

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การศึกษาผลของการทำแห้งต่อการสกัดไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่า

#### 1.1 การทำแห้งสาหร่ายสไปรูลิน่า

ใช้เซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าสายพันธุ์ BP ที่เลี้ยงในบ่อขนาด 100 ลิตร ที่สภาวะกลางแจ้งและนำไปทำแห้งโดยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ 1. อบแห้งแบบแช่แข็ง (freeze drying) ด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง (ยี่ห้อ LABCONCO รุ่น Freezone<sup>12PLUS</sup>) 2. ตากแดด (sun drying) และ 3.อบแห้ง (oven drying) ด้วยเครื่องอบแห้ง (ยี่ห้อ Whatman) โดยอุณหภูมิและระยะเวลาของการทำแห้งดังข้อมูลในตารางที่ 11 ลักษณะของเซลล์สไปรูลิน่าหลังผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธี มีลักษณะดังรูปที่ 6 ซึ่งเซลล์ที่ทำแห้งโดยการตากแดดและอบแห้งด้วยตู้อบมีลักษณะเป็นแผ่นค่อนข้างแข็งต้องนำมาบดให้ละเอียดก่อนนำไปสกัดไฟโคไซยานิน

ตารางที่ 11 วิธีทำแห้งและสภาวะที่ใช้ในการทำแห้งสาหร่ายสไปรูลิน่า

วิธีทำแห้ง	สภาวะที่ใช้ทำแห้ง	
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (hr)
อบแห้งแบบแช่แข็ง	-80	8
ตากแดด	28-30	7
อบแห้งด้วยตู้อบ	70	7



อบแห้งแบบแช่แข็ง



ตากแดด



อบแห้งด้วยตู้อบ

รูปที่ 6 ลักษณะเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าเมื่อผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ

ทำการสกัดไฟโคไซยานินจากเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธีและวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตและค่าความบริสุทธิ์ของสารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดได้

#### 1.2 การสกัดไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่า

ชั่งสาหร่ายสไปรูลิน่าแห้งที่บดละเอียด 15 กรัม เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และ pH 7.0) 1500 มิลลิลิตร (อัตราส่วนสาหร่ายสไปรูลิน่าแห้งต่อสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์; 1:100) กวนด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแยกตะกอนจากเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เพื่อตกตะกอนจากเซลล์สาหร่าย ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที และนำสารละลายไฟโคไซยานินที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์ต่อไป



รูปที่ 7 การสกัดไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิना



รูปที่ 8 การปั่นเหวี่ยงตกตะกอนกากเซลล์

### 1.3 การแยกกากเซลล์ออกจากสารละลายไฟโคไซยานินด้วยระบบการกรองไมโครฟิลเตรชัน

สารละลายไฟโคไซยานินที่แยกตะกอนกากเซลล์ออกแล้ว ยังมีกากเซลล์ที่มีอนุภาคขนาดเล็กปนอยู่ ดังนั้นเพื่อกำจัดกากเซลล์ดังกล่าวจึงนำสารละลายไฟโคไซยานินไปกรองผ่านระบบการกรองไมโครฟิลเตรชัน ด้วยเมมเบรนขนาด  $5\ \mu\text{m}$  และ ขนาด  $0.8/0.2\ \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยการปั๊มดูดจ่ายสารตัวอย่าง (peristaltic pump) ยี่ห้อ MASTERFLEX L/S ของบริษัท Cole-Parmer ด้วยอัตราการป้อนสารตัวอย่าง  $60\ \text{ml/min}$

เมมเบรนไมโครฟิลเตรชันที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

- เมมเบรนขนาด  $5\ \mu\text{m}$  PALL; Polypure® Capsule effective filtration area  $1,500\ \text{cm}^2$
- เมมเบรนขนาด  $0.8/0.2\ \mu\text{m}$  PALL; AcroPak™ 1500 Capsules with Supor® Membrane filtration area  $1,500\ \text{cm}^2$



รูปที่ 9 เมมเบรนขนาด 5 µm และ 0.8/0.2 µm ในระบบการกรองไมโครฟิลเตรชัน



รูปที่ 10 การแยกกากเซลล์ออกจากสารละลายไฟโคไซยานินด้วยระบบการกรองไมโครฟิลเตรชัน

#### 1.4 การเพิ่มความบริสุทธิ์และความเข้มข้นของสารละลายไฟโคไซยานิน

สารละลายไฟโคไซยานินที่สกัดและผ่านการแยกตะกอนกากเซลล์ออกด้วยระบบการกรองไมโครฟิลเตรชัน นำมาเพิ่มความบริสุทธิ์และความเข้มข้นโดยระบบการกรองอัลตราฟิลเตรชัน โดยการใช้ปั๊มดูดจ่ายสารตัวอย่าง (peristaltic pump) ยี่ห้อ MASTERFLEX L/S ของบริษัท Cole-Parmer ด้วยอัตราการป้อนสารตัวอย่าง 60 ml/min

เมมเบรนอัลตราฟิลเตรชันที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

- เมมเบรนขนาด 50 kDa PALL; Minimate™ effective area 50 cm<sup>2</sup>



รูปที่ 11 เมมเบรนอัลตราฟิลเตรชันขนาด 50 kDa



**รูปที่ 12** การเพิ่มความบริสุทธิ์และความเข้มข้นของสารละลายไฟโคไซยานินโดยระบบการกรองอัลตราฟิลเตรชัน

### 1.5 การทำแห้งสารสกัดไฟโคไซยานิน

นำสารละลายไฟโคไซยานินเข้มข้นที่ผ่านระบบการกรองอัลตราฟิลเตรชันด้วยเมมเบรนขนาด 50 kDa ใส่ขวดกันกลมและทำให้แข็งด้วยการแช่ในอ่างเอทานอล (Ethanol bath) และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง (Freeze dry; LABCONCO Freezone<sup>12PLUS</sup>) ดังรูปที่ 13



**รูปที่ 13** การทำแห้งสารสกัดไฟโคไซยานินด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง

สารสกัดไฟโคไซยานินที่ทำแห้งแล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไฟโคไซยานิน รวมทั้งปริมาณความชื้น และโลหะหนัก

