



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

.....
วิทยาศาสตร์การอาหาร

.....
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการแปรรูปและอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

Effect of Processing and Storage Temperature on C-Phycocyanin and Antioxidant Capacity of Spirulina Extract (*Spirulina platensis*)

นามผู้วิจัย นางสาวสินีนาน อักโฆสุวรรณ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(..... อาจารย์ศศิธร จันทนวางกูร, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(..... รองศาสตราจารย์สมจิต สุรพัฒน์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(..... ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....
(..... รองศาสตราจารย์วินัย อัจฉกหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการแปรรูปและอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อซี-ไฟโคไซยานินและสมบัตการต้านออกซิเดชัน
ของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

Effect of Processing and Storage Temperature on C-Phycocyanin and Antioxidant Capacity of
Spirulina Extract (*Spirulina platensis*)

โดย

นางสาวสินีนาง อักโขสุวรรณ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2550

ลินินาฏ อักโขสุวรรณ 2550: ผลของการแปรรูปและอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อซี-ไฟโค
ไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง
(*Spirulina platensis*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขา
วิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ศศิธร จันทนวางกูร, Ph.D. 103 หน้า

การศึกษาผลของการแปรรูปต่อปริมาณ ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) บีตา-แคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ปริมาณโปรตีน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) โดยศึกษาสมบัติการให้อิเล็กตรอนของสาหร่ายเกลียวทอง โดยวิธี Total Phenols การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และอนุมูลอิสระ 2,2'-azobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) และการตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) พบว่า การทำแห้งมีผลต่อรงควัตถุ และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง โดยปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน บีตา-แคโรทีน คลอโรฟิลล์ และปริมาณโปรตีน ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าสูงสุด จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันวิธีต่าง ๆ ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งวิธีต่าง ๆ พบว่า ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินมีความสัมพันธ์กับสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยมีค่าสหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.72-0.99 การวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธีต่าง ๆ มีความสัมพันธ์กันโดยมีค่าสหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.67-0.98 นอกจากนี้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่า การลดลงของ ซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง โดยสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีความคงตัวมากที่สุดที่ทุกอุณหภูมิของการเก็บรักษา โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส สามารถรักษาซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

Sineenart Akhosuwan 2007: Effect of Processing and Storage Temperature on C-Phycocyanin and Antioxidant Capacity of Spirulina Extract (*Spirulina platensis*). Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Ms. Sasitorn Chantanawarangoon, Ph.D. 103 pages.

In this study, pigments (β -carotene, chlorophyll and C-Phycocyanin) and protein contents in *Spirulina platensis* processed using different drying methods were investigated. Antioxidant capacity of samples was also evaluated using total phenols assay, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) radical scavenging capacity and Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay. Results showed that the drying affected pigments, protein and antioxidant capacity. Spray-dried sample had highest content of pigments, protein and antioxidant capacity followed by freeze-dried, tray-dried 1 and tray-dried 2 samples, respectively. There was a good correlation between pigments and antioxidant capacity in the *Spirulina* samples ranging from 0.72-0.99. Moreover, The results showed that different antioxidant capacity were correlation with correlation coefficients ranging from 0.67-0.98. In addition, kinetics of C-Phycocyanin and antioxidant capacity was also evaluated at 4 °C, room temperature and 60 °C. The degradation of C-Phycocyanin and antioxidant capacity followed the first-order kinetic model. According to degradation rate constant (k), spray-dried sample was the most stable sample at all storage temperatures in this study.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

/ /

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ ดร.ศศิธร จันทนวางกูร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
รองศาสตราจารย์สมจิต สุรพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน
การค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ
ศาสตราจารย์อรอนงค์ นัยวิกุล ประธานการสอบสัมภาษณ์ขั้นสุดท้าย และรองศาสตราจารย์
วรรณา ตูลยธัญ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณ คุณแก้วขวัญ วัชโรทัย เลขาธิการพระราชวังและผู้อำนวยการโครงการ
ส่วนพระองค์สวนจิตรลดา และผู้ช่วยศาสตราจารย์สรปราชญ์ ฐโนสวรยางกูร ที่ให้ความ
อนุเคราะห์ตัวอย่างสำหรับเกลิยวทองในการทำการวิจัย และวิทยานิพนธ์นี้ได้รับทุนสนับสนุน
งานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขอขอบคุณ พา จวง มน พี่หน่อง และเพื่อน ๆ ปริญญาโท รวมทั้งน้อง ๆ ใน
ห้องปฏิบัติการทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ คำปรึกษาและกำลังใจตลอดการทำการวิจัย ขอขอบคุณ
เจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำการวิจัยผ่านไปได้ด้วยดี

สุดท้าย กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่เข้มน พี่เต๋ล บอน ตลอดจนสมาชิกใน
ครอบครัวทุกคน ผู้ซึ่งให้การสนับสนุนในการเรียน รวมถึงความรักและกำลังใจที่อบอุ่นในการ
ทำวิทยานิพนธ์เสมอมา ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ โรงเรียนมหาวิทยาลัยราชูร และมหาวิทยาลัยมหิดล
โดยเฉพาะ หมิง ฝน เจี๊ยบ ดีวี่ ผิง แอน ในความเป็นเพื่อนและกำลังใจที่ดีตลอดมา

สินีนานู อักโขสุวรรณ

กันยายน 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	32
ผลและวิจารณ์	43
สรุปและข้อเสนอแนะ	77
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	79
ภาคผนวก	86
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	103

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบสารอินทรีย์ของสาหร่ายเกลียวทอง	10
2	ความชื้นของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองหลังการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	43
3	ค่าความบริสุทธิ์ (Purity ratio) ของซี-ไฟโคไซยานินในระหว่างกระบวนการทำบริสุทธิ์	45
4	สมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	55
5	ค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างปริมาณรงควัตถุและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง	56
6	ค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างสมบัติการต้านออกซิเดชันของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งที่ตรวจสอบด้วยวิธีต่าง ๆ	57
7	เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของซี-ไฟโคไซยานิน (%Degradation) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)	58
8	เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของซี-ไฟโคไซยานิน (%Degradation) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (HPLC)	59
9	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)	62
10	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (HPLC)	62
11	ครึ่งชีวิตของซี-ไฟโคไซยานินในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)	63
12	ค่าครึ่งชีวิตของซี-ไฟโคไซยานินในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (HPLC)	63
13	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ	66

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	ค่าครึ่งชีวิตของสมบัตการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของตัวอย่าง สำหรับกล้วยทองแห้งในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ	67
15	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยอันดับหนึ่งของสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ	69
16	ค่าครึ่งชีวิตของสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ	70
17	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยอันดับหนึ่งของสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ	72
18	ค่าครึ่งชีวิตของสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ	73
19	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยอันดับหนึ่งของสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ	75
20	ค่าครึ่งชีวิตของสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ในระหว่างการเก็บ รักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ	76

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ลักษณะเซลล์ของสาหร่ายเกลียวทอง (<i>Spirulina platensis</i>)	4
2 วงจรชีวิตของสาหร่ายเกลียวทอง	5
3 โครงสร้างของบีตา-แคโรทีน	11
4 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์	12
5 วิธี (pathway) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของคลอโรฟิลล์	12
6 หน่วยย่อยแอลฟาและบีตาของซี-ไฟโคไซยานิน	13
7 การดูดกลืนแสงและการปลดปล่อยแสงของซี-ไฟโคไซยานิน	13
8 หลักการการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน	21
9 การผลิตซี-ไฟโคไซยานินเป็นสีผสมอาหารและสารเคมี	22
10 โครงสร้างทางเคมีของซี-ไฟโคไซยานินและไบลูรีบิน	23
11 กราฟการลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ของตัวอย่างและสารมาตรฐาน	28
12 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH	30
13 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS	31
14 ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	43
15 การดูดกลืนแสงของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	44
16 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ (เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี)	47
17 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ (HPLC)	47
18 ปริมาณบีตา-แคโรทีนของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	49
19 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	50
20 ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	51

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
21 สมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	52
22 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	53
23 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ	54
24 การลดลงของปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 อบแห้งครั้งที่ 2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)	60
25 การลดลงของปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 อบแห้งครั้งที่ 2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (HPLC)	61
26 การลดลงของสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 อบแห้งครั้งที่ 2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	65
27 การลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 อบแห้งครั้งที่ 2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	68

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
28	การลดลงของสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 อบแห้งครั้งที่ 2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	71
29	การลดลงของสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 อบแห้งครั้งที่ 2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	74
ภาพผนวกที่		
1	กราฟมาตรฐานของซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC)	87
2	ตัวอย่างโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานินโดย HPLC	87
3	กราฟมาตรฐานของบีตา-แคโรทีน	88
4	ตัวอย่างโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์บีตา-แคโรทีนโดย HPLC	88
5	กราฟมาตรฐานของ Bovine Serum Albumin (BSA) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้ง	89
6	กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการตรวจสอบสมบัตการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols	89
7	กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	90
8	กราฟมาตรฐานของวิตามินซีในการศึกษาสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ ABTS	90
9	กราฟมาตรฐานของ Trolox สำหรับสารสกัดส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ในการศึกษาสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC	91
10	กราฟมาตรฐานของ Trolox สำหรับสารสกัดส่วนที่ชอบไขมัน (lipophilic) ในการศึกษาสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC	91

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี) และสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols	92
12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	92
13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS	93
14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี) และสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC	93
15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง (HPLC) และสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols	94
16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง (HPLC) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	94
17 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง (HPLC) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS	95
18 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง (HPLC) และสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC	95
19 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณบีตา-แคโรทีนของสาหร่ายเกลียวทองแห้งและสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี total phenols	96
20 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณบีตา-แคโรทีนของสาหร่ายเกลียวทองแห้งและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	96
21 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณบีตา-แคโรทีนของสาหร่ายเกลียวทองแห้งและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS	97

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
22 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณบีตา-แคโรทีนของสาหร่ายเกลียวทองแห้งและ	97
23 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายเกลียวทองแห้งและสมบัติ การให้อิเล็กตรอน โดยวิธี total phenols	98
24 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายเกลียวทองแห้งและสมบัติ การต้านอนุมูลอิสระ DPPH	98
25 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายเกลียวทองแห้งและสมบัติ การต้านอนุมูลอิสระ ABTS	99
26 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายเกลียวทองแห้งและสมบัติ การต้านออกซิเดชัน โดยวิธี ORAC	99
27 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการให้อิเล็กตรอน โดยวิธี Total phenols และสมบัติ การต้านอนุมูลอิสระ DPPH	100
28 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการให้อิเล็กตรอน โดยวิธี Total phenols และสมบัติ การต้านอนุมูลอิสระ ABTS	100
29 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการให้อิเล็กตรอน โดยวิธี Total phenols และสมบัติ การต้านออกซิเดชัน โดยวิธี ORAC	101
30 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และสมบัติการต้าน อนุมูลอิสระ ABTS	101
31 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และสมบัติการต้าน ออกซิเดชัน โดยวิธี ORAC	102
32 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และสมบัติการต้าน ออกซิเดชัน โดยวิธี ORAC	102

ผลของการแปรรูปและอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้าน
ออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

Effect of Processing and Storage Temperature on C-Phycocyanin and
Antioxidant Capacity of Spirulina Extract (*Spirulina platensis*)

คำนำ

สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Cyanobacteria) ในปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจมากขึ้นในผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายเกลียวทอง เนื่องจากสาหร่ายเกลียวทองมีคุณค่าทางอาหารสูง โดยเป็นแหล่งของโปรตีนเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นที่มีโปรตีนสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จัดเรียงกันอย่างได้สัดส่วนสมดุล 18 ชนิด เช่น วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 วิตามินบี 12 วิตามิน E กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย โดยเฉพาะ กรดแกมมา-ลิโนเลนิก หรือ GLA (Gamma Linolenic Acid)) รงควัตถุ (pigments) ที่สำคัญของสาหร่ายเกลียวทอง ได้แก่ บีตา-แคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และ ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) ชนิดและปริมาณของรงควัตถุ (pigments) ดังกล่าวในผลิตภัณฑ์สาหร่ายเกลียวทอง ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สายพันธุ์ การเพาะเลี้ยง และกรรมวิธีการแปรรูป เป็นต้น จากรายงานการวิจัยพบว่า สาหร่ายเกลียวทองและสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทอง มีผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Immunomodulator effects) มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant effects) มีสมบัติการต้านมะเร็ง (Anticancer effects) และมีสมบัติการต้านไวรัส (Antiviral effects)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการทำบริสุทธิ์ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) ศึกษาผลของการแปรรูปและอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) และสมบัติการต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังศึกษา ผลของการแปรรูปต่อปริมาณบีตา-แคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) และปริมาณโปรตีนของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

ผลที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย คือ ทราบถึงค่าความบริสุทธิ์ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) ผลของการแปรรูปต่อปริมาณรงควัตถุ (Pigments) ได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) บีตา-แคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) และปริมาณโปรตีน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) และผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

วัตถุประสงค์

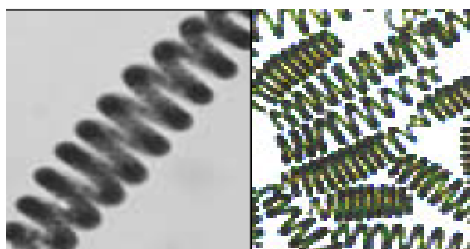
1. ศึกษาการทำปฏิกิริยาคี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin)
2. ศึกษาผลของการแปรรูปต่อปริมาณรงควัตถุ (Pigments) ได้แก่ คี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) บีตา-แคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) และปริมาณโปรตีน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)
3. ศึกษาผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อคี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

การตรวจเอกสาร

สาหร่ายเกลียวทอง

ลักษณะทางชีววิทยาของสาหร่ายเกลียวทอง

สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Cyanobacteria) ขนาดเล็กมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า จัดอยู่ใน Family Oscillatoriaceae พวกที่เป็น filament ประกอบด้วยเซลล์ที่เป็นทรงกระบอกต่อกันไม่มีกิ่งก้าน และบิดตัวเป็นเกลียวเรียกว่า trichome และเคลื่อนที่ไปตามแนวแกน (ภาพที่ 1) แต่ละชนิดมีรูปร่างที่แตกต่างกันไปในแต่ละชนิดหรือแม้แต่ชนิดเดียวกัน เซลล์ของสาหร่ายเกลียวทองสายพันธุ์ที่มีขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางจากไตรโคมตั้งแต่ 1-3 ไมโครเมตร ส่วนสายพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของไตรโคม 3-12 ไมโครเมตร สาหร่ายเกลียวทองที่มีขนาดใหญ่ในไซโตพลาสซึมมีแกรนูลที่มี gas vacuole ทำให้เซลล์ลอยตัวได้และเห็นผนังแบ่งเซลล์อย่างชัดเจน ผนังแบ่งเซลล์ประกอบไปด้วยสารจำพวก mucopolymer และ pectin สาหร่ายเกลียวทองมีคลอโรฟิลล์ ไม่มีนิวเคลียส ไม่มีราก ไม่มีลำต้นและไม่มีใบที่แท้จริง มีขนาดยาว 200-500 ไมโครเมตร (สมบุญ, 2538)



ภาพที่ 1 ลักษณะเซลล์ของสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

ที่มา: Belay (2002)

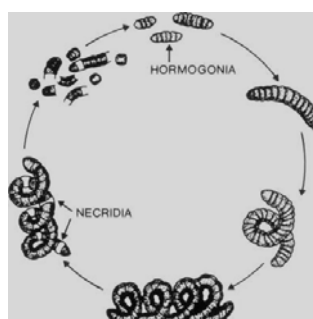
สาหร่ายเกลียวทอง ต้องการแสงเพื่อการเจริญเติบโต ส่วนใหญ่เป็นพวก Photoautotroph ที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลจากแหล่งภายนอกได้ สาหร่ายเกลียวทองเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในบริเวณน้ำตื้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในที่ ๆ เป็นน้ำกร่อย หรือน้ำที่มีความเป็นเบส พบในธรรมชาติทั่วไปทั้งในดิน หนองน้ำ น้ำพุร้อน ทะเลและน้ำจืด สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ *S. platensis* และ *S. maxima*.

นิเวศวิทยาและแหล่งที่อยู่

สาหร่ายเกลียวทองเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในบริเวณน้ำตื้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในที่ที่เป็นน้ำกร่อยหรือน้ำที่มีความเป็นเบส ในธรรมชาติพบสาหร่ายเกลียวทองทั่วไปทั้งในดิน หนอง ทะเล น้ำพุร้อนและน้ำจืด สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ *S. platensis* และ *S. maxima* พบจำนวนมากในทะเลสาบที่น้ำมีความเป็นเบส ในทวีปแอฟริกาและประเทศเม็กซิโก Cifferi (1983) ศึกษาถึงคุณสมบัติของน้ำในทะเลสาบเหล่านี้กับชนิดของสาหร่ายพบว่า ในทะเลสาบที่มีความเข้มข้นของเกลือ 2.5-30 กรัมต่อลิตร (Mesosaline Lake) สิ่งมีชีวิตที่มีจำนวนมากคือ ไชยาโนแบคทีเรีย ซึ่งประกอบด้วย *Synechocystis* *Oscillatoria* *Spirulina* และ *Anabaenopsis* ส่วนทะเลสาบที่มีความเข้มข้นของเกลือมากกว่า 30 กรัมต่อลิตร (Alkaline Lake) พบว่ามีเฉพาะ *Spirulina* sp. เพียงชนิดเดียว

วงจรชีวิตของสาหร่ายเกลียวทอง

วงจรชีวิตของสาหร่ายเกลียวทอง (Richmond, 1986) เริ่มจากไตรโคมที่โตเต็มที่เปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์พิเศษที่เรียกว่านิครีเดีย (Necredia) หลังจากนั้น นิครีเดียแตกออกเป็นชิ้นส่วนเล็ก ๆ หลายสาย แต่ละสายประกอบด้วย 2-4 เซลล์ เรียกแต่ละสายว่า ฮอร์โมโกเนีย (Hormogonia) จากนั้นปลายทั้งสองด้านของฮอร์โมโกเนียค่อย ๆ ม้วนเป็นเกลียว เซลล์ของฮอร์โมโกเนียเพิ่มจำนวนโดยวิธี Cell Fusion และเจริญต่อไปเป็นไตรโคม ลักษณะเซลล์ของฮอร์โมโกเนียมีสีเขียว เพราะในไซโตพลาสซึมมีกรานูล (Granule) น้อย แต่เมื่อเจริญไปเป็นไตรโคมที่โตเต็มที่ภายในไซโตพลาสซึมจะมีกรานูลเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์มีสีเขียวเข้มมากขึ้น (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของสาหร่ายเกลียวทอง

ที่มา: Richmond (1986)

ปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตชีวมวล (Productivity) ของสาหร่ายเกลียวทอง

1. ความเป็นกรด-เบส (pH)

การรักษาค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ให้เหมาะสมในการเลี้ยงมีความสำคัญต่อการผลิตสาหร่ายเชิงการค้ามาก เนื่องจากต้องรักษาค่าความเป็นกรด-เบส ให้สูงแต่ไม่มีผลเสียต่อการเจริญเติบโต จึงต้องคำนึงถึงเหตุผลสองประการ ประการแรกคือการแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างบรรยากาศภายนอกและในสารละลายที่ใช้เลี้ยงจะขึ้นกับการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความดันของก๊าซที่แพร่ผ่านชั้น gas-liquid ค่าความเป็นกรด-เบสที่สูงขึ้นเนื่องจากมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สูงเป็นผลมาจากการเติมคาร์บอนลงไปเพื่อเพิ่มความเป็นเบสรวมกับคาร์บอนอิสระที่มีอยู่ในชั้นบรรยากาศ (Lee and Prit, 1984) ประการที่สอง การที่มีค่า pH สูงจะทำให้ลดการปนเปื้อนจากสาหร่ายชนิดอื่น ๆ ในบ่อที่ทำการเลี้ยงซึ่งทำให้สามารถคงสภาพ monoalgal culture ไว้ได้ Richmond and Grobbelaar (1986) ได้ศึกษาผลของความเป็นกรด-เบส ที่มีต่อผลผลิตของ *Spirulina* โดยศึกษาที่ค่าความเป็นกรด-เบส ต่าง ๆ คือ 9-11 พบว่า อัตราผลผลิตไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อความเป็นกรด-เบส เพิ่มขึ้นจาก 9.0 ถึง 10.5 แต่เมื่อความเป็นกรด-เบส มากกว่า 10.5 ผลผลิตชีวมวลลดลง

2. ความเข้มแสง (Light intensity)

เมื่อเลี้ยงสาหร่ายในที่มีความเข้มแสงคงที่ตลอดเวลา พบว่า ที่ความเข้มแสงสูงขึ้น ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งเห็นได้ว่าแสงเป็นปัจจัยที่จำกัดการเจริญของสาหร่าย เมื่อเวลานานขึ้นอัตราการเปลี่ยนแปลงนี้ลดลง เนื่องจากความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าแสงเป็นปัจจัยที่จำกัดการเจริญเติบโตของเซลล์ หลังจาก 5 วัน อัตราการเพิ่มของเซลล์ต่อเวลาคงที่ไม่ว่าที่ความเข้มแสงสูงหรือต่ำ แต่ที่ความเข้มสูงค่าคงที่นี้ยังสูงกว่าที่ความเข้มแสงต่ำ เนื่องจากเซลล์แต่ละเซลล์ที่เจริญที่ความเข้มแสงสูงได้รับแสงมากกว่าเซลล์ที่เจริญที่ความเข้มแสงต่ำ (Kok, 1953) เมื่อความหนาแน่นของเซลล์มาก เซลล์บังแสงกันเอง ยิ่งความหนาแน่นสูงขึ้นการบังแสงกันเองของเซลล์ยิ่งเพิ่มขึ้น ทำให้จำนวนเซลล์ที่ไม่สัมผัสแสงมากขึ้น ในการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายที่มีความหนาแน่นของเซลล์สูงกว่า การเจริญเติบโตถูกจำกัดด้วยปริมาณแสง การสังเคราะห์แสงขึ้นกับปริมาณเฉลี่ยของแสงที่เซลล์แต่ละเซลล์ได้รับ Richmond and Grobbelaar (1986) ศึกษาปัจจัยที่จำกัดผลผลิตทางชีวมวลของการเลี้ยง *Spirulina* ในสภาวะกลางแจ้ง พบว่าแสงมีผลต่อเซลล์โดย

พิจารณาที่ความลึกของบ่อและความหนาแน่นเซลล์ จากผลการศึกษาความลึกบ่อต่อผลผลิตที่ได้พบว่า ความลึกของบ่อที่เพิ่มขึ้นไม่ทำให้ผลผลิตที่ได้รับสูงขึ้น ถึงแม้ว่าผลผลิตชีวมวลที่ได้นั้นไม่มากที่สุด เมื่อความลึกน้อยในการเลี้ยงข้อดีของการเลี้ยงในบ่อลึกน้อยคือ ช่วยเพิ่มความเข้มข้นและลดปริมาณในการเลี้ยง จึงทำให้ใช้พลังงานในการ pump เพื่อจะกวานเซลล์สาหร่ายภายในบ่อลดลง และง่ายต่อการเก็บเกี่ยวเซลล์ Richmond (1986) ศึกษาผลของการส่องสว่างของแสงต่อการเจริญเติบโต พบว่าที่อุณหภูมิประมาณ 35-37 องศาเซลเซียสจะเห็นความแตกต่างของการเจริญเติบโตในฤดูหนาวและร้อน โดยจะพบว่าในฤดูหนาวและต้นฤดูใบไม้ผลินั้นอัตราการเจริญเติบโตช้าจะสังเกตได้ในตอนเช้าและจะคงที่จนกระทั่งใกล้ค่ำซึ่งมีความเข้มแสงต่ำ ส่วนในฤดูร้อนจะมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่า และมีการเพิ่มผลผลิตอย่างรวดเร็วซึ่งจะเห็นได้ชัดในตอนเที่ยงและจะลดลงในตอนบ่าย

3. ผลของอุณหภูมิ

สาหร่ายมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมอยู่ตลอดเวลา อุณหภูมิภายในเซลล์ของสาหร่ายเท่ากับอุณหภูมิของน้ำหรือสารละลายอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย นอกจากนี้ผลรวมต่อปฏิกิริยาแล้ว อุณหภูมิยังมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม ความต้องการอาหารและส่วนประกอบของสาหร่ายโดยเฉพาะส่วนของโปรตีนและไขมัน ซึ่งเป็นผลโดยตรงต่อสาหร่าย นอกจากนี้อาจส่งผลกระทบต่อปฏิกิริยากระบวนการที่ควบคุมเกี่ยวกับเมแทบอลิซึม โดยเฉพาะเอนไซม์ที่ควบคุมการผ่านสารเข้าออกของเซลล์ และส่วนประกอบของเซลล์ ผลต่อเรื่องนี้อาจเนื่องมาจากผลรวมของอุณหภูมิสถานะแวดล้อมอื่น ๆ อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นในลักษณะของเอ็กโพเนนเชียลจนถึงจุดที่เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม ในการเลี้ยงสาหร่ายในระดับใหญ่ เมื่อความหนาแน่นของสาหร่ายเพิ่มขึ้น ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสาหร่ายลดลง ทั้งนี้ที่ความหนาแน่นของสาหร่ายสูง ปริมาณแสงเป็นเครื่องจำกัดเพราะแสงที่สัมผัสกับเซลล์ลดลง อัตราการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายเกลียวทองอยู่ในช่วง 32-40 องศาเซลเซียส Torzilla *et al.* (1991) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อผลผลิตชีวมวลของ *Spirulina* sp. เลี้ยงที่สภาวะกลางแจ้งใน Photobioreactor ในช่วงเดือนเมษายนถึงกันยายนของประเทศอิตาลี พบว่า อุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อผลผลิตเซลล์และองค์ประกอบทางเคมีของ *Spirulina* sp. ค่าเฉลี่ยของผลผลิตที่ได้ในแต่ละวันที่เลี้ยงที่อุณหภูมิที่เหมาะสม สูงกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ถึง 14 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองที่ได้เป็นการยืนยันผลของอุณหภูมิในการเลี้ยงมีอิทธิพลต่อชีวมวลที่หายไปในตอนกลางคืนของ *Spirulina* sp. ซึ่งแสดงให้เห็นว่าควรรักษาอุณหภูมิ

ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม และพบว่าควรเก็บเกี่ยวเซลล์ในเวลาเย็นจึงจะได้ผลผลิตสูง เนื่องจากการสูญเสียชีวมวลไปในตอนกลางคืนถ้าเก็บเกี่ยวเซลล์ในเวลาเช้าซึ่งเซลล์ยังไม่ได้ทำการสังเคราะห์แสง เพื่อเพิ่มผลผลิตจะได้ผลผลิตต่ำ นอกจากนั้นการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ให้มีปริมาณโปรตีนสูงและองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บเกี่ยวเซลล์ในเวลาทั้งหมดแสงในแต่ละวัน อาหารมีผลต่อการตอบสนองต่ออุณหภูมิของสาหร่าย Mc Combie (1960) รายงานว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับการเจริญเติบโตของ *Clamidomonas reinbrei* แตกต่างไปจากที่ความเข้มข้นเกลือปกติ โดยพบว่าในสารอาหารชนิดหนึ่งให้ผลผลิตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส แต่ในอาหารอีกชนิดหนึ่งผลผลิตที่ดีที่สุดอยู่ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส *Spirulina* sp. เป็นสาหร่ายเขตร้อน เมื่อเลี้ยงในบ่อกลางแจ้งสาหร่ายผลิตออกซิเจนสูงสุดเมื่อความเข้มแสงและอุณหภูมิสูง จะให้ผลผลิตเซลล์สูง ผลนี้แตกต่างกับ *Chlorella vulgaris* ที่ให้ออกซิเจนสูงสุดที่ 18 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 18 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนที่เกิดลดลง ผลนี้สามารถนำมาใช้ในการพัฒนาสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาวะแวดล้อมในถิ่นนั้น ๆ ในประเทศแถบหนาว การใช้สายพันธุ์ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงให้ผลดีในฤดูร้อน แต่มีข้อเสียในฤดูหนาว

4. ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ

ในระบบการบำบัดน้ำเสีย ออกซิเจนที่เกิดขึ้นจากการสังเคราะห์แสง ถูกจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอินทรีย์นำไปใช้ ในบ่อที่มีแต่สาหร่ายอย่างเดียวปริมาณออกซิเจนในน้ำสูงถึง 35 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามบ่อและทะเลสาบธรรมชาติมักเกิดการเจริญเติบโตและตายอย่างรวดเร็วของสาหร่าย โดยเฉพาะสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การตายแบบโฟโตออกซิเดทีฟ (photooxidative) ที่เนื่องมาจากเซลล์ถูกกับแสงในที่ที่มีออกซิเจน Abielovich and Shilo (1972) สังเกตพบว่าการเกิดการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงปลาในน้ำร้อนที่อิสราเอล พบว่าน้ำในบ่อมีการอิมมัลชันของออกซิเจน และความเข้มแสงสูง นอกจากนี้ก่อนการตายของสาหร่ายปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำ และน้ำมีความเป็นเบสสูง ถ้าปริมาณออกซิเจนในบ่อเลี้ยงสาหร่าย ถึงจุดอิมมัลชันแล้ว การป้องกันโฟโตออกซิเดชัน โดยอาศัยตัวกำจัดอนุมูลออกซิเจนอื่น เช่น แคโรทีนอยด์ อาจไม่เพียงพอ ผลรวมระหว่างออกซิเจนละลายน้ำสูง อุณหภูมิ ความเข้มแสง ความหนาแน่นของเซลล์ ความเป็นกรดเบส และการขาดคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มการถูกทำลายโดยโฟโตออกซิเดทีฟมากขึ้น Merret and Armitage (1982) พบว่า เมื่อปริมาณ

ออกซิเจนลดลงจากร้อยละ 21 เหลือ 2 และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์คงที่ ได้น้ำหนัก *Euglena gracilis* เพิ่มขึ้น 2 เท่า แต่ผลนี้ไม่พบใน *Clamidomonas reinbardie*

5. ผลของการกวน

เมื่อสภาวะแวดล้อมภายนอกไม่ได้จำกัดการเจริญเติบโต ดังนั้นการออกแบบการกวนให้มีประสิทธิภาพจึงมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตที่ได้ สาเหตุที่ต้องมีการกวนด้วยความแรงที่เหมาะสมในบ่อคือ เพื่อป้องกันเซลล์ไม่ให้จมลงก้นบ่อถ้าความเร็วในการกวนต่ำ ถ้าความเร็วในการกวนมากเกินไปจะทำให้เกิดฟองก๊าซซึ่งมีผลต่อการเผาผลาญอาหารทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโต เช่นเดียวกับที่ความหนาแน่นของเซลล์สูงการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นมีผลให้เกิดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำสูงขึ้น ในบ่อเลี้ยงขนาดใหญ่ตอนกลางวัน ความเข้มข้นของออกซิเจนอาจสูงถึง 400 เปอร์เซ็นต์ของจุดอิ่มตัว การกวนที่รุนแรงทำให้ลดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำภายในบ่อที่ทำให้การเลี้ยง สาเหตุที่ต้องมีการออกแบบการกวนภายในบ่อแบบ turbulent เนื่องจากการเกิดบังกันเองภายในบ่อทำให้เซลล์ได้รับแสงไม่ทั่วถึง ในบริเวณที่เซลล์ได้รับแสงอย่างเพียงพอก็จะสามารถเกิดการสังเคราะห์แสงได้ดีกว่าบริเวณที่ได้รับแสงน้อย (Tamiya, 1957) การไหลเวียนแบบ turbulent จะชักนำให้เกิดการแลกเปลี่ยนตำแหน่งของเซลล์สำหรับที่ขึ้นมารับแสงทำให้เซลล์สำหรับภายในบ่อได้รับแสงอย่างทั่วถึง

