมบัติในการยับยั้งไวรัสได้

สาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก มีการศึกษาด้านการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเหล่านี้ในประเทศไทยหลายงานวิจัย ดังนั้นการศึกษาด้านเคมีชีวภาพ และด้านชีวภาพของสาหร่ายเหล่านี้ควรมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้น เพื่อพัฒนาศักยภาพในการใช้ประโยชน์สาหร่ายเหล่านี้ การศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาการสกัดพอลิแซคคาไรด์ในสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาด และสาหร่ายขนนก และศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และคุณสมบัติวีสโคอีลาสติก ของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายดังกล่าว

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

1. วัสดุและสารเคมี

- สาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri*)
- สาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*)
- สาหร่ายขนนก (*Caulerpa racemosa*)
- Ethyl alcohol
- Methyl alcohol
- phenol
- Sulfuric acid
- Folin-Ciocalteu reagent
- Sodium carbonate (Na_2CO_3)
- Gallic acid
- Glucose
- Sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4)
- Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4)
- Potassium ferriccyanide (K_2FeCN)
- Trichloroacetic acid
- Ferric chloride ($FeCl_3$)
- NBT (ninoblue tetazolium)
- NADH (nicotinamide adenine dinucleotide)
- PMS (phenazine methosulphate)

2. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave)
- แท่นให้ความร้อน (Hotplate)
- เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ
- อุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับการสกัด
- อุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับการวิเคราะห์

- เครื่อง Spectrophotometer
- เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง
- เครื่องวัดสี
- เครื่องรีโอมิเตอร์ รุ่น RS75 ของศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการส่งออก คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย

นำตัวอย่างสาหร่ายสด (สำหรับสาหร่ายผักกาดทะเล เตรียมโดยนำสาหร่ายแห้งมาแช่น้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนการกำจัดสี) มาทำการกำจัดสีด้วยสารละลาย 3 ชนิดคือ 1) เมทานอล 90% 2) อะซิติกแอซิด และ 3) คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (1:1) โดยใช้ปริมาตรของตัวทำละลายเป็น 3 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง ทำการบดผสมตัวทำละลายกับตัวอย่างสาหร่ายด้วยเครื่องบด และกวนเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองแยกสารละลายและเก็บส่วนของแข็งไปทำการวัดสี ด้วยเครื่องวัดสี เพื่อสู่ขั้นตอนการสกัด

2. การศึกษาวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์

นำสาหร่ายมาล้างให้สะอาด แบ่งสาหร่ายออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกไม่ต้องมีการกำจัดสี ส่วนที่สองนำมากำจัดสีด้วยเมทานอล กรดอะซิติก และคลอโรฟอร์ม: เมทานอล จากนั้นนำตัวอย่างสาหร่ายจากทั้งสองส่วนมาทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ โดยใช้ตัวทำละลายดังนี้

2.1 การสกัดด้วยเอทานอล

การสกัดด้วยเอทานอล ดัดแปลงจากวิธีของ นารินทร์ (2549) โดยนำตัวอย่างสาหร่ายสด 100 กรัม มาหั่น ผสมกับสารละลายเอทานอล 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 60 วินาที ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 และ 20 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำมาสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พร้อมคน เป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรอง เพื่อแยกของแข็งและของเหลวออกจากกัน ทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง นำสารสกัดที่ได้จากทั้งสองครั้งมารวมกันและทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ จากนั้นทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง

2.2 การสกัดด้วยน้ำ (วิธีที่ 1)

การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 ดัดแปลงจาก Kuda and Ikemori (2009) โดยนำตัวอย่างสาหร่ายสด 100 กรัม หั่นผสมกับน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นนำมาสกัดที่

อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พร้อมคน เป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรอง เพื่อแยกของแข็งและของเหลวออกจากกัน ทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง นำสารสกัดที่ได้จากทั้งสองครั้งมารวมกันและทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ จากนั้นทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง

2.3 การสกัดด้วยน้ำ (วิธีที่ 2)

การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 ดัดแปลงจาก Kuda et al. (2005) และ Qi et al. (2005) โดยนำตัวอย่างสาหร่ายสด 500 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 4000 มิลลิลิตร ทำการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที นำของเหลวที่ได้มากรองแยกออกจากส่วนของของแข็ง แล้วทำให้เข้มข้นจนเหลือ 800 มิลลิลิตร ตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์โดยการเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (ปริมาตร/ปริมาตร) จำนวน 4000 มิลลิลิตร ล้างตะกอนด้วยเอทานอลสามครั้ง หลังจากนั้นนำมาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง

2. การศึกษาปริมาณพอลิแซ็คคาไรด์ในสาหร่าย

ศึกษาหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้วิธี Phenol Sulfuric acid assay (Dubois, 1956) โดยเตรียมตัวอย่างสารสกัดในน้ำกลั่น แช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 10 วินาที แล้วนำไป หมุนเหวี่ยงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างส่วนใสมาใช้ในการวิเคราะห์

การศึกษาครั้งนี้ใช้กลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน เตรียมสารละลายมาตรฐาน (stock solution) ความเข้มข้น 150 µg/ml จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้มาเตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้นข้นต่างๆ โดยใช้ stock solution 50-200 µl แล้วผสมกับ 2.5% phenol ปริมาตร 950-800 µl สำหรับสารละลายตัวอย่าง ดูดสารละลายตัวอย่างมา 200 µl เติมสารละลาย 2.5 % phenol ปริมาตร 800 µl จากนั้นเติมกรดซัลฟูริก (conc. H_2SO4) ปริมาตร 2.5 ml. นำไปเขย่าให้เข้ากันด้วย Vortex mixe ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm. คำนวณปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ที่ได้ โดยการเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน

3. การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่าย

วิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยดัดแปลงวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ตามวิธีของ Wolfe *et al.* (2003) โดยนำตัวอย่างสารสกัดมา 125 ไมโครลิตร เติมลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ 500 ไมโครลิตร แล้วเติม Folin-Ciocalteu reagent 125 ไมโครลิตร ทิ้งไว้นาน 6 นาที หลังจากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 7 ปริมาตร 1250 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น

1000 ไมโครลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

4. การศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่าย

ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระโดยวัดค่า Reducing power ของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่าย ตามวิธีของ Oyaizu (1986) และตรวจสอบความสามารถในการจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical scavenging activity) ตามวิธีของ Nishikimi et al. (1972)

4.1 การวัดคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี measurement of reducing power

นำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆปริมาตร 2.5 ml มาผสมกับ sodium phosphate buffer (pH 6.6) ความเข้มข้น 200 mM ปริมาตร 2.5 ml และ potassium ferricyanide ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 2.5 ml แล้วนำสารผสมไป incubate ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติม TCA ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2.5 ml แล้วนำของผสมไปหมุนเหวี่ยงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนบนปริมาตร 2.5 ml มาเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 2.5 ml และ ferric chloride ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 0.5 ml แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm. ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงค่า reducing power .

4.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavivging activity)

เตรียมสารละลาย NBT (ninoblue tetazolium), NADH (nicotinamide adenine dinucleotide) และ phenazine methosulphate (PMS) ความเข้มข้น 156 µM, 468 µM และ 60 µM ตามลำดับ โดยเตรียมในสารละลาย 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆมาปริมาตร 0.1 ml แล้วเติมสารละลาย NBT ปริมาตร 1 ml. และสารละลาย NADH ปริมาตร 0.1 ml. นำมาเขย่าให้เข้ากัน และ เริ่มปฏิกิริยาโดยนำสารละลายผสมมาเติมสารละลาย PMS ปริมาตร 0.1 ml. ทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm. ความสามมารถในการจับซุปเปอร์ออกไซด์คำนวณจากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{Superoxide radical scavivging activity (\%)} = \frac{(Ac-AS) \times 100}{Ac}$$

เมื่อ Ac = ค่าดูดกลืนแสงของ contro ที่ความยาวคลื่น 560 nm

As = ค่าดูดกลืนแสงของ Sample ที่ความยาวคลื่น 560 nm

5. การศึกษาคุณสมบัติรีโอโลจี

ศึกษาคุณสมบัติรีโอโลจีด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ รุ่น RS75 ของศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการส่งออก คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยการเตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 4% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ $80^{o}C$ ด้วยเครื่อง shaking water bath เป็นเวลา 20 นาที แล้วทำการวัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นและอุณหภูมิดังกล่าว โดยสภาวะที่ใช้ในการวัดคือ Shear rate 0.03-300 1/s

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ DMRT (Duncan’s Multiple Range Test) ชุดการทดลองมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อ $P \leq 0.05$ รายงานผลด้วยค่าเฉลี่ยและ standard deviation

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาการกำจัดสี

ศึกษาการกำจัดสีของตัวอย่างสาหร่ายด้วยสารละลาย 3 ชนิดคือ 1) เอทานอล 2) กรดอะซิติก และ 3) คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (1:1) จากนั้นทำการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งการพิจารณาสารละลายที่เหมาะสม จะพิจารณาการลดลงของสีโดยจะใช้ค่า L เป็นหลัก เนื่องจากค่า L ที่สูงขึ้นแสดงถึงความเป็นสีขาวที่มากขึ้น นั้นคือตัวอย่างมีการกำจัดสีมากขึ้น ส่วนค่า a และ b ก็จะเป็นตัวประกอบถึงสีต่างๆที่ลดลงด้วย