## 2. การศึกษาคุณภาพวัตถุดิบสาหร่ายสไปรูลิน่าต่อการสกัดไฟโคไซยานิน

สาหร่ายสไปรูลิน่าที่นำมาใช้ในการศึกษามีทั้งหมด 10 ตัวอย่าง ดังนี้ สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทกรีนโดมอนต์ 8 ตัวอย่าง โดยลักษณะเซลล์มี 2 แบบ คือ เซลล์ที่ยังไม่ได้บดมีลักษณะเป็นแผ่นได้แก่ ตัวอย่าง A, B, C และ D และเซลล์ที่บดเรียบร้อยแล้วคือ ตัวอย่าง E, F, G และ H ดังรูปที่ 14 สาหร่ายสไปรูลิน่าจากห้างหุ้นส่วนนาทองที่มีลักษณะเป็นแผ่นจำนวน 1 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่าง I ดังรูปที่ 15 และสาหร่ายสไปรูลิน่าที่วางจำหน่ายในท้องตลาดอีก 1 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่าง J ดังรูปที่ 16 โดยเซลล์ที่ลักษณะเป็นแผ่นต้องนำมาบดให้ละเอียดก่อนนำไปสกัดไฟโคไซยานิน



A

B



C

D

เซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ไม่ได้บด



E



F



G



H

เซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าที่บดแล้ว

รูปที่ 14 สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ได้รับอนุเคราะห์จากบริษัทกรีนไดมอนด์



รูปที่ 15 สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ได้รับอนุเคราะห์จากห้างหุ้นส่วนนาทอง (I)



รูปที่ 16 สาหร่ายสไปรูลิน่าที่จำหน่ายในท้องตลาด (J)

วิเคราะห์คุณภาพวัตถุดิบสไปรูลิน่าจากแหล่งต่าง ๆ โดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ปริมาณไฟโคไซยานินและปริมาณโลหะหนัก เพื่อทำการจัดกลุ่มวัตถุดิบสไปรูลิน่าและคัดเลือกตัวอย่างสไปรูลิน่าเพื่อนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จากนั้นทำการสกัดไฟโคไซยานิน เพิ่มความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของสารละลายไฟโคไซยานินโดยดำเนินการเช่นเดียวกับรายละเอียดที่กล่าวมาข้างต้น

### 3. การวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ

- การวิเคราะห์ปริมาณกากเซลล์สาหร่ายในสารละลายไฟโคไซยานิน นำสารละลายไฟโคไซยานินมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ด้วยเครื่องSpectrophotometer (HACH; ODYSSEY)

- ค่าความบริสุทธิ์และปริมาณไฟโคไซยานินและอัลโลไฟโคไซยานิน

นำสารละลายไฟโคไซยานินจากขั้นตอนต่าง ๆ มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 620 และ 652 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer คำนวณหาค่าความบริสุทธิ์ของไฟโคไซยานิน รวมทั้งปริมาณไฟโคไซยานินและอัลโลไฟโคไซยานิน ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{ความบริสุทธิ์ของไฟโคไซยานิน} &= A_{620} / A_{280} \\ \text{ปริมาณไฟโคไซยานิน (mg/ml)} &= [A_{620} - 0.474(A_{652})] / 5.34 \\ \text{ปริมาณอัลโลไฟโคไซยานิน (mg/ml)} &= [A_{652} - 0.208(A_{620})] / 5.09 \end{aligned}$$

โดย  $A_{280}$  เป็นค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

$A_{620}$  เป็นค่าการดูดกลืนแสงของไฟโคไซยานินที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร

$A_{652}$  เป็นค่าการดูดกลืนแสงของอัลโลไฟโคไซยานินที่ความยาวคลื่น 652 นาโนเมตร

- การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน นำสารตัวอย่าง 5 มิลลิกรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร (การเตรียมกราฟมาตรฐาน ใช้สารละลายของ bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 2 mg/ml นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200 และ 300  $\mu\text{g}/2\text{ml}$  ตามลำดับ) ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มอล 0.5 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 20 นาที และเติมสารผสม (โซเดียมคาร์บอเนต 5 % W/V; 50 มิลลิลิตร, คอปเปอร์ซัลเฟต 1 % W/V; 1 มิลลิลิตร และ โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทต 2%; 1 มิลลิลิตร) 2.5 มิลลิลิตร ที่ทิ้งไว้ 10 นาที และเติมสาร Folin-Ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร จนเกิดสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร [Lowry, 1951]

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \frac{\text{slope} \times \text{total volume (ml)} \times \text{OD}_{750} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (mg)} \times 0.5 \text{ (ml)} \times 1000}$$

- การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต [Dubois และคณะ, 1956] นำสารตัวอย่างมาละลายด้วยน้ำกลั่น (การเตรียมกราฟมาตรฐานใช้สารละลาย glucose ความเข้มข้น 1 mg/ml นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 200 µg/2 ml ตามลำดับ) ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายฟีนอล (ความเข้มข้น 5 %W/V) 1 มิลลิลิตร และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (\%)} = \frac{\text{slope} \times \text{total volume (ml)} \times \text{OD}_{485} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (mg)} \times 1 \text{ (ml)} \times 1000}$$

- การวิเคราะห์ปริมาณไฟโคไซยานิน [Boussiba, 1979] ซึ่งสาหร่ายแห้งประมาณ 15 มิลลิกรัม และเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 25 มิลลิลิตร บ่มอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยง ตกตะกอนกากเซลล์และนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร

$$\text{ปริมาณ crude CPC (mg/g cell)} = \frac{\text{OD}_{620} \times 5 \text{ (ml)} \times 1000}{3.39 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (mg)}}$$

....