องค์ประกอบของสาหร่ายเกลียวทอง

สาหร่ายเกลียวทองมีคุณค่าทางอาหารสูงดังแสดงในตารางที่ 1 โดยมีปริมาณโปรตีนสูงกว่า 60% ของน้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ย กรดอะมิโนที่จัดเรียงกันอย่างได้สัดส่วนสมดุล 18 ตัว มีวิตามินที่มีคุณค่า เช่น วิตามินบี 1 (B1) บี 2 (B2) บี 3 (B3) บี 12 (B12) วิตามิน C วิตามิน E และบีตา-แคโรทีน (สมชาย, 2539) นอกจากนี้ประกอบด้วย กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะ (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย โดยเฉพาะกรดแกมมา-ลิโนเลนิก หรือ GLA (Gamma Linolenic Acid) (สมศักดิ์, 2547) ในปี 2002 Belay รายงานว่าสาหร่ายเกลียวทองและสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองมีผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Immunomodulating effects) มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant effects) มีสมบัติการต้านมะเร็ง (Anticancer effects) และมีสมบัติการต้านไวรัส (Antiviral effects)

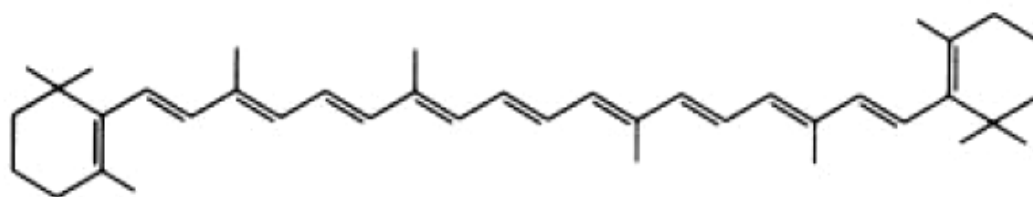
ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบสารอินทรีย์ของสาหร่ายเกลียวทอง

องค์ประกอบสารอินทรีย์	สาหร่ายเกลียวทอง
โปรตีน	69.5-71%
คาร์โบไฮเดรต	12.5%
ไขมัน	8.0%
วิตามิน	โปรวิตามินเอ
	บี 1 บี 2 บี 6 บี 12 อี
รงควัตถุ	คลอโรฟิลล์
	แคโรทีนอยด์
	ไฟโคไซยานิน

ที่มา: เกียมจิตต์ (2531)

บีตา-แคโรทีน

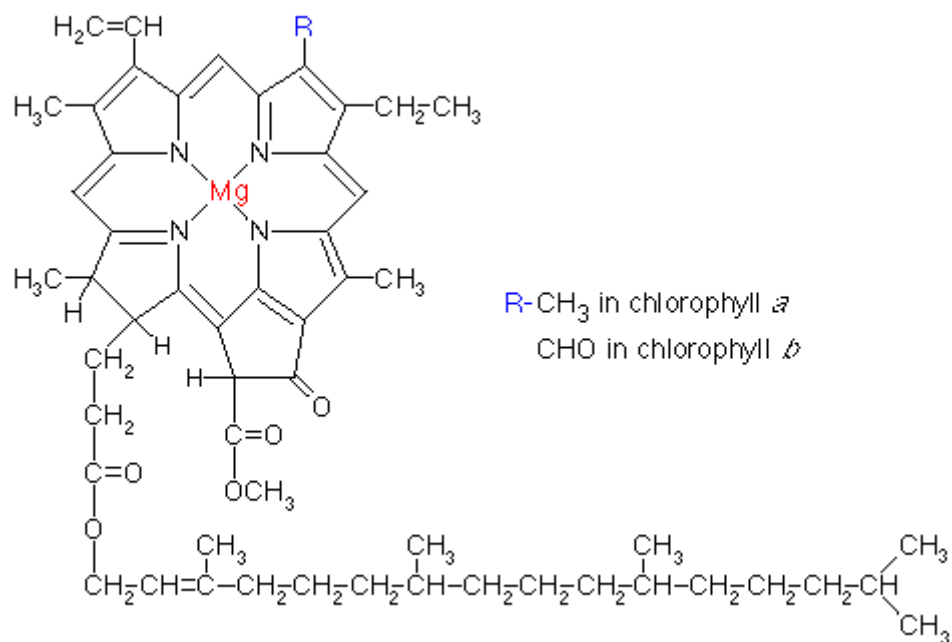
บีตา-แคโรทีน (β -carotene) เป็นรงควัตถุที่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้โดยสัตว์แต่สามารถสังเคราะห์ได้โดยพืชและจุลินทรีย์ โครงสร้างของบีตา-แคโรทีนประกอบด้วย cyclohexane 2 ชนิด (ภาพที่ 3) บีตา-แคโรทีนเป็นแหล่งวิตามินเอของมนุษย์ ร่างกายเราจะเปลี่ยนบีตา-แคโรทีน เป็นวิตามินเอเมื่อต้องการ สาหร่ายเกลียวทองเป็นอาหารที่มีบีตา-แคโรทีนสูง Berton and Ingold (1984) รายงานว่า เบต้าแคโรทีนสามารถจับอนุมูลอิสระ peroxyI โดยเฉพาะในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำ สมบัติการต้านออกซิเดชันของบีตา-แคโรทีนขึ้นอยู่กับสมบัติในการจับ singlet oxygen และอนุมูลอิสระ peroxyI ซึ่งขึ้นกับโครงสร้างของโมเลกุล และจำนวนพันธะคู่ของโมเลกุล (Sergio *et al.*, 1999) นอกจากนี้บีตา-แคโรทีนยังลดความเป็นพิษของอนุมูลอิสระซึ่งทำลายเซลล์และนำไปสู่โรคมะเร็ง เนื่องจากสาหร่ายเกลียวทองมีบีตา-แคโรทีนอยู่สูง จึงมีการนำเอามาทดสอบถึงผลในการต้านมะเร็งของบีตา-แคโรทีน และสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองถึงที่มีต่อก้อนเนื้อร้ายในปากหนู พบว่าสามารถลดทั้งจำนวนและขนาดของก้อนเนื้อและทำให้ก้อนเนื้อนั้นหายไป (สมชาย, 2539)

β -Carotene**ภาพที่ 3** โครงสร้างของบีตา-แคโรทีน

ที่มา: Stryer (1975)

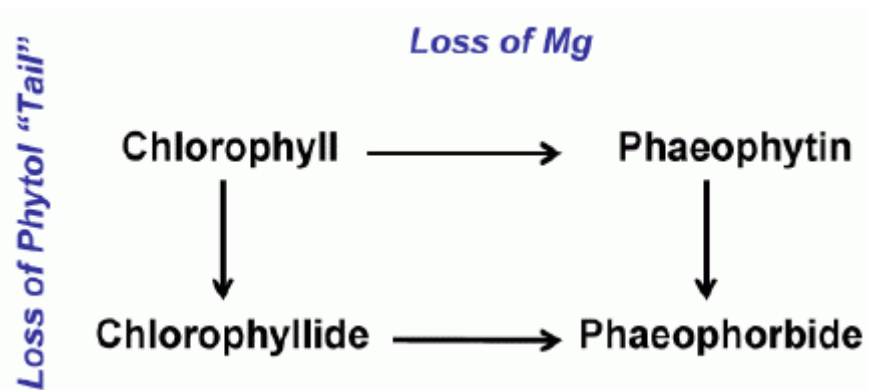
คลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) คือรงควัตถุสีเขียวซึ่งประกอบด้วยธาตุแมกนีเซียม (ภาพที่ 4) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสร้างภูมิคุ้มกันให้กับมนุษย์ เป็นสารที่ทำให้พืชทุกอย่างรวมทั้งสาหร่ายเกลียวทองมีสีเขียว การที่คลอโรฟิลล์ (ในพืช) มีโครงสร้าง (Pyrole Ring) เหมือนกันกับ ฮีโมโกลบิน (ในคน) แตกต่างกันที่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบคือแมกนีเซียมและธาตุเหล็ก มีรายงานของการวิจัยว่า คลอโรฟิลล์มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย สามารถหยุดโรคเหงือกอักเสบ (สมศักดิ์, 2547) นอกจากนี้ยังมีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจ คือทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจดีขึ้น เพราะระยะการคลายตัวนานขึ้น (เจียมจิตต์, 2531) คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่สาหร่ายเกลียวทองมีมากรองลงมาจากไฟโคไซยานิน ในกระบวนการแปรรูปอาหารคลอโรฟิลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (Destruction) ทำให้เปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเขียวคล้ำหรือสีน้ำตาล (Dull olive-brown) ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปของฟีโอไฟติน (Pheophytin) และฟีโอฟอร์ไบด์ (Pheophorbide) หรืออาจจะอยู่ในรูปของคลอโรฟิลล์ไรด์ (Chlorophyllide) (ภาพที่ 5) ซึ่งยังคงเป็นสีเขียว (Healey, 1982)



ภาพที่ 4 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์

ที่มา: Mac (1981)

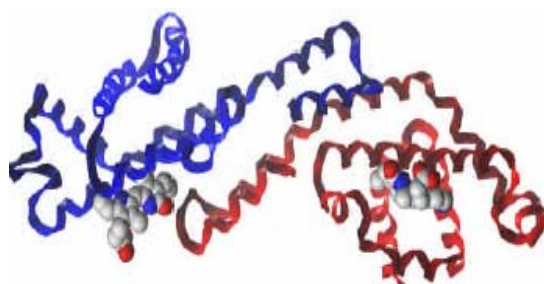


ภาพที่ 5 วิธี (pathway) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของคลอโรฟิลล์

ที่มา: Carlson and Simpson (1996)

ซี-ไฟโคไซยานิน

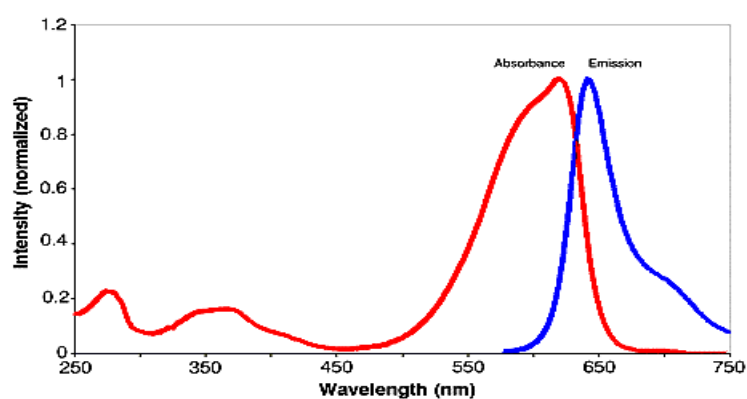
ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) เป็นไฟโคบิลิโปรตีน (Phycobilliprotein) สีน้ำเงินที่ละลายน้ำได้ สกัดได้จากสาหร่ายเกลียวทอง (Ciferri, 1983) โครงสร้างของซี-ไฟโคไซยานิน ประกอบด้วยหน่วยย่อยแอลฟา และบีตา มีน้ำหนักโมเลกุล 20500 และ 23500 KDa ตามลำดับ (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 หน่วยย่อยแอลฟาและบีตาของซี-ไฟโคไซยานิน

ที่มา: Romay *et al.* (2003)

สาหร่ายเกลียวทองมีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และมีการปลดปล่อยแสงที่ความยาวคลื่น 647 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 การดูดกลืนแสง และการปลดปล่อยแสงของซี-ไฟโคไซยานิน

ที่มา: Anonymous (2005)

การทำแห้งสาหร่ายเกลียวทอง

การทำแห้งสาหร่ายเป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่ง หากอุณหภูมิสูงเกินไปอาจทำให้คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายลดลง วิธีการทำแห้งสาหร่ายมีหลายวิธีดังนี้

1. การอบแห้งด้วยแสงแดด (Sun drying) การอบแห้งด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและเสียค่าใช้จ่ายน้อยมากแต่มีข้อเสียหลายอย่างเช่น ต้องขึ้นกับสภาพอากาศและอาจเกิดการเสียหายจากแสงแดดที่มากเกินไปหรือเกิดการเน่าเสียก่อนที่จะแห้ง การอบแห้งโดยแสงแดดมักใช้กับสาหร่ายเกลียวทองที่จะนำมาเป็นอาหารสัตว์ โดยการแผ่สาหร่ายบนแผ่นพลาสติกในถาดแล้วนำไปตากแดด ซึ่งใช้เวลาหลายวัน

2. การอบแห้งโดยพลังงานจากแสงอาทิตย์ (Solar drying) การอบแห้งด้วยวิธีนี้ทำได้โดยใช้ไม้ทำเป็นกล่องภายในทาสีดำและปิดด้วยกระจกหนา 2 มิลลิเมตร จะทำให้ได้อุณหภูมิภายในประมาณ 60-65 องศาเซลเซียส

3. การอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum drying) เป็นการอบแห้งโดยให้สาหร่ายสัมผัสกับพื้นผิวโลหะที่ร้อนโดยตรงทำให้ความชื้นในสาหร่ายระเหยไป เครื่องมือนี้ประกอบด้วยลูกกลิ้งโลหะเดี่ยวหรือคู่ ภายในกลวงและมีไอน้ำร้อนไหลวนเวียนอยู่ ลูกกลิ้งจะถูกตรึงให้หมุนรอบแกนในแนวนอนด้วยความเร็วที่สามารถปรับได้ตามต้องการ มีเครื่องป้อนสาหร่ายให้เป็นชั้นบาง ๆ บนผิวลูกกลิ้ง และมีใบมีดติดอยู่ที่ตำแหน่งหนึ่งบนลูกกลิ้งปกปิดราว 1/2-3/4 ของรอบจากจุดป้อนเพื่อคอยขูดแผ่นสาหร่ายแห้งออกจากผิวของลูกกลิ้ง จัดเป็นเครื่องทำแห้งที่มีอัตราการทำแห้งสูงมาก มักใช้อุณหภูมิสูงกว่า 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2-30 วินาที

4. การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) การอบแห้งด้วยวิธีนี้สาหร่ายเหลวจะถูกพ่นเข้าไปในกระแสมร้อนเป็นฝอยเล็ก ๆ ขนาด 10-200 ไมครอน ทำให้มีพื้นที่ผิวมากเพื่อสัมผัสกับลมร้อนสูงทำให้อัตราการทำแห้งเร็วมาก ความชื้นในสาหร่ายระเหยอย่างรวดเร็วและสาหร่ายแขวนลอยอยู่ในช่วง 1-10 วินาทีเท่านั้น จึงไม่ทำให้สาหร่ายเกิดความเสียหายเนื่องจากความร้อน และสามารถลดความชื้นในสาหร่ายให้เหลือ 5-10%

5. การอบแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze drying) เป็นการอบแห้งแบบไม่ต่อเนื่อง โดยต้องทำให้ อาหารแข็งตัวก่อน แล้วจึงทำแห้งด้วยการระเหิดที่อุณหภูมิต่ำและความดันสุญญากาศสูงพอ โดยน้ำ ในอาหารจะระเหิดเป็นไอน้ำออกไป วิธีนี้เป็นวิธีที่สามารถรักษาสภาพของสาหร่ายได้เกือบ เหมือนเดิมแต่เสียค่าใช้จ่ายสูงและเสียเวลานาน นอกจากนี้มีข้อจำกัดทางเทคนิคเมื่อต้องการผลิต จำนวนมาก จึงไม่นิยมใช้ในอุตสาหกรรม

การศึกษาโครงสร้างของอนุภาคผงแห้งของสาหร่ายสองชนิดคือ *Spirulina* sp. และ *Chorella* sp. ที่ผลิตจากการอบแห้งแบบพ่นฝอยและการอบแห้งแบบเยือกแข็ง โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด SEM (Scanning electron microscopy) พบว่า ผลึกแห้งจากการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีอนุภาคเป็นทรงกลมมีช่องว่างที่เป็นรูพรุน (Void) อยู่ภายในและที่อุณหภูมิอากาศร้อนขาเข้า 160 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการอบแห้งประมาณ 6 วินาที อนุภาคเริ่มหดตัว ถ้าเวลาที่ใช้ในการอบแห้งมากกว่า 10 วินาที อนุภาคหดตัวมากขึ้นจนกระทั่งยุบตัวไม่มีช่องว่างอยู่ภายใน นอกจากนี้ความเข้มข้นของเซลล์สาหร่ายของตัวอย่างก่อนการอบแห้ง หรือปริมาณของของแข็งในตัวอย่างก่อนการอบแห้งมีผลต่อผงอนุภาค เมื่อความเข้มข้นของเซลล์สูงจะให้ผงของอนุภาคหนา มากกว่าความเข้มข้นเซลล์ต่ำ ในการผลิตผลิตภัณฑ์สาหร่ายเกลียวทองที่มีคุณภาพสูงเช่น อาหารเสริมสุขภาพ (Health foods) สภาพวะที่เลือกให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิอากาศร้อนขาเข้า 140-150 องศาเซลเซียส อุณหภูมิอากาศขาออก 80-85 องศาเซลเซียส อุณหภูมิภายในห้องอบแห้ง 130-135 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการอบแห้ง 6-8 วินาที และความเข้มข้นของเซลล์ 10 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

Bennion (1980) ทำการศึกษาสาหร่ายเกลียวทองอบแห้งเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ ชนิดอัดเม็ดจากกระบวนการอบแห้งโดยแสงแดด และกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยมีสภาวะการอบแห้งสำหรับการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิการอบแห้ง 180 องศาเซลเซียส อัตราการระเหย (Evaporation rate) 25-30 กิโลกรัมต่อชั่วโมง สาหร่ายเกลียวทองผงแห้งที่ผลิตได้มีองค์ประกอบดังนี้คือ มีปริมาณความชื้น 10% ปริมาณเถ้า (Ash) 9% ปริมาณเยื่อใย (Crude fiber) 3% โปรตีน (Crude protein) 60% ไขมัน (Crude fat) 7% และคาร์โบไฮเดรต 12.5% สาหร่ายเกลียวทองผงที่ผลิตจากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยน้อยกว่า 44 ไมครอน สามารถผลิตเป็นแบบอัดเม็ดได้ดีกว่าสาหร่ายเกลียวทองผงที่ผลิตจากกระบวนการอบแห้งโดยแสงแดดซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นบางมีขนาดระหว่าง 50-250 ไมครอน

การสกัดและการทำบริสุทธิ์ซี-ไฟโคไซยานิน (Extraction and purification of C-Phycocyanin)

การสกัดซี-ไฟโคไซยานิน

ซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารที่อยู่ภายในเซลล์ ดังนั้นการสกัดหรือแยกสารที่อยู่ภายในเซลล์ จำเป็นต้องทำให้เซลล์แตกก่อนแล้วจึงสกัดสารภายในเซลล์นั้นออกมา Alkinson *et al.* (1987) ได้แบ่งการทำให้เซลล์แตกออกเป็น 3 วิธี คือ การใช้เอนไซม์ (Enzymatic cell disruption) วิธีทางเคมี (Chemical method) และวิธีทางฟิสิกส์ (Physical method)

การใช้เอนไซม์

เอนไซม์ส่วนใหญ่ที่ใช้ในการทำให้เซลล์แตกเร็วขึ้นได้แก่ เอนไซม์ไลโซไซม์ เอนไซม์ไกลคาเนส และเอนไซม์โปรติเอสและไลโซสเตาฟิน ซึ่งนำมาใช้กับเซลล์แบคทีเรียและผนังเซลล์ของยีสต์ เซลล์ของแบคทีเรียเมื่อทิ้งไว้สามารถเกิดกระบวนการ Autolytic disruption โดยการแตกของเซลล์จะเกิดเร็วขึ้นถ้าเติมเอนไซม์ที่เฉพาะเจาะจงลงไป การเติมเอนไซม์ไลโซไซม์ทำให้เกิดการย่อยผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ประสิทธิภาพของไลโซไซม์ขึ้นกับชนิดของแบคทีเรีย ไลโซไซม์มีประสิทธิภาพกับแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากความแตกต่างขององค์ประกอบของผนังเซลล์ วิธีนี้ไม่เหมาะต่อการนำมาใช้ในการผลิตระดับใหญ่ เนื่องจากไลโซไซม์มีราคาแพง

วิธีทางเคมี

วิธีนี้ใช้สารเคมีทำให้เซลล์แตกได้แก่ การใช้เบสซึ่งศักยภาพดีสามารถนำไปใช้ในการผลิตขนาดใหญ่ เนื่องจากต้นทุนถูกและใช้ได้กับการผลิตทุกขนาด ข้อจำกัดคือใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ที่คงตัวในช่วงที่ค่าความเป็นเบสสูง (pH 10.5-12.5) ในเวลา 1/2 - 1 ชั่วโมงขึ้นไป ตัวอย่างเช่น การผลิต L-asparaginase จาก *Erwinia* โดยทำให้เซลล์แตกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ pH 11.5 และสกัด Recombinant human growth hormone จาก *E. coli* รวมถึงใช้หลักความดันออสโมติก โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายภายนอกเซลล์อย่างรวดเร็วเป็นผลทำให้เซลล์แตก วิธีนี้มีข้อดีคือ มีการปนเปื้อนของโปรตีนอื่นภายในเซลล์น้อย เพราะโดยทั่วไปเป็นโปรตีนที่อยู่บริเวณ

Periplasmic ของเซลล์ ช่วยให้ขั้นตอนการทำให้โปรตีนที่ต้องการบริสุทธิ์ง่ายขึ้น วิธีการนี้นำไปใช้ในการผลิตระดับนำร่อง (Pilot scale)

วิธีทางฟิสิกส์

การทำให้เซลล์แตกโดยวิธีกายภาพมีหลายวิธีด้วยกัน ตัวอย่างเช่นการให้ความดันสูงแก่เซลล์และแตกออกแล้วไหลผ่านช่องขนาดเล็ก (Orifice) ออกมากระทบกับอนุภาคน้ำดำภายนอก (-20 องศาเซลเซียส) ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งช่วยให้เซลล์แตก วิธีการนี้ใช้ได้กับการผลิตขนาดเล็ก การนำไปใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ มีข้อจำกัดในเรื่องปริมาณของวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิตและการควบคุมอนุภาคน้ำดำ การแตกของเซลล์เกิดจากการบดอัดเซลล์ที่เป็นสารแขวนลอยกับลูกแก้ว (Glass Beads) ประสิทธิภาพของกระบวนการขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความเร็วในการกวน อัตราเร็วในการปั่นเซลล์ ขนาด น้ำหนัก และความหนาแน่นของเม็ด bead ความหนาแน่นของเซลล์ อนุภาคน้ำดำ และลักษณะของตัวกวน สารแขวนลอยที่มีความหนืดสูงมีปริมาณของเซลล์หนาแน่น ขนาดของ Glass Beads ที่ใช้ควรใหญ่กว่า 1 มิลลิเมตร และสารแขวนลอยที่มีความหนืดต่ำควรใช้ลูกแก้วที่มีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตร วิธีการนี้ใช้ได้กับการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ทำให้เซลล์แตกด้วยการอัดเซลล์ที่ความดันสูงให้เซลล์ไหลผ่านช่องขนาดเล็ก (Orifice) อย่างรวดเร็ว ประสิทธิภาพของวิธีการนี้ขึ้นกับ ความดันที่ใช้ ความหนาแน่นของเซลล์ อนุภาคน้ำดำ และชนิดของวาล์ว มีการใช้ French Press ในกระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องขนาดเล็ก สำหรับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่นิยมใช้ Manton Gaulin Homogenizer, Rannie Homogenizer, Bran and Luebbe Homogenizer และ Stanstead Cell Disruption ปริมาณความดันต่ำสุดที่ใช้ในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่มีค่าประมาณ 55 เมกะปาสกาล ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการทำให้เซลล์แตกลดลง ซึ่งแก้ไขได้โดยให้เซลล์ผ่าน Homogenizer หลาย ๆ ครั้ง การใช้คลื่นความถี่สูงขนาด 15-25 กิโลเฮิร์ตซ์ ผ่านทางหัว Probe ทำให้เกิด Shock Wave ที่มีผลต่อการหดและขยายตัวของเซลล์ ประสิทธิภาพของวิธีนี้ขึ้นกับความหนืดของเซลล์ ปริมาตร และเวลาที่ใช้ เป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ รวมถึงการแช่แข็งเซลล์แล้วทำให้ละลายหลาย ๆ ครั้งมีผลทำให้เซลล์แตกโดยผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ประสิทธิภาพของวิธีการนี้ขึ้นกับ จำนวนครั้งในการคืนรูปจากเยือกแข็ง ชนิดของเซลล์ อายุของเซลล์ อนุภาคน้ำดำที่ใช้ในการแช่แข็ง การทำให้เซลล์แตกโดยวิธีนี้มีการนำไปใช้ในการผลิตขนาดใหญ่

การทำบริสุทธิ์ซี-โฟลโคไซยานิน

การตกตะกอนโปรตีนโดยการเพิ่ม Ionic Strength (Salting Out) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการทำให้โปรตีนหรือเอนไซม์บริสุทธิ์ เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับโปรตีนที่มีโครงสร้างเป็นก้อนกลม (Globular Type Protein) ซึ่งมีความสามารถในการละลายต่ำในสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นสูง ยกเว้น Serum-Globulin ที่ละลายได้ดีในสารละลายเกลือความเข้มข้นต่ำ หลักการของการแยกด้วยเกลือ (Salting Out) ขึ้นกับคุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) ของโปรตีน โมเลกุลของโปรตีนในสารละลายมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำ คือ กรดอะมิโนที่เป็น Phenylalanine Tyrosine Tryptophan Leucine Isoleucine Methionine และ Valine บริเวณผิวนอกของโมเลกุลซึ่งมีแรงยึดกับสารละลาย ในกรณีนี้คือโมเลกุลของน้ำที่อยู่รอบ การรวมตัวของส่วนที่ไม่ชอบน้ำบนผิวโมเลกุลของโปรตีน เนื่องจากสารละลายมีความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้นอธิบายได้อีกทางหนึ่งคือ ครั้งแรกโมเลกุลของน้ำที่เป็นอิสระอยู่ในสารละลายจับกับประจุของเกลือที่เติมลงไป เมื่อความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้นโมเลกุลของน้ำอิสระเริ่มขาดแคลน โมเลกุลของน้ำที่จับกับส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนถูกดึงออกมา ทำให้ส่วนนี้ถูกเปิดออกและทำปฏิกิริยากับส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโมเลกุลอื่นเป็นผลให้เกิดการรวมตัวได้โมเลกุลที่ใหญ่ขึ้น โปรตีนที่มีส่วนที่ไม่ชอบน้ำขนาดใหญ่หรือจำนวนมากรวมตัวและตกตะกอนได้ก่อนโปรตีนที่มีส่วนที่ไม่ชอบน้ำขนาดเล็กหรือจำนวนน้อย ซึ่งเป็นผลให้เกิดลำดับของการตกตะกอน (Fractionation) การตกตะกอนด้วยวิธีนี้มีที่ทำที่ 4°C เพื่อลดผลเสียจากการทำลายโปรตีนของสารบางชนิด เช่น จากเอนไซม์โปรตีเอส แม้ว่า Salting Out ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนเป็นสำคัญแต่มีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการละลายของโปรตีน เช่น ความเป็นกรด-เบส ทำให้การละลายเปลี่ยนแปลงไปได้ การเคลื่อนย้ายประจุทำให้ขั้วไฟฟ้าบริเวณผิวโมเลกุลสูญเสียไป การละลายของโปรตีนในสารละลายที่มีเกลือควรมี pH อยู่ในช่วง 7 หรือมากกว่า โปรตีนมีประจุบวกมาก การรวมตัวกันของโปรตีนอาจเกิดจาก pH เข้าใกล้ค่าพีไอ (pI) ของโปรตีนนั้นๆ ตัวอย่างเช่น Glyceraldehyde Phosphate Dehydrogenase ที่มีค่า pI 8.5 เมื่ออยู่ที่ pH 6 ละลายใน 3.2 โมล แอมโมเนียมซัลเฟต $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ แต่ถ้า pH เป็น 7.5 หรือมากกว่าเกิดตะกอนหรือผลึก

คุณสมบัติของเกลือที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน

1. ลักษณะทางฟิสิกส์ของเกลือ เกลือที่มีประจุ -2 มีประสิทธิภาพดีกว่าเกลือที่มีประจุบวก ประสิทธิภาพของเกลือในการตกตะกอนเรียงลำดับตาม Hofmeister 's Series คือ $\text{SCN}^- < \text{ClO}_4^-$

$<\text{NO}_3^- < \text{Br}^- < \text{Cl}^- < \text{CH}_3\text{COO}^- < \text{SO}_4^{2-} < \text{PO}_4^{3-}$ ในสภาพที่ pH เป็นกลาง PO_4^{3-} ประกอบไปด้วย HPO_4^{2-} และ H_2PO_4^- ซึ่งมีประสิทธิภาพน้อยกว่า PO_4^{3-} สำหรับเกลือที่มีประจุเป็น +1 เช่น NH_4^+ มีประสิทธิภาพดีกว่า K^+ และ Na^+ ตามลำดับ

2. ราคา เกลือที่มีราคาไม่แพง ถูกนำมาใช้มากกว่า เช่น เกลือโซเดียม เกลือโปแตสเซียม หรือเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ฟอสเฟตและซิงก์

3. ความสามารถในการละลาย เกลือโซเดียมซิงก์ละลายได้ดีแต่ควรใช้เมื่อ pH มากกว่า 8 โดยซิงก์ไม่มีประสิทธิภาพถ้า pH น้อยกว่า 7 เกลือโซเดียมซัลเฟตไม่ละลายที่อุณหภูมิต่ำ ใช้ได้ดีที่อุณหภูมิ 30°C การละลายของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากในช่วงอุณหภูมิ $0-30^\circ\text{C}$

4. การคายความร้อนเมื่อเกลือละลาย เกลือโพแตสเซียมส่วนใหญ่ไม่เหมาะสมในการใช้งาน เพราะอาจทำให้โปรตีนเสียสภาพ หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงการละลายได้เนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้นจากการละลายของเกลือ

5. ความหนาแน่นของสารละลาย ความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นของโปรตีนที่รวมตัวกันกับสารละลายมีผลต่อการแยกตะกอนโดยการปั่นแยก ปริมาณการละลายของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิมิตัวในน้ำบริสุทธิ์ 4 โมล มีความหนาแน่นประมาณ 1.235 กรัมต่อลบ.ซม. เปรียบเทียบกับโปรตีนที่รวมตัวกันมีความหนาแน่นประมาณ 1.29 กรัมต่อลบ.ซม. ดังนั้นตะกอนที่ตกในช่วง 3-4 โมล แอมโมเนียมซัลเฟต อาจมีปัญหาในการปั่นแยก และในทางปฏิบัติความหนาแน่นที่ 75-100 % ของสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตอิมิตัวอาจมากกว่า 1.235 กรัมต่อลบ.ซม. เนื่องจากมีเกลือชนิดอื่น ๆ และสารปนเปื้อนในสารละลายโปรตีนที่ใช้ เป็นผลให้การแยกโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยการปั่นแยกยากขึ้น และการใช้โปแตสเซียมฟอสเฟต 3 โมล ที่ pH 7 ได้สารละลายมีความหนาแน่น 1.33 กรัมต่อลบ.ซม. ทำให้ปั่นแยกตะกอนไม่ได้ ดังนั้นในกรณีดังกล่าวการแยกตะกอนอาจต้องใช้ในการกรอง (Filtration) หรือการดูดซับ (Adsorption)