สำหรับสาหร่ายผมนาง สภาวะในการกำจัดสีที่เหมาะสมคือการกำจัดสีด้วยกรดอะซิติก เนื่องจากมีค่า L สูงสุด (L=60) เมื่อเทียบตัวอย่างที่ไมได้ผ่านการกำจัดสี (L= 44.88) ค่า a มีค่าเพิ่มขึ้น นั้นคือความเป็นสีเขียวลงลง แสดงถึงรงค์วัตถุสีเขียวที่โดนกำจัดออกไป เช่นเดียวกับค่า b ที่มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากตัวอย่างสดจะมีลักษณะสีน้ำตาลแกมม่วงและน้ำเงิน เมื่อรงค์วัตถุสีดังกล่าวถูกกำจัดออกไป ทำให้ค่า b เพิ่มมากขึ้น แต่เนื่องจากการสกัดด้วยกรดอะซิติก มีข้อจำกัเรื่องกลิ่น การทดลองครั้งนี้ จึงเลือกการกำจัดสีด้วยเมทานอลซึ่งให้ค่า L ไม่แตกต่างกันมากนักเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดสี

การกำจัดสีในสาหร่ายผักกาดทะเลพบว่า การกำจัดสีด้วยเมทานอลจะให้ตัวอย่างมีค่า L สูงสุด (L=44.67) แต่ใกล้เคียงกับ การกำจัดสีด้วยคลอโรฟอร์มผสมเมทานอล (L=43.84) และสูงกว่าตัวอย่างสด (L=30.89) ความเป็นสีเขียวซึ่งพิจารณาจากค่า a จะพบว่าการใช้กรดอะซิติกกำจัดสีเขียวจะกำจัดได้ดีกว่า เมื่อพิจารณาจากค่า a ที่มีความเป็นบวกมากยิ่งขึ้น และเมื่อพิจารณาค่า b จะพบว่าตัวอย่างมีลักษณะความเป็นสีเหลืองเพิ่มมากขึ้น

ส่วนสาหร่ายขนนก การกำจัดสีด้วยเมทานอล (L=44.22) และการกำจัดสีด้วยคลอโรฟอร์มผสมเมทานอล(L=44.62) จะทำให้ตัวอย่างมีสีที่ขาวขึ้นมากกว่าการกำจัดสีด้วยกรดอะซิติก (L=36.48) และมีสีที่ขาวขึ้นกว่าตัวอย่างที่ไมได้กำจัดสี (L=33.25) ส่วนค่าความเป็นสีเขียว หรือค่า a ที่เป็นลบจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด คือ a เท่ากับ -3.96 (สำหรับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการกำจัดสี) a เท่ากับ 5.12 6.59 และ 4.91 สำหรับตัวอย่างที่กำจัดสีด้วย เมทานอล การกำจัดสีด้วยคลอโรฟอร์มผสมเมทานอล และการกำจัดสีด้วยกรดอะซิติก ตามลำดับ สาหร่ายขนนกจะมีความเป็นสีเขียวคล้ายกับสาหร่ายผักกาดทะเล แต่เมื่อพิจารณาการลงลงของสีเขียว จะพบว่าสาหร่ายขนนกมีการลงลงของสีเขียวมากกว่า อาจเนื่องจากสาหร่ายขนนกที่ใช้ในการศึกษาเป็นสาหร่ายสดที่นำมาเก็บรักษาด้วยการแช่เยือกแข็งเพื่อรอการวิเคราะห์ ส่วนสาหร่ายผักกาดทะเลเป็นสาหร่ายที่ผ่านการตากแห้งไว้แล้วก่อนการศึกษา เนื่องจากเป็นสาหร่ายที่นำมาจากจังหวัดตราดจึงจำเป็นต้องทำแห้งก่อน

การขนส่ง เพราะจากปัญหาในระยะแรกที่ใช้สาหร่ายสด แต่เนื่องตากการขนส่งระยะทางไกลทำให้สาหร่ายมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ การทดลองครั้งนี้จึงใช้สาหร่ายผักกาดทะเลที่ตากแห้งแทนสาหร่ายสด แต่นำมาคืนรูปก่อนการทดลอง และเมื่อพิจารณาค่า b จะพบว่าตัวอย่างมีลักษณะความเป็นสีเหลืองเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกับสาหร่ายผักกาดทะเล สำหรับการพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดสีของสาหร่ายขนนกนั้น เนื่องจากการกำจัดสีด้วยเมทานอลและคลอโรฟอร์มผสมเมทานอลให้ผลไม่แตกต่างกันมากนัก จึงเลือกการสกัดด้วยเมทานอลเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดสีของสาหร่ายขนนก เนื่องจากมีความปลอดภัยมากกว่า

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ตารางที่ 1 ค่า L, a และ b ของตัวอย่างสาหร่ายก่อนและหลังการกำจัดสี

ชนิดสาหร่าย	สภาวะในการกำจัดสี	ค่าของสี		
		L	a	b
สาหร่ายผมนาง	ก่อนการกำจัดสี	44.88 ± 1.470	12.57 ± 0.820	6.70 ± 2.719
	กำจัดสีด้วยเมทานอล	52.63 ± 2.623	17.26 ± 2.595	12.38 ± 0.799
	กำจัดสีด้วยอะซิติกแอซิด	60.95 ± 2.920	15.67 ±1.1044	8.70 ± 2.514
	กำจัดสีด้วยคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (1:1)	49.90±3.2422	15.29±2.0199	12.41±1.6674
สาหร่ายผักกาดทะเล	ก่อนการกำจัดสี	30.89 ± 0.193	-4.65 ± 0.354	2.13 ± 0.531
	กำจัดสีด้วยเมทานอล	44.67 ± 1.062	- 4.44 ± 0.439	8.85 ± 1.141
	กำจัดสีด้วยอะซิติกแอซิด	36.28 ± 0.682	-1.48 ± 0.835	3.13 ± 0.962
	กำจัดสีด้วยคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (1:1)	43.84 ± 1.455	-4.53 ± 0.051	6.13 ± 0.811
สาหร่ายขนนก	ก่อนการกำจัดสี	33.25 ± 0.758	-3.96 ± 0.136	-0.49 ± 0.446
	กำจัดสีด้วยเมทานอล	44.22 ± 1.036	5.12 ± 1.469	9.17 ± 2.064
	กำจัดสีด้วยอะซิติกแอซิด	36.48 ± 1.890	6.59 ± 0.578	4.07 ± 0.980
	กำจัดสีด้วยคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (1:1)	44.62 ± 1.740	4.91 ± 0.713	11.43 ± 1.732

หมายเหตุ : L คือความสว่างของสี (0 = สีดำ, 100 = สีขาว) a คือค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและแดง (a+ แสดงความเป็นสีแดง, a- แสดงความเป็นสีเขียว
b คือค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและน้ำเงิน (b+ แสดงความเป็นสีเหลือง, b- แสดงความเป็นสีน้ำเงิน)

2. การศึกษาวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่าย

2.1 ปริมาณสารสกัด

จากการศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผมนางและสาหร่ายผักกาดทะเล ด้วยวิธีการต่าง ๆ คือ การสกัดด้วยเอทานอล และการสกัดด้วยน้ำ และเตรียมตัวอย่างโดยการกำจัดสีและไม่กำจัดสี ผลการทดลองปริมาณของสารสกัดที่สกัดได้แสดงดังตารางที่ 2-3

จากผลการศึกษาการสกัดจากสาหร่ายผมนางด้วยวิธีการต่างๆ ปริมาณสารสกัดที่ได้แสดงดังตารางที่ 2 ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายผมนางไม่กำจัดสี การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด ส่วนการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 (การต้ม) การสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด และการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 (การ autoclave) การสกัดเป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมารณสารสกัดมากสุด ส่วนสาหร่ายผมนางกำจัดสี การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด ส่วนการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 (การต้ม) การสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด และการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 (การ autoclave) การสกัดเป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมารณสารสกัดมากสุด

การศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสีแดง *Bostrychia montagnei* โดยนำสาหร่ายสีแดงผงซึ่งกำจัด pigment แล้วมาสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องพร้อมเขย่าเป็นเวลา15 นาที ของเหลวที่ได้นำมาตกตะกอนเศษเหลือทิ้งโดยการ Centrifuge แล้วน้ำสารละลายส่วนบนมาตกตะกอนด้วยเอทานอลได้สารสกัดสาหร่าย B-CW เศษเหลือที่ได้จากการตกตะกอนนำมาสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าแล้วนำไป Centrifuge สารละลายส่วนบนนำมาตกตะกอนด้วยเอทานอลได้สารสกัดหยาบ B-HW ส่วนใสของ B-CW และB-HW นำมาทำให้เข้มข้นและทำไดอะไลซีส แล้วนำมาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จะได้ B-CWE และ B-CW ตามลำดับ ปริมาณ (ร้อยละนน.แห้ง/นน.สาหร่าย) สารสกัดของ B-CW , D-HW, B-CW, และ B-HW มีค่าเท่ากับร้อยละ 6.0, 6.5, 2.2 และ 2.5 ตามลำดับ (Noseda *et al.,* 1999)

ตารางที่ 2 ปริมาณสารสกัดที่สกัดได้จากสาหร่ายผมนางด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	ปริมาณสารสกัด (%, w/w)			
	สาหร่ายไม่กำจัดสี		สาหร่ายกำจัดสี	
	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง
1) การสกัดด้วยเอทานอล				
- เอทานอล 20% เวลา 1 ชม	12.02	0.52	23.70	0.30
- เอทานอล 20% เวลา 2 ชม	70.28	1.06	41.56	0.66
- เอทานอล 80% เวลา 1 ชม	32.46	0.36	45.60	0.87
- เอทานอล 80% เวลา 2 ชม	27.24	0.48	75.87	1.16
2) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1				
- ระยะเวลาสกัด 1 ชม	14.46	1.07	24.66	1.06
- ระยะเวลาสกัด 2 ชม	23.90	2.05	35.54	1.12
3) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2				
- ระยะเวลาสกัด 15 นาที	7.31	0.45	3.20	0.40
- ระยะเวลาสกัด 30 นาที	10.09	0.83	5.94	0.72
- ระยะเวลาสกัด 60 นาที	12.59	1.90	10.86	0.92