\*เป็นค่า extinction coefficient ของซีไฟโคไซยานิน (CPC) ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร

- การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก 3 ชนิด คือ แคดเมียม (Cd) สารหนู (As) และตะกั่ว (Pb) ในโครงการวิจัยนี้ทำวิเคราะห์ทั้งในตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลิน่าและในสารสกัดไฟโคไซยานิน โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (PERKIN ELMER, SIM AA6000)

- การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ซึ่งตัวอย่างประมาณ 500 มิลลิกรัมใส่ภาชนะที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนัก นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรืออบจนน้ำหนักคงที่ นำภาชนะดังกล่าวใส่โถดูดความชื้น รอให้หายร้อน ซึ่งจัดบันทึกน้ำหนักและคำนวณหาปริมาณความชื้น (Method 984.25 in Official Method of Analysis of AOAC International 16<sup>th</sup> ed, Vol. II ch42.3.09, ed. By Cunniff, P., AOAC International, Virginia, USA)

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (mg)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (mg)}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (mg)}}$$

- การหาปริมาณเถ้า ซึ่งตัวอย่าง 500 มิลลิกรัม ใส่ถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งตัวอย่างเปลี่ยนเป็นเถ้าสีเทาทั้งหมด นำมาใส่ในโถดูดความชื้น (Desiccator) รอจนกระทั่งหายร้อน นำไปชั่งน้ำหนักและคำนวณหาปริมาณเถ้า (Method 967.04 in Official Method of Analysis of AOAC International 16<sup>th</sup> ed Vol. II, ch2.7.06, ed. By Cunniff, P., AOAC International, Virginia, USA)

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (mg)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (mg)}}$$

## ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. การศึกษาผลของการทำแห้งวัตถุดิบสไปรูลิน่าต่อค่าความบริสุทธิ์และปริมาณไฟโคไซยานิน

#### 1.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ

วิธีการทำแห้งสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพและปริมาณของสารสกัดไฟโคไซยานิน [Sarada, 1999 และ สีนีนาฏ, 2551] การศึกษาผลของการทำแห้งวัตถุดิบสไปรูลิน่าต่อค่าความบริสุทธิ์และปริมาณไฟโคไซยานินในงานวิจัยนี้ ใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าเพาะเลี้ยงที่สภาวะกลางแจ้ง อาคารสถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ มจร. บางขุนเทียน และผ่านกระบวนการทำแห้งที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ การทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง การทำแห้งด้วยตู้อบ และการทำแห้งด้วยการตากแดด การทำแห้งแต่ละวิธีใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 11) เพื่อทราบข้อมูลพื้นฐานขององค์ประกอบทางชีวเคมีที่สำคัญในสไปรูลิน่า นำตัวอย่างสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่างๆ มาบดให้ละเอียด และวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ปริมาณไฟโคไซยานิน ปริมาณโลหะหนัก 3 ชนิด คือ แคดเมียม สารหนู และตะกั่ว (ปริมาณโลหะหนักวิเคราะห์เฉพาะตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง และตากแดด ทั้งนี้เพราะตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ถูกเพาะเลี้ยงในช่วงเวลาและสภาวะเดียวกัน) รวมทั้งหาปริมาณความชื้นในเซลล์สไปรูลิน่า ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 12

**ตารางที่ 12** ปริมาณโปรตีน ไฟโคไซยานิน และโลหะหนักในสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็ง อบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และการตากแดด

วิธีการทำแห้ง สไปรูลิน่า	ร้อยละของสาหร่ายแห้ง			โลหะหนัก (มิลลิกรัม/กิโลกรัมสาหร่ายแห้ง)		
	ความชื้น	โปรตีน	ไฟโคไซยานิน	แคดเมียม (Cd)	สารหนู (As)	ตะกั่ว (Pb)
อบแห้งแบบแช่แข็ง	6.2±0.3	54.8±1.7	20.9 ±0.2	1.964±0.004	0.257±0.028	0.059±0.000
อบแห้งด้วยตู้อบ	6.9±0.1	55.4±1.8	3.9±0.1	nd*	nd*	nd*
ตากแดด	9.3±0.2	53.9±2.7	19.7±0.6	1.212±0.123	ไม่พบ	0.061±0.003

\*nd หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

จากข้อมูลตารางที่ 1 พบว่า วิธีการทำแห้งทั้ง 3 วิธี ไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์สไปรูลิน่า โดยสาหร่ายสไปรูลิน่าทั้ง 3 ตัวอย่าง มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันคือประมาณร้อยละ 55 ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Morist และคณะ (2001) ที่รายงานว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยกับสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันคือ ประมาณร้อยละ 56 และ 53 ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง ตามลำดับ ทั้งที่การทำแห้งแบบพ่นฝอยใช้อุณหภูมิของการทำแห้งสูงกว่า ขณะที่ Desmorieux และ Hernandez (2004) รายงานว่า การสูญเสียปริมาณโปรตีนภายในเซลล์สไปรูลิน่าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับอุณหภูมิของการทำแห้งที่เพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิของการทำแห้ง 40 องศาเซลเซียส เซลล์สไปรูลิน่าจะสูญเสียโปรตีนประมาณร้อยละ 10 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 20 เมื่ออุณหภูมิของการทำแห้งสูง 70 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามผลการทดลองจากงานวิจัยนี้อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อปริมาณไฟโคไซยานินของสไปรูลิน่า เห็นได้จาก

การทำแห้งสไปรูลิน่าโดยการอบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิสูง 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง เซลล์สไปรูลิน่าที่มีปริมาณไฟโคไซยานินต่ำเพียงร้อยละ 3.87 ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง ซึ่งน้อยกว่าตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งและการตากแดดประมาณ 5 เท่า หรือการทำแห้งโดยการอบแห้งมีการสูญเสียไฟโคไซยานินไปประมาณร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับปริมาณไฟโคไซยานินในสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งและการตากแดด ทำนองเดียวกัน Sarada และคณะ (1999) พบว่า การทำแห้งสไปรูลิน่าด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอยและอบแห้งด้วยตู้อบจะสูญเสียไฟโคไซยานินประมาณร้อยละ 50 ของปริมาณไฟโคไซยานินทั้งหมดในเซลล์ ปริมาณความชื้นในเซลล์สาหร่ายเป็นตัวบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการทำแห้งสาหร่าย ตามมาตรฐานของประเทศญี่ปุ่นและบริษัท Earthrise farms กำหนดค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์สไปรูลิน่าต้องต่ำกว่าร้อยละ 7 ของน้ำหนักแห้ง [Belay,1997] ซึ่งจากการทำแห้งทั้ง 3 วิธีพบว่า สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีตากแดดมีปริมาณความชื้นร้อยละ 9.3 ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง ซึ่งสูงกว่าค่าที่มาตรฐานกำหนด และสูงกว่าตัวอย่างสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งและอบแห้งด้วยตู้อบ อาจเป็นเพราะการทำแห้งโดยการตากแดดใช้อุณหภูมิที่ค่อนข้างต่ำ คือ ประมาณ 28-30 องศาเซลเซียส นอกจากนี้พบว่าตัวอย่างสไปรูลิน่ามีปริมาณแคดเมียม สารหนู และตะกั่วประมาณ 1.2-2.0, 0.0-0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยคาดว่าโลหะหนักดังกล่าวอาจปนเปื้อนอยู่ในสารเคมีที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงสไปรูลิน่า