คุณสมบัติของเกลือดังที่กล่าวมา เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตสามารถนำมาใช้ในขั้นตอนการทำให้สารบริสุทธิ์ในระดับอุตสาหกรรมได้ และมีความเหมาะสมทางเศรษฐศาสตร์ เนื่องจากมีราคาถูก ละลายน้ำได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ และช่วยในการรักษาความคงตัวของโปรตีนที่ได้ โดยการที่มี

แอมโมเนียมซัลเฟต 2-3 ของที่ละลายปนอยู่ในตะกอนหรือผลึกของโปรตีนช่วยให้โปรตีนมีความคงตัวได้นานเป็นปี

การตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต

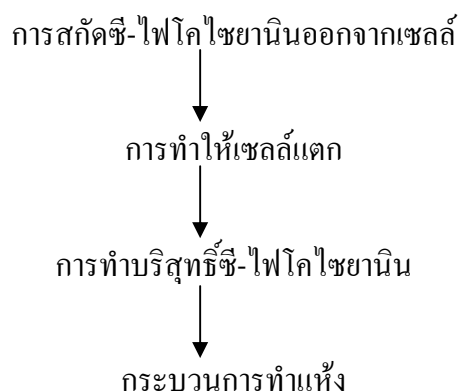
สารละลายโปรตีนที่เติมเกลือลงไปควรอยู่ในระบบที่มีการกวน ส่วนแอมโมเนียมซัลเฟตที่เป็นของแข็งซึ่งตามปริมาณที่ใช้และควรบดให้แตกก่อนเติมลงในสารละลายอย่างช้า ๆ ในตอนแรกเกลือจะละลายอย่างรวดเร็ว และช้าลงเมื่อเติมเกลือจนสารละลายมีความเข้มข้นของเกลือเพิ่มสูงขึ้น การกวนที่รุนแรงและอากาศที่ละลายอยู่ในสารละลายอาจทำให้เกิดฟองที่ผิวหน้าเป็นเหตุให้โปรตีนถูกทำลายได้ หลังจากเติมเกลือลงไปจนหมดควรกวนต่อไปอีก 10-30 นาที เพื่อให้ถึงจุดสมดุลระหว่างโปรตีนที่ละลายและโปรตีนที่รวมตัวกัน ไปปั่นแยกที่ความเร็วรอบ 100000 g ต่อนาที หรือ 10000 g ต่อ 10 นาที หรือ 3000 g ต่อ 35 นาที ถ้าเกลือที่ละลายอยู่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นควรใช้เวลาในการปั่นนานขึ้น หลังจากการปั่นแยกตะกอนแล้ววัดหาปริมาณของสารละลายส่วนใน (Supernatant) เพื่อหาปริมาณของเกลือที่จะเติมต่อไป สำหรับตะกอนที่ได้ละลายด้วยบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม ปริมาตรของบัฟเฟอร์ไม่ควรมากกว่า 1-2 เท่าของปริมาตรตะกอน บัฟเฟอร์ช่วยลดความเข้มข้นของเกลือเพื่อให้โปรตีนไม่อยู่ในรูปของตะกอน ถ้าไม่สามารถละลายตะกอนได้ทั้งหมด ส่วนที่ไม่ละลายอาจเกิดจากโปรตีนที่เสียดสภาพหรือมีการปนเปื้อนจากสิ่งอื่น ซึ่งกำจัดออกได้โดยการปั่นแยกเก็บสารละลายโปรตีนที่ได้ในรูปของโปรตีนที่มีความเข้มข้นสูงซึ่งมีแอมโมเนียมซัลเฟตอยู่เป็นจำนวนมาก การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนควรเลือกวิธีที่แอมโมเนียมซัลเฟตไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ เช่น Bradford Dye Binding Assay หรือกำจัดแอมโมเนียมซัลเฟตออกก่อนโดยการไดอะไลซิส (Dialysis) หรือ Gel Filtration บน Desalting Column การที่โปรตีนต่างชนิดตกตะกอนที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตต่างกัน การเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณที่ไม่ทำให้โปรตีนที่สนใจตกตะกอนออกมา จึงเป็นการกำจัดโปรตีนอื่น ๆ ออกก่อน หลังจากนั้นจึงเติมแอมโมเนียมซัลเฟตลงในสารละลายส่วนที่ไม่ตกตะกอน (Supernatant) ในปริมาณที่ทำให้โปรตีนที่สนใจตกตะกอนออกมา ตะกอนของโปรตีนที่ได้จากการตกตะกอนในครั้งที่ 2 นี้มีความบริสุทธิ์สูงกว่าการตกตะกอนรวมเพียงครั้งเดียว

ซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารที่ละลายน้ำได้ดี การทำให้เซลล์แตกโดยการคั้นรูปจากเยือกแข็งหลาย ๆ ครั้ง (Laousoontonsiri, 1990) และเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7 ลงไปเพื่อสกัดไฟโคไซยานินออกมา หรือใช้เอนไซม์ไลโซไซม์ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Gratten,

1989) ทำให้สกัดไฟโคไซยานินได้เร็วขึ้น การทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น French Press หรือการใช้คลื่นความถี่สูง สารละลายไฟโคไซยานินที่ได้ถูกปั่นเป็นก้อนด้วยกากเซลล์ละเอียด รงกวัตถุและโปรตีนหลายชนิด

การผลิตซี-ไฟโคไซยานิน

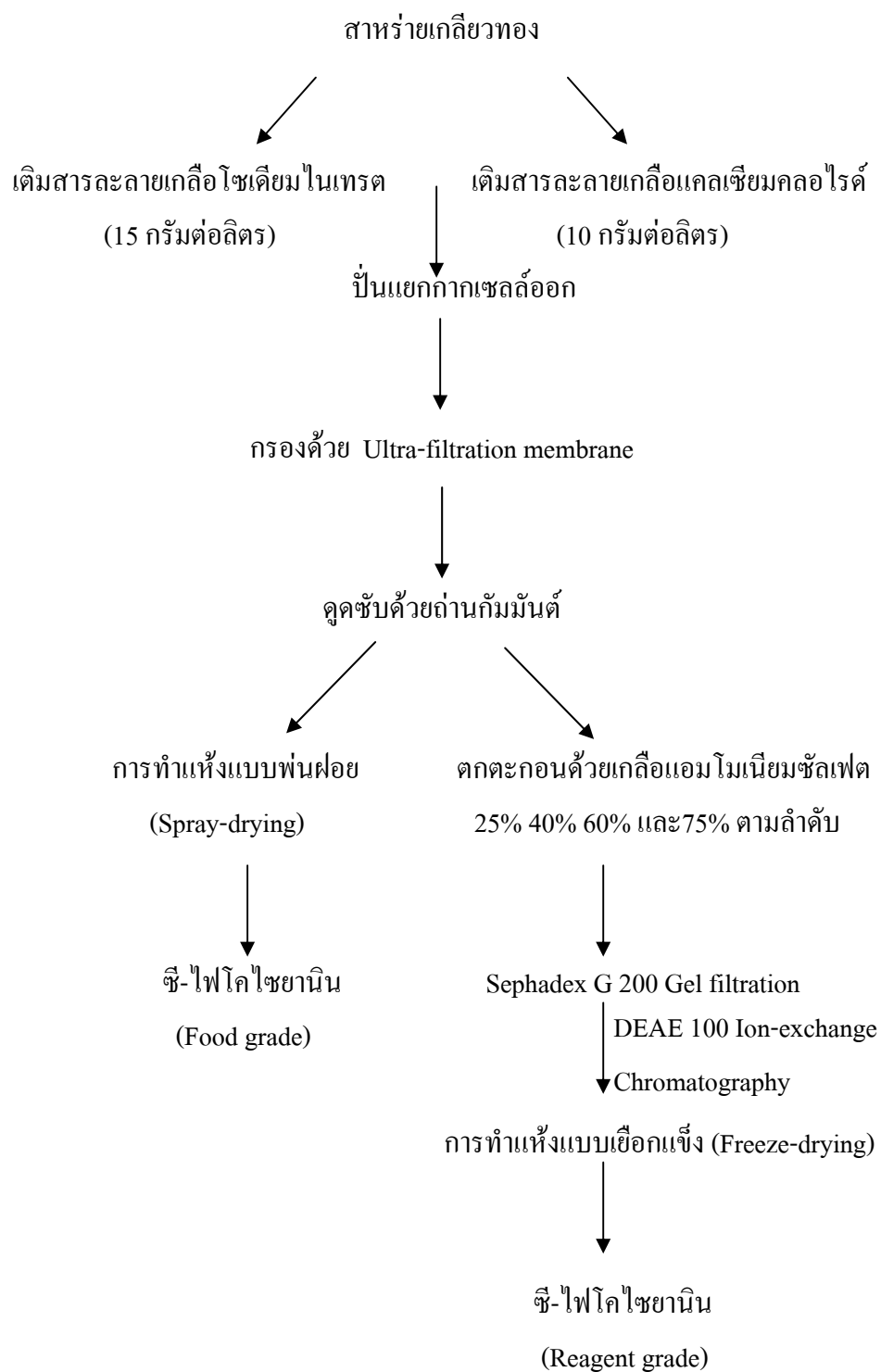
หลักการการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน (ภาพที่ 8) เริ่มต้นจากวิธีการสกัดออกจากเซลล์ โดยกระบวนการสกัดประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ เริ่มจากการทำให้เซลล์แตก สกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์และแยกส่วนกากเซลล์ที่ไม่ต้องการออก ซี-ไฟโคไซยานินที่ได้นำไปผ่านวิธีการทำให้บริสุทธิ์ เช่น การใช้เจล การดูดซับ (Adsorption) และโครมาโตกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ (Ion-Exchange Chromatography) (Padgett and Crogman, 1987) จากนั้นจึงไปผ่านกระบวนการทำให้แห้ง เช่น Freeze-Drying



ภาพที่ 8 หลักการการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Padgett and Crogman (1987)

Herrera *et al.* (1989) รายงานถึงแนวทางการผลิตไฟโคไซยานินในอุตสาหกรรมสีผสมอาหาร (Food Grade) และเกรดที่ใช้เป็นสารเคมี (Reagent Grade) (ภาพที่ 9)



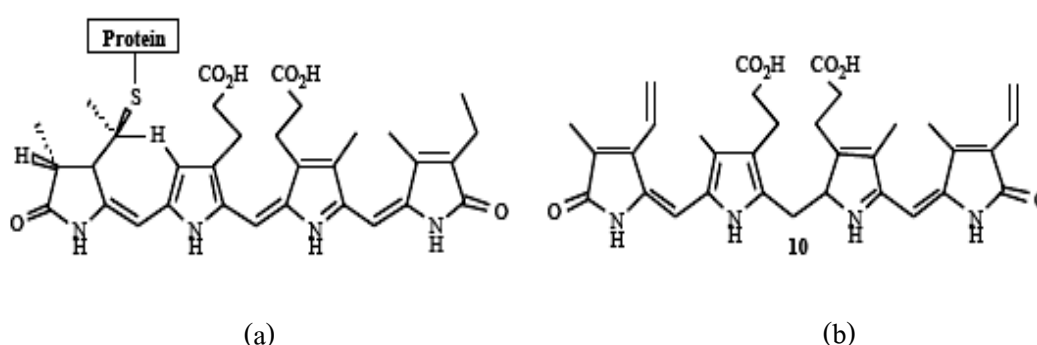
ภาพที่ 9 การผลิตซี-ไฟโคไซยานินในอุตสาหกรรมสีผสมอาหารและสารเคมี
ที่มา: คัดแปลงจาก Herrera *et al.* (1989)

สมบัติที่สำคัญซี-ไฟโคไซยานิน

1. สมบัติการต้านออกซิเดชัน (Antioxidant Capacity)

1.1 สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ Peroxyl

จากการศึกษาของ Neuzil and Stocker (1994) พบว่าโครงสร้างของ bilin chromophore ในซี-ไฟโคไซยานินมีความคล้ายคลึงกับไบลูบีน (ภาพที่ 10) Stocker *et al.* (1987) รายงานว่า ไบลูบีน มีความสามารถเป็นสารต้านออกซิเดชันชะลอการเกิดออกซิเดชันของ reactive species และสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนในพลาสมา และในส่วน aromatic ของ กรดอะมิโนได้



ภาพที่ 10 โครงสร้างทางเคมีของซี-ไฟโคไซยานิน (a) และไบลูบีน (b)

ที่มา: Romay *et al.* (2003)

Hirata *et al.* (2000) ศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของไฟโคไซยานิน (Phycocyanobilin) (องค์ประกอบของซี-ไฟโคไซยานิน) จาก *Spirulina platensis* โดยการวัดการต้านออกซิเดชันของ methyl linoleate ในระบบ hydrophobic ความเข้มข้นของ ซี-ไฟโคไซยานิน และไฟโคไซยานิน ในปฏิกิริยาเท่ากันและปรับความเข้มข้นโดยใช้ไฟโคไซยานิน เป็นหลัก ประเมินสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระหลังจากการเติม AAPH พบว่าคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ของ ซี-ไฟโคไซยานิน เหมือนกับ phycocyanobilin เมื่อตรวจสอบผลกระทบจาก กระบวนการให้ความร้อนที่มีต่อสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของซี-ไฟโคไซยานิน โดยการทดสอบซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทองสดและสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบ

พบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันของทั้ง 2 ตัวอย่าง มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน แสดงว่าซี-ไฟโคไซยานิน เป็นแหล่งของไฟโคไซยาโนบิลิน Romay *et al.* (1998) พบว่าซี-ไฟโคไซยานินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ รวมถึงซูเปอร์ออกไซด์, hydroxyl และ alkoxy radicals จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าไฟโคไซยาโนบิลิน เป็นสิ่งที่มีความสำคัญต่อสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ของ ซี-ไฟโคไซยานิน

1.2 สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ Alkoxy

วัดการต้านอนุมูลอิสระของซี-ไฟโคไซยานินต่ออนุมูลอิสระ Alkoxy และ Hydroxyl โดย Chemiluminescence Assay ซี-ไฟโคไซยานินสามารถยับยั้ง chemiluminescence ในระบบ ขึ้นกับปริมาณของซี-ไฟโคไซยานิน โดยเมื่อเปรียบเทียบกับ Trolox พบว่า 0.1 μ M ของ Trolox มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ alkoxy ได้ใกล้เคียงกับ 2 μ M ของซี-ไฟโคไซยานิน (Romay *et al.*, 1998)

1.3 สมบัติของซี-ไฟโคไซยานินต่อการยับยั้งปฏิกิริยา Lipid peroxidation

ปฏิกิริยา Lipid peroxidation ทำให้มีความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันจำนวนมากที่ side chain เป็น lipid peroxides ทำให้โครงสร้างและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงไป Manoj *et al.* (1992) ศึกษาสมบัติของ ซี-ไฟโคไซยานินต่อการยับยั้งปฏิกิริยา Lipid peroxidation โดยทดลองใช้สาร Antioxidant มาตรฐาน คือ α -tocopherol, β -carotene gallic acid chlorogenic acid และ butylated hydroxy Anisole(BHA) และพบว่า สารสกัดสาหร่ายเกลียวทองด้วยแอลกอฮอล์ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดที่ 65% มากกว่า α -tocopherol (35%), β -carotene (45%) และ BHA (48%) สารสกัดสาหร่ายเกลียวทองโดยใช้น้ำเปรียบเทียบกับ gallic acid Chlorogenic acid และBHA พบว่าซี-ไฟโคไซยานินมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดที่ 76% มากกว่า Gallic acid (54%) และchlorogenic acid (56%)

2. สมบัติการป้องกันการอักเสบ (Anti-inflammatory Capacity)

Romay *et al.* (1998) ได้ศึกษาถึงคุณสมบัติการป้องกันการอักเสบของซี-ไฟโคไซยานิน ในสัตว์ทดลอง คือ อู้ง่ายของหนู (*in vivo* model) เพื่อทดสอบการต่อต้านไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

(H_2O_2) และ hydroxyl radical โดยการฉีด glucose oxidase เข้าไปในอุ้งเท้าของหนูเพื่อให้เกิดการอักเสบ และสร้าง ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ขึ้น จากนั้นเกิด Hydroxyl radical และมีความสำคัญต่อความเสียหายของเนื้อเยื่อ และทำให้เกิดการอักเสบขึ้น และพบว่าซี-ไฟโคไซยานินสามารถต่อต้านอนุมูลอิสระ hydroxyl radical ($IC_{50} = 0.91 \text{ mg/mL}$) และalkoxyl radical ($IC_{50} = 76 \text{ mg/mL}$) โดยมีความสามารถเทียบเท่ากับ 0.125 mg/mL ของ Dimethyl sulphoxide (DMSO) และ 0.038 mg/mL

3. สมบัติการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (Anticancer Capacity)

Hanaa and El-Baky (2003) ศึกษาสมบัติของซี-ไฟโคไซยานินในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง โดยการวัดการรอดชีวิต (% of viability) ของ Ehrlich Ascites Carcinoma Cells (EACC) พบว่าเซลล์ที่ให้ซี-ไฟโคไซยานินมีการรอดชีวิตลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองเพิ่มขึ้น

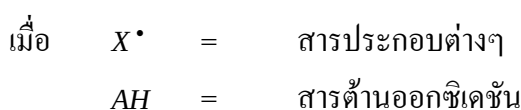
สารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) หมายถึงสารที่มีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับสารตั้งต้น (substrate) ทำหน้าที่ลด หรือยับยั้งปฏิกิริยาที่จะก่อให้เกิดออกซิเจนหรือสารเปอร์ออกไซด์ (peroxide) หรือหมายถึง สารในอาหารที่มีผลในการลด reactive oxygen species (ROS) หรือ reactive nitrogen species (RNS) ในร่างกาย (Huang *et al.*, 2005) ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical, $O_2^{\cdot-}$), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2), อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $HO^{\cdot}$), กรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous acid, $HOCl$), อนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl radical, $ROO^{\cdot}$), ซิงเกิลออกซิเจน (singlet oxygen, 1O_2) และเปอร์ออกไซด์ไนไตรท์ (peroxyl nitrite, $ONOO^{\cdot}$) (Sánchez-Moreno, 2002)

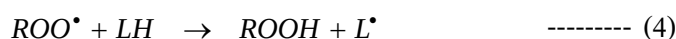
1. หลักการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชัน

1.1 วิธีการวัดการแลกเปลี่ยนอะตอมไฮโดรเจน (based on hydrogen atom transfer (HAT) reaction)

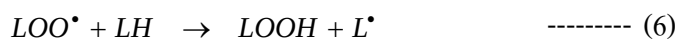
จากรายงานของ Huang *et al.* (2005) วิธีการนี้เป็นปฏิกิริยาที่เกิดการแข่งขันระหว่างสารต้านออกซิเดชัน กับสารตั้งต้นของปฏิกิริยา โดยจะมีการกระตุ้นสารประกอบอะโซ (azo compounds) ด้วยความร้อนเพื่อให้เกิดการสลายตัวกลายเป็นอนุมูลเพอร์ออกซิลเพื่อเป็นตัวแทนอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ วิธีการในกลุ่มนี้ได้แก่ oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay และ total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) assay มีกลไกดังแสดงในสมการที่ 1 ซึ่งวิธีการกลุ่มนี้จะวัดปริมาณอะตอมไฮโดรเจนที่มีการแลกเปลี่ยน โดยจะวัดการเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนต์ที่ลดลงเมื่อเกิดการออกซิเดชัน เมื่อระบบมีสารต้านออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันจะไปแย่งจับสารเรืองแสง ส่งผลให้ความเข้มสารฟลูออเรสเซนต์ลดลงด้วยความเร็วที่ช้าลง ส่วนกลไกในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันมี 4 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นเริ่มต้น (Initiation stage) ขั้นต่อเนื่อง (Propagation stage) ขั้นยับยั้ง (Inhibition stage) และขั้นสิ้นสุด (Termination stage) แสดงในสมการที่ 2-9



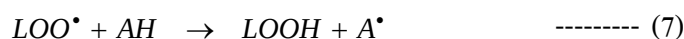
Initiation



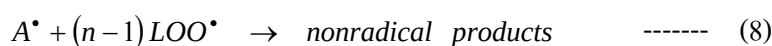
Propagation



Inhibition



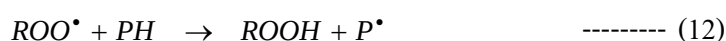
Termination





เมื่อ	R_2N_2	=	สารประกอบอะโซ (azo compound)
	$ROO^\bullet$	=	อนุมูลเพอร์ออกซิล (peroxyl radical)
	LH	=	สารตั้งต้น (substrate)
	AH	=	สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

วิธีการวิเคราะห์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ORAC และ TRAP จำเป็นต้องใช้สารตัวแทนเพื่อเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยา (probes or substrates) โดยสารต้านออกซิเดชันจะแย่งกันทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น ในระบบการทดลองจะประกอบด้วย สารกลุ่มอะโซเพื่อผลิตอนุมูลอิสระ (AAPH) probes เพื่อติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (สารฟลูออเรสซิน) และสารต้านออกซิเดชัน โดย AAPH จะถูกให้ความร้อนเพื่อสร้างอนุมูลเพอร์ออกซิล เมื่อใส่ฟลูออเรสซิน และสารต้านออกซิเดชันแล้ว จะเกิดการแย่งกันทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกซิล โดยสารต้านออกซิเดชันจะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วเมื่อสารต้านออกซิเดชันทำปฏิกิริยาจนหมดแล้วสารฟลูออเรสซินจึงเข้าทำปฏิกิริยาต่อ การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์จึงค่อยๆ ลดลง กลไกการแย่งทำปฏิกิริยาของสารต้านออกซิเดชันและฟลูออเรสซินแสดงในสมการที่ 10-13



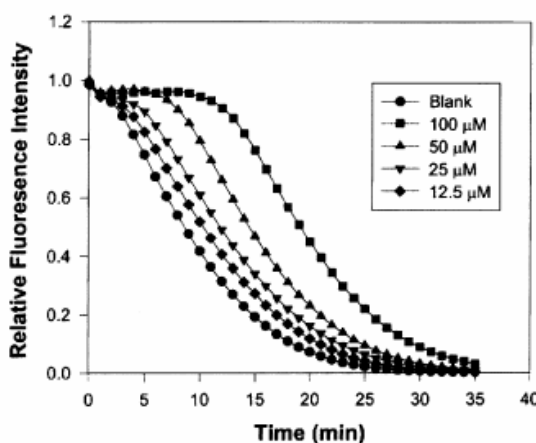
เมื่อ	PH	=	สารตัวแทนสารตั้งต้น (oxidized probes)
-------	------	---	---------------------------------------

1.1.1 Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay

Prior *et al.* (2005) ศึกษาวิธีการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยอาศัยหลักการลดลงของแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่อวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยเมื่อฟลูออเรสซินทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกซิลแล้วความเข้มของแสงจะลดลง หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันน้อยจะทำให้ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าปริมาณสารต้าน

ออกซิเดชันมาก ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์จะลดลงช้า เนื่องจากอนุมูลอิสระต้องทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันจนหมดก่อนแล้วจึงทำปฏิกิริยากับฟลูออเรสซิน วิธีนี้นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง และสามารถใช้ได้ทั้งการวัดสมบัติของสารต้านออกซิเดชันในพืชและระบบร่างกาย

วิธี ORAC นี้เป็นการรวมกันระหว่างการหาค่าเวลาในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (inhibition time) และปริมาณการยับยั้งอนุมูลอิสระ ในขณะที่วิธีการอื่นมักหาค่าเวลาในการยับยั้งเมื่อกำหนดปริมาณการยับยั้งอนุมูลอิสระ หรือหาปริมาณในการยับยั้งอนุมูลอิสระเมื่อกำหนดระยะเวลา หลักการโดยย่อของวิธี ORAC คือนำตัวอย่าง หรือตัวแทนควบคุม (control) หรือสารมาตรฐาน (standard) ผสมกับสารฟลูออเรสซิน แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ แล้วเติม AAPH เพื่อเริ่มปฏิกิริยา วัดความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 485 nm excitation/525 nm emission เป็นเวลา 35 นาทีโดยประมาณ และตั้งอุณหภูมิภายในเครื่องที่ 37 °ซ โดยในการทดลองใช้สาร Trolox (สารจำลองของวิตามินอี) ความเข้มข้น 4-5 ระดับ เป็นสารมาตรฐาน ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 11 นำผลที่ได้คำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟ (area under curve, AUC) แล้วคำนวณเป็นค่าพื้นที่ใต้กราฟสุทธิ (net AUC) นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ Trolox (Y) (μM) กับพื้นที่ใต้กราฟ (X)



ภาพที่ 11 กราฟการลดลงของความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ของตัวอย่างและสารมาตรฐาน
ที่มา: Huang *et al.* (2005)

การวัดค่าด้วยวิธี ORAC นี้ เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ดีขึ้นควรใช้ปิเปตชนิดหลายทาง (multichannel) เพื่อใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างลงในไมโครเพลตให้สั้นที่สุด ควบคู่กับ

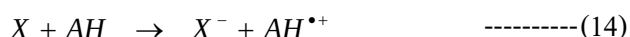
เครื่องอ่านค่าพร้อมมาตรฐาน 96 หรือ 48 หลุม นอกจากนั้นวิธีนี้ค่อนข้างไวต่ออนุมูล จึงต้องควบคุมทั้งอุณหภูมิภายในเครื่อง และอุณหภูมิของบัฟเฟอร์ที่นำมาใช้ให้อยู่ที่ 37 °ซ ก่อนนำมาละลายสาร AAPH สิ่งสำคัญอีกเรื่องหนึ่งคือในการทดลองแต่ละครั้งไม่ควรใช้เวลาเกิน 1 ชั่วโมง เนื่องจากสารหมดประสิทธิภาพ

1.1.2 total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) assay

วิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้หลักการเดียวกับวิธี ORAC คือใช้สาร AAPH ในการผลิตอนุมูลเพอร์ออกซิล ผลที่ได้เปรียบเทียบกับ Trolox และใช้สารฟลูออเรสซินเป็นสารเรืองแสงเช่นเดียวกัน แต่แตกต่างกันตรงที่ วิธี ORAC ตรวจติดตามความเข้มของแสงที่ลดลงเมื่อวัดด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์โดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟ ในขณะที่วิธี TRAP ตรวจติดตามปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้ไปในปฏิกิริยาโดยดูที่เวลาการเกิดปฏิกิริยาเป็นหลัก ผลที่ได้คำนวณออกมาเป็นค่าไมโครโมลของอนุมูลเพอร์ออกซิลที่ถูกจับไว้ต่อพลาสมา 1 ลิตร แต่วิธีการนี้มีปัญหาเนื่องจากมีจุดสิ้นสุดของปฏิกิริยา (endpoint) หลายจุด ซึ่งอาจทำให้เกิดความสับสนในการทดลองได้

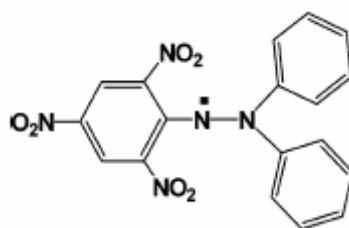
1.2 วิธีการที่วัดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนเดี่ยว (based on single electron transfer (SET) reaction)

วิธีการนี้จะวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในปฏิกิริยาการรับของตัวรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยานี้จะมีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน โดยการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านออกซิเดชัน คือถ้าสารต้านออกซิเดชันมีความเข้มข้นมากสีของสารละลายก็จะลดลงเร็วขึ้น วิธีการในกลุ่มนี้ได้แก่ total phenols assay by Folin-Ciocalteu reagent (FCR), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay, trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay และ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay มีกลไกดังแสดงในสมการที่ 14



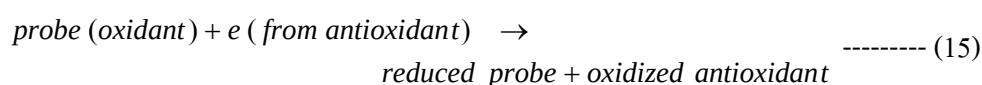
1.2.1 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay

วิธีนี้จะวัดความสามารถในการยับยั้ง 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) ดังภาพที่ 12 โดย DPPH เป็นสารอนุมูลในโตรเจนที่ค่อนข้างคงตัว โดยขณะเริ่มต้นการทดลองจะให้สารสีเข้ม เมื่อเกิดปฏิกิริยามากขึ้นสารจะมีสีซีดจางลง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ตามระยะเวลาที่กำหนด หากในระบบมีปริมาณสารต้านออกซิเดชันมาก สีของสารละลายก็จะลดลงเร็ว กลไกของการเกิดปฏิกิริยาแสดงในสมการที่ 15 ค่าที่ได้สามารถแสดงได้หลายรูปแบบ ได้แก่ แสดงเป็นร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% radical scavenging activity) ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ ร้อยละ 50 จากปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้น (IC_{50}) หรือค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antiradical efficiency, AE)



ภาพที่ 12 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH

ที่มา: Prior *et al.* (2005)

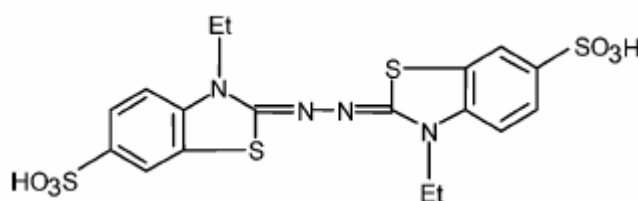


วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความแม่นยำ ใช้เวลาน้อย และใช้เครื่องมือแค่เครื่องวัดการดูดกลืนแสงเท่านั้น เหมาะสำหรับวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในน้ำผักและน้ำผลไม้ หรือในสารสกัดผักและผลไม้ แต่ไม่เหมาะสำหรับการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในพลาสมา เนื่องจากสาร DPPH ต้องละลายในเมทานอล จึงส่งผลให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน (Sánchez-Moreno, 2002) วิธีการวัดสมบัติการต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ เช่น DPPH TEAC และ FRAP จะมีความสัมพันธ์ดีมาก ($R^2 > 0.99$) กับการวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องจากกลไกในการเกิดปฏิกิริยาเป็นกลไกเดียวกัน (Huang *et al.*, 2005) แต่ในบางกรณีสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดมีที่ประสิทธิภาพดี วัดผล

ได้รวดเร็วเมื่อวัดด้วยวิธีอื่น อาจให้ผลที่ไม่ดี หรือให้ผลการยังยั้งช้าเมื่อวัดด้วยวิธีนี้ เนื่องจากเป็นวิธีการวัดกลไกที่แตกต่างกัน

1.2.2 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay หรือ ABTS assay

วิธีนี้เป็นวิธีการวัดความเข้มข้นของ Trolox ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน ต่อ 0.1 มิลลิโมลาร์ของสารตั้งต้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical cation, $\text{ABTS}^{\cdot+}$) โดยสาร ABTS (2,2-azobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)) มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 13 ซึ่งในสภาวะปกติจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 342 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นให้ผลิตอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนมาดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 414 นาโนเมตร หลักการของวิธีนี้คือวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการยับยั้งอนุมูลเพอร์ออกซิลของ ABTS วัดได้จากการลดลงของสีในสารละลาย



ภาพที่ 13 โครงสร้างทางเคมีของ ABTS

ที่มา: Prior *et al.* (2005)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สารเคมี

1.1 กรดแกลลิก (Gallic acid; $(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$; Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)

1.2 โฟลิน-ซีโอคาลเทอ (Folin-Ciocalteu Reagent; Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)

1.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate; Na_2CO_3 ; Analytical grade, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

1.4 โพแทสเซียม ได-ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (Potassium di-hydrogen Phosphate; KH_2PO_4 ; Analytical grade, Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

1.5 ได-โพแทสเซียม ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (Di-Potassium hydrogen Phosphate; K_2HPO_4 ; Ajax Finechem, Auckland, New Zealand)

1.6 2,2'-อะโซบิส (2-อะมิดีโนโพรเพน) ไฮโดรคลอริก; (2,2','-azobis-(2-amidinopropane) HCl, Aldrich, Steinheim, Germany)

1.7 2,2'-อะซิโน-บิส(3-เอทิลเบนโซไทอะโซลิน-6-ซัลโฟนิค แอซิด); (2,2','-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt): ABTS, Aldrich, Steinheim, Germany)

1.8 2,2'-ไดฟีนิล-1-ไพคริล-ไฮดราซิด; (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Aldrich, Steinheim, Germany): DPPH, Aldrich, Steinheim, Germany)

1.9 6-ไฮดรอกซี-2,5,7,8-เตตระเมทิลโครแมน-2-คาร์บอกซีลิก แอซิด; (6-Hydroxy-2,5,7-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox), Sigma-Aldrich, St. Louise, Germany)

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

1.11 เฮกเซน; (Hexane; CH_3COCH_3 ; Analytical grade, Merck, Germany)

1.12 อะซิโตน (Acetone; CH_3COCH_3 ; Analytical grade, Merck, Germany)

- 1.13 กรดอะซิติก (Acetic acid; CH_3COOH : Analytical grade, Merck, Germany)
- 1.14 แทรพโซล แรนดอมลี เมทิลเลทเทด บีตาไซโคลเดกตริน (Trappsol® Randomly Methylated Betacyclodextrin, RMCD: Technical grade, Cyclodextrin Technologies Development Inc., USA)
- 1.15 ฟลูออเรสซีน (Fluorescence sodium salt; Analytical grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)
- 1.16 อะซีโตรไนไทรล์ (Acetonitrile; HPLC grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, USA)
- 1.17 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH : Analytical grade, Merck, Germany)
- 1.18 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: Analytical grade, Merck, Germany)
- 1.19 เมทานอล (Methanol; CH_3OH : Analytical grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, USA)
- 1.10 กรดไฮโดรคลอริก 37% (Hydrochloric acid 37%; HCl : Analytical grade: Merck, Germany)
- 1.11 กรดไตรฟลูโอโรอะซิติก (Trifluoroacetic acid; $\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)
- 1.12 ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin from *Spirulina* sp., lyophilizes powder, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)
- 1.13 บีตา-แคโรทีน (β -carotene type II synthetic $\geq 95\%$ crystalline; $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$, HPLC, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)
- 1.14 โบวีน ซีรัม แอลบูมิน (Albumin from bovine serum, Sigma-Aldrich, St. Louise, USA)
- 1.15 กรดแอสคอร์บิก (L(+)-Ascorbic acid; $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, Polskie Odczynniki, Chemiczne, S.A.)

2. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 2.1 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Heto Model FD 2.5, Heto Lab Equipment A/S, Allerød, Denmark)

2.2 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (GAE Niro A/S, Denmark)

2.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Model Spectronic Geneys 10 UV Scanning (Thermo Electron Corporation, USA)

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

2.5 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Schwach, Germany)

2.6 อ่างน้ำให้ความร้อน (Memmert, Model WB 7/14/22/29/45, Schwach, Germany)

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

วิธีการ

1. ขอบเขตการทดลอง

การทดลองที่ 1: การศึกษาการทำบริสุทธิ์ซี-ไฟโคไซยานินของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

นำสาหร่ายเกลียวทองแห้งที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ มาสกัดและทำบริสุทธิ์ จากนั้นวิเคราะห์ค่าความบริสุทธิ์ (A_{620}/A_{280}) ในแต่ละขั้นตอนของการทำบริสุทธิ์

การทดลองที่ 2: การศึกษาผลของการแปรรูปต่อปริมาณรงควัตถุ (Pigments) ได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) บีตา-แคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) และปริมาณโปรตีน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

นำสาหร่ายเกลียวทองแห้งมาสกัดและทำบริสุทธิ์ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุที่สำคัญซึ่งได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานิน บีตา-แคโรทีนและคลอโรฟิลล์ รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยตรวจสอบสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC

การทดลองที่ 3: การศึกษาผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

เก็บตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยตรวจสอบสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ระหว่างการเก็บรักษา คำนวณค่าคงที่อัตราปฏิกิริยา และค่าครึ่งชีวิต

2. การเตรียมตัวอย่าง

นำสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ที่เพาะเลี้ยงในอ่างขนาดใหญ่ของโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดาผ่านผ้ากรองขนาด 350 mesh จากนั้นนำตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองสด ความชื้น 88.85% มาทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ดังนี้

2.1 การทำแห้งตามกรรมวิธีที่ใช้ในปัจจุบันของโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ได้แก่

2.1.1 อบแห้งครั้งที่ 1 (tray-dried 1) โดยการอบแห้งที่ใช้ลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง:

2.1.2 อบแห้งครั้งที่ 2: (tray-dried 2) โดยนำตัวอย่างจากการอบแห้งครั้งที่ 1 มาบดเป็นผงและอบแห้งโดยใช้ลมร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

2.2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dry) โดยเครื่อง Freeze dryer (Heto model FD 2.5, Heto Lab Equipment A/S, Allerød, Denmark)

2.3 การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dry) โดยเครื่อง Spray dryer (GAE Niro A/S, Denmark) โดยกำหนด อุณหภูมิลมเข้า 160 องศาเซลเซียส อุณหภูมิลมออก 80 องศาเซลเซียส ความดันที่ 1.8 บาร์ และอัตราการไหลของตัวอย่างเข้าเครื่อง 222 มิลลิลิตรต่อนาที

3. การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุ

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน

3.1.1 การทำบริสุทธิ์ซี-ไฟโคไซยานิน

การทำบริสุทธิ์ ซี-ไฟโคไซยานินดัดแปลงมาจากวิธีของ Anamika *et al.* (2005) โดยการนำตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้ง ปริมาณ 0.1 กรัม ละลายใน 25 มิลลิตร ของ โฟสเฟตซีเอ็มฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 100 มิลลิโมลาร์ pH 7.0 จากนั้นนำไปละลายโดยเครื่องผสมสารละลายระบบอัลตราโซนิก (Bandelin Sonorex, Model RK 52, Berlin, Germany) เป็นเวลา 60 วินาที และแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน และละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 11000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสมาตกตะกอนโดยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ 25% นำไปเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 11000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสไปตกตะกอนต่อโดยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 50% จากนั้นนำไปเหวี่ยงอีกครั้ง ส่วนตะกอนจะมีซี-ไฟโคไซยานินเป็นหลัก ละลายตะกอนที่ได้ในโฟสเฟตซีเอ็มฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 สารละลายที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปวิเคราะห์

3.1.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี (spectrophotometry)

การวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี (UV-Vis Spectrophotometer Model Spectronic Genesys 10 UV Scanning, Thermo Electron Corporation, USA) จากวิธีของ Anamika *et al.* (2005) โดยนำสารละลายซี-ไฟโคไซยานินที่ผ่านการทำบริสุทธิ์มาวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 และ 652 นาโนเมตร ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินรายงานผลเป็นซี-ไฟโคไซยานิน (กรัม / 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) คำนวณได้จากสมการ

$$\text{ซี-ไฟโคไซยานิน (กรัม / 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)} = [OD_{620} - 0.474[OD_{652}]] / 5.34 \quad \text{-----(16)}$$

3.1.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ดัดแปลงจากวิธีของ Benedetti *et al.* (2006) โดย High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Waters, Milford, MA, USA) ระบบประกอบด้วย Waters 600 pumps (Waters, Milford, MA, USA) Waters 996 UV diode-array detector และ Waters 717 plus autosampler โดยการฉีดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร โดยฉีดตัวอย่างละ 3 ครั้ง เข้าสู่คอลัมน์ชนิด C18 (Symmetry®, 4.6 mm x 250 mm) (Waters, Milford, MA, USA) โดยมีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็น 100% acetonitrile และ 20% acetonitrile ที่มี 0.1% trifluoroacetic acid เป็นส่วนผสม ด้วยอัตราการไหล (flow rate) 1 มิลลิลิตร/นาที และใช้ UV diode-array detector ตรวจวัดสารที่ความยาวคลื่น 214 นาโนเมตร ประมวลผลที่ได้โดยโปรแกรมสำเร็จรูป เทียบกับกราฟมาตรฐานของซี-ไฟโคไซยานินความเข้มข้น 50-200 ppm รายงานผลเป็น ซี-ไฟโคไซยานิน (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ดัดแปลงจากวิธีของ Vonshak (1997) โดยนำตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองจำนวน 0.1 กรัมมาละลายในเมทานอล 20 มิลลิลิตร และนำมาเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนตะกอนที่ได้มาเติมเมทานอล 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อ่างน้ำให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที นำไปเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 665 นาโนเมตร โดยเก็บส่วนตะกอนไว้ในการวิเคราะห์โปรตีนต่อไป ปริมาณคลอโรฟิลล์รายงานเป็น คลอโรฟิลล์ (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) โดยคำนวณได้จาก

$$\text{คลอโรฟิลล์ (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)} = OD_{665} \times \text{Factor} \quad \text{-----(17)}$$

หมายเหตุ: Factor สำหรับ *Spirulina* คือ 13.9 (Factor ที่ใช้ในการคำนวณได้จากค่าสัมประสิทธิ์ในการดูดกลืน (Absorption coefficient) ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย)

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีน

การวิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีน คัดแปลงจากวิธีของ Craft (2001) โดย High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Waters, Mailford, MA, USA) ระบบประกอบด้วย Waters 600 pumps (Waters, Mailford, MA, USA) Waters 996 UV diode-array detector และ Waters 717 plus auto sampler โดยฉีดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยฉีดตัวอย่างละ 3 ครั้งเข้าสู่คอลัมน์ชนิด C18 (Symmetry®, 4.6 mm x 250 mm) (Waters, Mailford, MA, USA) โดยมีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็น 90% methanol และ 10% acetonitrile ด้วยอัตราการไหล (flow rate) 1.5 มิลลิลิตร/นาที และใช้ UV diode-array detector ตรวจวัดสารที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ประมวลผลที่ได้โดยโปรแกรมสำเร็จรูป Empower 2 chromatography data software (Waters, Mailford, MA, USA) เทียบกับกราฟมาตรฐานของบีตา-แคโรทีน ความเข้มข้น 100-250 ppm รายงานผลเป็น บีตา-แคโรทีน (กรัม/ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

4. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนคัดแปลงจากวิธีของ Vonshak (1997) โดยนำตะกอนที่ได้จากการวิเคราะห์คอลโรฟิลล์ มาทำให้แห้งโดยใช้แก๊สไนโตรเจน หลังจากนั้นนำไปละลายใน 0.5 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำให้ความร้อน (Mommert, Model WB 7/14/22/29/45, Schwach, Germany) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำไปเหวี่ยงโดยเครื่องเหวี่ยงแยก (Sorvall RC 5C Plus Superspeed Centrifuge, Minnesota, USA) ที่ความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนใสไว้ และนำตะกอนไปสกัดอีกครั้งหนึ่ง หลังจากนั้นนำส่วนใสที่ได้จากการสกัด 2 ครั้งมารวมกัน นำส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร มาเติม 0.5 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายผสม (2% Na_2CO_3 , 0.5% $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ และ 1% Na-tartrate) 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นเติม Folin-Ciocalteu reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของ Bovine Serum Albumin (BSA) 50-200 ppm ปริมาณโปรตีนรายงานผลเป็น โปรตีน (กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

5. การตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชัน

5.1 การตรวจสอบสมบัติการให้อิเล็กตรอน (Reducing property)

การตรวจสอบสมบัติการให้อิเล็กตรอน (Reducing property) โดยวิธี Total Phenols assay คัดแปลงจากวิธีของ Kim and Lee (2002) โดยดูดสารสกัด 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu reagent 0.1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที เติม 7% Sodium carbonate 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร วางไว้ในที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร ทำการวัดค่าเช่นเดียวกันนี้สารสกัดละ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นสมบัติการให้อิเล็กตรอน (กรัมสมมูลของกรดแกลลิก /100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

5.2 การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (DPPH Radical Scavenging Capacity)

การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยคัดแปลงจากวิธีของ Singh *et al.* (2002) คือนำสารสกัด 0.1 มิลลิลิตร (หากต้องเจือจางให้ใช้ เมทานอล) จากนั้นเติมสารละลาย DPPH 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

5.3 การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2'-azobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (ABTS Radical Scavenging Capacity)

การตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS คัดแปลงจากวิธีของ Kim *et al.* (2002) โดยนำขวดของสารละลาย Phosphate buffer 100 มิลลิลิตร ไปวางใน water bath ที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม 1.0 มิลลิโมลาร์ AAPH และ 2.5 มิลลิโมลาร์ ABTS (27.117 มิลลิกรัม AAPH + 137.175 มิลลิกรัม ABTS)/100 มิลลิลิตร PBS= radical solution) ลงไป ให้ความร้อนอย่างน้อย 20 นาที โดยกวนทุก 5 นาที และตั้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที กรอง สารละลาย

(radical) โดย GHP Acrodisc® 25 mm Syringe Filter with 0.45 μ m GHP membrane เจือจาง สารละลายที่ได้ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จนกระทั่งได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.650 ± 0.020 นาโนเมตร บ่ม สารละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนกระทั่งวัด ผสมตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร และ radical solution 980 ไมโครลิตร และ นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตรเทียบกับกราฟมาตรฐาน ของวิตามินซีความเข้มข้น 20-100 ppm รายงานผลเป็น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (กรัม สมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

5.4 การตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC (Hydrogen atom transfer (HT) Reaction): Oxygen radical absorbance capacity Assay (ORAC Assay)

การตรวจสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันวิธี ORAC โดยดัดแปลงจากวิธีของ Prior *et al.* (2003) คือนำตัวอย่างแห้ง 0.10 กรัม ใส่ในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง เดิม เฮกเซน 10 มิลลิลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แล้วจึงแยกเอาส่วนของเฮกเซน ออกมา นำส่วนกากไปสกัดอีกครั้งตั้งแต่ขั้นตอนการเดิมเฮกเซน แล้วจึงนำส่วนเฮกเซนที่ได้ทั้ง 2 ส่วน มารวมกันได้เป็นสารสกัดส่วนที่ 1 คือส่วนที่ชอบไขมัน (lipophilic) นำส่วนกากที่ได้หลังจาก การแยกส่วนเฮกเซนออกแล้วมาระเหยด้วยแก๊สไนโตรเจน (ไนโตรเจนอุตสาหกรรม) ภายในตู้ดูด คำนวณแห้ง เดิมสารละลาย อะซิโตน/น้ำ/กรดอะซิติก (70/29.5/0.5 v/v/v) 10 มิลลิลิตร ทำให้เป็น เนื้อเดียวกันด้วย vortex mixer นาน 30 วินาที แล้วนำไปสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (sonicate) ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที โดยมีการกลับหลอดตัวอย่างเป็นครั้งคราว ทั้งไว้ที่ อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที และมีการกลับหลอดตัวอย่างเป็นครั้งคราวเช่นกัน นำไปหมุนเหวี่ยงด้วย ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แยกส่วนใสออกมาแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ได้เป็นสารสกัดส่วนที่ 2 คือส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic)

5.4.1 การวิเคราะห์สารสกัดส่วนที่ชอบไขมัน (lipophilic)

นำสารสกัดมาระเหยเฮกเซน ด้วยแก๊สไนโตรเจนออกจนแห้ง เดิมอะซิโตน 250 ไมโครลิตร และสารละลาย RMCD ร้อยละ 7 (ที่ละลายในสารละลายอะซิโตน ร้อยละ 50) ปริมาตร 750 ไมโครลิตร เขย่าจนตัวอย่างละลายหมด (หากต้องการเจือจางตัวอย่างให้เจือจางด้วย RMCD ร้อยละ 7) นำสารสกัดมา 20 ไมโครลิตร ใส่ใน well plate เดิมสารละลายฟลูออเรสซิน 200 ไมโครลิตร โดยใช้สารละลายฟลูออเรสซินที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 15 นาทีแล้ว หลังจากนั้นนำ well plate ไปใส่ในเครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ป้อนภายในเครื่องเดิม

สารละลาย AAPH (AAPH 172 มิลลิกรัม ละลายใน 10 มิลลิลิตร ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ลงในหลุมแล้วทำการอ่านค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพัทธ์ (relative fluorescence intensity) ทันที โดยมีการตั้งค่าความยาวคลื่น excitation เป็น 480 นาโนเมตร และ emission เป็น 520 นาโนเมตร ทำการอ่านค่าทุก 150 วินาที (Cycle time)

การวิเคราะห์ผลทำได้โดยหาพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัด จากสมการระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพัทธ์กับเวลา ดังแสดงในสมการที่ 18 แล้วนำไปลบออกด้วยพื้นที่ใต้กราฟของ blank แล้วจึงนำค่าไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยการสร้างกราฟมาตรฐานใช้ Trolox 6.25-50 ไมโครโมลาร์ แทนสารสกัด และการหาค่า blank ใช้ RMCD ร้อยละ 7 แทนสารสกัด ค่าที่ได้คำนวณแสดงเป็นปริมาณไมโครโมล Trolox/100 กรัม น้ำหนักแห้ง

$$AUC = (0.5 + f_3/f_4 + f_6/f_4 + f_7/f_4 + \dots + f_i/f_4) \times CT \quad \text{-----}(18)$$

เมื่อ AUC = พื้นที่ใต้กราฟ (Area Under Curve)

f_4 = ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้นโดยเริ่มอ่านที่รอบที่ 4 (initial fluorescence reading at cycle 4)

f_i = ค่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์เมื่ออ่านที่รอบที่ i (fluorescence reading at cycle i)

CT = เวลาที่ใช้ต่อรอบ มีหน่วยเป็นนาที (Cycle time)

5.4.2 การวิเคราะห์สารสกัดส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic)

นำสารสกัดมา 20 ไมโครลิตร ใส่ใน well plate เติมสารละลายฟลูออเรสซิน 200 ไมโครลิตร โดยใช้สารละลายฟลูออเรสซินที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาทีแล้วหลังจากนั้นนำ well plate ไปใส่ในเครื่องวัดการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ กำหนดให้ป้อนภายในเครื่องเติมสารละลาย AAPH (AAPH 86 มิลลิกรัม ละลายใน 10 มิลลิลิตร ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พี

เอช 7.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ลงในหลุมแล้วทำการอ่านค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์ (relative fluorescence intensity) ทันที โดยมีการตั้งค่าความยาวคลื่น excitation เป็น 480 นาโนเมตร และ emission เป็น 520 นาโนเมตร ทำการอ่านค่าทุก 160 วินาที (Cycle time)

การวิเคราะห์ผลทำได้โดยหาพื้นที่ใต้กราฟของสารสกัด จากสมการระหว่างค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์สัมพันธ์กับเวลา ดังแสดงในสมการที่ 18 แล้วนำไปลบออกด้วยพื้นที่ใต้กราฟของ blank แล้วจึงนำค่าไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยการสร้างกราฟมาตรฐานใช้ Trolox แทนสารสกัด และการหาค่า blank ใช้ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 แทนสารสกัด ค่าที่ได้คำนวณแสดงเป็นปริมาณของ ไมโครโมลTrolox/100 กรัมน้ำหนักแห้ง

6. การประเมินผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) แบบ Complete Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย LSD (Least Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์

1. ความชื้นและลักษณะของสาหร่ายเกลียวทองหลังการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองสดมีความชื้น 88.5% หลังจากผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ คือ การอบแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 การอบแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าในทุกตัวอย่างมีความชื้นลดลงในช่วง 3.29-4.22% (ตารางที่ 2) โดยตัวอย่างที่ได้จากการทำแห้งตามวิธีข้างต้นมีลักษณะสีเขียวเข้มดังแสดงในภาพที่ 14

ตารางที่ 2 ความชื้นของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองหลังการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ

ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง	ความชื้น (%)
อบแห้งครั้งที่ 1	3.80±0.02 ^a
อบแห้งครั้งที่ 2	3.29±0.04
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	4.18±0.03
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	4.22±0.03

หมายเหตุ ^aค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)



อบแห้งครั้งที่ 1



อบแห้งครั้งที่ 2



การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

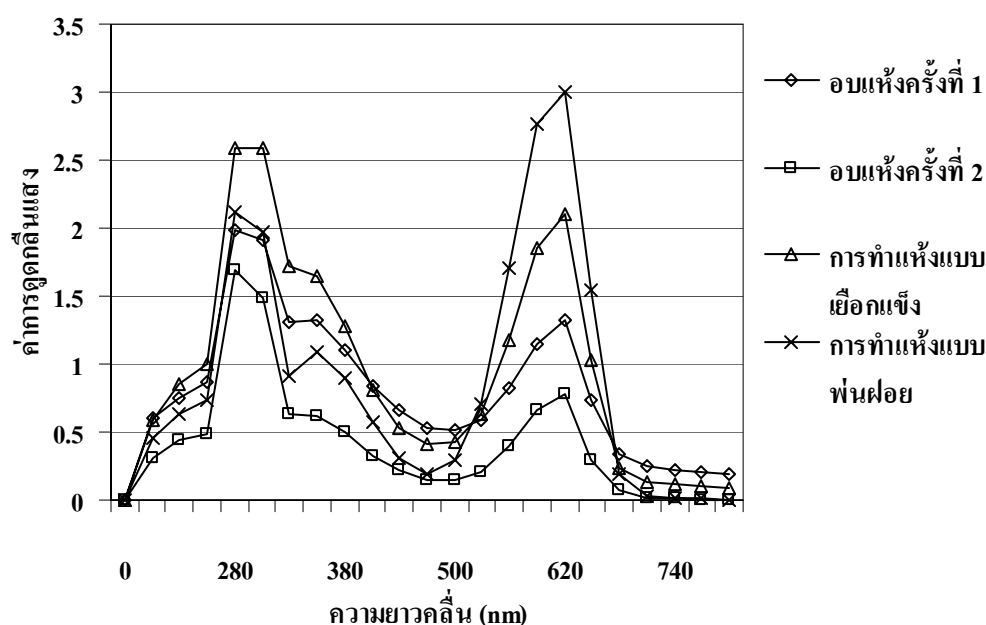


การทำแห้งแบบพ่นฝอย

ภาพที่ 14 ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

2. การทำบริสุทธิ์ซี-ไฟโคไซยานิน

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า สารสกัดซี-ไฟโคไซยานินบริสุทธิ์จากสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร และ 620 นาโนเมตร โดยสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดรองลงมา คือสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 และตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 ตามลำดับ (ภาพที่ 15) โดยค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นดังกล่าวเป็นข้อสำคัญที่จะนำไปใช้ในการหาความบริสุทธิ์ และปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (คำนวณจากสูตร) ต่อไป



ภาพที่ 15 การดูดกลืนแสงของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

จากการทดลองทำให้ซี-ไฟโคไซยานินบริสุทธิ์ของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ หลังการตกตะกอนครั้งแรกด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 25% (w/v) แล้วต่อด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 50% (w/v) พบว่าในทุกตัวอย่างมีค่าความบริสุทธิ์ (Purity ratio) เพิ่มขึ้นตามขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ (ตารางที่ 3) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง พบว่า สารสกัดสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าความบริสุทธิ์สูงสุด รองลงมาคือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 ตามลำดับ

นอกจากนี้พบว่า สารสกัดสาหร่ายเกลียวทองจากสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการแปรรูปด้วยวิธีต่าง ๆ มีค่าความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 2-5 เท่าจากสารสกัดเริ่มต้น แต่อย่างไรก็ตามค่าความบริสุทธิ์จากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 25% (w/v) แล้วต่อด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 50%(w/v) เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (0.01 เท่า) ดังนั้นการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 25% (w/v) จึงเพียงพอ

ตารางที่ 3 ค่าความบริสุทธิ์ (Purity ratio) ของซี-ไฟโคไซยานินในระหว่างกระบวนการทำบริสุทธิ์

ขั้นตอนการทำบริสุทธิ์	ค่าความบริสุทธิ์(A_{620}/A_{280})			
	อบแห้ง ครั้งที่ 1	อบแห้ง ครั้งที่ 2	การทำแห้ง แบบ เยือกแข็ง	การทำแห้ง แบบ พ่นฝอย
การสกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Crude Extract)	$0.42 \pm 0.02^{*c}$	0.13 ± 0.01^c	0.96 ± 0.05^b	1.18 ± 0.07^b
การตกตะกอนด้วยเกลือ แอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 25%	1.75 ± 0.07^b	0.66 ± 0.12^b	2.71 ± 0.09^a	3.14 ± 0.07^a
การตกตะกอนด้วยเกลือ แอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 50%	1.82 ± 0.05^a	0.71 ± 0.01^a	2.87 ± 0.04^a	3.17 ± 0.03^a

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

นอกจากนี้ค่าความบริสุทธิ์ของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทองที่ได้จากสาหร่ายเกลียวทองผ่านกระบวนการแปรรูปโดยกรรมวิธีต่าง ๆ เพิ่มขึ้นตามขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Anamika *et al.* (2005) ในปีเดียวกัน Jayant พัฒนาระบวนการทำแห้งและขั้นตอนในการสกัดซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทองโดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พบว่าจะมีค่าความบริสุทธิ์ 1.80 Zhu *et al.* (2007) ศึกษาการนำแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* มาใช้ในการสกัดซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทอง พบว่ามีค่าความบริสุทธิ์สูงสุด (1.09) เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยการใช้ไลโซไซม์ การแช่เยือกแข็งและการละลายน้ำแข็ง และการสันตะทอนด้วยคลื่นเสียง

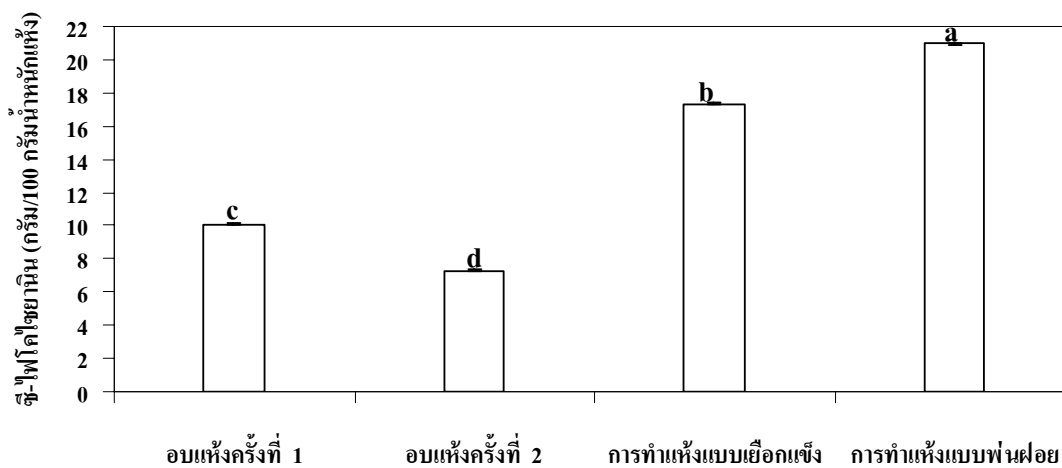
การผลิตซี-ไฟโคไซยานินในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการใช้เป็นสีผสมอาหารและบรรจุแคปซูลสำหรับการบริโภคจะมีค่าความบริสุทธิ์ประมาณ 4 ซึ่งจากการทดลองที่ได้ค่าความบริสุทธิ์ที่ได้ประมาณ 3 ดังนั้นหากต้องการค่าความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นควรนำสารสกัดไปผ่านขั้นตอนการทำบริสุทธิ์เพิ่ม เช่น การใช้โครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ (Estrada *et al.*, 2001)

3. ผลของการแปรรูปต่อปริมาณรงควัตถุ (Pigments) ได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) บีตา-แคโรทีน (β -carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ปริมาณโปรตีน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*)

3.1 รงควัตถุ (Pigments)

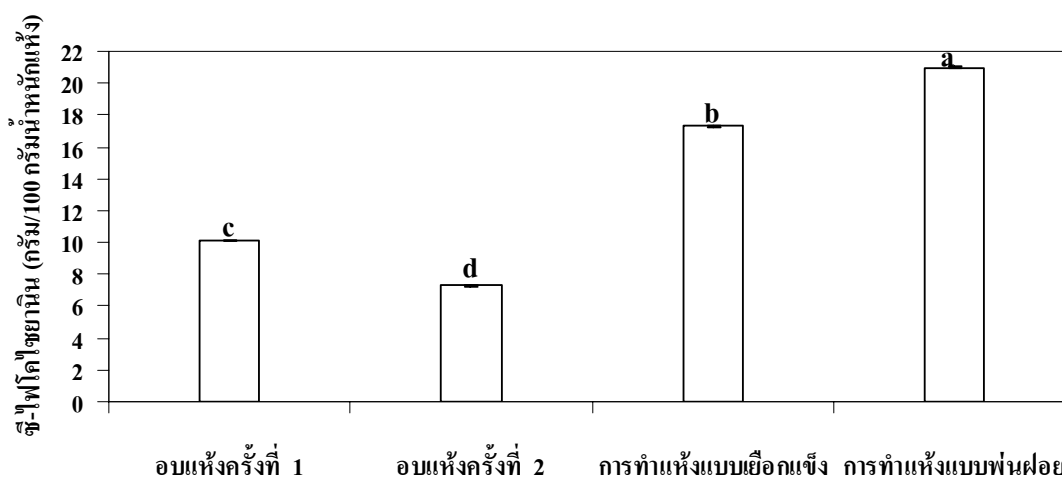
3.1.1 ซี-ไฟโคไซยานิน

ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งมีโดยวิธีต่าง ๆ วิเคราะห์โดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 16) โดยปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าสูงสุด (20.98 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมา คือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (17.33 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 (10 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 (7.31 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และการวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้ซี-ไฟโคไซยานินบริสุทธิ์เป็นสารมาตรฐาน (ภาพผนวกที่ 1) มีแนวโน้มเหมือนกับเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี โดย ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 17) โดยสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าสูงสุด (12.76 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมา คือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (11.67 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 (8.59 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 (6.99 กรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ โครมาโตแกรมของซี-ไฟโคไซยานินแสดงดังภาพผนวกที่ 2



ภาพที่ 16 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ($n=3$)



ภาพที่ 17 ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ (HPLC)

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ($n=3$)