หมายเหตุ : ปริมาณสารสกัดเมื่อเทียบกับน้ำหนักสดของสาหร่าย

จากผลการศึกษาการสกัดจากสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยวิธีการต่าง ๆแสดงสารสกัด ดังตารางที่ 3 ผลการทดลองพบว่าสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสี สกัดด้วยเอทานอล วิธีการสกัดด้วย เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 การสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุดและ การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 การสกัดที่ เวลา 60 นาที ให้ปริมารณสารสกัดมากสุด ส่วนสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสี สกัดด้วยเอทานอล วิธีการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 การสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุดและ การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 การสกัดที่ เวลา 60 นาที ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด

ตารางที่ 3 ปริมาณสารสกัดที่สกัดได้จากสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	ปริมาณสารสกัด (%, w/w)			
	สาหร่ายไม่กำจัดสี		สาหร่ายกำจัดสี	
	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง
1) การสกัดด้วยเอทานอล				
- เอทานอล 20% เวลา 1 ชม	12.27	0.44	33.30	0.92
- เอทานอล 20% เวลา 2 ชม	42.31	0.69	41.42	0.98
- เอทานอล 80% เวลา 1 ชม	33.52	0.52	38.64	0.25
- เอทานอล 80% เวลา 2 ชม	46.53	0.90	80.81	0.27
2) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1				
- ระยะเวลาสกัด 1 ชม	14.51	1.53	24.66	1.46
- ระยะเวลาสกัด 2 ชม	16.41	2.76	27.06	1.49
3) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2				
- ระยะเวลาสกัด 15 นาที	5.33	0.25	4.62	0.42
- ระยะเวลาสกัด 30 นาที	7.49	0.51	6.08	0.58
- ระยะเวลาสกัด 60 นาที	15.21	1.61	13.94	1.38

หมายเหตุ : ปริมาณสารสกัดเมื่อเทียบกับน้ำหนัดสดของสาหร่าย

จากผลการศึกษาการสกัดสาหร่ายขนนกด้วยวิธีการต่าง ๆ ปริมาณสารสกัดแสดงดังตารางที่ 4 ผลการทดลองพบว่าสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสี สกัดด้วยเอทานอล วิธีการสกัดด้วย เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 การสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุดและ การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 การสกัดที่ เวลา 60 นาที ให้ปริมารณสารสกัดมากสุด ส่วนสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสี สกัดด้วยเอทานอล วิธีการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุด การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 การสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดมากสุดและ การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 การสกัดที่ เวลา 60 นาที ให้ปริมารณสารสกัดมากสุด

ตารางที่ 4 ปริมาณสารสกัดที่สกัดได้จากสาหร่ายขนนกด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	ปริมาณสารสกัด (%, w/w)			
	สาหร่ายไม่กำจัดสี		สาหร่ายกำจัดสี	
	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง
1) การสกัดด้วยเอทานอล				
- เอทานอล 20% เวลา 1 ชม	10.54	0.62	14.39	0.33
- เอทานอล 20% เวลา 2 ชม	47.60	0.90	18.35	0.37
- เอทานอล 80% เวลา 1 ชม	25.05	0.73	14.41	0.18
- เอทานอล 80% เวลา 2 ชม	27.65	1.11	18.50	0.28
2) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1				
- ระยะเวลาสกัด 1 ชม	10.65	1.42	7.49	0.22
- ระยะเวลาสกัด 2 ชม	18.48	1.87	8.48	0.76
3) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2				
- ระยะเวลาสกัด 15 นาที	4.07	0.45	2.26	0.32
- ระยะเวลาสกัด 30 นาที	6.13	0.56	5.15	0.38
- ระยะเวลาสกัด 60 นาที	6.90	0.66	7.76	0.44

หมายเหตุ : ปริมาณสารสกัดเมื่อเทียบกับน้ำหนักสดของสาหร่าย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

2.2 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์

การศึกษาปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่ายสองชนิดคือสาหร่ายผมนางและสาหร่ายผักกาดทะเล ซึ่งเตรียมสาหร่ายโดยการกำจัดสีและไม่กำจัดสี ปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้แสดงดังตารางที่ 5-7

ตารางที่ 5 ปริมาณพอลิเซกคาไรด์ทั้งหมดของสาหร่ายผมนางเมื่อสกัดด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	ร้อยละพอลิแซคคาไรด์ทั้งหมด (g/100g สารสกัด)	
	สาหร่ายไม่จำกัดสี	สาหร่ายกำจัดสี
1) การสกัดด้วยเอทานอล		
- เอทานอล 20% เวลา 1 ชม	27.48 ± 1.52^{ab}	29.95 ± 2.40^{a}
- เอทานอล 20% เวลา 2 ชม	30.44 ± 3.60^{b}	35.26 ± 2.13^{a}
- เอทานอล 80% เวลา 1 ชม	22.68 ± 0.86^{a}	29.15 ± 1.43^{a}
- เอทานอล 80% เวลา 2 ชม	26.39 ± 1.98^{a}	33.50 ± 4.76^{a}
2) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1		
- ระยะเวลาสกัด 1 ชม	28.57 ± 3.14^{a}	31.47 ± 4.26^{a}
- ระยะเวลาสกัด 2 ชม	32.19 ± 2.14^{a}	35.89 ± 8.12^{a}
3) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2		
- ระยะเวลาสกัด 15 นาที	32.99 ± 6.07^{a}	42.62 ± 7.51^{a}
- ระยะเวลาสกัด 30 นาที	37.84 ± 3.33^{a}	58.60 ± 5.02^{b}
- ระยะเวลาสกัด 60 นาที	47.24 ± 3.83^{b}	54.63 ± 3.11^{b}

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันของแต่ละวิธีการสกัด แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากผลการศึกษาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผมนางที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆผลการทดลองแสดงผลดังตารางที่ 5 วิธีการสกัดด้วยเอทานอล ที่เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เวลา 2 ชั่วโมง มีปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มากที่สุดทั้งกำจัดสีและไม่กำจัดสีแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) กับระยะเวลาการสกัด 1 ชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกสภาวะการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 ระยะเวลา 1 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด เนื่องจากลดระยะเวลาในการสกัดให้เร็วขึ้น การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 ที่เวลา 2ชั่วโมง ให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคา

ไรด์มากสุดโดย ในส่วนของสาหร่ายที่ไม่กำจัดสี และให้ผลเช่นเดียวกันกับสาหร่ายที่กำจัดสี แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกสภาวะการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 ระยะเวลา 1 ชั่วโมง เป็นสภาวะ ที่เหมาะสมในการสกัด เนื่องจากลดระยะเวลาในการสกัดให้เร็วขึ้น การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 การสกัดที่ระยะเวลา 60 นาที ไม่กำจัดสีให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากสุด วิธีกำจัดสีที่ระยะเวลา 30 นาที ให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากสุด

ตารางที่ 6 ปริมาณพอลิเซกคาไรด์ทั้งหมดของสาหร่ายผักกาดทะเลเมื่อสกัดด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	ร้อยละพอลิแซคคไรด์ทั้งหมด (g/100g สารสกัด)	
	สาหร่ายไม่จำกัดสี	สาหร่ายกำจัดสี
1) การสกัดด้วยเอทานอล		
- เอทานอล 20% เวลา 1 ชม	30.39 ± 3.68^{b}	36.35 ± 7.40^{b}
- เอทานอล 20% เวลา 2 ชม	50.49 ± 10.48^{c}	41.56 ± 8.35^{b}
- เอทานอล 80% เวลา 1 ชม	9.10 ± 0.28^{a}	16.28 ± 1.80^{a}
- เอทานอล 80% เวลา 2 ชม	14.01 ± 3.83^{a}	33.19 ± 0.60^{b}
2) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1		
- ระยะเวลาสกัด 1 ชม	48.78 ± 10.88^{a}	45.49 ± 4.18^{a}
- ระยะเวลาสกัด 2 ชม	46.95 ± 9.09^{a}	58.32 ± 2.56^{b}
3) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2		
- ระยะเวลาสกัด 15 นาที	32.06 ± 3.20^{a}	59.80 ± 5.53^{a}
- ระยะเวลาสกัด 30 นาที	38.23 ± 3.77^{a}	61.88 ± 8.28^{a}
- ระยะเวลาสกัด 60 นาที	55.49 ± 2.48^{b}	66.95 ± 2.04^{a}

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันของแต่ละวิธีการสกัด แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลการศึกษาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผักกาดที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 6 วีธีการสกัดด้วยเอทานอล ที่เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เวลา 2 ชั่วโมง มีปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มากที่สุดทั้งที่กำจัดสีและไม่กำจัดสี แต่สาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสี ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณพอลิแซคคาไรด์ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) กับระยะเวลา

1 ชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกสภาวะการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 20 ระยะเวลา 1 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด เนื่องจากลดระยะเวลาในการสกัดให้เร็วขึ้น การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 ไม่กำจัดสี ที่เวลา 1 ชั่วโมง ให้ปริมาณสาพอลิแซ็กคาไรด์ มากสุด วิธีกำจัดสีที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง จะให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากสุด การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 ไม่กำจัดสีการสกัดทีระยะเวลา 60 นาที ให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากสุด วิธีกำจัดสีที่ระยะเวลา 60 นาที ให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) กับระยะเวลา 15 นาที ดังนั้นสาหร่ายที่กำจัดสีจึงเลือกสภาวะการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 ระยะเวลา 15 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด เนื่องจากลดระยะเวลาในการสกัดให้เร็วขึ้น