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์สไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี สรุปได้ว่า เซลล์สไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็งมีคุณภาพดีที่สุดเพราะมีปริมาณโปรตีนและปริมาณไฟโคไซยานินสูงและมีค่าความชื้นต่ำ ขณะที่การทำแห้งสไปรูลิน่าโดยการตากแดดมีข้อดีคือ เป็นวิธีที่ประหยัดพลังงานและค่าใช้จ่าย ซึ่งค่าใช้จ่ายในการทำแห้งสไปรูลิน่าคิดเป็นร้อยละ 30 ของค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการผลิตสไปรูลิน่า [Richmond, 1994] และการทำแห้งสไปรูลิน่าโดยการตากแดดจะได้เซลล์แห้งสไปรูลิน่าที่มีคุณภาพใกล้เคียงการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งแต่มีข้อจำกัดคือ ได้เซลล์สไปรูลิน่าที่มีความชื้นสูงเมื่อเทียบกับการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็งและการใช้ตู้อบทำแห้ง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ถูกปนเปื้อนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ เมื่อเก็บเซลล์ดังกล่าวไว้ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมหรือเก็บไว้เป็นเวลานาน ขณะที่เซลล์แห้งสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยการอบแห้งมีคุณภาพต่ำที่สุดคือ มีปริมาณโปรตีนและปริมาณไฟโคไซยานินต่ำ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการทำแห้งด้วยตู้อบใช้อุณหภูมิของการทำแห้งสูงกว่าการทำแห้งอีก 2 วิธี ซึ่งมีรายงานว่าตำแหน่งของไฟโคบิลิโซมที่อยู่บนเมมเบรนไทลาคอยด์ของสไปรูลิน่าค่อนข้างไวต่ออุณหภูมิ [Gantt, 1981]

## 1.2 การสกัดไฟโคไซยานินจากวัตถุดิบสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ

สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธี นำมาสกัดไฟโคไซยานินโดยวิธีการดังนี้ ใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าแห้ง 15 กรัม สกัดด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH7 1500 มิลลิลิตร กวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนจากเซลล์ แยกชั้นบนของสารละลายไฟโคไซยานินที่มีสีฟ้า ดังรูปที่ 17 ซึ่งเห็นได้ว่า สารละลายไฟโคไซยานินที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็งและการทำแห้งโดยการตากแดดมีสีน้ำเงินเข้ม ขณะที่สารละลายไฟโคไซยานินที่สกัดได้จากตัวอย่างสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบมีสีเขียวใส



ก ข ค

รูปที่ 17 สารละลายไฟโคไซยานินที่สกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์และปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนกากเซลล์แล้ว

- ก) อบแห้งแบบแช่แข็ง
- ข) ตากแดด
- ค) อบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

เมื่อนำสารละลายไฟโคไซยานินที่ผ่านการตกตะกอนกากเซลล์ออกแล้ว มาวิเคราะห์ความเข้มข้นของไฟโคไซยานิน ดังแสดงในตารางที่ 13 พบว่า สารละลายไฟโคไซยานินที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลินาซึ่งผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็งและตากแดด มีค่าความเข้มข้นของซีไฟโคไซยานิน (CPC) รวมกับอัลโลไฟโคไซยานิน (APC) อยู่ที่ประมาณ 1.2 mg/ml ซึ่งสูงกว่าความเข้มข้นของสารละลายไฟโคไซยานินที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลินาซึ่งทำแห้งด้วยตู้อบและมีค่าความเข้มข้นของซีไฟโคไซยานิน (CPC) รวมกับอัลโลไฟโคไซยานิน (APC) อยู่ที่ประมาณ 0.24 mg/ml ถึง 5 เท่า

Jaonen และคณะ (1999) รายงานว่า กากเซลล์สาหร่ายสไปรูลินามีขนาดเฉลี่ยส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 3-12  $\mu\text{m}$  ขณะที่การทำให้เซลล์สาหร่ายแตกด้วยการใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่สูง (ultrasonic) เซลล์ที่แตกจะมีขนาดเฉลี่ยไม่เกิน 1  $\mu\text{m}$  และจากการศึกษาของ กันยาพร และคณะ (2552) สรุปได้ว่า การแยกไฟโคไซยานินด้วยเมมเบรนขนาด 5  $\mu\text{m}$  ในการกรองรอบแรกและการใช้เมมเบรนขนาด 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  ในการกรองรอบที่สองเป็นขนาดรูพรุนที่มีความเหมาะสมสำหรับกระบวนการไมโครฟิลเตรชันที่ต้องการกำจัดกากเซลล์สาหร่ายที่เหลือค้างในสารละลายไฟโคไซยานินออก ดังนั้นงานวิจัยนี้ใช้วิธีและขนาดเมมเบรนเช่นเดียวกับการศึกษาของ กันยาพร และคณะ (2552) คือ สารละลายไฟโคไซยานินจะถูกนำมากรองด้วยเมมเบรนขนาด 5  $\mu\text{m}$  ในขั้นแรกก่อนเพื่อกรองแยกกากเซลล์สาหร่ายขนาดใหญ่ออกจากสารละลายไฟโคไซยานินได้จำนวนหนึ่ง และกรองต่อในรอบที่สองด้วยเมมเบรนขนาด 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  เพื่อป้องกันกาเกาะกันแน่นที่ชั้นกักบนเมมเบรนขนาด 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  ให้เกิดช้ากว่าการนำสารละลายไฟโคไซยานินมากรองด้วยเมมเบรนขนาด 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  เลย