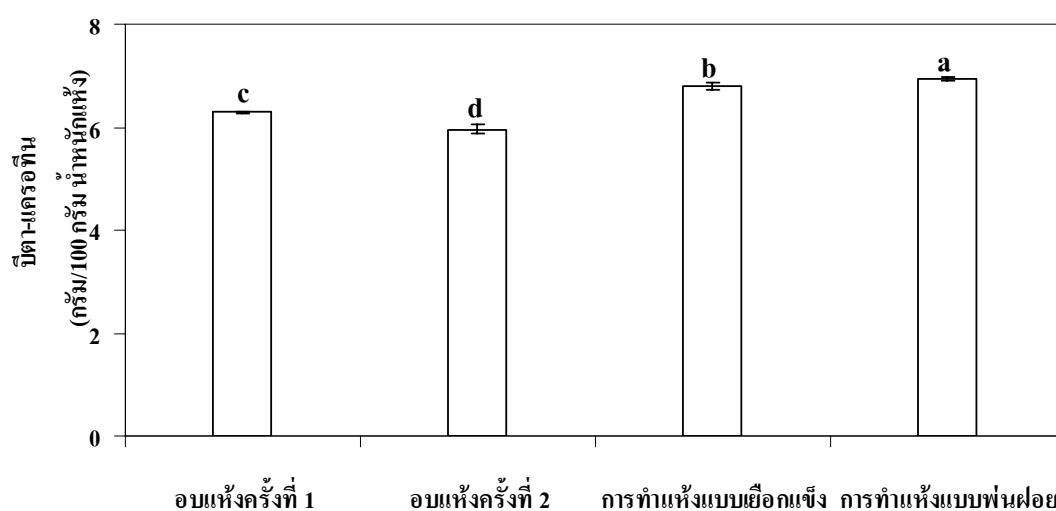
เมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี และวิธี HPLC พบว่า ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี ค่อนข้างสูงกว่าการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC อาจเนื่องมาจากค่าที่ได้จากการวัดโดยวิธี HPLC มีความถูกต้องมากกว่าค่าที่ได้จากการวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี ซึ่งเป็นค่าโดยประมาณทำให้ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสองวิธีนี้มีความแตกต่างกัน

กระบวนการแปรรูปโดยใช้ความร้อนเป็นวิธีหนึ่งที่สำคัญในการถนอมอาหารเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และยับยั้งการเสื่อมสลายอันเนื่องมาจากจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามในระหว่างกระบวนการแปรรูป อาหารสัมผัสกับความร้อนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพ (Barreiro *et al.*, 1997) ซี-ไฟโคไซยานินประกอบด้วยโปรตีนกับโครโมฟอร์ซึ่งเป็นส่วนที่ดูดกลืนแสง เมื่อโปรตีนได้รับความร้อนเป็นเวลานานเกิดการเสียสภาพ หรือถูกทำลายไป อาจมีผลต่อพันธะระหว่างโปรตีนกับโครโมฟอร์เป็นผลให้การดูดกลืนแสงที่ 620 nm เปลี่ยนแปลงไป (จิราพร, 2538) ในปี 2005 Lone *et al.* ศึกษาความคงตัวของซี-ไฟโคไซยานินต่อความร้อนและแสงในการใช้ซี-ไฟโคไซยานินเป็นสารให้สีน้ำเงินตามธรรมชาติ โดยศึกษาความคงตัวของซี-ไฟโคไซยานินที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 50 องศาเซลเซียส และ 55 องศาเซลเซียส พบว่าซี-ไฟโคไซยานินมีอัตราการสลายตัวเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยอุณหภูมิในการสลายตัวของซี-ไฟโคไซยานินอยู่ระหว่าง 50 องศาเซลเซียส และ 55 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้คือ การทำแห้งมีผลต่อปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน โดยการการทำแห้งเป็นเวลานานปริมาณของซี-ไฟโคไซยานินน้อยกว่าการทำแห้งที่ใช้เวลาน้อย ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองมีการสัมผัสความร้อนเป็นเวลานานในการอบแห้งโดยใช้ลมร้อน ส่วนการทำแห้งแบบพ่นฝอยสาหร่ายมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับลมร้อนสูงอัตราการทำแห้งจึงเร็วมาก ความชื้นในสาหร่ายระเหยอย่างรวดเร็ว ไม่ทำให้สาหร่ายเกิดความเสียหายเนื่องจากความร้อน สาหร่ายที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจึงมีปริมาณซี-ไฟโคไซยานินสูงกว่าการทำแห้งโดยวิธีอื่น ๆ

3.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีน

ปริมาณบีตา-แคโรทีน ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 18) โดยปริมาณบีตา-แคโรทีนของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีสูงสุด (6.95 กรัม บีตา-แคโรทีน/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) รองลงมา คือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (6.79 กรัม บีตา-แคโรทีน/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

รอกทิน/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 (6.29 กรัม บิตา-แคโรทีน / 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 (5.96 กรัม บิตา-แคโรทีน / 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และพบว่าจากกระบวนการอบแห้ง โดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 ไปกระบวนการอบแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 ปริมาณบิตา-แคโรทีนของ ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งลดลง 5.25% ส่วนตัวอย่างโครมาโตแกรมของบิตา-แคโรทีนแสดง ดังภาพผนวกที่ 4

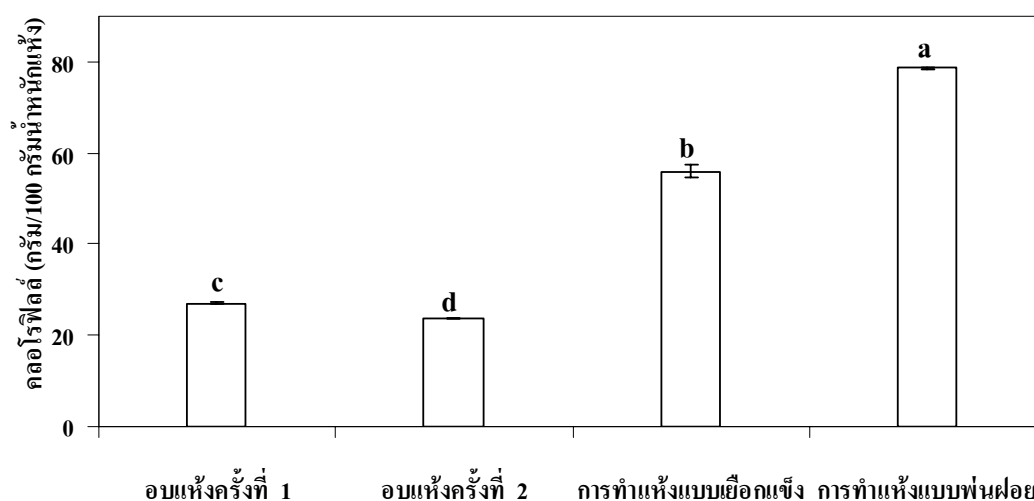


ภาพที่ 18 ปริมาณบิตา-แคโรทีนของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ
หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ($n=3$)

ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Seshadri *et al.* (1991) ซึ่งพบว่า การทำแห้งมีผลต่อการสลายตัวของบิตา-แคโรทีน เนื่องจากบิตา-แคโรทีนอยู่ที่ไทลาคอยด์ เมมเบรนใน บริเวณใกล้กับคลอโรฟิลล์โดยทำหน้าที่ดูดพลังงานแสงแล้วส่งพลังงานต่อไปให้คลอโรฟิลล์ บิตา-แคโรทีน ถูกทำลายได้เมื่อได้รับความร้อนหรือความเข้มแสงสูงเกินไป ในปี 1997 Stephen *et al.* ศึกษาผลของการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ต่อบิตา-แคโรทีนของสาหร่ายเกลียวทอง พบว่าระหว่างการทำแห้งมีการสลายตัวของบิตา-แคโรทีน โดยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง การทำแห้งแบบพ่นฝอยและการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง ทำให้บิตา-แคโรทีนสลายตัวไป 8% 11% และ 14% ตามลำดับ การทำแห้งแบบลูกกลิ้งใช้อุณหภูมิที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ จึงทำให้เกิดการสลายตัวของบิตา-แคโรทีนมากที่สุด

3.1.3 คลอโรฟิลล์

ปริมาณคลอโรฟิลล์ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห่งชนิดต่าง ๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 19) โดยปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยสูงสุด (78.68 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) รองลงมา คือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (56.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 (27.08 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 (23.82 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ตามลำดับ



ภาพที่ 19 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้ง

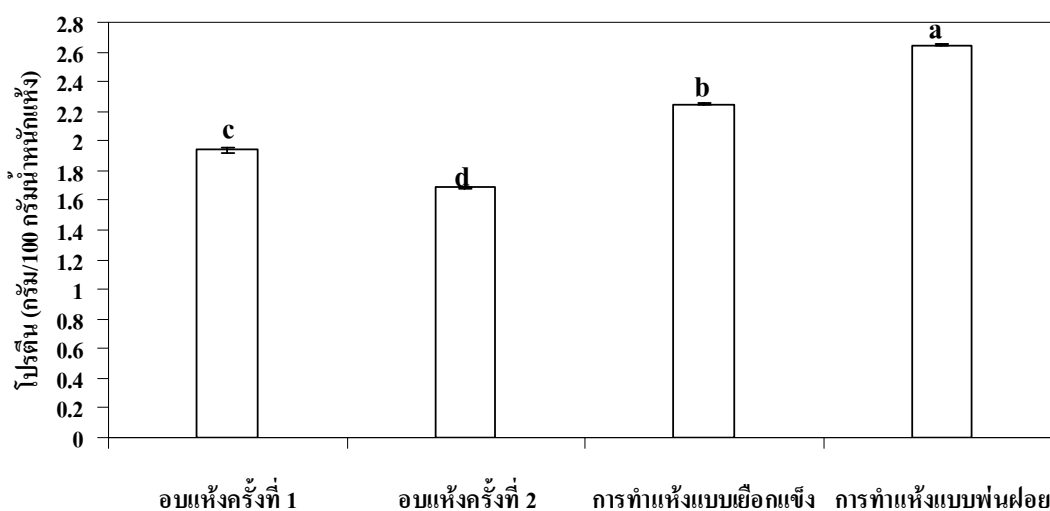
หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ($n=3$)

กระบวนการแปรรูปโดยใช้ความร้อนทำให้คลอโรฟิลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพและเคมี โดยทำให้เนื้อเยื่อของเซลล์เปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเป็นสีเขียวอมน้ำตาล เนื่องจากอะตอมของแมกนีเซียมในโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ถูกแทนที่โดยอะตอมของไฮโดรเจน คลอโรฟิลล์ในพืชชั้นสูงจะอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน (chlorophyll-protein complex) โปรตีนที่ติดอยู่กับคลอโรฟิลล์ช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ เนื่องจากกรดและเอนไซม์ได้ แต่เมื่อโปรตีนได้รับความร้อนเกิดการเสียสภาพทำให้คลอโรฟิลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอนุพันธ์ชนิดอื่น (Lajallo and Lanfer, 1982)

3.2 ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของ BSA (ภาพผนวกที่ 3) พบว่าปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งต่างวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 20) โปรตีนของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมี ปริมาณโปรตีนสูงสุด (0.53 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) รองลงมา คือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (0.45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 (0.39 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 (0.34 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ตามลำดับ

จากการทดลองพบว่าการทำแห้งมีผลต่อปริมาณโปรตีน โดยสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีปริมาณโปรตีนสูงสุด เนื่องมาจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นการทำแห้งที่ใช้อุณหภูมิสูงและเวลาสั้น จึงสูญเสียปริมาณโปรตีนไปน้อยกว่า ส่วนการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนทำให้สาหร่ายเกลียวทองได้รับอุณหภูมิสูงเป็นเวลานานทำให้โครงสร้างของโปรตีนถูกทำลาย เกิดการเสียสภาพอย่างถาวร ปริมาณโปรตีนจึงสูญเสียไปมากที่สุด



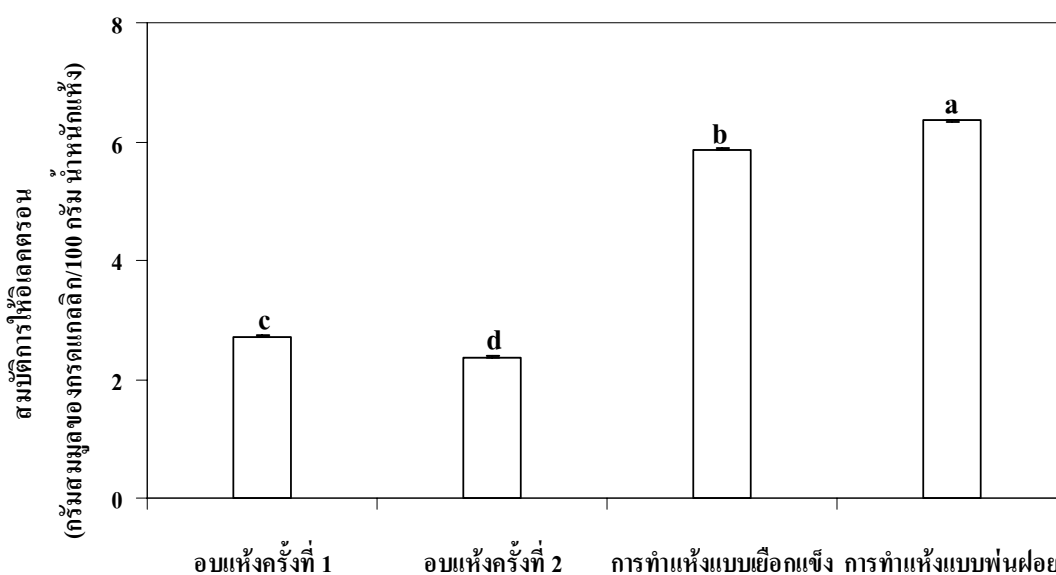
ภาพที่ 20 ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ($n=3$)

3.3 สมบัติการต้านออกซิเดชัน

3.3.1 สมบัติการให้อิเล็กตรอน (Reducing property) โดยวิธี Total Phenols Assay

จากการศึกษาสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดย Total Phenols Assay ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งโดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 21) โดยสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีสมบัติการให้อิเล็กตรอนสูงสุด (6.35 กรัมสมมูลของกรดแกลลิก /100 กรัม น้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (5.86 กรัมสมมูลของกรดแกลลิก /100 กรัม น้ำหนักแห้ง) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 (2.71 กรัมสมมูลของกรดแกลลิก /100 กรัม น้ำหนักแห้ง) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 (2.37 กรัมสมมูลของกรดแกลลิก /100 กรัม น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ

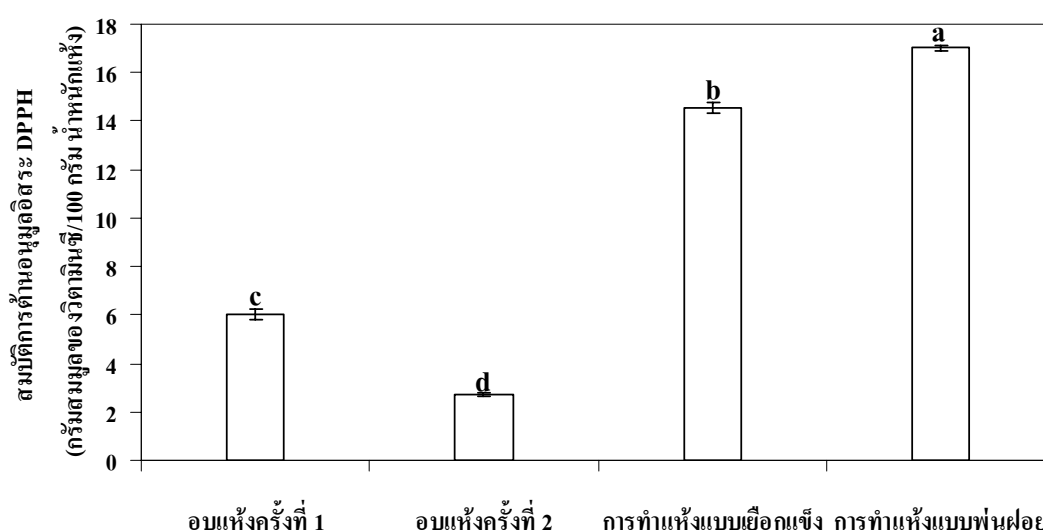


ภาพที่ 21 สมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ($n=3$)

3.3.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (DPPH Radical Scavenging Capacity)

สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งแสดงดังภาพที่ 22 ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 22) โดยสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด (17.01 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (14.55 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 (6.04 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 (2.70 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ

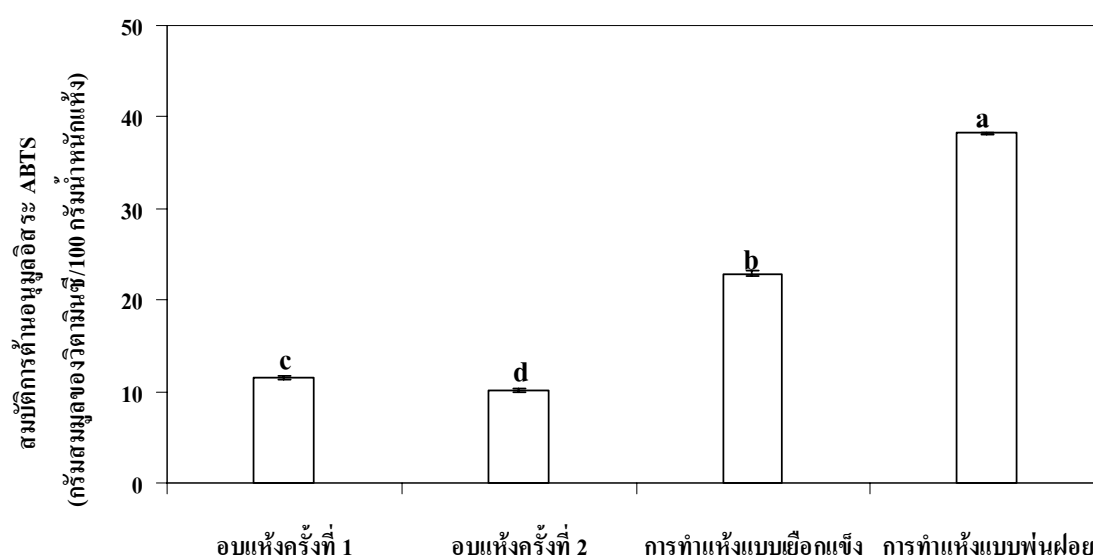


ภาพที่ 22 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ($n=3$)

3.3.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2'-azobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (ABTS Radical Scavenging Capacity)

ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้งชนิดต่าง ๆ มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 23) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงสุด (38.23 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (22.91 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 (11.52 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 (10.13 กรัมสมมูลของวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ



ภาพที่ 23 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ($n=3$)

3.3.4 สมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC (Hydrogen Atom Transfer (HT)

Reaction): Oxygen radical absorbance capacity Assay (ORAC Assay)

สมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ของสารห่วยเกลียวทองแห้งชนิดต่าง ๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4) สารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีสมบัติการต้านสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุด โดยมีสมบัติการต้านออกซิเดชันในส่วนที่ชอบน้ำ (lipophilic) 77.99% และสมบัติการต้านออกซิเดชันในส่วนที่ชอบไขมัน (hydrophilic) 20.01% ของสมบัติการต้านออกซิเดชันทั้งหมด รองลงมาคือ สารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง สารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 และสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 สมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ของตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ

ตัวอย่าง สารห่วยเกลียวทอง	H-ORAC ($\mu\text{molTE}/100\text{gDW}$)	L-ORAC ($\mu\text{molTE}/100\text{gDW}$)	Total Antioxidant Capacity ($\mu\text{molTE}/100\text{gDW}$)
อบแห้งครั้งที่ 1	135.64 $\pm$ 4.4 ^{*c}	55.47 $\pm$ 1.84 ^c	191.11 $\pm$ 6.24 ^c
อบแห้งครั้งที่ 2	122.24 $\pm$ 7.86 ^d	45.13 $\pm$ 1.62 ^d	167.37 $\pm$ 9.48 ^d
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	160.72 $\pm$ 2.12 ^b	71.92 $\pm$ 2.98 ^b	232.64 $\pm$ 5.12 ^b
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	311.34 $\pm$ 5.62 ^a	87.88 $\pm$ 2.24 ^a	399.22 $\pm$ 7.86 ^a

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Hirata (2000) ซึ่งพบว่า การแปรรูปมีผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุด อาจเกิดเนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้เป็นความร้อนเหมาะสมที่สามารถทำให้เซลล์แตกออก สารสำคัญจะถูกปลดปล่อยออกมาได้มากขึ้น สารสำคัญที่เกิดขึ้นระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย อาจเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา Maillard แสดงว่าการแปรรูปมีผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชัน

Manzocco *et al.* (2001) ในขณะที่ Antonio *et al.* (2001) ศึกษาผลของการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนต่อสาหร่ายทะเลสองชนิดคือ *Fucus* และ *Porphyra* แล้วศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนมีผลทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายทะเลลดลง

3.3.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรงควัตถุและสมบัติการต้านออกซิเดชัน

จากการทดลองพบว่า ปริมาณรงควัตถุซึ่งได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานิน บีตา-แคโรทีน และคลอโรฟิลล์ มีความสัมพันธ์กับสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยมีค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) อยู่ในช่วง 0.72-0.99 ดังแสดงในตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่ารงควัตถุของสาหร่ายเกลียวทองเป็นสารสำคัญที่ทำให้สาหร่ายเกลียวทองมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน

ตารางที่ 5 ค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างปริมาณรงควัตถุและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง

สมบัติการต้านออกซิเดชัน	ซี-ไฟโคไซยานิน (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)	ซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC)	บีตา-แคโรทีน	คลอโรฟิลล์
สมบัติการให้อิเล็กตรอน (Total Phenols Assay)	0.957	0.958	0.834	0.939
สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	0.989	0.993	0.892	0.941
สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS	0.919	0.855	0.915	0.976
สมบัติการต้านออกซิเดชัน ¹ (ORAC assay)	0.800	0.720	0.866	0.870

หมายเหตุ ¹สมบัติการต้านออกซิเดชัน หมายถึง Total Antioxidant Capacity คำนวณมาจากผลรวมของ H-ORAC และ L-ORAC

3.3.5 ความสัมพันธ์สมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธีต่าง ๆ

จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านออกซิเดชันวิธีต่าง ๆ ของตัวอย่างสารห่วยกล้วยทองที่ผ่านการทำให้แห้งโดยวิธีต่าง ๆ พบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันมีความสัมพันธ์กันโดยมีค่าสหสัมพันธ์ อยู่ในช่วง 0.67-0.98 ดังแสดงในตารางที่ 6

ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลของ Miguel *et al.* (2005) ซึ่งศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเอทานอล สารสกัด เฮกเซน สารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ และสารสกัดน้ำของสารห่วยกล้วยทอง พบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารสกัดจากสารห่วยกล้วยทองมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงโดยมีค่าสหสัมพันธ์อยู่ระหว่าง 0.80-0.99 โดยวิธี DPPH และ ABTS จะมีความสัมพันธ์ดีมาก ($R^2 > 0.99$) กับการวัดสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี total phenols เนื่องจากกลไกในการเกิดปฏิกิริยาเป็นกลไกเดียวกัน (Huang *et al.*, 2005)

ตารางที่ 6 ค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างสมบัติการต้านออกซิเดชันของตัวอย่างสารห่วยกล้วยทองแห้งที่ตรวจสอบด้วยวิธีต่าง ๆ

สมบัติการต้านออกซิเดชัน	สมบัติการให้อิเล็กตรอน (Total Phenols Assay)	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS
สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	0.979		
สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS	0.844	0.861	
สมบัติการต้านออกซิเดชัน (ORAC assay)	0.667	0.712	0.951

4. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) และสมบัติการต้านออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

4.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) โดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี และเทคนิค HPLC ในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ เก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า การลดลง (% Degradation) ของซี-ไฟโคไซยานินเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส น้อยกว่าที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการลดลงของซี-ไฟโคไซยานินในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยสูญเสียปริมาณซี-ไฟโคไซยานินน้อยกว่าตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีอื่น ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 7-8)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของซี-ไฟโคไซยานิน (%Degradation) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)

ตัวอย่างสาหร่าย เกลียวทอง	% การสลายตัวของซี-ไฟโคไซยานิน		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	4.80±0.09 ^{a2}	4.33±0.06 ^{a2}	66.63±0.63 ^{a1}
อบแห้งครั้งที่ 2	2.31±0.15 ^{b2}	1.65±0.06 ^{b3}	45.17±0.05 ^{b1}
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	0.98±0.06 ^{c2}	0.80±0.06 ^{c3}	44.20±0.04 ^{c1}
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.89±0.09 ^{c2}	0.47±0.07 ^{d2}	25.80±0.57 ^{d1}

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวเลข 1-3 ที่แตกต่างกันในแนวนอนหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การสลายตัวของซี-ไฟโคไซยานิน (%Degradation) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (HPLC)

ตัวอย่างสาหร่าย	% การสลายตัวของซี-ไฟโคไซยานิน		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
เก็บครั้งที่ 1	45.29±1.62 ^{a2}	45.92±1.63 ^{b2}	65.62±1.01 ^{b1}
เก็บครั้งที่ 2	50.79±0.85 ^{a2}	48.01±0.89 ^{a3}	67.84±0.52 ^{a1}
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	37.97±0.48 ^{c2}	36.79±0.26 ^{c3}	57.98±0.08 ^{c1}
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	31.03±0.08 ^{d2}	24.92±1.63 ^{d3}	54.14±0.14 ^{d1}

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวอักษร a-d ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวเลข 1-3 ที่แตกต่างกันในแนวนอนหมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การเปลี่ยนแปลงของซี-ไฟโคไซยานินลดลงแบบเอ็กโพเนนเชียล (exponential) เมื่อนำมาสร้างกราฟ semi-log scale จะได้เป็นเส้นตรง (ภาพที่ 24-25) และการลดลงของซี-ไฟโคไซยานินเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง โดยค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (k : first order rate constant) และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 19-21

$$[\ln[A/A_0]] = -kt \quad \text{-----(19)}$$

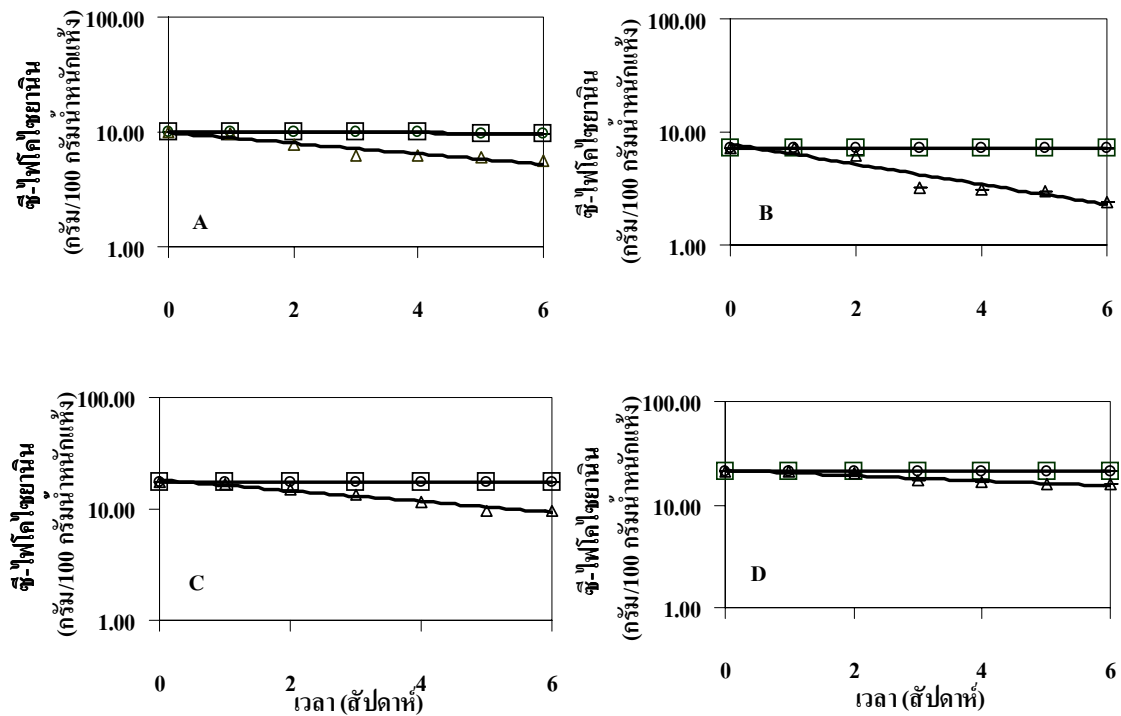
$$[A] = [A_0] e^{-kt} \quad \text{-----(20)}$$

โดย A_0 : ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินเริ่มต้น

A : ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินหลังจากเก็บรักษาไว้ t สัปดาห์เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ

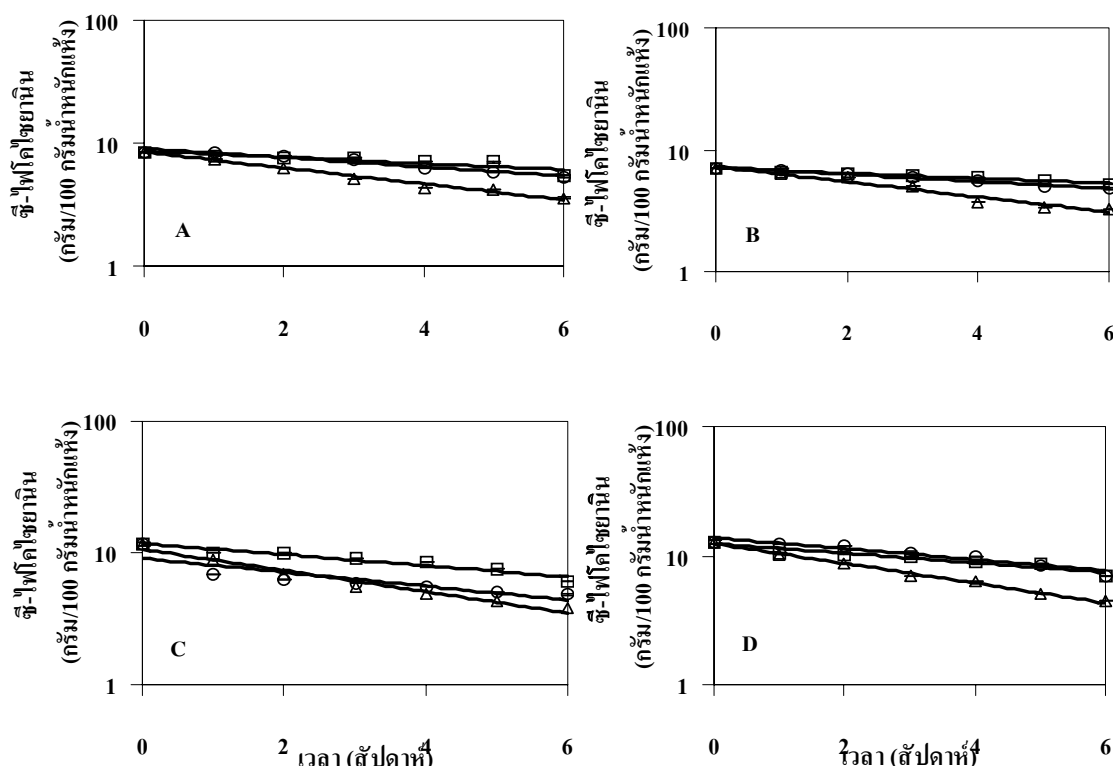
k : ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

$$t_{1/2} = -\ln 0.5 \times k^{-1} \quad \text{-----(21)}$$



ภาพที่ 24 การลดลงของปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 (A) การอบแห้งครั้งที่ 2 (B) การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (C) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (D) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (□) อุณหภูมิห้อง (○) และ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (Δ) (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)

จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงของซี-ไฟโคไซยานินในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่งสูงกว่าที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส โดยตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งน้อยกว่าตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 9-10)



ภาพที่ 25 การลดลงของปริมาณซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 (A) การอบแห้งครั้งที่ 2 (B) การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (C) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (D) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (□) อุณหภูมิห้อง (○) และ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (Δ) (HPLC)