ตารางที่ 7 ปริมาณพอลิเซกคาไรด์ทั้งหมดของสาหร่ายขนนกเมื่อสกัดด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	ร้อยละพอลิแซคคไรด์ทั้งหมด (g/100g สารสกัด)	
	สาหร่ายไม่จำกัดสี	สาหร่ายกำจัดสี
1) การสกัดด้วยเอทานอล		
- เอทานอล 20% เวลา 1 ชม	27.30 ± 0.96^{a}	56.85 ± 5.73^{b}
- เอทานอล 20% เวลา 2 ชม	54.41 ± 7.26^{b}	67.73 ± 6.40^{c}
- เอทานอล 80% เวลา 1 ชม	23.98 ± 3.21^{a}	31.45 ± 3.70^{a}
- เอทานอล 80% เวลา 2 ชม	31.95 ± 1.55^{a}	33.57 ± 4.24^{a}
2) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1		
- ระยะเวลาสกัด 1 ชม	25.04 ± 3.04^{a}	48.78 ± 2.36^{a}
- ระยะเวลาสกัด 2 ชม	31.08 ± 0.76^{a}	50.96 ± 2.09^{a}
3) การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2		
- ระยะเวลาสกัด 15 นาที	46.94 ± 7.37^{a}	64.25 ± 9.20^{a}
- ระยะเวลาสกัด 30 นาที	47.21 ± 2.94^{a}	67.14 ± 2.62^{a}
- ระยะเวลาสกัด 60 นาที	68.15 ± 8.37^{b}	71.25 ± 6.05^{a}

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันของแต่ละวิธีการสกัด แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลการศึกษาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนนกที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 7 วิธีการสกัดด้วยเอทานอล ที่เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เวลา 2 ชั่วโมง มีปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มากที่สุดทั้งที่กำจัดสีและไม่กำจัดสี การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 ทั้งสาหร่ายที่ไม่กำจัดสีและกำจัดสี ที่เวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสาพอลิแซ็กคาไรด์มากที่สุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) กับระยะเวลา 1 ชั่วโมง การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 ไม่กำจัดสีการสกัดทีระยะเวลา 60 นาที ให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากสุด วิธีกำจัดสีที่ระยะเวลา 60 นาที ให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) กับระยะเวลา 15 นาที

การศึกษาครั้งนี้มีการศึกษาสาหร่ายสามชนิด คือ สาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก แต่เนื่องจากสาหร่ายขนนก ค่อนข้างมีปัญหาในเรื่องของวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา เนื่องจากบางช่วงฤดูกาลจะไม่สามารถเก็บได้ ทำให้เกิดปัญหากับการทดลอง จึงเลือกที่จะศึกษาในหัวข้อต่อไปเพียงสองชนิดคือ สาหร่ายผมนางและสาหร่ายผักกาดทะเล โดยการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดจะใช้ปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือก ไม่ใช้ปริมาณผลผลิต เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ในขั้นตอนของการสกัดไม่ได้มีการทำไดอะไลซิส ดังนั้นความบริสุทธิ์ของสารอาจไม่มาก หากใช้ปริมาณผลผลิตเป็นเกณฑ์ ชุดการทดลองที่มีปริมาณผลผลิตสูงอาจมีตัวปนเปื้อนมาก จึงเลือกใช้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์เป็นเกณฑ์ โดยสามารถสรุปสภาวะที่เหมาะสมได้ดังนี้

สาหร่ายผมนาง-ไม่กำจัดสี

- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 ชม

สาหร่ายผมนาง-กำจัดสี

- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 30 ชม

สาหร่ายผักกาดทะเล-ไม่กำจัดสี

- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 2 ชม
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 ชม

สาหร่ายผักกาดทะเล-กำจัดสี

- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 2 ชม
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 15 ชม

3. การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่าย

เมื่อนำพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายทั้งสองชนิดคือสาหร่ายผมนางและสาหร่ายผักกาดทะเลมาศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8-9

ตารางที่ 8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่ายผมนาง

ชุดการทดลอง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg Gallic acid/ g สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์)
สาหร่ายผมนาง-ไม่กำจัดสี	
- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม	2.48 ± 0.08^{e}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม	1.83 ± 0.06^{c}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาที	1.05 ± 0.12^{a}
สาหร่ายผมนาง-กำจัดสี	
- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม	2.69 ± 0.13^{f}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม	2.29 ± 0.08^{d}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 30 นาที	1.42 ± 0.06^{b}

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 8 พบว่าสาหร่ายผมนางทั้งกำจัดสีและไม่กำจัดสี การสกัดด้วยเอทานอลจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำ สอดคล้องกับการศึกษาของ Cheung et al. (2003) และ Yu, et al. (2005) แต่ก็มีงานวิจัยหลายเรื่องที่ศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระด้วยน้ำ (Lee et al.., 2006; Mau et al., 2005) เนื่องจากมีความปลอดภัยกว่าการใช้เอทานอลในการสกัด

ตารางที่ 9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่ายผักกาดทะเล

ชุดการทดลอง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg Gallic acid/ g สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์)
สาหร่ายผักกาดทะเล-ไม่กำจัดสี	
- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 2 ชม	3.92 ± 0.01^{e}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม	2.12 ± 0.04^{b}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาที	1.78 ± 0.01^{a}
สาหร่ายผักกาดทะเล-กำจัดสี	
- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม	2.46 ± 0.08^{c}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 2 ชม	2.82 ± 0.11^{d}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 15 นาที	1.90 ± 0.10^{a}

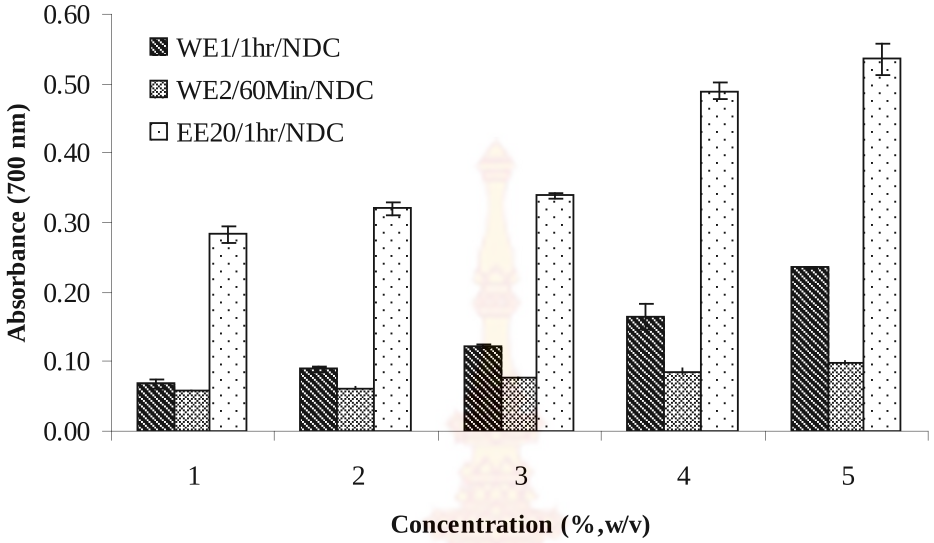
หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 9 พบว่าสาหร่ายผักกาดทะเลที่ไม่กำจัดสี การสกัดด้วยเอทานอลจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำ ในขณะที่สาหร่ายซึ่งกำจัดสีการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 จะให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด

4. การศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่าย

4.1 การวัดค่า Reducing power

คุณสมบัติในการรีดิวซ์ จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณของสาร reductant ซึ่งแสดงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระโดยการทำให้สายของ free radical แตกออก โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอม (Gordon, 1990) จากการศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยการวัดค่า Reducing power ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 1-4

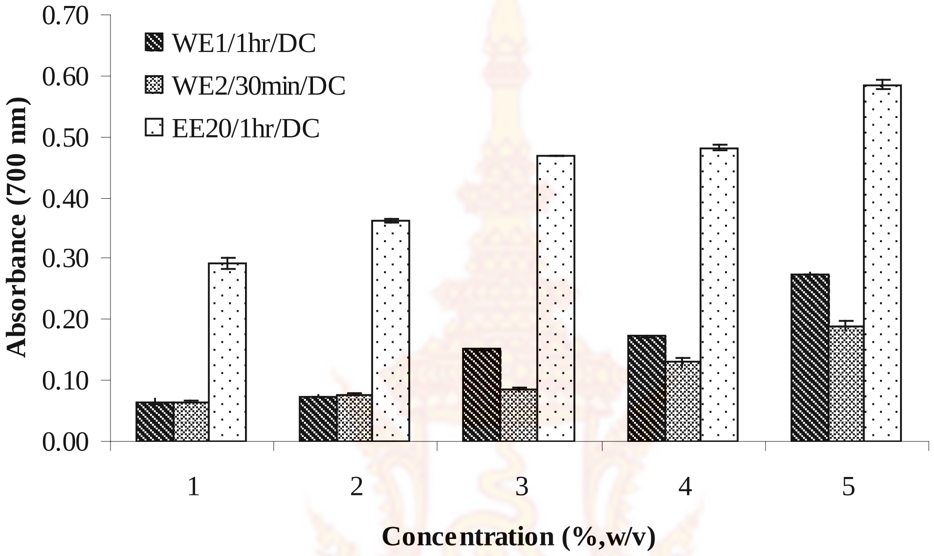


ภาพที่ 1 ค่า Reducing power ของสาหร่ายผมนางไม่กำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/NDC : การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา1 ชม.และไม่กำจัดสี, WE2/60min/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาทีและไม่กำจัดสี, EE20/1hr/NDC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และไม่กำจัดสี)

จากภาพที่ 1 ผลการทดลองพบว่า ค่า Reducing power ของสาหร่ายผมนางไม่กำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) จากสาหร่ายผมนางไม่กำจัดสีนั้น สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาหร่ายผมนางด้วยเอทานอลซึ่งให้ค่า Reducing power สูงสุดคือการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 20 เป็นเวลา 1ชั่วโมง และค่า Reducing power จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่สกัดได้ นั้นคือเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเพิ่มขึ้นค่า Reducing power จะเพิ่มขึ้น

สำหรับคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายนั้น มีงานวิจัยหลายเรื่องที่รายงานว่า sulfate polysaccharide มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Qi et al., 2005; Rocha de Souza et al., 2007; Wang, et al., 2008) เมื่อพิจารณาการสกัดทั้งสามวิธีจะพบว่า การสกัดด้วยน้ำวิธีที่สอง (WE2) จะให้ค่า Reducing power ต่ำสุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากการสกัดด้วยน้ำวิธีที่สอง โดยการ autoclave จะทำให้หมู่ซัลเฟตโดนทำลายไป เนื่องจากการ autoclave ทำให้โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์โดนทำลาย สอดคล้องกับการทดลองของ Tannin-Spitz et al. (2005) ซึ่งศึกษาใน

Porphyridium sp.พบว่า การ autoclave ทำให้เกิด denatured polysaccharide ทำให้พอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าการตัวอย่างที่ไม่ผ่านการ autoclave (ตัวอย่างที่เป็นของเหลวที่ได้จากสารละลายใสส่วนบนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในระยะ stationary phase)

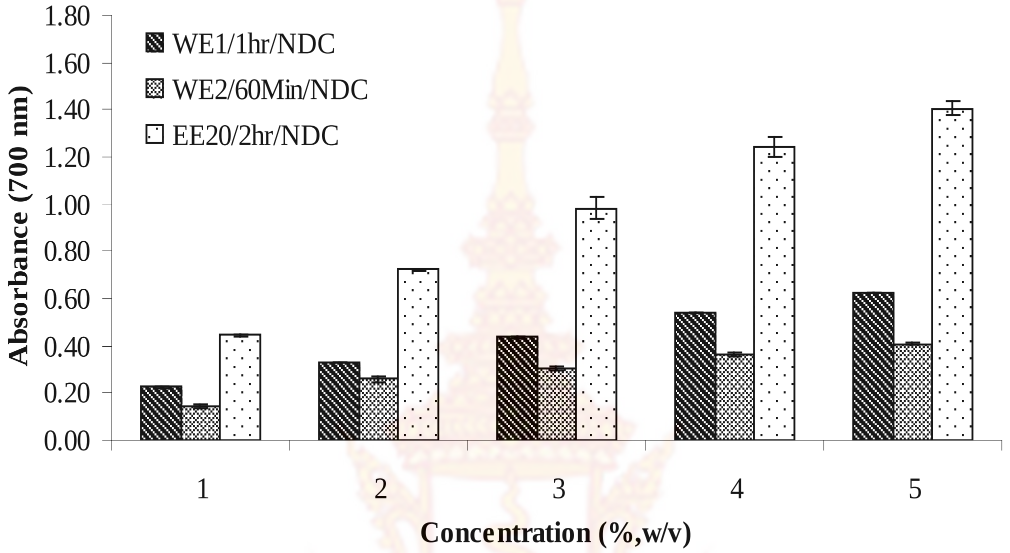


ภาพที่ 2 ค่า Reducing power ของสาหร่ายผมนางกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/DC : การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา1 ชม.และกำจัดสี, WE2/30min/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 30 นาทีและไม่กำจัดสี, EE20/1hr/DC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา1 ชม.และกำจัดสี)

จากภาพที่ 2 ผลการทดลองพบว่า ค่า Reducing power ของสาหร่ายผมนางกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) จากสาหร่ายผมนางกำจัดสีนั้น สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาหร่ายผมนางด้วยเอทานอลซึ่งให้ค่า Reducing power สูงสุดคือการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1ชั่วโมง และค่า Reducing power จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่สกัดได้ นั้นคือเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเพิ่มขึ้นค่า Reducing power จะเพิ่มขึ้น

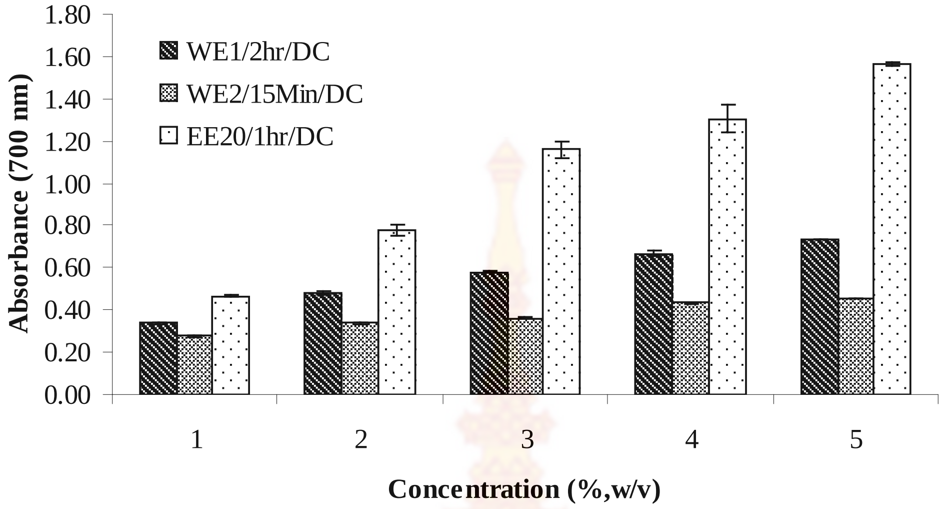
เมื่อเปรียบเทียบ ค่า Reducing power ของสาหร่ายที่กำจัดสีและไม่กำจัดสีที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันจะพบว่าสาหร่ายที่ผ่านการกำจัดสีจะให้ ค่า Reducing power ที่สูงกว่าสาหร่ายที่ไม่

กำจัดสี อาจเนื่องจากการกำจัดสีซึ่งทำการสกัดด้วยเมทานอล อาจกำจัดสารปนเปื้อนอื่นๆ ที่ไม่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระบางส่วนออกไป ทำให้สารสกัดที่ได้มีสารปนเปื้อนน้อยลง



ภาพที่ 3 ค่า Reducing power ของสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา1 ชม.และไม่กำจัดสี, WE2/60min/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาทีและไม่กำจัดสี, EE20/2hr/NDC: การสกัดด้วย เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 2 ชม. และไม่กำจัดสี)

ค่า Reducing power ของสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสี (ภาพที่ 3) ที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยเอทานอลซึ่งให้ค่า Reducing power สูงสุด คือ การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และค่า Reducing power จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่สกัดได้ นั้นคือเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเพิ่มขึ้นค่า Reducing power จะเพิ่มขึ้น



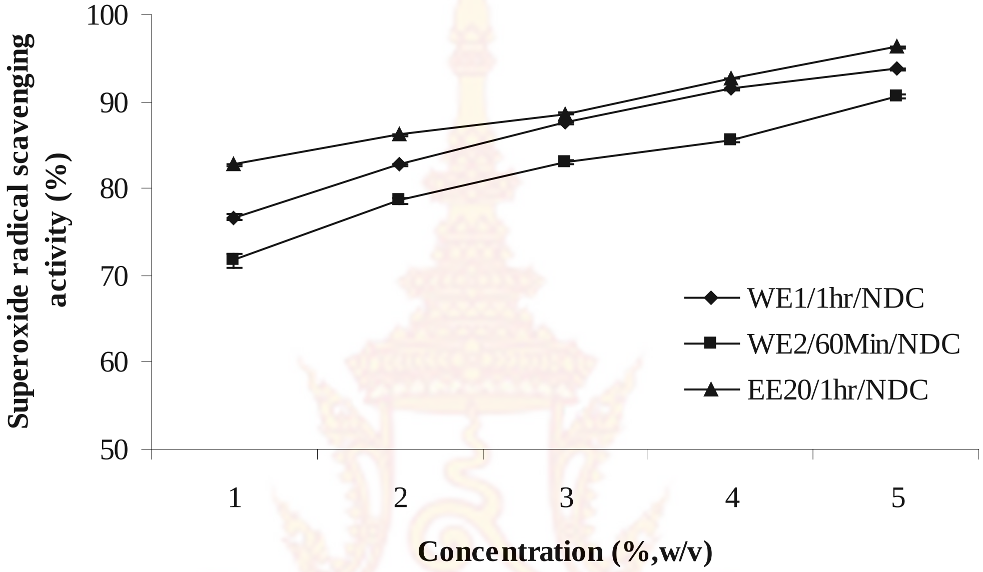
ภาพที่ 4 ค่า Reducing power ของสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/DC : การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา 2ชม.และกำจัดสี, WE2/15min/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 15นาทีและกำจัดสี, EE20/1hr/DC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม.และกำจัดสี)

จากภาพที่ 4 ผลการทดลองพบว่า ค่า Reducing power ของสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) จากสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีนั้น สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาหร่ายผักกาดทะเลซึ่งให้ค่า Reducing power สูงสุดคือการสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 20 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และค่า Reducing power จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่สกัดได้ นั้นคือเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเพิ่มขึ้น ค่า Reducing power จะเพิ่มขึ้น

จากการศึกษา Zhang *et al.* (2010) ซึ่งศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายห้าชนิดคือ สาหร่ายสีน้ำตาลหนึ่งชนิดคือ *Laminaria japonica* (LP) สาหร่ายสีแดงหนึ่งชนิดคือ *Porphyra haitanensis* (PP) และสาหร่ายสีเขียวสามชนิดคือ *Ulva pertusa* (UP) , *Enteromorpha linza* (EP) และ *Bryopsis plumose* (BP) โดยผลการทดลองพบว่าค่า Reducing power ของ *Porphyra haitanensis* และ *Ulva pertusa* มีค่า 0.28 และ 0.24 ที่ความเข้มข้น 0.95 mg/ml และในขณะที่ *Laminaria japonica* จะมีค่า Reducing power เท่ากับ 0.12 ที่ 1.84 mg/ml โดยการศึกษาครั้งนี้พบว่า UP, EP, BP and PP ให้ค่า reducing power ที่สูงยกเว้น LP