ความเข้มข้นของสารละลายไฟโคไซยานินทั้ง 3 ตัวอย่าง หลังผ่านการกรองขั้นแรกด้วยเมมเบรนขนาด 5  $\mu\text{m}$  และกรองต่อในรอบที่สองด้วยเมมเบรนขนาด 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  เมื่อเทียบกับขั้นตอนการสกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ในขั้นตอนแรก พบว่ามีค่าลดลงประมาณร้อยละ 18.9 12.5 และ 15.2 สำหรับสารละลายไฟโคไซยานินของตัวอย่างสไปรูลินาที่ทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง ด้วยการอบแห้งด้วยตู้อบ และการตากแดด ตามลำดับ ดังข้อมูลในตารางที่ 13 การที่ความเข้มข้นของสารละลายไฟโคไซยานินมีค่าลดลงทั้งนี้เนื่องจากสารอาจสูญเสียไประหว่างทำการกรองสารละลายไฟโคไซยานินผ่านเมมเบรนทั้ง 2 ขนาด ขั้นตอนต่อไปเพื่อทำให้สารละลายไฟโคไซยานินมีความเข้มข้นและความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลของไฟโคไซยานินที่อยู่ในรูปของ hexamer trimer และ monomer มีน้ำหนักเท่ากับ 260, 132 และ 40 kDa ตามลำดับ [MacColl, 1998] ดังนั้นกันยาพร และคณะ (2552) ทำการศึกษาโดยเลือกใช้เมมเบรน 3 ขนาดคือ 50, 70 และ 100 kDa พบว่า เมมเบรนขนาด 50 kDa มีประสิทธิภาพในการทำงานสูงสุด ในทำนองเดียวกัน

จากการศึกษาของ Herrera และคณะ (1989) ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้เมมเบรน 2 ขนาด คือ 25 kDa และ 50 kDa โดยคำนึงถึงขนาดโมเลกุลของไฟโคไซยานินที่อยู่ในรูป dimer [Borogad, 1975] พบว่าการใช้เมมเบรนขนาด 50 kDa จะใช้เวลาน้อยกว่าถึง 4 เท่า และสามารถเพิ่มความบริสุทธิ์ของสารสกัดหยาบไฟโคไซยานินจาก 0.65 เป็น 0.82 ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงนำสารละลายไฟโคไซยานินมาผ่านระบบการกรองอัลตราฟิลเตรชันโดยเลือกใช้เมมเบรนขนาด 50 kDa ซึ่งกระบวนการนี้แยกสารได้ 2 ส่วนคือ 1. ส่วนของเพอมีเอท (permeate) ที่ประกอบด้วยน้ำ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์และโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลต่ำกว่าขนาดของเมมเบรน 2. ส่วนของสารละลายไฟโคไซยานินที่ต้องการซึ่งจะถูกกักไว้ในเมมเบรนเรียกว่า รีเทนเตท (retentate) ขั้นตอนนี้จะมีการกำจัดน้ำรวมทั้งสารละลายฟอสเฟตออกจากตัวอย่างประมาณร้อยละ 90 ของปริมาณสารละลายไฟโคไซยานินเริ่มต้นได้เป็นสารละลายไฟโคไซยานินเข้มข้นที่มีความเข้มข้นและความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 18

สารละลายไฟโคไซยานินเข้มข้นทั้ง 3 ตัวอย่าง หลังผ่านเมมเบรน 50 kDa มีค่าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 10.6, 2.0 และ 10.7 mg/ml สำหรับสารละลายไฟโคไซยานินของตัวอย่างสไปรูลินาที่ทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง ด้วยการอบแห้งด้วยตู้อบ และการตากแดด ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายไฟโคไซยานินที่ได้จากการสกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ในขั้นตอนแรกพบว่า สารละลายไฟโคไซยานินทั้ง 3 ตัวอย่าง มีความเข้มข้นของไฟโคไซยานินเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกันคือ เพิ่มขึ้นประมาณ 8.5 เท่า ดังข้อมูลในตารางที่ 13

**ตารางที่ 13** ความเข้มข้นของสารไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง  
 อบแห้งด้วยตู้อบ และการตากแดด หลังผ่านกระบวนการสกัด ระบบการกรองไมโครฟิลเตรชัน  
 และระบบการกรองอัลตราฟิลเตรชัน

ขั้นตอนการทำให้ ไฟโคไซยานินบริสุทธิ์	ความเข้มข้นของสารไฟโคไซยานิน* (mg/ml)		
	อบแห้งแบบแช่แข็ง	อบแห้งด้วยตู้อบ	ตากแดด
<b>กระบวนการสกัด*</b>			
CPC	0.93±0.02	0.18±0.01	0.97±0.02
APC	0.29±0.02	0.06±0.01	0.28±0.00
CPC+APC	1.22±0.04	0.24±0.02	1.25±0.02
<b>ระบบการกรองไมโครฟิลเตรชัน</b>			
เมมเบรนขนาด 5 µm			
CPC	0.84±0.00	0.17±0.02	0.87±0.02
APC	0.25±0.01	0.05±0.01	0.24±0.00
CPC+APC	1.09±0.01	0.22±0.03	1.12±0.02
เมมเบรนขนาด 0.8/0.2 µm			
CPC	0.77±0.01	0.16±0.01	0.83±0.02
APC	0.22±0.01	0.05±0.01	0.23±0.01
CPC+APC	0.99±0.01	0.21±0.01	1.06±0.02
<b>ระบบการกรองอัลตราฟิลเตรชัน</b>			
เมมเบรนขนาด 50 kDa			
CPC	8.48±0.54	1.65±0.15	8.94±0.47
APC	2.10±0.14	0.35±0.04	1.78±0.33
CPC+APC	10.58±0.50	2.00±0.18	10.72±0.73
ความเข้มข้น CPC+APC ที่เพิ่มขึ้น	8.67	8.33	8.58
เทียบกับกระบวนการสกัด (เท่า)			