ค่าครึ่งชีวิตของซี-ไฟโคไซยานินจากเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะต่ำที่สุด (ตารางที่ 11-12) สอดคล้องกับอัตราการสลายตัว และค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง แสดงให้เห็นว่าซี-ไฟโคไซยานินของสาหร่ายเกลียวทองชนิดต่าง ๆ สลายตัวเร็วเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองพบว่า สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าครึ่งชีวิตสูงสุด แตกต่างจากตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองชนิดอื่น ดังนั้นเพื่อรักษาปริมาณซี-ไฟโคไซยานินให้คงอยู่ ควรการเก็บรักษาสาหร่ายเกลียวทองที่อุณหภูมิต่ำ

ตารางที่ 9 ค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี)

ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (สัปดาห์ ⁻¹)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	0.008(0.925) [*]	0.008(0.932)	0.105(0.899)
อบแห้งครั้งที่ 2	0.003(0.953)	0.004(0.929)	0.204(0.894)
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	0.001(0.970)	0.002(0.969)	0.111(0.965)
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.001(0.933)	0.001(0.847)	0.058(0.930)

หมายเหตุ ^{*} ตัวเลขในวงเล็บคือค่า R²

ตารางที่ 10 ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของซี-ไฟโคไซยานิน ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (HPLC)

ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (สัปดาห์ ⁻¹)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	0.086(0.924) [*]	0.099(0.927)	0.176(0.994)
อบแห้งครั้งที่ 2	0.097(0.942)	0.126(0.938)	0.185(0.967)
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	0.059(0.782)	0.086(0.958)	0.147(0.984)
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.045(0.986)	0.057(0.963)	0.144(0.963)

หมายเหตุ ^{*} ตัวเลขในวงเล็บคือค่า R²

ตารางที่ 11 ค่าครึ่งชีวิตของซี-ไฟโคไซยานิน (C-Phycocyanin) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี)

ตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอล	ค่าครึ่งชีวิต (สัปดาห์)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	86.64	86.64	6.60
อบแห้งครั้งที่ 2	231.05	173.29	3.40
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	693.15	346.57	6.24
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	693.15	693.15	11.95

ตารางที่ 12 ค่าครึ่งชีวิตของซี-ไฟโคไซยานิน ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ (HPLC)

ตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอล	ค่าครึ่งชีวิต (สัปดาห์)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	8.06	7.00	3.94
อบแห้งครั้งที่ 2	7.15	5.50	3.75
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	11.75	8.06	4.72
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	15.40	12.16	4.81

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการสลายตัว ค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง และค่าครึ่งชีวิตของการวิเคราะห์ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินโดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี และวิธี HPLC พบว่าค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC ก่อนข้างสูงกว่าการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี อาจเนื่องมาจาก ค่าที่ได้จากการวัดโดยวิธี HPLC มีความถูกต้อง

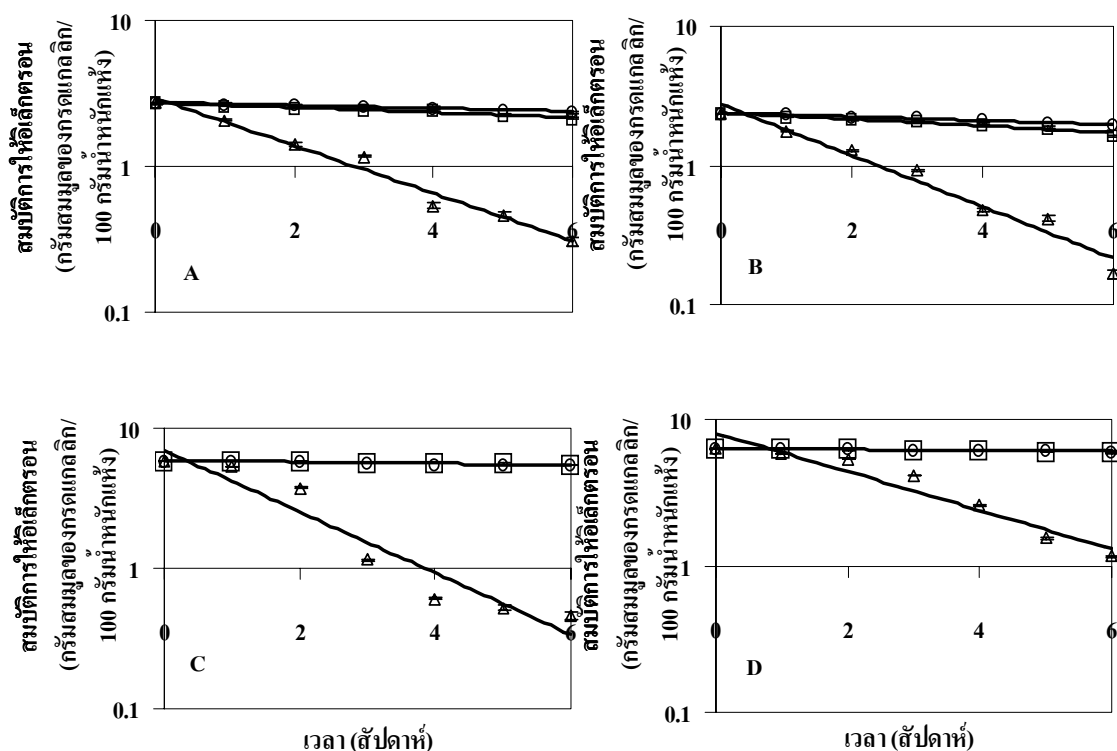
มากกว่าค่าที่ได้จากการวัดด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี ซึ่งเป็นค่าโดยประมาณ ทำให้ค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของสองวิธีนี้มีความแตกต่างกับการทดลองที่ได้

สอดคล้องกับรายงานของ Sarada *et al.* (1999) ที่พบว่า การเก็บรักษาตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ความร้อนมีผลทำให้สูญเสียซี-ไฟโคไซยานินประมาณ 50% โดยซี-ไฟโคไซยานินจะคงสภาพอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส ขณะที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส จะเสียดสภาพ

4.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

4.2.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการให้อิเล็กตรอนในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ซึ่งเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการลดลงของสมบัติการให้อิเล็กตรอน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง น้อยกว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการลดลงของสมบัติการให้อิเล็กตรอนในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย การลดลงของสมบัติการให้อิเล็กตรอนน้อยกว่าตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีอื่น ๆ โดยการลดลงของสมบัติการให้อิเล็กตรอนเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 การลดลงของสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 (A) การอบแห้งครั้งที่ 2 (B) การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (C) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (D) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (□) อุณหภูมิห้อง (○) และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (Δ)

จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงของสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง สูงกว่าที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส โดยตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งน้อยกว่าตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาระดับหนึ่งของสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองแห้ง ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทอง	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาระดับหนึ่ง (สัปดาห์ ⁻¹)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	0.038(0.956) [*]	0.023(0.972)	0.423(0.963)
อบแห้งครั้งที่ 2	0.056(0.923)	0.033(0.982)	0.503(0.923)
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	0.010(0.988)	0.012(0.980)	0.376(0.978)
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.012(0.984)	0.008(0.975)	0.304(0.931)

หมายเหตุ * ตัวเลขในวงเล็บคือค่า R²

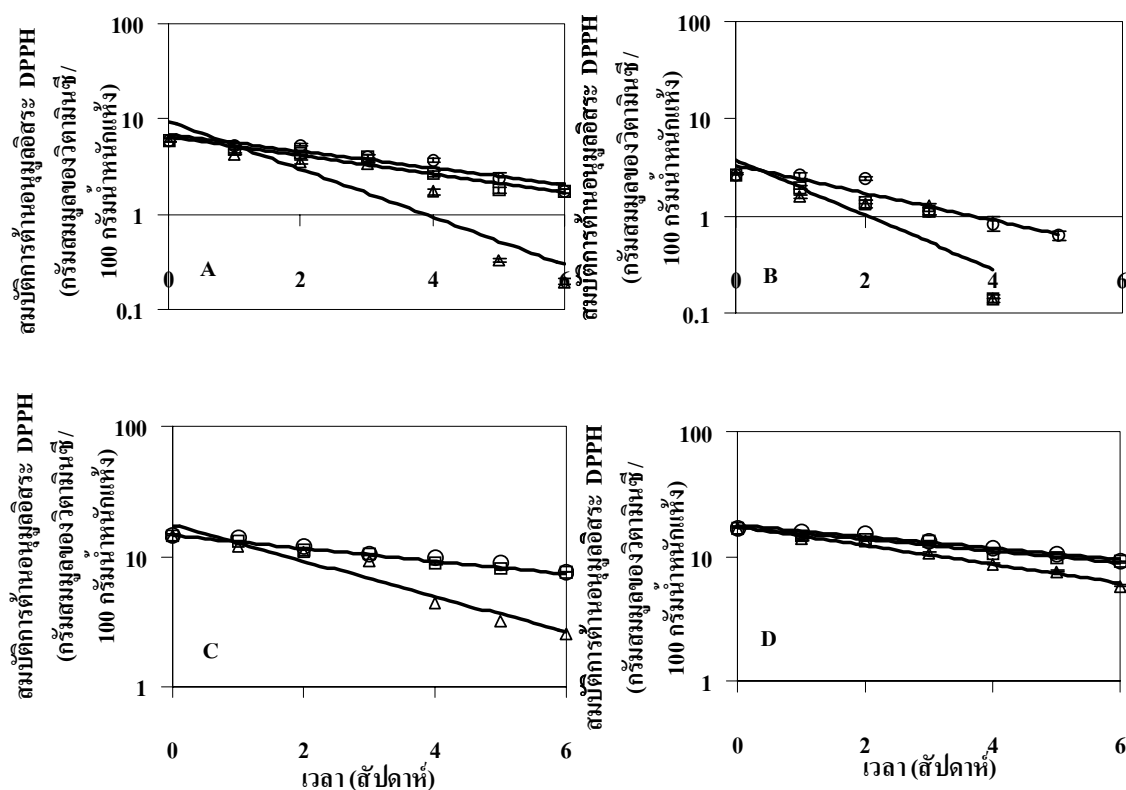
ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการให้อิเล็กตรอนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะต่ำที่สุด อยู่ระหว่าง 1.38-2.28 สัปดาห์ (ตารางที่ 14) สอดคล้องกับอัตราการสลายตัว และค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาระดับหนึ่ง แสดงให้เห็นว่าสมบัติการให้อิเล็กตรอนของสาหร่ายเกลียวทองชนิดต่าง ๆ ลดลงรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองพบว่า สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าครึ่งชีวิตสูงสุด คือ 2.28-86.64 สัปดาห์ แตกต่างจากตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองชนิดอื่น เช่น ตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 ที่มีค่าครึ่งชีวิต 1.38-21 สัปดาห์เท่านั้น

ตารางที่ 14 ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการให้อิเล็กตรอนสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองแห้ง ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่างสารห่วยเกลียวทอง	ค่าครึ่งชีวิต (สัปดาห์)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	18.24	30.14	1.64
อบแห้งครั้งที่ 2	12.38	21.00	1.38
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	69.31	57.76	1.84
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	57.76	86.64	2.28

4.2.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ซึ่งเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า การลดลง ของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง น้อยกว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย การลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH น้อยกว่าตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีอื่น ๆ โดยการลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 27 การลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารห่วยกล้วยทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 (A) การอบแห้งครั้งที่ 2 (B) การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (C) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (D) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ($\square$) อุณหภูมิห้อง ($\circ$) และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (Δ)

จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างสารห่วยกล้วยทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง สูงกว่าที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส โดยตัวอย่างสารห่วยกล้วยทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งน้อยกว่าตัวอย่างสารห่วยกล้วยทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาระดับหนึ่งของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในระหว่าง
การเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอล	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาระดับหนึ่ง (สัปดาห์ ⁻¹)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	0.222(0.946) [*]	0.201(0.908)	0.577(0.856)
อบแห้งครั้งที่ 2	0.347(0.978)	0.319(0.853)	0.612(0.725)
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	0.113(0.988)	0.107(0.979)	0.314(0.941)
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.108(0.973)	0.105(0.979)	0.173(0.981)

หมายเหตุ * ตัวเลขในวงเล็บคือค่า R²

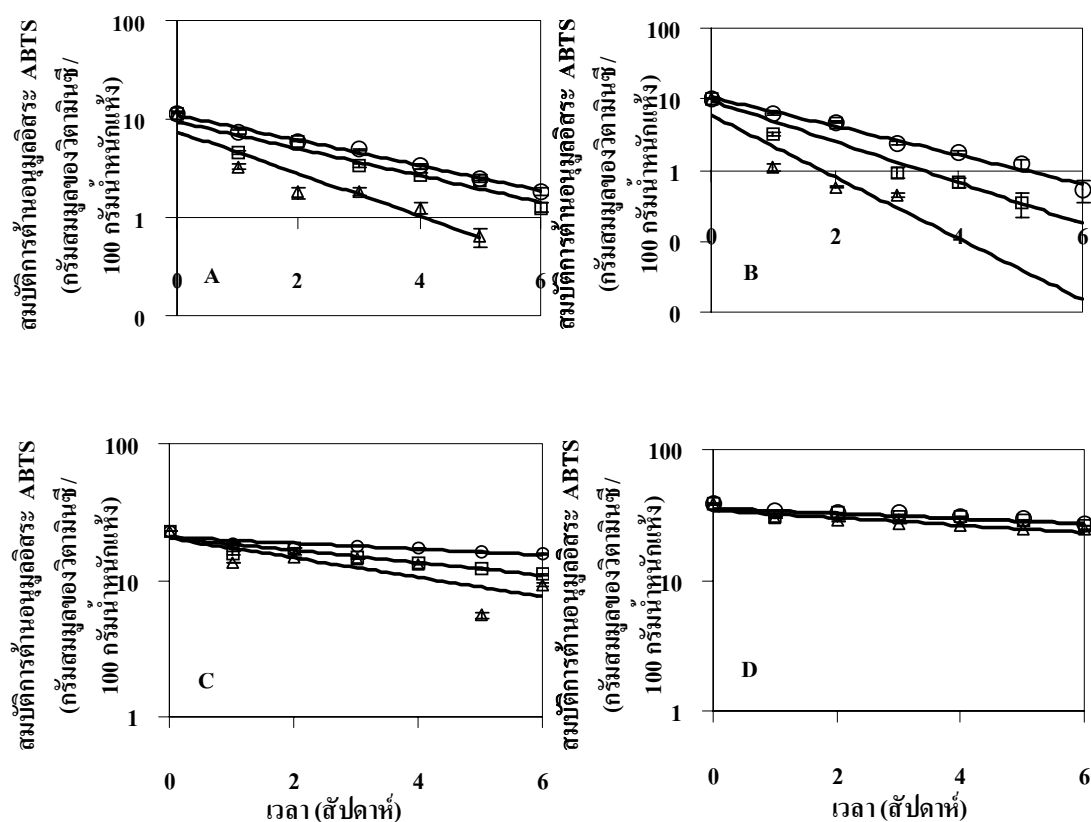
ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องสูงสุด อยู่ระหว่าง 2.17-6.60 สัปดาห์ รองลงมาคือ 4 องศาเซลเซียส 1.07-6.42 สัปดาห์ ในขณะที่ 60 องศาเซลเซียส มีค่าครึ่งชีวิตอยู่ระหว่าง 1.38-2.28 สัปดาห์ (ตารางที่ 16) แสดงให้เห็นว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารละลายกลีเซอรอลชนิดต่าง ๆ ลดลงรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอลพบว่า สารละลายกลีเซอรอลที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าครึ่งชีวิตสูงสุด คือ 4.01-6.60 สัปดาห์ แตกต่างจากตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอลชนิดอื่น

ตารางที่ 16 ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่างสารห่วยเกลียวทอง	ค่าครึ่งชีวิต (สัปดาห์)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	3.12	3.45	1.20
อบแห้งครั้งที่ 2	2.00	2.17	1.13
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	6.13	6.48	2.21
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	6.42	6.60	4.01

4.2.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ซึ่งเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า การลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง น้อยกว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย การลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS น้อยกว่าตัวอย่างสารห่วยเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีอื่น ๆ โดยการลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 28 การลดลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 (A) การอบแห้งครั้งที่ 2 (B) การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (C) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (D) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (□) อุณหภูมิห้อง (○) และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (△)

จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง สูงกว่าที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส โดยตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งน้อยกว่าตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 ค่าคงที่อัตราของปฏิกริยาอันดับหนึ่งของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในระหว่าง
การเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอล	ค่าคงที่อัตราของปฏิกริยาอันดับหนึ่ง (สัปดาห์ ⁻¹)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	0.314(0.901) [*]	0.294(0.906)	0.494(0.894)
อบแห้งครั้งที่ 2	0.663(0.918)	0.469(0.977)	0.869(0.929)
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	0.106(0.891)	0.051(0.983)	0.165(0.946)
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.047(0.965)	0.047(0.992)	0.065(0.834)

หมายเหตุ * ตัวเลขในวงเล็บคือค่า R²

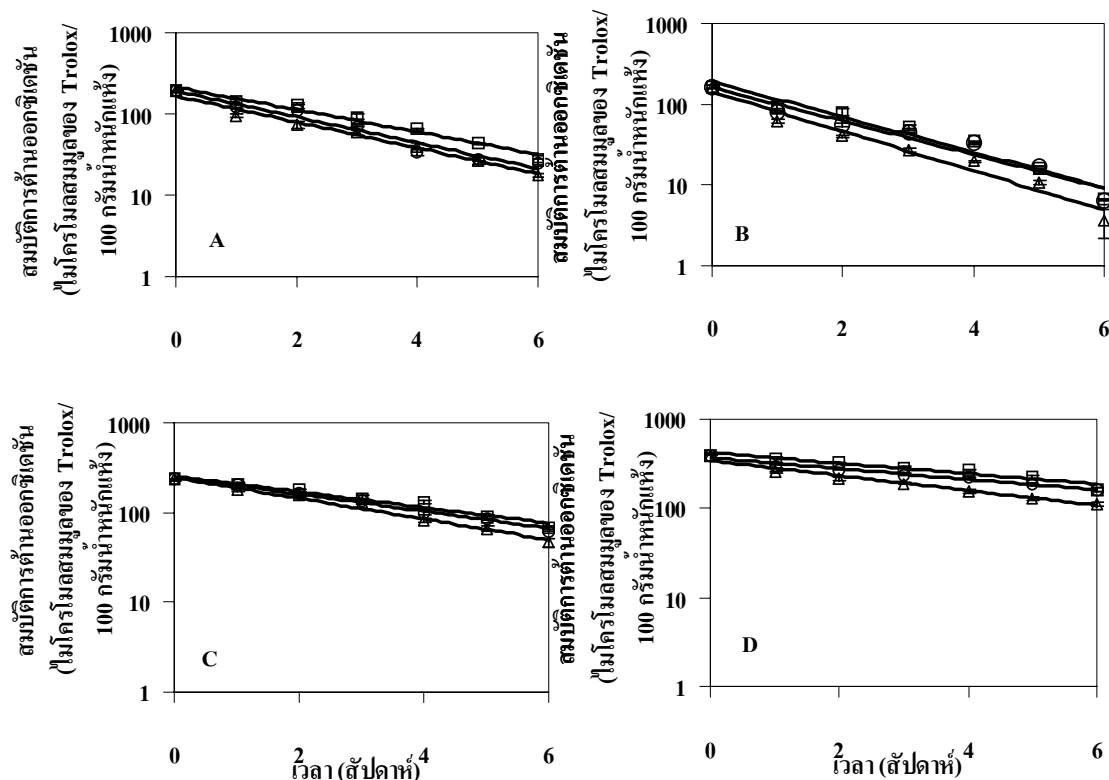
ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องสูงสุด อยู่ระหว่าง 1.48-14.75 สัปดาห์ รองลงมาคือ 4 องศาเซลเซียส 1.05-14.75 สัปดาห์ ในขณะที่ 60 องศาเซลเซียส มีค่าครึ่งชีวิตอยู่ระหว่าง 0.80-10.66 สัปดาห์ (ตารางที่ 18) แสดงให้เห็นว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารละลายกลีเซอรอลชนิดต่าง ๆ ลดลงรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอลพบว่า สารละลายกลีเซอรอลที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าครึ่งชีวิตสูงสุด คือ 10.66-14.75 สัปดาห์ แตกต่างจากตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอลชนิดอื่น

ตารางที่ 18 ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอล	ค่าครึ่งชีวิต (สัปดาห์)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	2.21	2.36	1.40
อบแห้งครั้งที่ 2	1.05	1.48	0.80
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	6.54	13.59	4.20
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	14.75	14.75	10.66

4.2.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ในตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอลที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ซึ่งเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า การลดลงของสมบัติการให้โปรตอน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง น้อยกว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการลดลงของสมบัติการให้โปรตอนในตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอลที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอลที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย การลดลงของสมบัติการให้โปรตอนน้อยกว่าตัวอย่างสารละลายกลีเซอรอลที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีอื่น ๆ โดยการลดลงของสมบัติการให้โปรตอนเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ภาพที่ 29)



ภาพที่ 29 การทดลองของสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งครั้งที่ 1 (A) การอบแห้งครั้งที่ 2 (B) การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (C) และการทำแห้งแบบพ่นฝอย (D) ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (□) อุณหภูมิห้อง (○) และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (Δ)

จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงของสมบัติการให้โปรตอนในตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง สูงกว่าที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส โดยตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งน้อยกว่าตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่างสารละลายเกลือทอง	ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (สัปดาห์ ⁻¹)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	0.316(0.972) ^a	0.366(0.956)	0.367(0.983)
อบแห้งครั้งที่ 2	0.503(0.956)	0.479(0.952)	0.563(0.964)
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	0.200(0.964)	0.219(0.989)	0.266(0.981)
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	0.134(0.932)	0.140(0.972)	0.193(0.957)

หมายเหตุ ^aตัวเลขในวงเล็บคือค่า R²

ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC เมื่อเก็บรักษาที่ 60 องศาเซลเซียส มีค่าต่ำสุด อยู่ระหว่าง 1.23-3.59 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าสมบัติการให้โปรตอนของสารละลายเกลือทองชนิดต่าง ๆ ลดลงรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสารละลายเกลือทองพบว่า สารละลายเกลือทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะมีค่าครึ่งชีวิตสูงสุด คือ 3.59-5.17 สัปดาห์ แตกต่างจากตัวอย่างสารละลายเกลือทองชนิดอื่น (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 ค่าครึ่งชีวิตของสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ในระหว่างการเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ตัวอย่างสารละลายเกลือทอง	ค่าครึ่งชีวิต (สัปดาห์)		
	4 องศาเซลเซียส	อุณหภูมิห้อง	60 องศาเซลเซียส
อบแห้งครั้งที่ 1	2.19	1.89	1.89
อบแห้งครั้งที่ 2	1.38	1.45	1.23
การทำแห้งแบบเยือกแข็ง	3.47	3.17	2.61
การทำแห้งแบบพ่นฝอย	5.17	4.95	3.59

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การแปรรูปมีผลต่อปริมาณรงควัตถุ (ซี-ไฟโคไซยานิน บีตา-แคโรทีน และคลอโรฟิลล์) โปรตีน และสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้ง โดยตัวอย่างสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีปริมาณรงควัตถุ โปรตีน และสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมา คือ สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 1 สาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการอบแห้งโดยใช้ลมร้อนครั้งที่ 2 ตามลำดับ และปริมาณรงควัตถุมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับสมบัติการต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้พบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันที่ตรวจสอบด้วยวิธีต่าง ๆ มีความสัมพันธ์กัน

ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิห้อง และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันเปลี่ยนแปลงเป็นไปตามปฏิริยาอันดับหนึ่ง โดยการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ซึ่งจะสามารถช่วยเก็บรักษาซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเกลียวทองได้ และสาหร่ายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีความคงตัวมากที่สุดในทุกอุณหภูมิของการเก็บรักษา

ข้อเสนอแนะ

การแปรรูปสาหร่ายเกลียวทองโดยการทำแห้งแบบพ่นฝอยน่าจะเป็นวิธีเป็นการแปรรูปที่เหมาะสมที่ช่วยรักษาซี-ไฟโคไซยานินและสมบัติการต้านออกซิเดชันไว้ได้ เหมาะแก่การนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารเสริม หรือนำไปใช้ประโยชน์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป ตัวอย่างเช่น นำไปใช้เป็นสีผสมอาหารในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ไอศกรีม เยลลี่ ข้าวเกรียบ รวมถึงอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ลิปสติก และอายแชโดว์ การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการที่มีประโยชน์มากในปัจจุบัน มักใช้ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้อยู่ได้นานและเก็บรักษาง่าย แต่อย่างไรก็ตามการเลือกกรรมวิธีต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ เช่น ต้นทุน พลังงาน การดูแลรักษา รวมทั้งบุคลากร นอกจากนี้ ต้องควบคุมสภาวะการเก็บรักษาด้วย

จากผลการทดลองสำหรับรายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีปริมาณรงควัตถุ และ สมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสำหรับรายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งซึ่งใช้อุณหภูมิต่ำกว่า ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไป ควรศึกษาว่ามีสารทุติยภูมิชนิดใดเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการ ทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ส่งผลให้สำหรับรายเกลียวทองที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีประสิทธิภาพ สูงสุด

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จิราพร ภูศรี. 2538. การสกัดไฟโคไซยานินจากสาหร่ายเกลียวทองเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- เจียมจิตต์ บุญสม. 2531. ความลับของสาหร่ายเกลียวทอง ผลทางการรักษาโรคที่นายแพทย์ญี่ปุ่นค้นพบ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- สมชาย บุญสม. 2539. สาหร่ายเกลียวทอง *Spirulina*. กรีนไคมอนด์, กรุงเทพฯ.
- สมบูรณ์ ผู้พัฒน์. 2538. การเพาะเลี้ยงและการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายเซลล์เดียว. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- สมศักดิ์ วรคามิน. 2547. สาหร่ายอาหารของอนาคต. สามเจริญพานิชย์, กรุงเทพฯ.
- Abeliovich, A. and M. Shilo. 1972. Photooxidative death in blue green algae. **Journal of Bacteriology**. 111: 682.
- Alkinson, T., D.S. Michael and M.P. Hammond. 1987. **Biotechnology: Enzyme Technology**. VCH, Weinheim.
- Anamika, P., M. Sandhya, P. Richa and P.K. Ghosh. 2005. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and fresh water habitat. **Protein Expression and Purification**. 40: 248-255.
- Anonymous. 2005. **C-Phycocyanin**. Prozyme Inc.. Available Source: <http://www.prozyme.com/catalog/phycobil.htm#cphycocyanin>, October 3, 2005.

- Antonio, J.E., J.J. Isabel, P. Raquel and S.C. Fulgencio. 2001. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 81: 530-534.
- Barreiro, J.A., M. Milano and A.J. Sandoval. 1997. Kinetics of colour change of double concentrated tomato paste during thermal treatment. **Journal of Food Engineering**. 33: 359-371.
- Belay, A. 2002. The Potential Application of *Spirulina* (Arthrospira) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. **Journal of American Nutraceutical Associations**. 5: 27-48.
- Benedetti, S., S. Rinalducci, F. Benvenuti, S. Francogli, S. Pagliarani, L. Giorgi, M. Micheloni, G.M. D'Amici, L. Zolla and F. Canestrari. 2006. Purification and characterization of phycocyanin from blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*. **Journal of Chromatography B**. 833: 12-18.
- Bennion, M. 1980. **The Science of Food**. AVI Publishing, New York.
- Berton, G.W. and K.U. Ingold. 1984. Beta carotene: An unusual type of lipid antioxidant. **Science**. 224: 559-573.
- Carlson, R.E. and J. Simpson. 1996. **A coordinator's guide to volunteer lake monitoring methods**. Chlorophyll analysis. Available Source: <http://dpin.kent.edu/chlorophyll>, October 4, 2007.
- Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. **Microbiological Reviews**. 47: 551.
- Craft, N.E. 2001. Chromatographic techniques for carotenoid separation. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. R.E. Wrolstad. New York, Wiley: F2.3.1-I2.3.15.

- Estrada, J.E.P. 2001. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **IL FARMACO**. 56: 497-500.
- Grattan, R.P. 1989. *Spirulina*: A source of dietary gamma-linolenic acid. **Journal of Science of Food and Agriculture**. 47: 85-93.
- Hanaa, H. and El-Baky. 2003. Overproduction of phycocyanin pigment in blue green algae *Spirulina* sp. and its inhibitory effect on growth of Ehrlich Ascites carcinoma cells. **Journal of Medical Sciences**. 34: 314-324.
- Healey, F.P. 1982. **The Biology of Cyanobacteria**. Blackwell Scientific, Oxford.
- Herrera, A., S. Boussiba, V. Napoleone and A. Hohlberg. 1989. Recovery of C-Phycocyanin from the cyanobacterium *Spirulina maxima*. **Journal of Applied Phycology**. 1: 325-331.
- Hirata, T., M. Tanaka, M. Ooike, T. Tsunomura and M. Sakaguchi. 2000. Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**. 12: 435-439.
- Huang, D., B. Ou and R. L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53: 1841-1856.
- Jayant, M.D.Jr. 2005. An improved and efficient method for the extraction of Phycocyanin from *Spirulina* sp.. **International Journal of Food Engineering**. 5 (1): 76-81.
- Kim, D.O. and C.Y. Lee. 2002. Extraction and isolation of polyphenolics. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. R.E. Wrolstad. New York, Wiley: I1.2.1-I1.2.12.

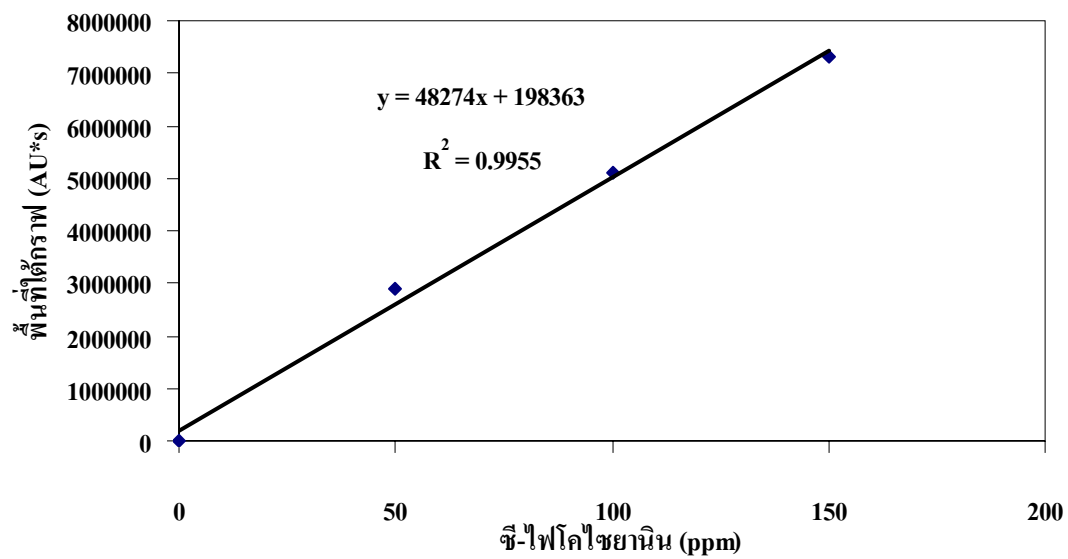
- Kim, D.O., K.W. Lee, H.J. Lee and C.Y. Lee. 2002. Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50: 3713-3717.
- Kok, B. 1953. **Experiments on Photosynthesis by Chlorella in Flashing Light, in Algal culture: From Laboratory to Pilot Plant**. The Cargenio Institution, Washington D.C..
- Lajollo, F.M. and M.U.M. Lanfer. 1982. Degradation in spinach system at low and intermediate water activity. **Journal of Food Science**. 47: 1365-2621.
- Laousoontonsiri, L. 1990. **Purification and Characterization of Fluorescent Probe from Blue-Green Algae**. Master of Science, Biochemistry Thesis, Mahidol University.
- Lee, Y.K. and S.J. Prit. 1984. Co, absorption rate in an algalculture: Effect of pH. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** 34: 28-32.
- Lone, J., D.S. Lene, O. Karsten and H.S. Leif. 2005. Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. **Europe Food Research Technology**. 220: 261-266.
- Mac, M. 1981. **Introduction to Organic Chemistry**. Streitweiser and Heathcock, New York.
- Manoj, G., LV. Venkataraman and L. Srinivas. 1992. Antioxidant properties of *Spirulina* (*Spirulina platensis*), pp. 148-154. In C.V. Seshadri and N. Jeeji Bai, eds. **Spirulina Etta National Symposium**. MCRC, India.
- Manzocco, L.S., S. Calligaris, D. Mastrocola, M.C. Nicoli and C.R. Lerici. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends in Food Science and Technology**. 11: 340-346.