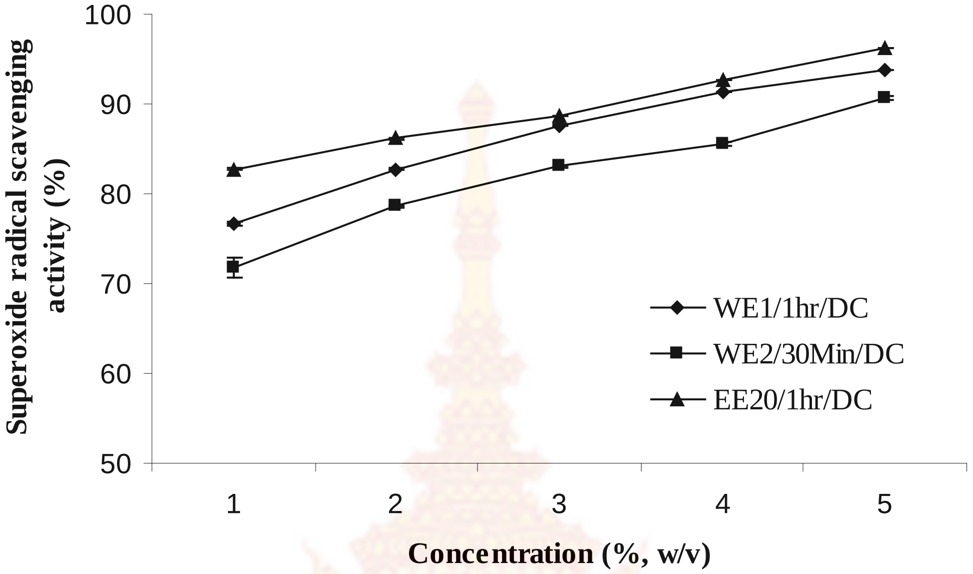
4.2 การวัดความสามารถในการจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical scavenging activity)

จากการศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยการวัดความสามารถในการจับอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ Superoxide radical assay ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 5-8



ภาพที่ 5 ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผมนางไม่กำจัดสีสกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1ชม. และไม่กำจัดสี, WE2/60 min/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาที และไม่กำจัดสี, EE20/1hr/NDC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และไม่กำจัดสี)

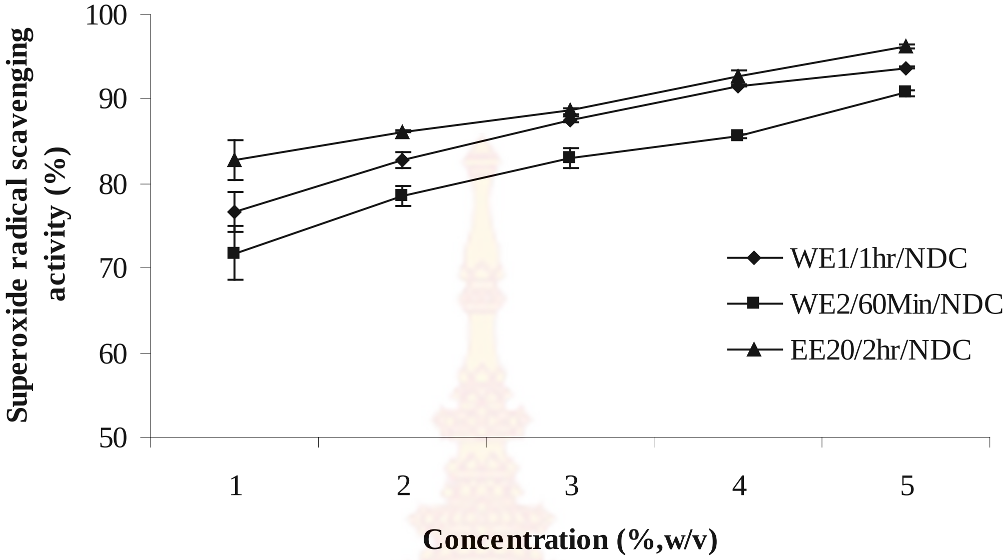
จากผลการทดลองพบว่า ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผมนางไม่กำจัดสี (ภาพที่ 5) สกัดด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) จากสาหร่ายผมนางไม่กำจัดสีนั้น การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีค่า Superoxide radical scavenging activity (%) สูงสุด ซึ่งค่า Superoxide radical scavenging activity (%) จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่สกัดได้ นั้นคือเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเพิ่มขึ้นค่า Superoxide radical scavenging activity (%) จะเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 6 ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผมนางกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา 1 ชม.และกำจัดสี, WE2/30min/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 30 นาที และกำจัดสี, EE20/1hr/DC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และกำจัดสี)

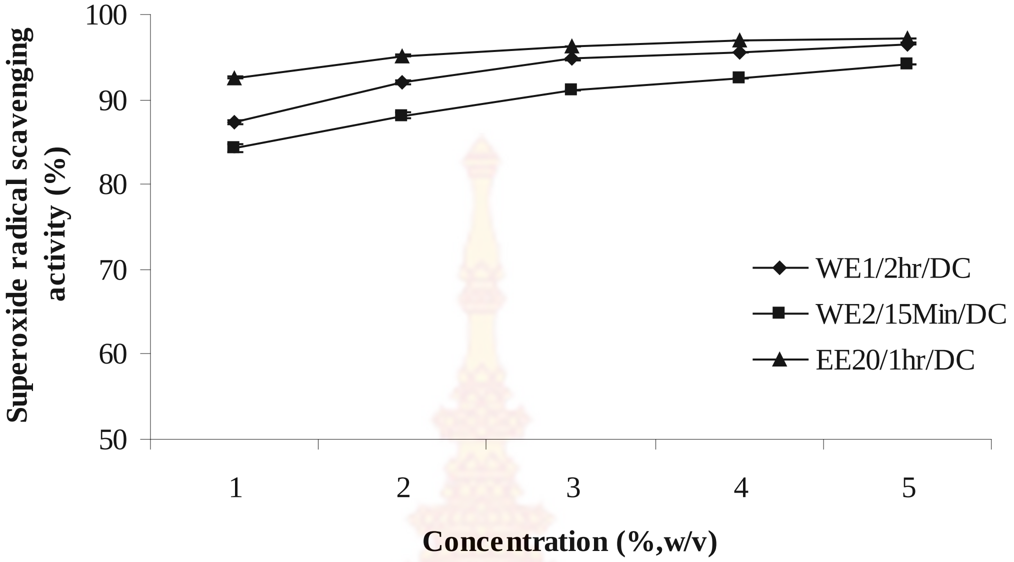
จากภาพที่ 6 ผลการทดลองพบว่า ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผมนางกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) จากสาหร่ายผมนางกำจัดสีนั้น สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาหร่ายผมนางกำจัดสีด้วยเอทานอลซึ่งให้ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) สูงสุดคือ การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และค่า Superoxide radical scavenging activity (%) จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่สกัดได้ นั้นคือเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเพิ่มขึ้นค่า Superoxide radical scavenging activity (%) จะเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบ ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผมนางกำจัดสีและไม่กำจัดสีที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันจะพบว่าสาหร่ายผมนางที่กำจัดสีจะให้ ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ที่สูงกว่าสาหร่ายที่ไม่ผ่านการกำจัดสี



ภาพที่ 7 ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/1hr/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่1เป็นเวลา 1 ชม.และไม่กำจัดสี, WE2/60min/NDC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาที และไม่กำจัดสี, EE20/2hr/NDC:การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 2 ชม.และไม่กำจัดสี)

จากภาพที่ 7 ผลการทดลองพบว่า ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) จากสาหร่ายผักกาดทะเลไม่กำจัดสีนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยน้ำซึ่งให้ค่า radical scavenging activity (%) สูงสุดคือ การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 2 ชม.และค่า Superoxide radical scavenging activity (%) จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่สกัดได้ นั้นคือเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเพิ่มขึ้นค่า Superoxide radical scavenging activity (%) จะเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 8 ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่างๆ (WE1/2hr/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 2 ชม. และกำจัดสี, WE2/15min/DC: การสกัดด้วยน้ำวิธีที่2 เป็นเวลา 15 นาทีและกำจัดสี, E20/1hr/DC: การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชม. และกำจัดสี)

จากภาพที่ 8 ผลการทดลองพบว่าค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ซึ่งเป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวส์ของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) จากสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีนั้น สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยเอทานอลซึ่งให้ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) สูงสุดคือ การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และค่า Superoxide radical scavenging activity (%) จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่สกัดได้ นั้นคือเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเพิ่มขึ้นค่า Superoxide radical scavenging activity (%) จะเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบ ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ของสาหร่ายผักกาดทะเลกำจัดสีและไม่กำจัดสีที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันจะพบว่าสาหร่ายผักกาดทะเลที่กำจัดสีจะให้ ค่า Superoxide radical scavenging activity (%) ที่สูงกว่าสาหร่ายที่ไม่ผ่านการกำจัดสี แม้ว่า superoxide จะเป็น oxidant ที่ค่อนข้างอ่อนในสิ่งมีชีวิต แต่ก็เป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญ เช่น โรคอัลไซเมอร์ และ โรคข้ออักเสบ (Wade et al., 1987; Zhu et al., 2004) จากการศึกษาครั้งนี้

พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายทั้งสองชนิดมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูล superoxide จึงน่าจะมีความสามารถในการยับยั้งโรคทั้งสองได้

5. การศึกษาคุณสมบัติรีโอโลจี

ศึกษาคุณสมบัติรีโอโลจีด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ โดยการเตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 4% ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C ด้วยเครื่อง shaking water bath เป็นเวลา 20 นาที แล้วทำการวัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นและอุณหภูมิดังกล่าว โดยสภาวะที่ใช้ในการวัดคือ Shear rate 0.03-300 1/s ผลการทดลองค่าความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (k) และค่าดรรชนีพฤติกรรมการไหล (n) แสดงดังตารางที่ 10-11