\* ค่าความเข้มข้นของซีไฟโคไซยานิน (CPC) รวมกับอัลโลไฟโคไซยานิน (APC)

\*\* กระบวนการสกัด หมายถึง การสกัดไฟโคไซยานินด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์และปั่นเหวี่ยงตกตะกอนกากเซลล์  
 เรียบร้อยแล้ว



ก ข ค

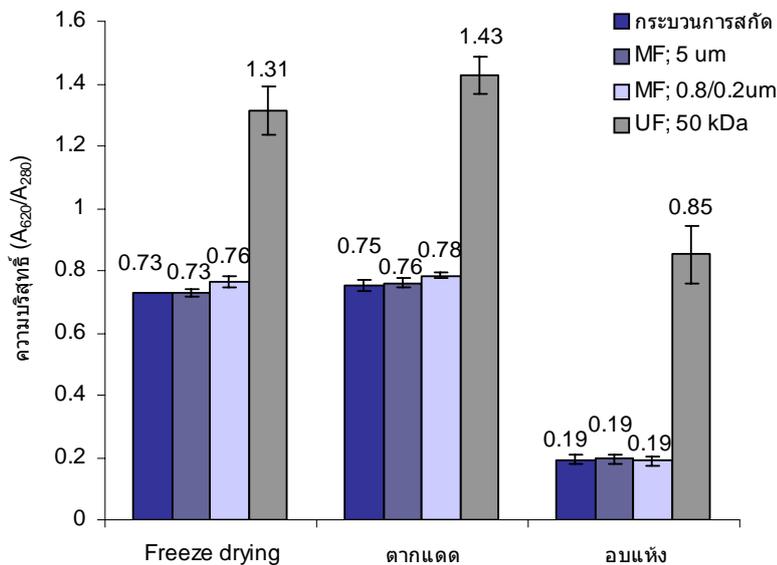
**รูปที่ 18** สารละลายไฟโคไซยานินเข้มข้นหลังผ่านระบบการกรองอัลตราฟิลเตรชัน ด้วยเมมเบรนขนาด 50 kDa

ก) อบแห้งแบบแช่แข็ง

ข) ตากแดด

ค) อบแห้งด้วยตู้อบ

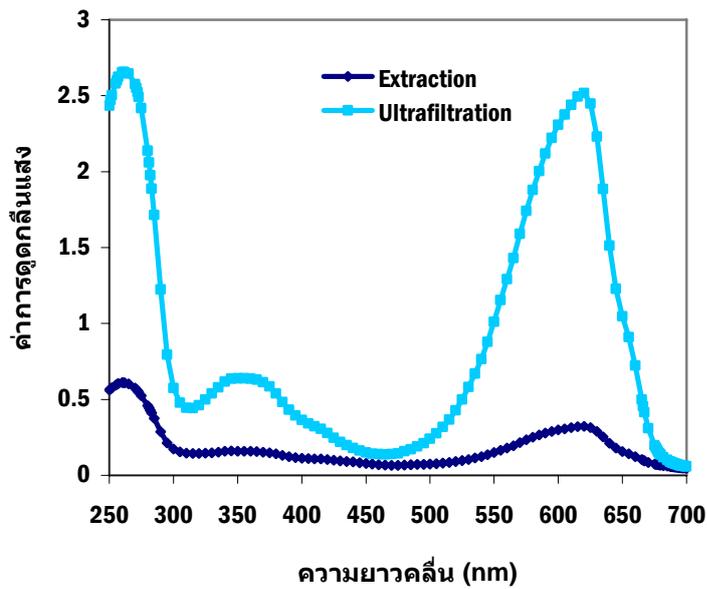
ค่าความบริสุทธิ์ ( $A_{620}/A_{280}$ ) ของสารสกัดไฟโคไซยานินเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญต่อการนำไฟโคไซยานินไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ตามที่กล่าวมาคือ ถ้าค่าความบริสุทธิ์ช่วง 0.8-2.0 จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง [Herrera และคณะ 1989; Bhaskar และคณะ 2005] ค่าความบริสุทธิ์มากกว่า 2.0 นำไปประยุกต์ใช้ด้านงานวิเคราะห์และด้านการแพทย์ [Bhaskar และคณะ 2005; Patil และคณะ 2006] จากการนำสารละลายไฟโคไซยานินที่ผ่านขั้นตอนต่าง ๆ มาวิเคราะห์ค่าความบริสุทธิ์ ( $A_{620}/A_{280}$ ) พบว่า ค่าความบริสุทธิ์ของสารสกัดไฟโคไซยานินจะสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของไฟโคไซยานินคือ ตัวอย่างสำหรับสายสไปรูลิน่าที่มีค่าความเข้มข้นของไฟโคไซยานินสูงก็จะมีค่าความบริสุทธิ์สูงด้วยเช่นกัน



**รูปที่ 19** ค่าความบริสุทธิ์ของสารละลายไฟโคไซยานินหลังผ่านกระบวนการสกัด, การกรองแบบไมโครฟิลเตรชัน (MF) และอัลตราฟิลเตรชัน (UF) ที่สกัดได้จากสายสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง (freeze drying) ทำแห้งด้วยการตากแดด และอบแห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C