- Mc Combie, A.M. 1960. Actions and Interactions of Temperature, Light Intensity and Nutrient Concentration on the Growth of the Green Algae, *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard. **Journal of Fisheries Research**. 17: 871.
- Merrett, M.J. and T.L. Armitage. 1982. The Effect of Oxygen Concentration on Photosynthetic Biomass Production by Algae. **Planta**. 155: 95.
- Miguel, H., P.J. Martin-Alvarez, F.J. Senorans, A. Cifuentes and E. Ibanez. 2005. Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalgae. **Food Chemistry**. 93: 417-423.
- Neuzil, J. and R. Stocker. 1994. Free and albumin-bound Bilirubin are efficient co-antioxidants for α -tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoproteins lipid peroxidation. **Journal of Biological Chemistry**. 24: 16712-16719.
- Padgett, M.P. and D.W. Krogman. 1987. Large scale preparation of pure phycobiliprotein. **Photosynthesis Research**. 11: 225-235.
- Prior, R.L., H. Hoang, L. Gu, X. Wu, M. Bacchiocca, L. Howard, M. Hampsch-woodill, D. Huang, B. Ou and R. Jacob. 2003. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC_{FL})) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51: 3273-3279.
- Prior, R. L., X. Wu and K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplement. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53: 4290-4302.
- Richmond, A. 1986. **Handbook of Microalgal Mass Culture**. CRC Press, Florida.

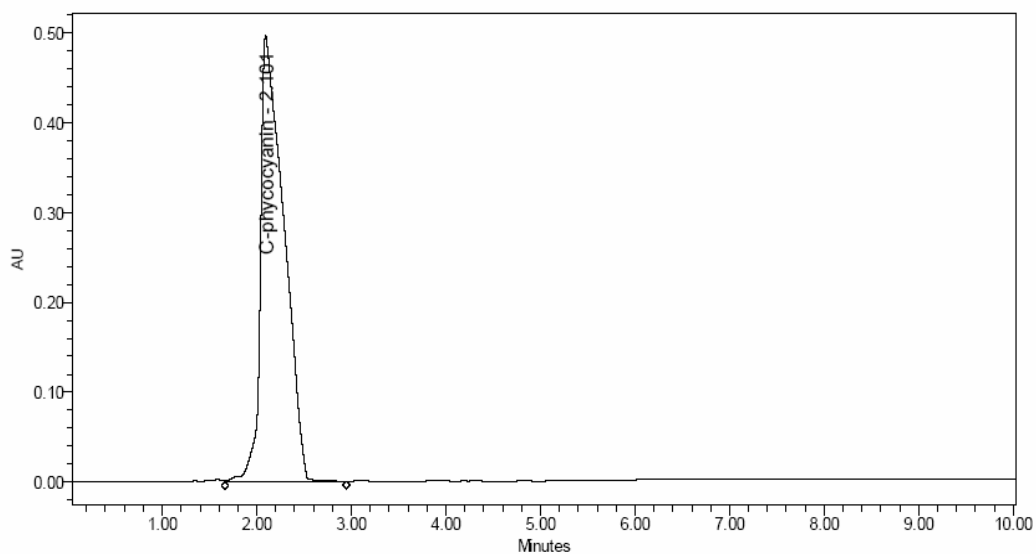
- Richmond, A. and J.U. Grobbelaar. 1986. Factors Affecting the Output rate of *Spirulina platensis*. **Mass Cultivation Biomass**. 10: 253-264.
- Romay, C., J. Armesto, D. Ramirez, R. Gonzalez, N. Ledon and I. Garcia. 1998. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-Phycocyanin from blue green algae. **Inflammation Research**. 47: 36-41.
- Romay, C. and R. Gonzalez. 2000. Phycocyanin is an antioxidant protector of human erythrocytes against lysis by peroxy radicals. **Journal of Pharmacy Pharmacology**. 52: 367-368
- Romay, C., R. Gonzalez, N. Ledon, D. Ramirez and V. Rimbau. 2003. C-Phycocyanin: A biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. **Current Protein and Peptide Science**. 4: 207-216.
- Sánchez-Moreno, C. 2002. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological system. **Food Science and Technology International**. 8: 121-137.
- Sarada, R., M.G. Pillai and G.A. Ravishankar. 1999. Phycocyanin from *Spirulina* sp.: influence of processing of biomass on phycocyanin yield analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. **Process Biochemistry**. 38: 795-801.
- Sergio, A.R. Paiva and M. Russell Robert. 1999. β -carotene and other carotenoids as antioxidant. **Journal of the American College**. 18: 426-433.
- Seshadri, C.V., B.V. Umesh and R. Manoharan. 1991. Beta-carotene studies in *Spirulina*. **Bioresource Technology**. 38: 111.

- Singh, R.P., M. Chaidamdara and G.K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50: 81-86.
- Stephen, A.D., M.N. Flavia and P.L. Theodore. 1997. Comparison of Spray-drying, Drum-drying and Freeze-drying for β -carotene Encapsulation and Preservation. **Journal of Food Science**. 62: 1158-1162.
- Stocker, R., Y. Yamamoto, A.F. Mc Donagh, A.N. Glazer and B.N. Ames. 1987. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. **Science**. 235: 1043-1046.
- Stryer, L. 1975. **Biochemistry**. W.H. Freeman and Co, San Francisco.
- Tamiya, H. 1957. Mass Culture of Algae. **Annual Review of Plant Physiology**. 8: 309-334.
- Torzilla, G., A. Sacchi, R. Materassi. 1991. Temperature as an important factor affecting productivity and night biomass loss in *Spirulina platensis* : growth bioreactors outdoors in tubular photo. **Bioresources Technology**. 38: 95-100.
- Vonshak, A. 1997. ***Spirulina platensis* (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology**. T.J. International Ltd, UK.
- Zhi-gang, Z., L. Zhi-li and L. Xue-xian. 1998. Study on the isolation purification and antioxidant properties of polysaccharides from *Spirulina maxima*. Braz. **Journal of Medical Biological Research**. 31: 1075-1079.
- Zhu, Y., X.B. Chen, K.B. Wang, Y.X. Li, K.Z. Bai, T.Y. Kuang and H.B. Ji. 2007. A simple method for extracting C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* using *Klebsiella pneumoniae*. **Applied Microbiology Biotechnology**. 74:224-228.

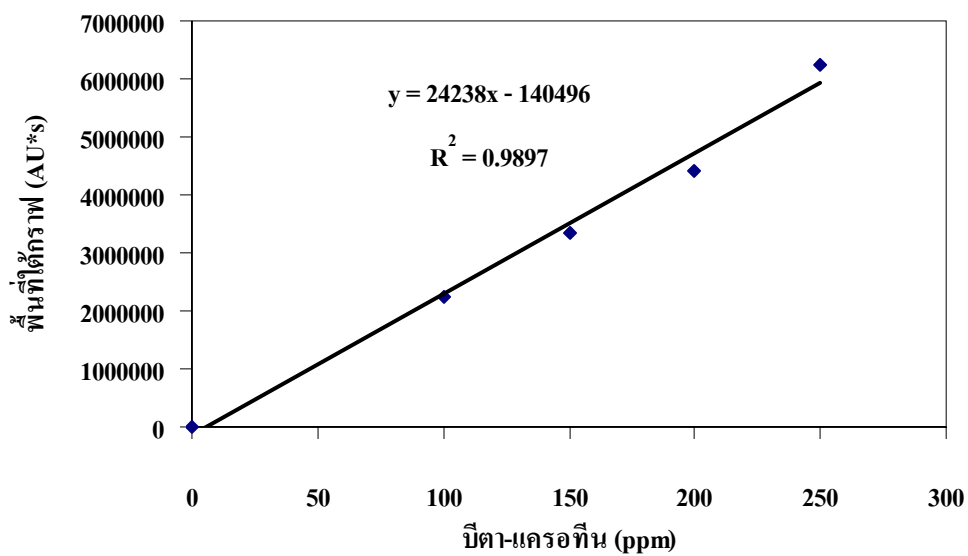
ภาคผนวก



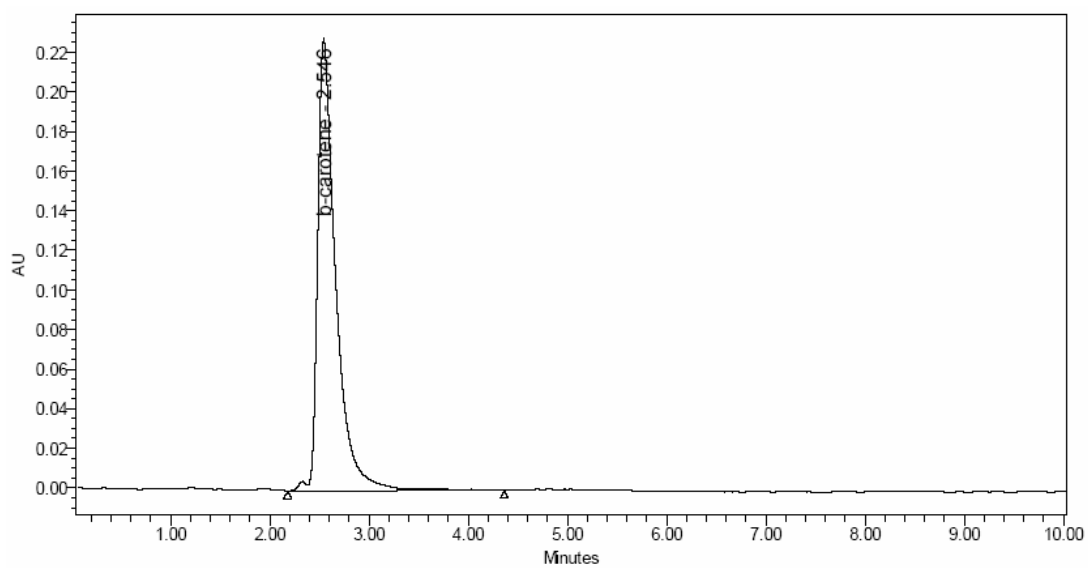
ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC)



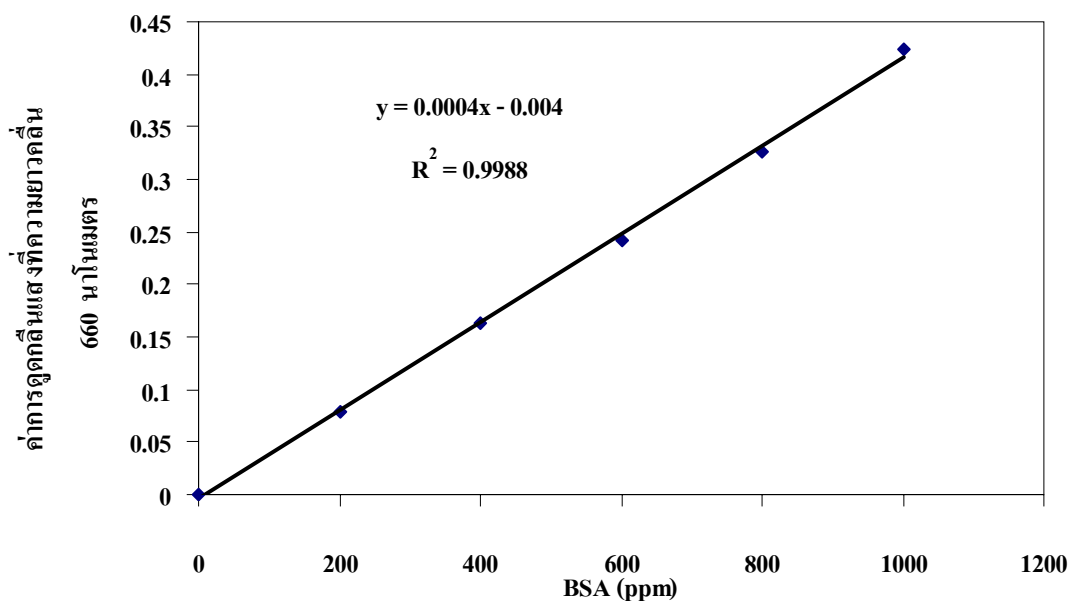
ภาพผนวกที่ 2 ตัวอย่างโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานินโดย HPLC



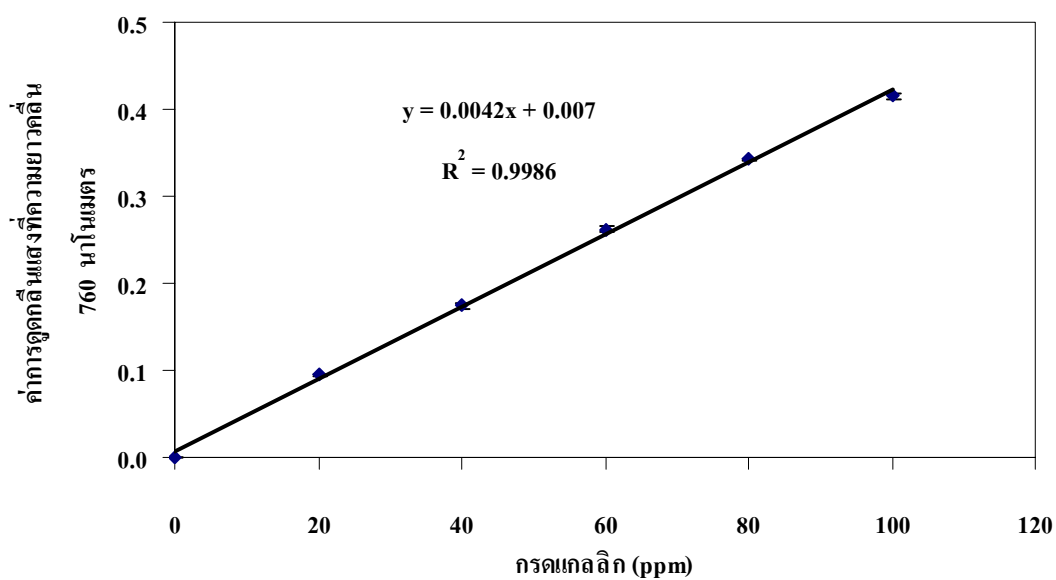
ภาพผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานของบีตา-แคโรทีน



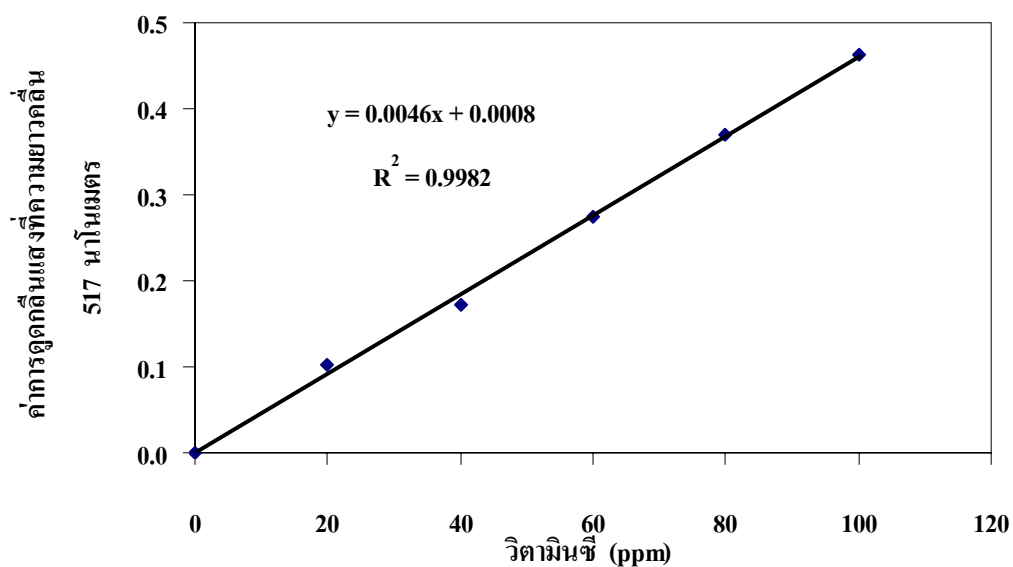
ภาพผนวกที่ 4 ตัวอย่างโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์บีตา-แคโรทีนโดย HPLC



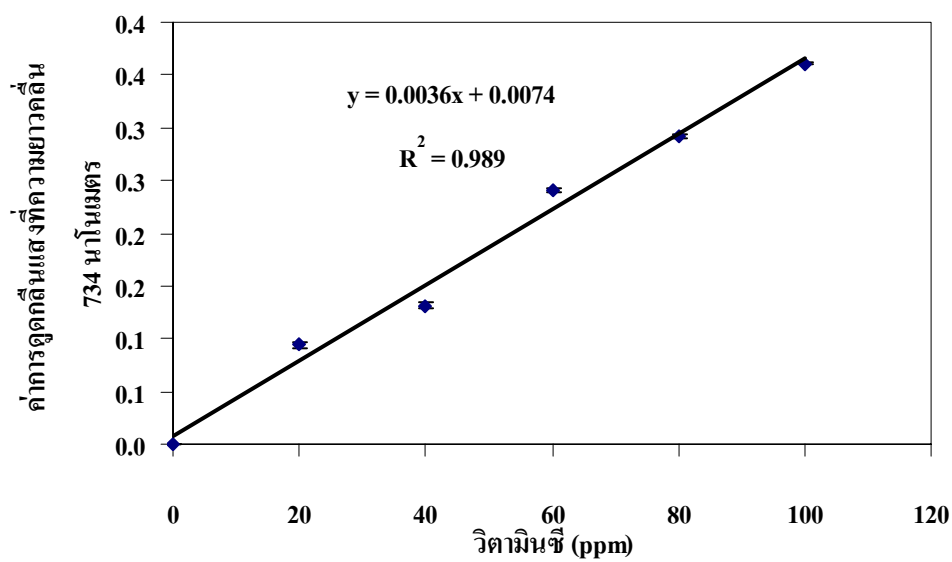
ภาพผนวกที่ 5 กราฟมาตรฐานของ Bovine Serum Albumin (BSA) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างสำหรับยากลีวทองแห้ง



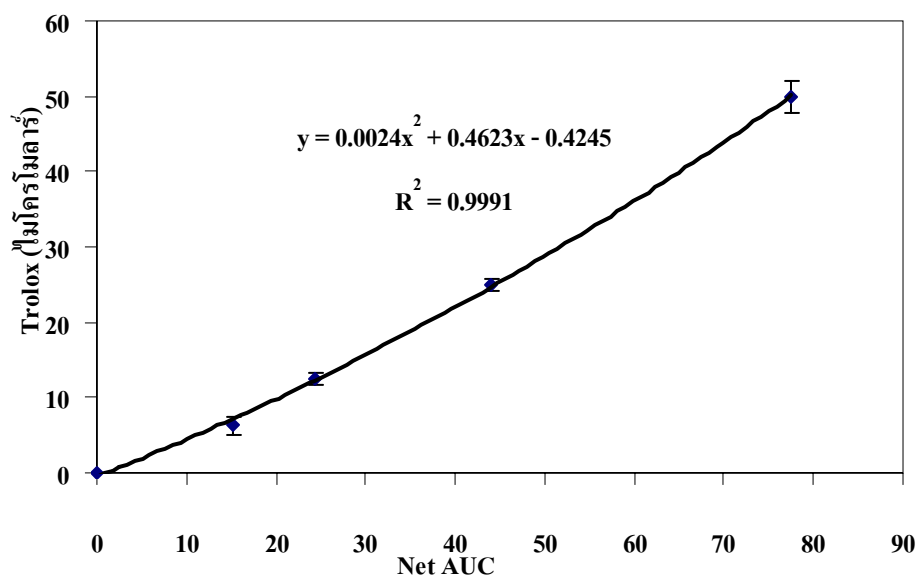
ภาพผนวกที่ 6 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกสำหรับการตรวจสอบสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols



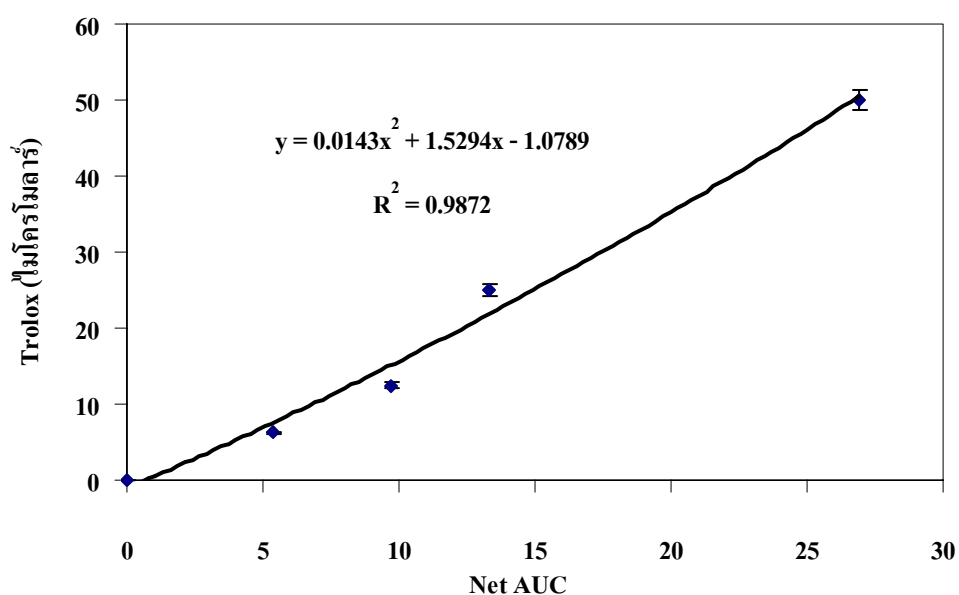
ภาพผนวกที่ 7 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH



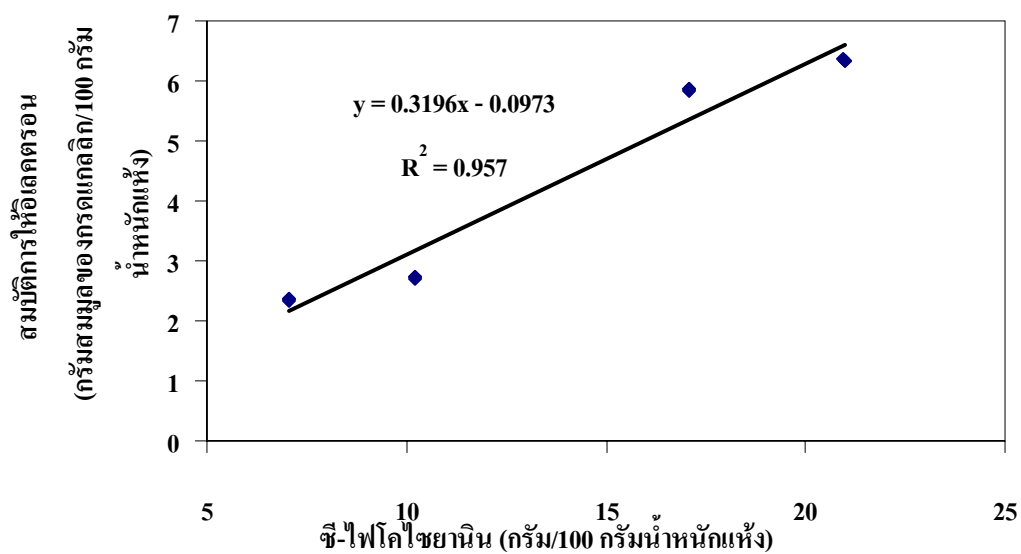
ภาพผนวกที่ 8 กราฟมาตรฐานของวิตามินซีสำหรับการตรวจสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS



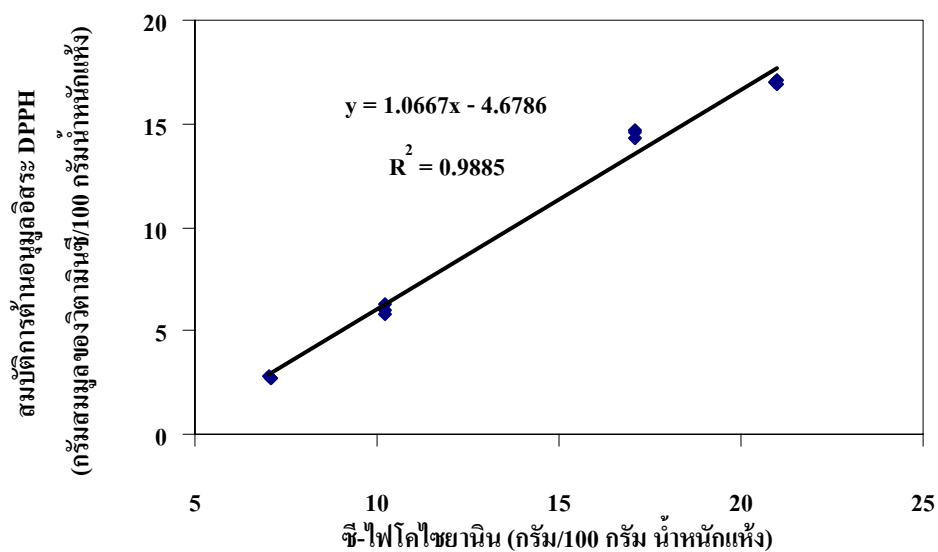
ภาพผนวกที่ 9 กราฟมาตรฐานของ Trolox สำหรับสารสกัดส่วนที่ชอบน้ำในการศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC



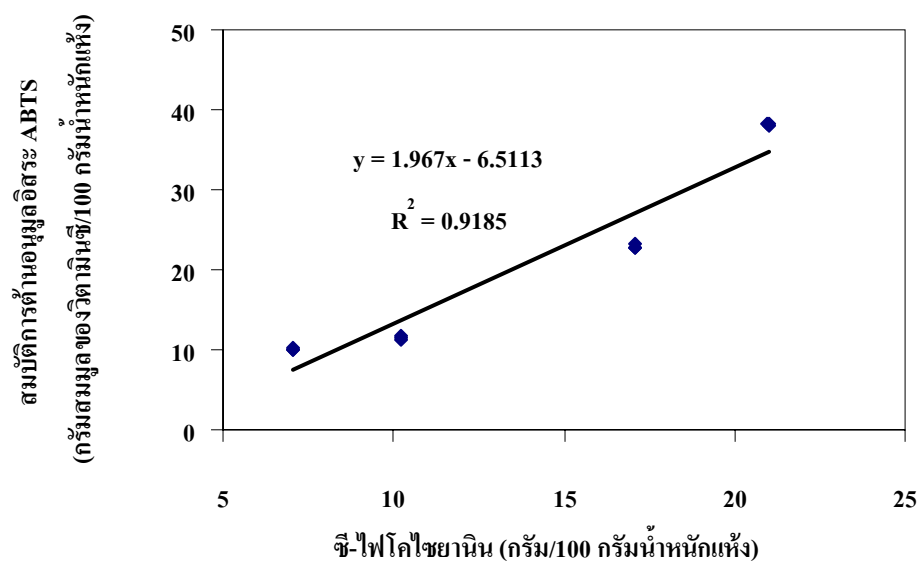
ภาพผนวกที่ 10 กราฟมาตรฐานของ Trolox สำหรับสารสกัดส่วนที่ชอบไขมันในการศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC



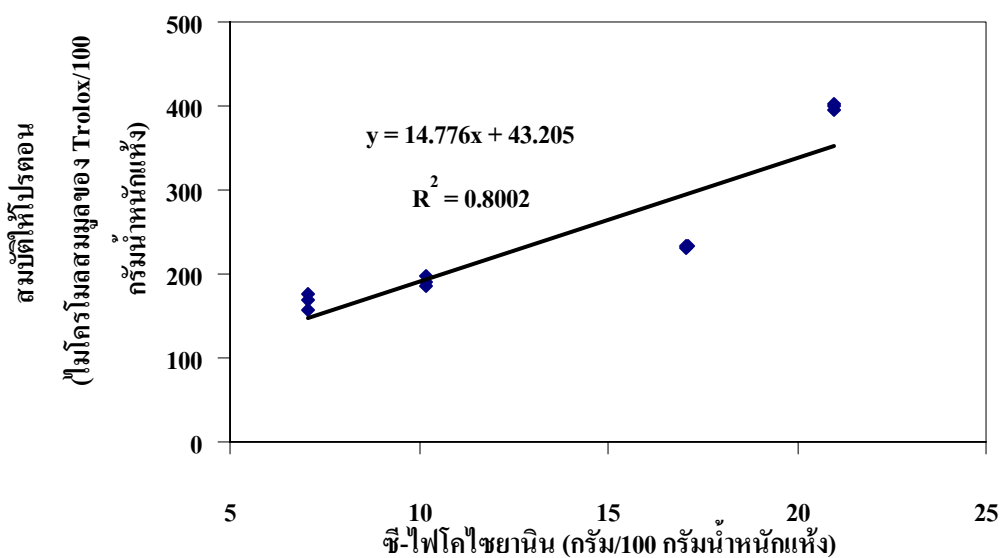
ภาพผนวกที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณชี-ไฟโคไซยานิน (เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี) และสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี Total phenols ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



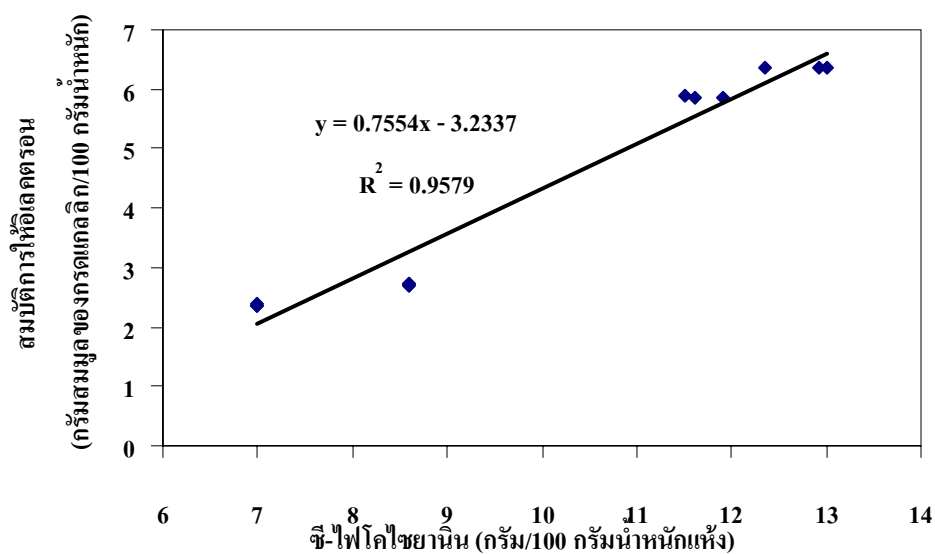
ภาพผนวกที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณชี-ไฟโคไซยานิน (เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



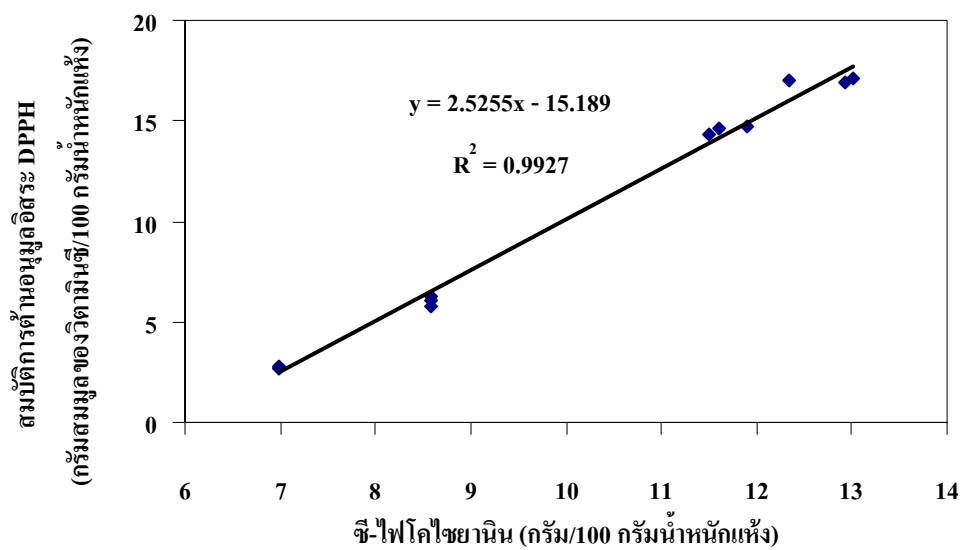
ภาพผนวกที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



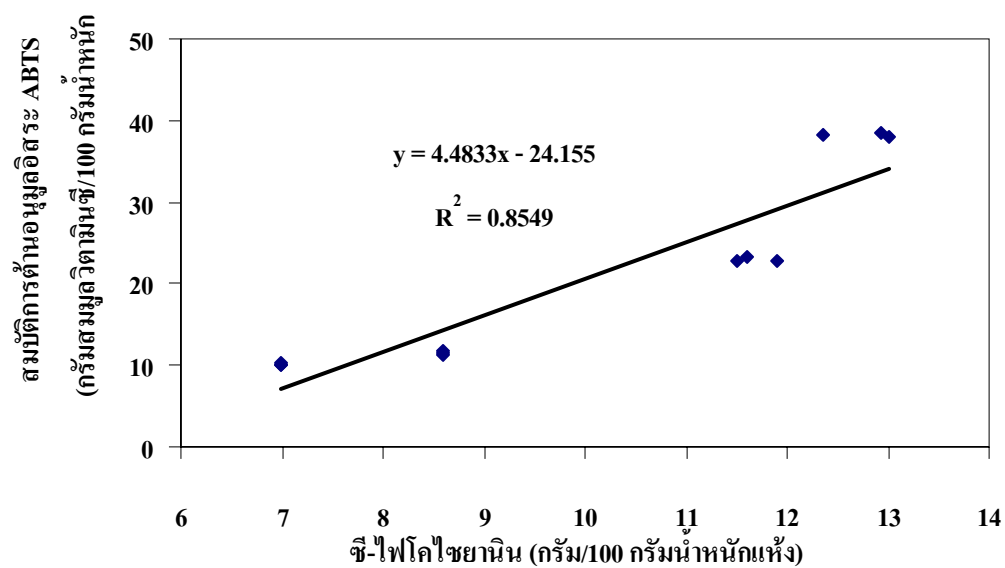
ภาพผนวกที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี) และสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



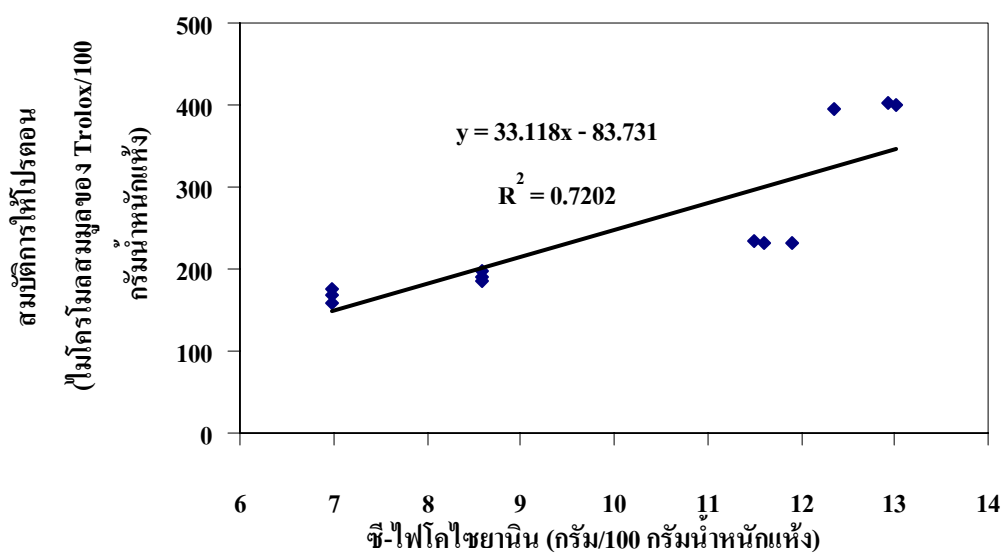
ภาพผนวกที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัติการให้อิเล็กตรอน โดยวิธี Total phenols ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



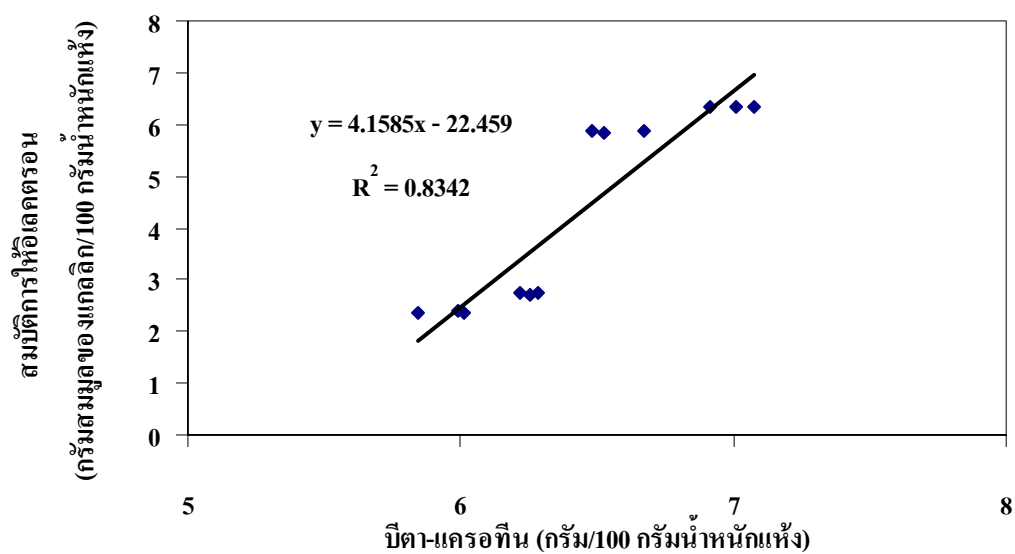
ภาพผนวกที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



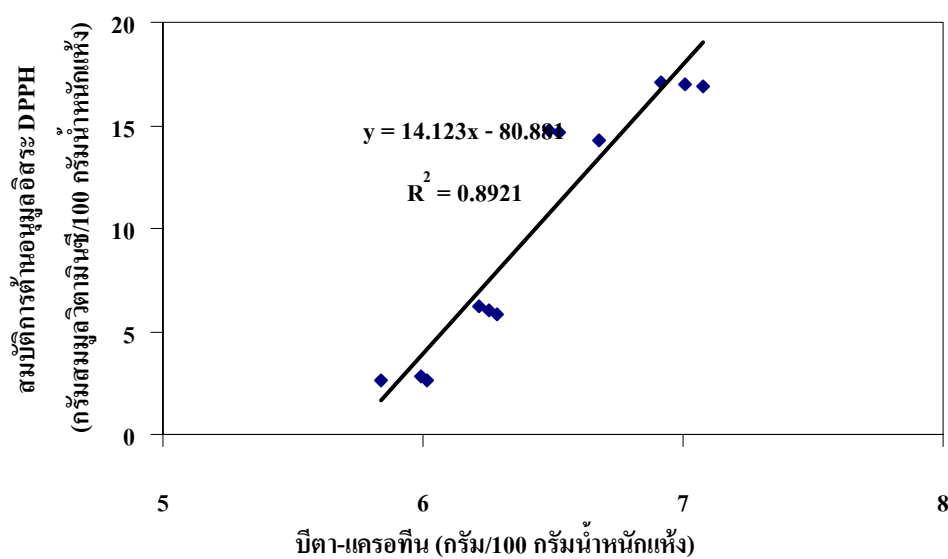
ภาพผนวกที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน (HPLC) และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



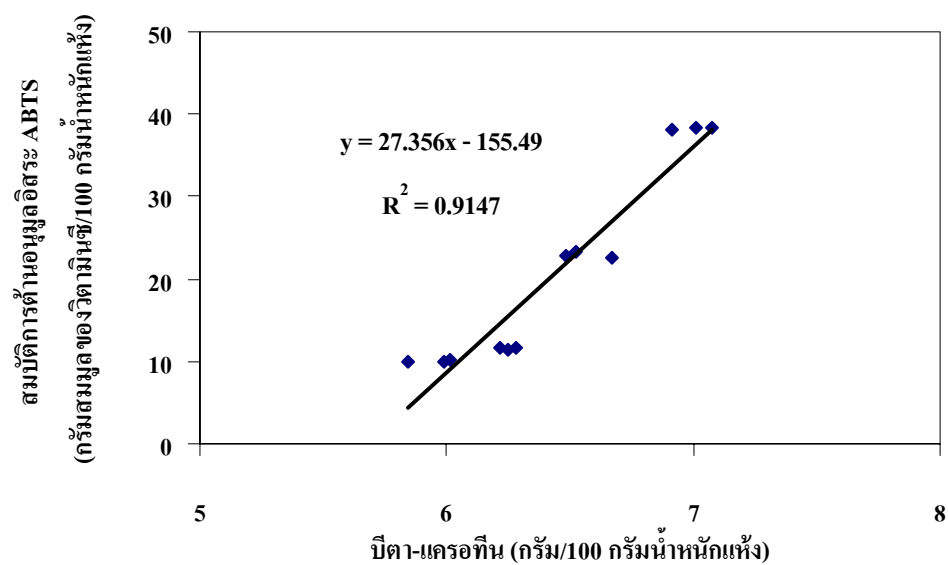
ภาพผนวกที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน(HPLC) และสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



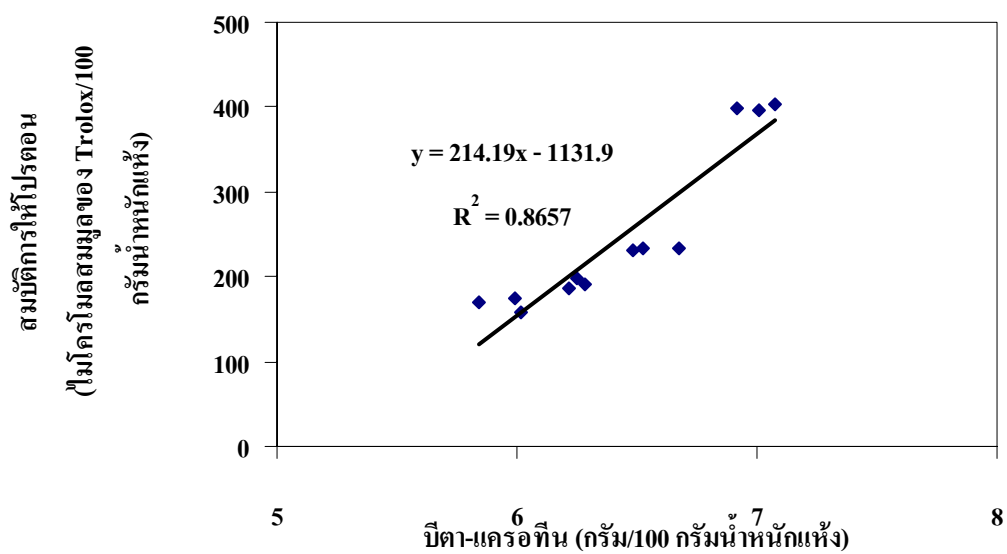
ภาพผนวกที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณบีตา-แคโรทีนและสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี total phenols ของสารสกัดกล้วยทองแห้ง



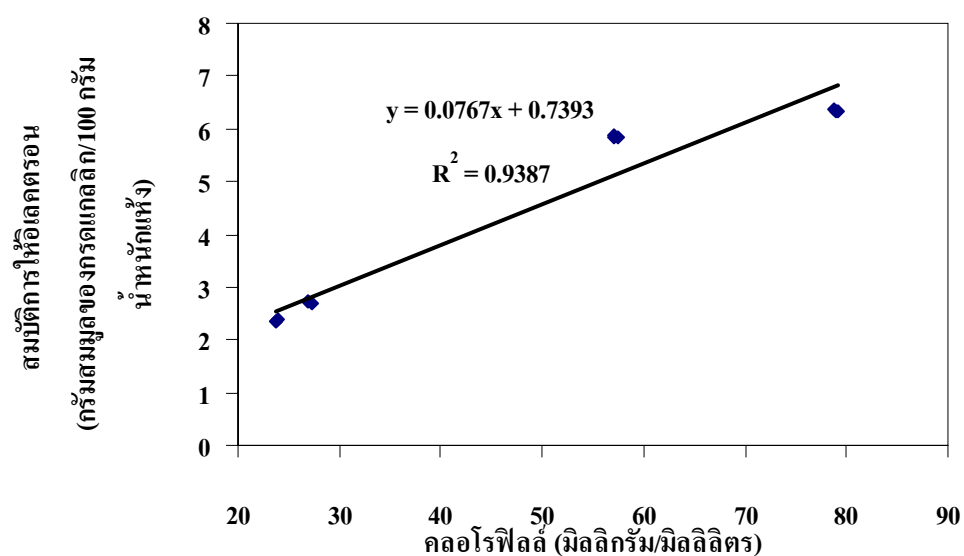
ภาพผนวกที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณบีตา-แคโรทีนและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดกล้วยทองแห้ง



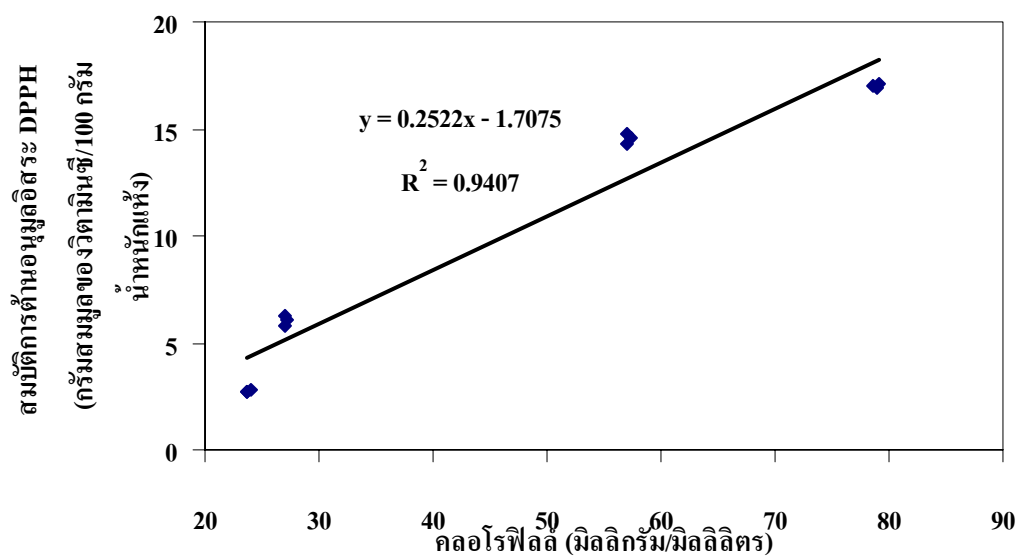
ภาพผนวกที่ 21 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณบีตา-แคโรทีนและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



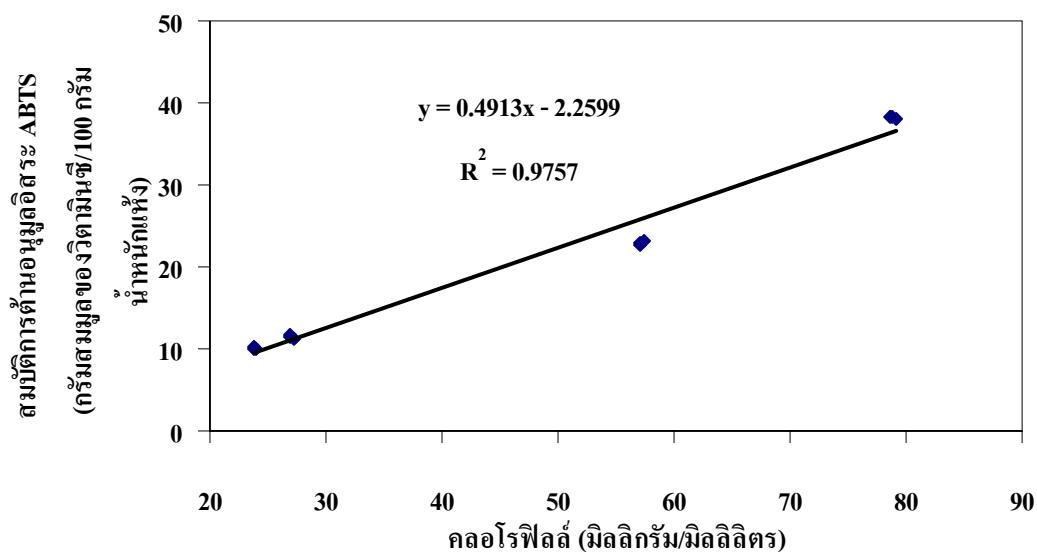
ภาพผนวกที่ 22 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณบีตา-แคโรทีนและสมบัติการให้โปรตอนโดยวิธี ORAC ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



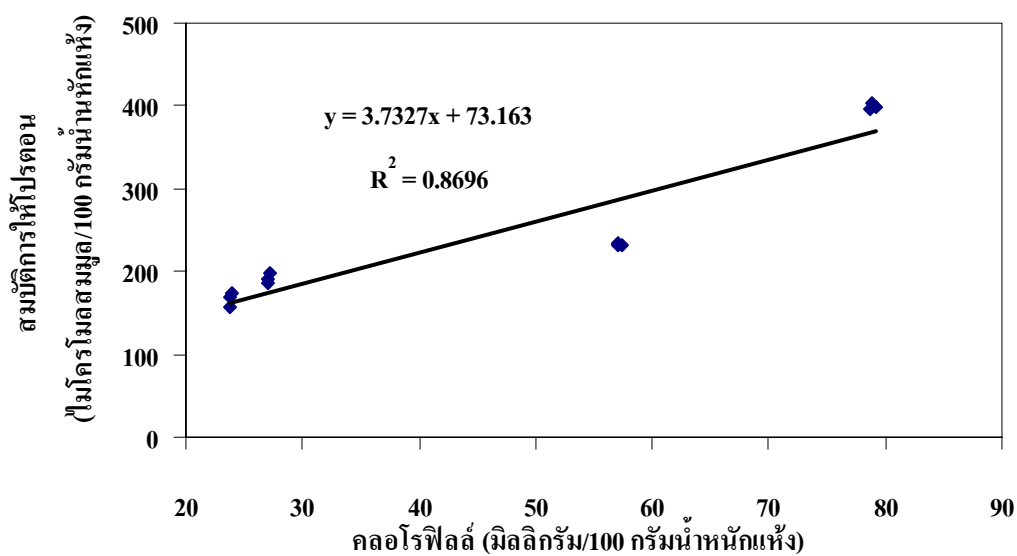
ภาพผนวกที่ 23 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และสมบัติการให้อิเล็กตรอนโดยวิธี total phenols ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



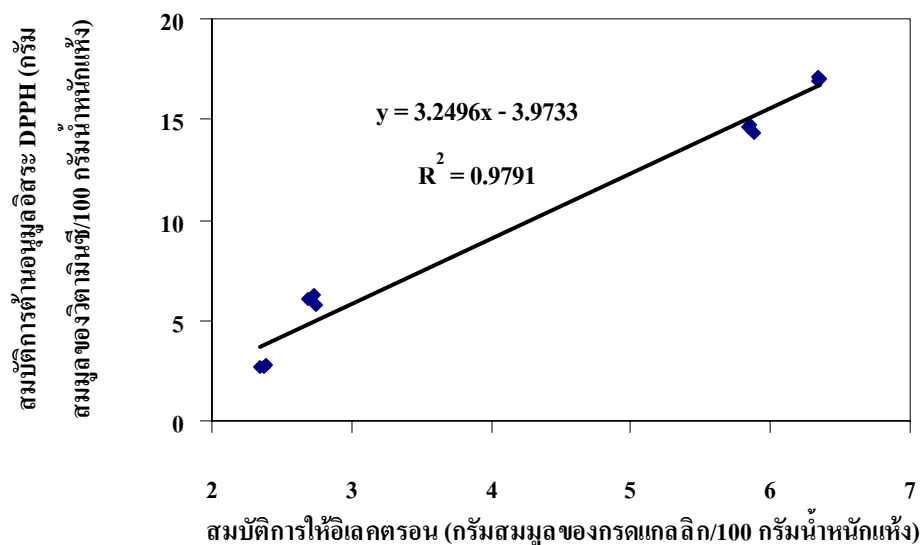
ภาพผนวกที่ 24 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



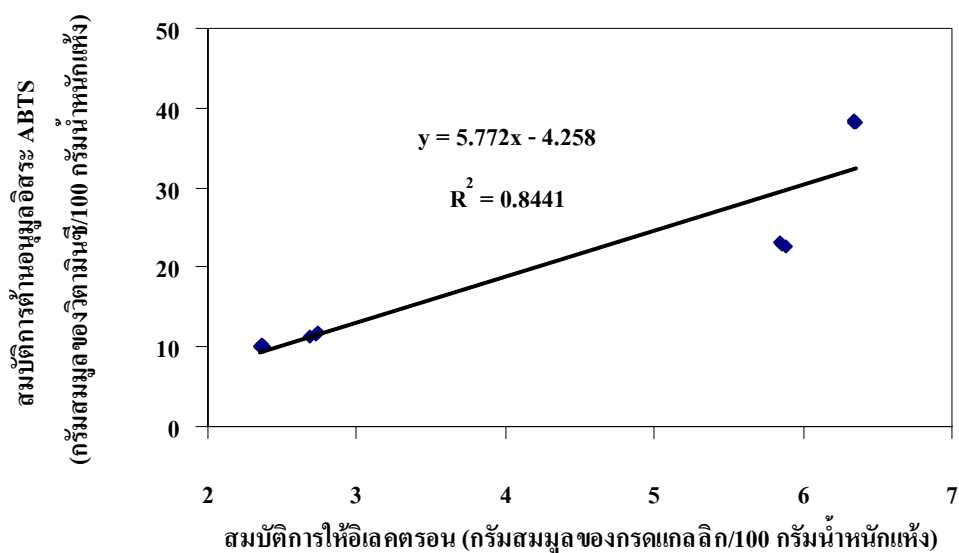
ภาพผนวกที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



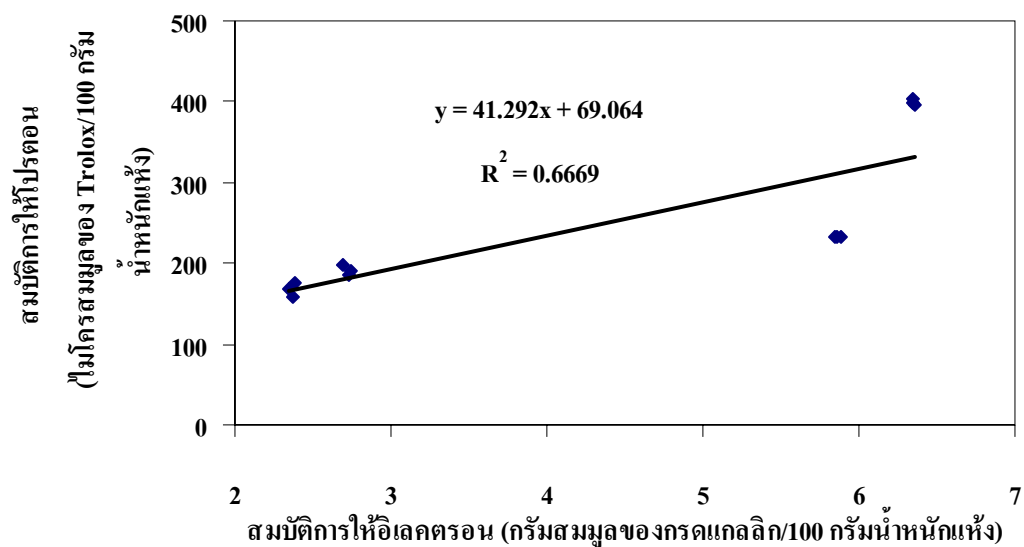
ภาพผนวกที่ 26 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และสมบัตการต้านออกซิเดชัน โดยวิธี ORAC ของสาหร่ายเกลียวทองแห้ง



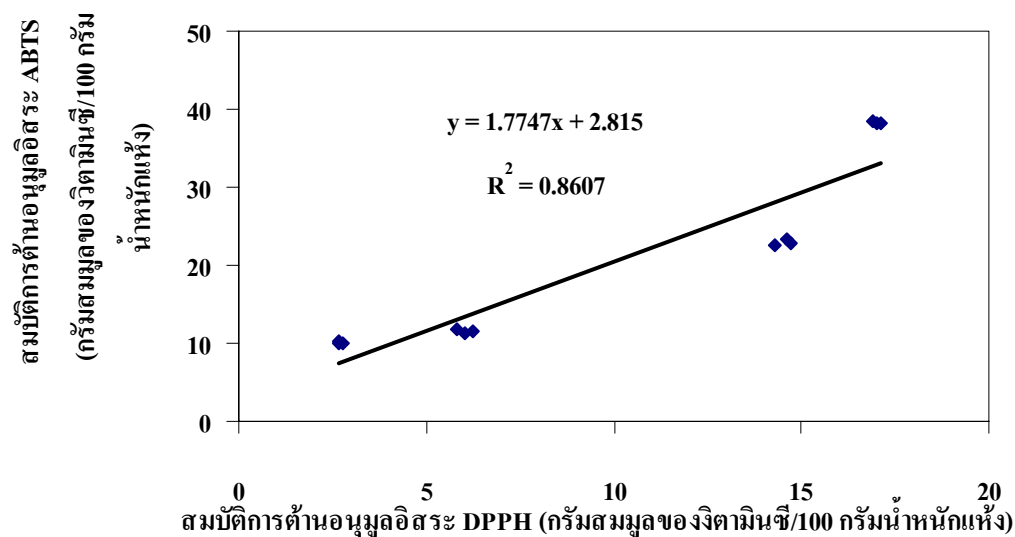
ภาพผนวกที่ 27 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการให้อิเลคตรอนโดยวิธี Total phenols และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH



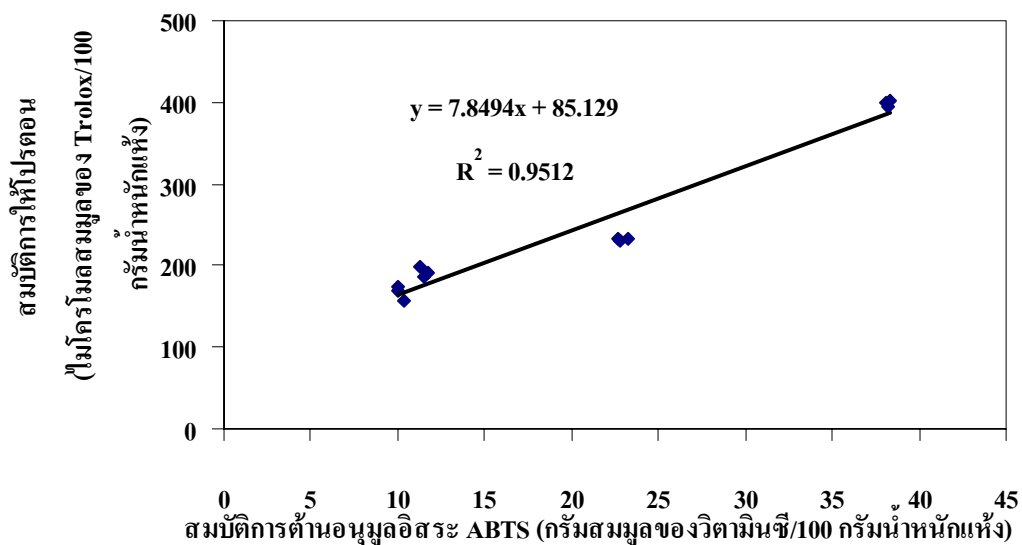
ภาพผนวกที่ 28 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการให้อิเลคตรอนโดยวิธี Total phenols และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS



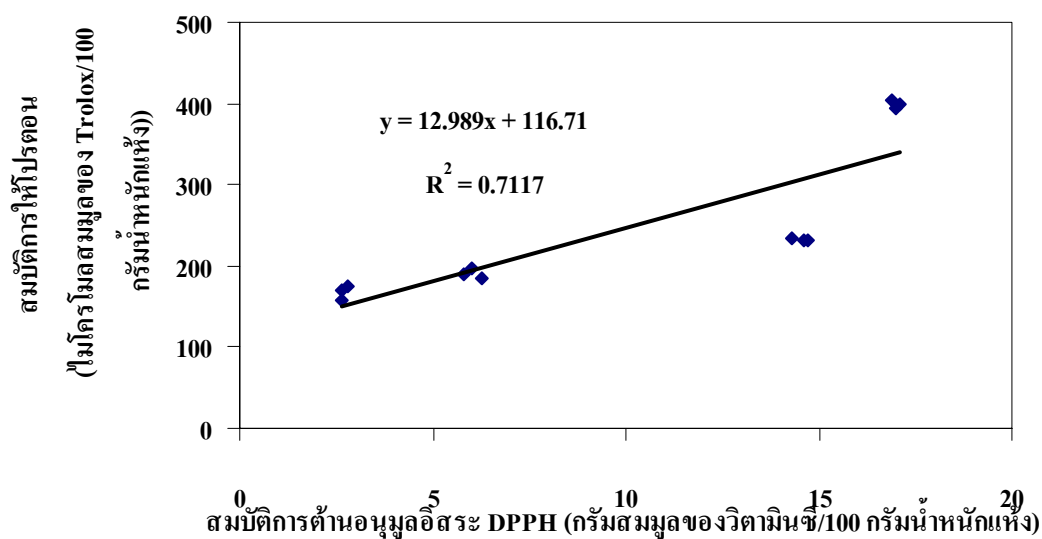
ภาพผนวกที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการให้อิเล็คตรอนโดยวิธี Total phenols และสมบัติการต้านออกซิเดชั่นโดยวิธี ORAC



ภาพผนวกที่ 30 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS



ภาพผนวกที่ 31 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC



ภาพผนวกที่ 32 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และสมบัตการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวสินีนฎ อักโขสุวรรณ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 22 ตุลาคม 2525
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (พ.ศ. 2548)
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ปีการศึกษา 2549 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์