ตารางที่ 10 แสดงค่าความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (k) และค่าดรรชนีพฤติกรรมการไหล (n) ของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง เมื่อพิจารณาค่าความหนืดจะพบว่า ค่าความหนืดของสาหร่ายผมนางที่สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 (WE2) จะให้ค่าความหนืดสูงสุด ซึ่งค่าความหนืดจะสัมพันธ์กับปริมาณพอลิแซคคาไรด์ของสารสกัด (ตารางที่ 5) โดยการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 มีแนวโน้มให้ปริมาณพอลิแซคคาไรด์สูงสุด โดยให้ผลในลักษณะเดียวกันทั้งสาหร่ายที่กำจัดสีและไม่กำจัดสี จากการศึกษาการเกิดเจลของพอลิแซคคาไรด์จาก *Gracilaria cornea* พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1.5, 2.0 และ 3.0 % (w/v) ไม่มีการเกิดเจล แม้ลดอุณหภูมิเป็น 4 องศาเซลเซียส (Melo et al., 2002) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ต้องใช้ความเข้มข้นของพอลิแซคคาไรด์ร้อยละ 4 % (w/v) จึงเริ่มมีลักษณะของความหนืดขึ้น

ตารางที่ 11 แสดงค่าความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (k) และค่าดรรชนีพฤติกรรมการไหล (n) ของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผักกาดทะเล เมื่อพิจารณาค่าความหนืดจะพบว่า ค่าความหนืดของสาหร่ายผมนางที่สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 (WE1) จะให้ค่าความหนืดสูงสุด แต่ค่าความหนืดจะสัมพันธ์กับปริมาณพอลิแซคคาไรด์ของสารสกัด (ตารางที่ 5) น้อยกว่าสาหร่ายผมนาง เนื่องจากปริมาณพอลิแซคคาไรด์ของการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 (WE1) และการสกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 (WE2) ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจนเหมือนในสาหร่ายผมนาง

เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (k) และค่าดรรชนีพฤติกรรมการไหล (n) จะบ่งบอกถึงลักษณะพฤติกรรมการไหล โดยพฤติกรรมการไหลแบบนิวโตเนียน ค่า $k > 0$ และค่า $n=1$ ตัวอย่างเช่น น้ำ, น้ำผลไม้เจือจาง, น้ำมันพืช ส่วนพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติก ค่า $k > 0$ และค่า $0 < n < 1$ ตัวอย่างเช่น ซอสแอปเปิล, กล้วยบด (Banana puree) และน้ำผลไม้เข้มข้น (มณฑล, มปป) จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดมีค่า ค่า $k > 0$ และค่า $0 < n < 1$ นั้นคือมีลักษณะพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติก แต่ค่า n ของทั้งสองสาหร่ายมีค่าเข้าใกล้ 1

นั้นคือลักษณะพฤติกรรมการไหลยังค่อนข้างใกล้เคียงแบบนิวโตเนียน เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ใช้ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ความเข้มข้น 4 % (w/v) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เริ่มมีลักษณะที่ข้นหนืด แต่ยังมีความหนืดไม่สูงมาก ดังนั้นหากต้องการนำสารสกัดพอลิแซคคาไรด์ที่ได้ไปใช้ในลักษณะของสารให้ความข้นหนืด จะต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่านี้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ตารางที่ 10 ค่าความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (k) และค่าดรรชนีพฤติกรรมการไหล (n) ของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง

ชุดการทดลอง	ความหนืด (Pa.S)	k	n
สาหร่ายผมนาง-ไม่กำจัดสี			
- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม	0.0148 ± 0.0010^{a}	0.2821 ± 0.3316^{ab}	0.6446 ± 0.1148^{ns}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม	0.0641 ± 0.0099^{c}	0.7943 ± 0.0817^{b}	0.4963 ± 0.0388
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 นาที	0.5470 ± 0.0060^{e}	7.3540 ± 0.5373^{c}	0.4349 ± 0.0179
สาหร่ายผมนาง-กำจัดสี			
- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม	0.0432 ± 0.0093^{b}	0.4570 ± 0.2675^{ab}	0.5223 ± 0.1555
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม	0.0139 ± 0.0015^{a}	0.0639 ± 0.0301^{a}	0.6853 ± 0.0754
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 30 นาที	0.0935 ± 0.0071^{d}	0.5781 ± 0.1624^{ab}	0.6283 ± 0.0694

หมายเหตุ: - ค่าความหนืด หน่วย Pa.S (cP x 10^{3}) ที่ความข้มข้นของตัวอย่าง 4% (w/v), อุณหภูมิ 80°C, สภาวะที่ใช้ในการวัดคือ Shear rate 0.03-300 1/s

- อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
- ns Means of all treatments are not significantly different ($p>0.05$).

ตารางที่ 11 ค่าความหนืด ค่าสัมประสิทธิ์ความคงตัว (k) และค่าดรรชนีพฤติกรรมการไหล (n) ของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผักกาดทะเล

ชุดการทดลอง	ความหนืด (Pa.S)	k	n
สาหร่ายผักกาดทะเล-ไม่กำจัดสี			
- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 2 ชม	0.0028 ± 0.0001^{b}	0.0036 ± 0.0001^{b}	0.9499 ± 0.0194^{b}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 1 ชม	0.0054 ± 0.0000^{f}	0.0082 ± 0.0002^{c}	0.9130 ± 0.0057^{ab}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 60 ชม	0.0038 ± 0.0001^{c}	0.0058 ± 0.0004^{b}	0.9075 ± 0.0188^{ab}
สาหร่ายผักกาดทะเล-กำจัดสี			
- สกัดด้วยเอทานอล 20 % เป็นเวลา 1 ชม	0.0027 ± 0.0000^{a}	0.0033 ± 0.0007^{a}	0.9539 ± 0.0409^{b}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 1 เป็นเวลา 2 ชม	0.0047 ± 0.0000^{e}	0.0080 ± 0.0009^{c}	0.8862 ± 0.0222^{a}
- สกัดด้วยน้ำวิธีที่ 2 เป็นเวลา 15 นาที	0.0044 ± 0.0000^{d}	0.0057 ± 0.0018^{b}	0.9215 ± 0.0347^{ab}

หมายเหตุ: - ค่าความหนืด หน่วย Pa.S (cP x 10^{3}) ที่ความข้มข้นของตัวอย่าง 4% (w/v), อุณหภูมิ 80°C, สภาวะที่ใช้ในการวัดคือ Shear rate 0.03-300 1/s

- อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สรุป

การศึกษาการเตรียมตัวอย่างก่อนการสกัดพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนกพบว่า การกำจัดสีด้วยเมทานอลจะมีความเหมาะสมที่สุด ส่วนการสกัดพอลิแซคคาไรด์นั้นพบว่า การสกัดด้วยน้ำจะให้ปริมาณของพอลิแซคคาไรด์มากกว่าการสกัดด้วยเอทานอลในทุกชนิดของสาหร่าย ซึ่งอาจเนื่องจากน้ำตาลน้ำตาลอิสระที่มีอยู่ในสาหร่ายสามารถที่จะละลายน้ำได้ดีกว่าเอทานอล ในขณะที่พอลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยเอทานอลให้คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำ ซึ่งอาจเนื่องจากการสกัดด้วยน้ำใช้ความร้อนที่สูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล จึงอาจทำลายหมู่ซัลเฟตของ sulphate polysaccharide ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ทำให้คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำต่ำกว่าการสกัดด้วยเอทานอล นอกจากนี้คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระอาจขึ้นอยู่กับสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งการสกัดด้วยเอทานอลให้สารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ สำหรับคุณสมบัติทางรีโอโลจีนั้นพบว่าพอลิแซคคาไรด์ที่ได้มีลักษณะพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติก ที่ยังค่อนข้างใกล้เคียงแบบนิวโตเนียน ซึ่งศึกษาที่ความเข้มข้น 4 % (w/v) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เริ่มมีลักษณะที่ข้นหนืด แต่ยังมีความหนืดไม่สูงมาก ดังนั้นหากต้องการนำสารสกัดพอลิแซคคาไรด์ที่ได้ไปใช้ในลักษณะของสารให้ความข้นหนืด จะต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่านี้ การศึกษาครั้งนี้แสดงถึงศักยภาพของพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายที่ศึกษาในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและการใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดได้

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากสาหร่ายบางชนิดมีเพียงบางช่วงฤดูกาล ดังนั้นต้องระวังในเรื่องของวัตถุดิบที่ต้องเตรียมให้เพียงพอกับการศึกษาในช่วงที่มีวัตถุดิบ
2. การศึกษาครั้งนี้ ไม่มีการทำบริสุทธิ์สารที่สกัดได้ ดังนั้นคุณสมบัติต่างๆ อาจมีประสิทธิภาพมากกว่านี้ หากมีการทำบริสุทธิ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

เอกสารอ้างอิง

นาริทร์ จันทร์สว่าง สุขใจ ชูจันทร์ และอาภารัตน์ มหาขันธ์. 2549. การศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลในพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย“สาหร่ายเห็ดลาบ” (*Nostoc commune*, Cyanophyta). รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2549 : 94 - 104.

มณฑล สุกใส. มปป. ความหนืดและพฤติกรรมการไหลของไหล. เข้าถึงได้จาก http://pirun.ku.ac.th/~g4765306/fluid_mech/viscosity_behavior.htm เมื่อ 3 กันยายน 2554.

Andersson, L.O., Barrowcliffe, T.W., Holmer, E., Johnson, E.A. and Soderstrom, G. 1979. Molecular weight dependency of the heparin potentiated inhibition of thrombin and activated factor X. Effect of heparin neutralization in plasma. Thrombosis Research 15: 531–541.

Andrieux, C., Hibert, A., Houari, A. M., Bensaada, M., Popot, F., Szylit, O. 1998. *lactuca* is poorly fermented but alters bacterial metabolism in rats inoculated with human faecal flora from methane and non-methane products. Journal of the Science of Food and Agriculture 77: 25–30.

Armisen, R., Galactas, F., 1987. Production, properties and uses of agar. In: D.J.McHugh (Ed.), Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds. FAO Fisheries Technical Paper 288. FAO, Rome, pp. 1–57.

Araki, C. 1966. Some recent studies on the polysaccharide of agarophytes. In: Young EG, Maclachan JL (Eds.), Proceedings International seaweed symposium. 5, 1965. Pergamon Press, London, pp 3-17.

Bobin-Dubigeon, C., Lahaye, M. and Barry, J. L. 1997. Human colonic bacterial degradability of dietary fibres from sea-lettuce (*Ulva* sp.). Journal of the Science of Food and Agriculture 73: 149–159.

De Clercq, E. 1993. Anti-HIV activity of sulfated polysaccharides. Frontiers in biomedicine and biotechnology 1: 87–100.

Dubois, M. K. A. Gaillis, J. K. Haminlton,P.A. Rebers and Smith. F. 1956. Coolorimetric method for determination of sugars and related subtancea. Analytical Chemistry 28: 350- 356.

Ghosh, P., Adhikari, U., Ghosal, P.K. , Pujol, C.A., Carlucci, M.J. , Damonte, E.B., Ray, B. 2004. In vitro anti-herpetic activity of sulfated polysaccharide fractions from Caulerpa racemosa. Phytochemistry 65: 3151–3157.

Gordon, M. H. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. In B. J. F. Hudson (Ed.), Food antioxidants (pp. 1–18). London/New York: Elsevier Applied Science.

Güven K.C., Güvener B., Güler E. 1990. Pharmacological activities of marine algae. In: I. Akatsuka (ed.), pp. 67–92. Introduction to Applied Phycology, SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands.

Kaeffer, B., Benard, C., Lahaye, M., Blottiere, H. M., & Cherbut, C. (1999). Biological properties of ulvan, a new source of green seaweed sulfated polysaccharides on cultured normal and cancerous colonic epithelial cells. Planta Medica 65: 527–531.

Kloareg, B. and Quatrano, R.S. 1988. Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological function of the matrix polysaccharides. Oceanography and Marine Biology Annual Review. 26: 259–315.

Kuda, T., M. Tsunekawa, H. Goto and Y. Araki. 2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. Journal of Food Composition and Analysis 18: 625-633.

Kuda, T. and Lkemori, T. 2009. Mineral, polysaccharides and antioxidant properties of Aqueous solution obtained from macroalgae beach-casts in the Noto peninsula, Ishikawa, Japan. Food Chemistry 112: 575-578.

Lahaye, M. and Robic, A. 2007. Structure and functional properties of ulvan, a polysaccharide from green seaweeds. Biomacromolecules 8: 1765–1774.

Lai, M.-F. and Lii, C. 1997. Rheological and thermal characteristics of gel structures from various agar fractions. International Journal of Biological Macromolecules 21: 123-130.

Lee, S.C., Jeong , S.M., Kim , S.Y., Park ,H.R., Nam , K.C. and Ahn, D.U. 2006. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls. Food Chemistry 94: 489–493.

Mau, J.L., Tsai, S.Y., Tseng,Y.H. and Huang, S.J. 2005. Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. LWT 38: 589–597.

Melo, M.R.S., Feitosa, J.P.A., Freitas, A.L.P. and de Paula, R.C.M. 2002. Isolation and characterization of soluble sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria cornea*. Carbohydrate Polymer 49: 491-498.

Morelli, A., and Chiellini, F. (2010). Ulvan as a new type of biomaterial from renewable resources: Functionalization and hydrogel preparation. Macromolecular Chemistry and Physics 211: 821–832.

Noseda, M. D., Tulia. S. and Duarte. M.E.K 1999. Polysaccharides form the red seaweed *Bostrechia montagei*. Journal of Applied Phycology 11:35-40.

Nishikimi, M., Rao, N. A. and Yagi, K. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. Biochemical and Biophysical Research Communication 46: 849-854.

Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition 44: 307-315.

Percival, E. 1979. The polysaccharides of green, red and brown seaweeds: Their basic structure, biosynthesis and function. British Phycological Journal 14: 103–117.

Qi, H., Zhang, Q., Zhao, T., Chen, R., Zhang, H., Niu, X. and Li, Z. 2005. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. International Journal of Biological Macromolecules 37: 195-199.

Qi, H., Zhang, Q., Zhao, T., Hu, R., Zhang, K., and Li, Z. 2006. In vitro antioxidant activity of acetylated and benzoylated derivatives of polysaccharide extracted from Ulva pertusa (Chlorophyta). Bioorganic Medicinal Chemistry Letters 16: 2441–2445.

Ray, B. and Lahaye, M. 1995. Cell-wall polysaccharides from the marine green algae *Ulva rigida* (Ulvales, Chlorophyta) – 1.Extaction and chemical composition. Carbohydrate Research 274: 251–261.

Rocha de Souza, M.C., Marques, C.T., Guerra Dore, C.M., Ferreira da Silva, F.R. Oliveira Rocha, H.A. and Leite, E.L. 2007. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. Journal of Applied Physiology 19: 153–160.

Taboada, C., Millán, R., and Míguez, I. 2010. Composition, nutritional aspects and effect on serum parameters of marine algae Ulva rigida. Journal of the Science of Food and Agriculture 90: 445–449.

Tannin-Spitz, T., Bergman, M., van-Moppes, D., Grossman, S., and Arad, S. 2005. Antioxidant activity of the polysaccharide of the red microalga *Porphyridium* sp. Journal of Applied Physiology 17: 215–222.

Tuo, J. J., Guo, G. Q., Shen, W. Z. and Huang, R.M. 2007. The immune modulatory effect of the *Caulerpa racemosa* var peltata polysaccharides on T lymphocyte subgroup and Natural killer cell in mice. Journal of Jinan University(Medicine Edition) 28: 129-131.

Yu, P., Li, N., Liu, X., Zhou, G., Zhang, Q., and Li, P. 2003. Antihyperlipidemic effects of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta). Pharmacological Research 48: 543–549.

Yu, J., Ahmedna, M. and Goktepe, I. 2005. Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. Food Chemistry 90:199–206.

Wang, A. L., Hu, J. R. 2002. Advances in studies on biological activities of alga polysaccharide. Marine Science 26: 36–40.

Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z. and Li, Z. 2008. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. International Journal of Biological Macromolecules 42: 127–132.

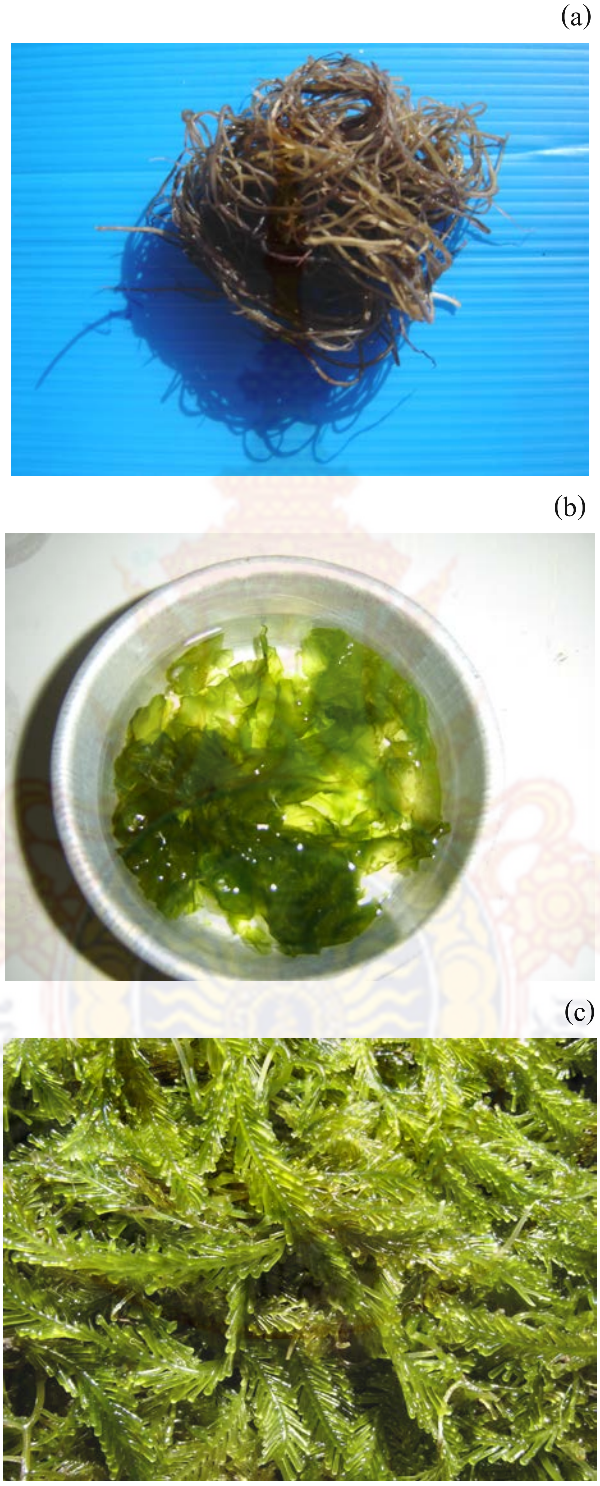
Wolfe, K., X. Wu and R.H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 609-614.

Zhang, H. J., Mao, W. J., Fang, F., Li, H. Y., Sun, H. H., Ghen, Y., and Qi, X. H. 2008.Chemical characteristics and anticoagulant activities of a sulfated polysaccharide and its fragments from *Monostroma latissimum*. Carbohydrate Polymers 71: 428–434.

Zhang, Z., Wang, F., Wang, X., Liu, X., Hon, Y. and Zang, Q. 2010. Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity in vitro. Carbohydrate Polymer 82 : 118–121.

Zuhong, X., Zhi'en, L., Xingjun, Z., Yucai, G. 1995. Application of Fucoidan polysaccharides sulfate as a drug for treating chronic renal failure. CN 98 1 20283. 7.

ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1 สาหร่ายผมนาง (a) สาหร่ายผักกาดทะเล (b) และสาหร่ายขนนก (c)