จากกราฟรูปที่ 19 เห็นได้ว่า ระบบการกรองไมโครฟิลเตรชันด้วยเมมเบรนขนาด 5  $\mu\text{m}$  และ 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  ไม่มีผลทำให้ค่าความบริสุทธิ์ของสารละลายไฟโคไซยานินเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการกรองด้วยเมมเบรนไมโครฟิลเตรชัน อนุภาคที่ถูกกรองออกจากสารละลายไฟโคไซยานินส่วนใหญ่เป็นอนุภาคของกากเซลล์สาหร่าย ขณะที่อนุภาคของโปรตีนซึ่งมีขนาดเล็กและละลายน้ำป็นอยู่ในสารละลายไฟโคไซยานินยังไม่ถูกกรองแยกออก ทำให้ค่าความบริสุทธิ์ซึ่งคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของซีไฟโคไซยานินที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ส่วนด้วยค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ( $A_{620}/A_{280}$ ) ไม่เปลี่ยนแปลง โดยค่าความบริสุทธิ์ของสารละลายไฟโคไซยานินที่ทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งที่ผ่านการสกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และผ่านการกรองไมโครฟิลเตรชันด้วยเมมเบรนขนาด 5  $\mu\text{m}$  และ 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  มีค่าใกล้เคียงกันคือ ประมาณ 0.73 ขณะที่สารละลายไฟโคไซยานินของเซลล์ที่ทำแห้งด้วยการตากแดด เมื่อสกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์และผ่านเมมเบรนทั้ง 2 ขนาด มีค่าความบริสุทธิ์ประมาณ 0.76 อย่างไรก็ตาม สารละลายไฟโคไซยานินของเซลล์ที่ทำแห้งด้วยการอบแห้งที่ตู้อบอุณหภูมิ 70 °C มีค่าความบริสุทธิ์ประมาณ 0.19 ซึ่งน้อยกว่าการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็งและการตากแดดประมาณ 4 เท่า และพบว่า สารละลายไฟโคไซยานินที่ผ่านระบบการกรองไมโครฟิลเตรชันด้วยเมมเบรนขนาด 5  $\mu\text{m}$  และ 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  จะสามารถลดปริมาณกากเซลล์ขนาดเล็กที่ไม่ตกตะกอนเมื่อนำไปปั่นเหวี่ยงและเหลือป็นอยู่ในสารละลายไฟโคไซยานินได้ประมาณร้อยละ 25-30 ของปริมาณกากเซลล์เริ่มต้น (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

เมื่อวิเคราะห์ค่าความบริสุทธิ์สารละลายไฟโคไซยานินของเซลล์ที่ทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง ทำแห้งด้วยการตากแดด และด้วยการอบแห้งที่ตู้อบอุณหภูมิ 70 °C จากผลการทดลองพบว่า สารละลายไฟโคไซยานินเข้มข้นทั้ง 3 ตัวอย่างมีค่าความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นเป็น 1.31, 1.43 และ 0.85 ตามลำดับ ดังกราฟรูปที่ 19 โดยมีค่าความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นจากกระบวนการไมโครฟิลเตรชันหลังผ่านเมมเบรน 0.8/0.2  $\mu\text{m}$  1.7, 1.8 และ 4.5 เท่า ตามลำดับ และเห็นได้ว่าทั้ง 3 ขั้นตอนของการผลิตสารสกัดไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลินาวิธีการทำแห้งด้วยการอบแห้งโดยใช้ตู้อบที่อุณหภูมิ 70 °C จะได้สารละลายไฟโคไซยานินที่มีค่าความบริสุทธิ์ต่ำกว่าการใช้สาหร่ายสไปรูลินาที่ทำแห้งโดยการตากแดดและอบแห้งแบบแช่แข็งมาเป็นวัตถุดิบของการสกัด



รูปที่ 20 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไฟโคไซยานินที่สกัดด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Extraction) และสารละลายไฟโคไซยานินเข้มข้นหลังผ่านกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) ที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็ง

### 1.3 การทำแห้งและการศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดไฟโคไซยานิน

สารละลายไฟโคไซยานินเข้มข้นทั้ง 3 ตัวอย่าง เมื่อทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่แข็ง จะได้สารสกัดไฟโคไซยานินลักษณะเป็นผงสีฟ้า โดยสารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ทำแห้งโดยวิธีอบแห้งด้วยตู้อบมีสีน้ำเงินอ่อน ขณะที่สารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็ง และตากแดดมีสีน้ำเงินเข้ม ดังรูปที่ 21



อบแห้งแบบแช่แข็ง

ตากแดด

อบแห้งด้วยตู้อบ

รูปที่ 21 สารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดจากสาหร่ายสไปรูลิน่าซึ่งผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ

ปริมาณผลผลิต (yield) ของสารสกัดไฟโคไซยานินที่ได้จากการใช้วัตถุดิบสไปรูลินาที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธีในปริมาณที่เท่ากันคือ 15 กรัม นำมาผ่านกระบวนการสกัดและทำให้ไฟโคไซยานินบริสุทธิ์โดยวิธีการเดียวกันตามที่กล่าวมาข้างต้น พบว่า สไปรูลินาที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งและตากแดดได้สารสกัดไฟโคไซยานิน 5.7 และ 5.2 กรัม ตามลำดับ ขณะที่สไปรูลินาที่ผ่านการทำแห้งด้วยการใช้ตู้อบได้สารสกัดไฟโคไซยานินต่ำกว่าถึง 2 เท่า คือประมาณ 2.9 กรัม ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 38.2, 34.9 และ 19.3 ของน้ำหนักสารสไปรูลินาแห้งตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและปริมาณซีไฟโคไซยานินของสารสกัดไฟโคไซยานิน พบว่า สารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดจากสารสไปรูลินาที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งและตากแดดมีปริมาณโปรตีนสูงคือประมาณร้อยละ 44 ของน้ำหนักไฟโคไซยานินแห้งซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดไฟโคไซยานินจากสารสไปรูลินาที่จำหน่ายโดยบริษัท SIGMA ซึ่งมีโปรตีนประมาณร้อยละ 40 (product number P2172; WWW.sigmaaldrich.com) ขณะที่สารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดจากสารสไปรูลินาที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งมีปริมาณโปรตีนต่ำคือประมาณร้อยละ 19 ของน้ำหนักไฟโคไซยานินแห้ง เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของซีไฟโคไซยานินในสารสกัด พบว่ามีค่าสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนในสารสกัด คือสารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดจากสารสไปรูลินาที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งและตากแดด ซึ่งมีปริมาณโปรตีนสูง จะมีปริมาณของซีไฟโคไซยานินสูงเช่นกันโดยคิดเป็นร้อยละ 44.0 และ 46.8 ของน้ำหนักไฟโคไซยานินแห้งตามลำดับ ส่วนสารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดจากสารสไปรูลินาที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีปริมาณของซีไฟโคไซยานินต่ำกว่าประมาณ 3.6-3.8 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าในสารสกัดไฟโคไซยานินยังประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 8-14 ของไฟโคไซยานินแห้ง และมีความชื้นอยู่ในช่วง 3.7-5.5 ของไฟโคไซยานินแห้ง ซึ่งสูงกว่าไฟโคไซยานินเกรดอาหารของบริษัท SIGMA ที่กำหนดค่าความชื้นไม่เกินร้อยละ 3 (product number P2172; WWW.sigmaaldrich.com) ข้อมูลองค์ประกอบของสารสกัดไฟโคไซยานินแสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 องค์ประกอบของสารสกัดไฟโคไซยานินจากสารสไปรูลินาที่ทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ

วิธีทำแห้ง สไปรูลินา	สารสกัดไฟโคไซยานิน (ร้อยละของสารแห้ง)	องค์ประกอบ (ร้อยละของไฟโคไซยานินแห้ง)			
		โปรตีน	CPC	คาร์โบไฮเดรต	ความชื้น
อบแห้งแบบแช่แข็ง	38.2±1.2	44.7±2.0	44.0±4.1	10.2±1.5	5.4±0.6
อบแห้งด้วยตู้อบ	19.3±0.7	18.7±0.4	12.2±0.2	14.4±0.3	5.5±0.4
ตากแดด	34.9±2.7	44.5±2.8	46.8±4.9	8.4±0.3	3.7±0.8

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักสารหนู (As) แคดเมียม (Cd) และตะกั่ว (Pb) ในสารสกัดไฟโคไซยานินทั้ง 3 ตัวอย่าง พบว่า ไม่พบการตกค้างของโลหะหนักสารหนู (As) ในสารสกัดไฟโคไซยานินทั้ง 3 ตัวอย่าง ส่วนโลหะหนักแคดเมียม (Cd) และตะกั่ว (Pb) ทั้ง 3 สารสกัด พบในปริมาณที่ใกล้เคียงกันคือ ประมาณ 1.0-1.2 และ 0.4-0.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังตารางที่ 15 ซึ่งอาจเป็นเพราะสารเคมีคือ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ ) และไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ ) ที่ใช้เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์สำหรับสกัดไฟโคไซยานินมีโลหะหนักทั้งสองชนิดตกค้างอยู่ ซึ่งจากวิเคราะห์พบว่าโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตมีโลหะหนักแคดเมียม (Cd) และตะกั่ว (Pb) ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณ 0.270

และ 0.647 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ขณะที่สารไดโทแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตมีโลหะหนัก แคดเมียม (Cd) และตะกั่ว (Pb) ปนเปื้อนอยู่ 0.198 และ 0.201 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

**ตารางที่ 15** ปริมาณโลหะหนักในสารสกัดไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ

วิธีทำแห้งสไปรูลิน่า	โลหะหนัก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	สารหนู (As)	แคดเมียม (Cd)	ตะกั่ว (Pb)
อบแห้งแบบแช่แข็ง	ไม่พบ	1.059±0.080	0.589±0.006
อบแห้งด้วยตู้อบ	ไม่พบ	1.007±0.042	0.472±0.022
ตากแดด	ไม่พบ	1.212±0.087	0.412±0.001

เพื่อทราบว่าการสกัดไฟโคไซยานินออกจากเซลล์แห้งสไปรูลิน่าทั้ง 3 ตัวอย่าง ด้วยการใช้ฟอสเฟต บัฟเฟอร์จะสกัดไฟโคไซยานินออกจากเซลล์ได้สมบูรณ์มากน้อยเพียงใด ขณะเดียวกันคาดว่าหากเซลล์ สาหร่ายสไปรูลิน่าอาจมีสารที่นำไปใช้ประโยชน์ได้เหลืออยู่ จึงนำกากเซลล์ดังกล่าวมาวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีนและไฟโคไซยานิน ดังผลในตารางที่ 16 พบว่า เซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีอบแห้ง แบบแช่แข็ง และตากแดด จะสกัดไฟโคไซยานินได้ประมาณร้อยละ 90 ของปริมาณไฟโคไซยานินทั้งหมด โดยมีไฟโคไซยานินเหลืออยู่ในกากเซลล์เพียงร้อยละ 1.9 ของน้ำหนักกากเซลล์แห้ง ขณะที่เซลล์สไปรูลิน่าซึ่งทำ แห้งด้วยการอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดไฟโคไซยานินได้ต่ำกว่าคือประมาณร้อยละ 50 ของปริมาณ ไฟโคไซยานินทั้งหมด ส่วนปริมาณโปรตีนในกากเซลล์พบว่ากากเซลล์สไปรูลิน่ามีโปรตีนเหลืออยู่ประมาณ ร้อยละ 36-42 ของน้ำหนักกากเซลล์แห้ง

**ตารางที่ 16** ปริมาณโปรตีนและไฟโคไซยานินในกากเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าที่สกัดไฟโคไซยานินแล้ว

วิธีการทำแห้งสไปรูลิน่า	โปรตีน (ร้อยละของน้ำหนักเซลล์แห้ง)		ไฟโคไซยานิน (ร้อยละของน้ำหนักเซลล์แห้ง)	
	เซลล์ก่อนสกัด	กากเซลล์	เซลล์ก่อนสกัด	กากเซลล์
	อบแห้งแบบแช่แข็ง	54.8±1.7	36.0±1.1	20.9±0.2
อบแห้งด้วยตู้อบ	55.4±1.8	47.4±0.8	3.9±0.1	1.9±0.2
ตากแดด	53.9±2.7	42.0±1.3	19.7±0.6	1.8±0.1

สรุปได้ว่าการใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีที่แตกต่างกันมาเป็นวัตถุดิบในการสกัดไฟโคไซยานิน พบว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อองค์ประกอบไฟโคไซยานินภายในเซลล์ ซึ่งองค์ประกอบไฟโคไซยานินภายในเซลล์จะสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของสารสกัดไฟโคไซยานินที่ได้ จากงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดไฟโคไซยานินที่สกัดได้จากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการทำแห้งโดยวิธีอบแห้งแบบแช่แข็งและทำแห้งด้วยการตากแดด ซึ่งสกัดได้ประมาณร้อยละ 35 ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง มีค่าความเข้มข้นของไฟโคไซยานิน 10.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความบริสุทธิ์สูง 1.3-1.4 สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางได้