



บทความวิจัย

การสกัดเซลล์ลูโลสจากไซยาโนแบคทีเรียโนสตอกเพื่อเป็นแหล่งพลังงานทางเลือก

นิศารัตน์ เพชรพรม¹ วศิน เจริญหมั่น¹ บงกช บุญบุรพงค์¹ อภรณ์ บัวหลวง² และ สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ^{1*}

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เขตพัฒนา กรุงเทพฯ 10100

²วิทยาลัยแพทยศาสตร์นานาชาติจุฬาภรณ์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

ข้อมูลบทความ

Article history

รับ : 22 กรกฎาคม 2564

แก้ไข : 3 สิงหาคม 2564

ตอบรับการตีพิมพ์ : 29 สิงหาคม 2564

ตีพิมพ์ออนไลน์ : 30 กันยายน 2564

คำสำคัญ

ไซยาโนแบคทีเรีย

เซลล์ลูโลส

ผลผลิต

บทคัดย่อ

ไซยาโนแบคทีเรียมีเซลล์ลูโลสเป็นองค์ประกอบสามารถนำไปย่อยให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลังงานทดแทนได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในสกัดเซลล์ลูโลสจากไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc sp.* และ ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส นำเซลล์ *Nostoc sp.* แห่งมาสกัดเซลล์ลูโลสตามขั้นตอนดังนี้ 1) กำจัดคลอโรฟิลล์โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร 2) กำจัดลิวตินโดยใช้เฮกเซนความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร 3) กำจัดโปรตีนโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ 4) ฟอกขาวโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10, 20 และ 30 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่า ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเซลล์ลูโลสจาก *Nostoc sp.* คือ กำจัดคลอโรฟิลล์โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร กำจัดลิวตินโดยใช้เฮกเซนความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร กำจัดโปรตีนโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ ฟอกขาวโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ตามลำดับ ให้ร้อยละผลผลิตเซลล์ลูโลสเท่ากับ ร้อยละ 78.92 นำเซลล์ลูโลสจาก *Nostoc sp.* ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่า *Nostoc sp.* ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 27.45 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ลูโลส จากการศึกษานี้อธิบายได้ว่า เซลล์ลูโลสจาก *Nostoc sp.* สามารถย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์สามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในผลิตพลังงานทดแทนได้

บทนำ

ปัจจุบันความต้องการใช้พลังงานของมนุษย์ในด้านอุตสาหกรรมต่างๆ และการใช้ชีวิตประจำวันมีมากขึ้นส่งผลกระทบต่อแหล่งพลังงานที่ใช้แล้วหมดไป เช่น แหล่งน้ำมันดิบ หรือ ถ่านหิน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการแสวงหาแหล่งพลังงานทดแทนในรูปแบบอื่นๆ มาใช้ เช่น พลังงานลม พลังงานน้ำ และ ชีวมวล โดยเฉพาะชีวมวลที่ได้จากผลผลิตทางการเกษตรที่ได้จากพืชสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนได้ เช่น ไบโอดีเซล และ ไบโอดีทานอล Germeç et al., 2015; Gumienna et al., 2016;

Tamunaidu et al., 2013; Tsujik et al., 2011) สำหรับไบโอดีทานอลเป็นพลังงานทดแทนที่ได้จากการผสมกันระหว่างเอทานอลกับน้ำมันเบนซิน จัดเป็นแนวทางการใช้น้ำมันเบนซินลงด้วยการเพิ่มปริมาณเอทานอล การผลิตเอทานอลโดยทั่วไปใช้กระบวนการหมักน้ำตาลด้วยจุลินทรีย์แล้วได้เอทานอล จึงเป็นที่มาในการนำชีวมวลมาเป็นทางเลือกในการผลิตชีวมวลเนื่องจากเซลล์ลูโลสเป็นองค์ประกอบของพืชชีวมวล และ ถ้าย่อยเซลล์ลูโลสด้วยกระบวนการเฉพาะจะได้น้ำตาลซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการนำไปใช้ในการ

*Corresponding author

E-mail address: surasak2515@hotmail.com (S. Laloknam)

Online print: 30 September 2021 Copyright © 2021. This is an open access article, production and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University.

หมักเอทานอล (Klaichom et al., 2011; Soontornchaiboon & Pawongrat, 2013)

เซลล์ลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ส่วนมากพบเซลล์ลูโลสในพืชบริเวณผนังเซลล์ประมาณร้อยละ 97-99 มีการนำเซลล์ลูโลสและอนุพันธ์ของเซลล์ลูโลสมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ เช่น อาหาร ยา เครื่องสำอาง ผงซักฟอก กระดาษ และ สิ่งทอ ประเทศไทยมีการนำเข้าเซลล์ลูโลสและอนุพันธ์ของเซลล์ลูโลสจากต่างประเทศทำให้เกิดผลกระทบต่อทางด้านเศรษฐกิจ ทำให้ประเทศสูญเสียเงินในการจัดซื้อวัตถุดิบ จึงส่งผลให้ต้นทุนการผลิตและราคาสินค้าที่มีเซลล์ลูโลสเป็นองค์ประกอบสูงขึ้น (Behera et al., 2014; Capolupo & Faraco, 2016; Kurokochi & Sato, 2020; Satari et al., 2019) อย่างไรก็ตามมีรายงานการสกัดเซลล์ลูโลสในพืชหลายชนิด เช่น ขานอ้อย ผักตบชวา และ ฐฤๅษี ทำการสกัดเซลล์ลูโลส ด้วยตัวทำละลายหลายชนิด เช่น เมทานอล และ เอทานอล แล้วฟอกขาวด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ที่อุณหภูมิ 60°C แล้วติดตามความบริสุทธิ์ของเซลล์ลูโลสโดยการย่อยเส้นใยที่ได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริก สำหรับการสกัดเซลล์ลูโลสจากเปลือกกล้วยใช้ตัวทำละลายเอทานอลแซในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิ 50°C ฟอกสีเซลล์ลูโลสโดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และติดตามความขาวของเซลล์ลูโลสด้วยการวัดค่าสี (Charoenman et al., 2021; Punyanunt et al., 2018; Laloknam et al., 2017; Song et al., 2019; Szyman'ska et al., 2017) นอกจากเซลล์ลูโลสจะพบในพืชแล้วยังสามารถพบในสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น เห็ด สาหร่าย และ ไซยาโนแบคทีเรีย (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) โดยไซยาโนแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดโพรคาริโอต มีรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้นจึงมีการนำไซยาโนแบคทีเรียไปใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น การเกษตร อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง การบำบัดน้ำเสีย และ พลังงานทดแทน (Acevedo & Garcia, 2006; Bualuang et al., 2013; Danyuttasilp & Laloknam, 2013; Laloknam et al., 2014; Laloknam & Naktong, 2016; Poolsawasdi et al., 2015; Sarma et al., 2016; Shen et al., 2017; Suktalord et al., 2016; Thajuddin & Subramanian, 2005)

เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าพืช จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาเพิ่มผลผลิตใช้ในการสกัดเซลล์ลูโลส ในการวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเซลล์ลูโลสจากไซยาโนแบคทีเรียเนื่องจากการรายงานการสกัดเซลล์ลูโลสจากไซยาโนแบคทีเรียยังมีไม่แพร่หลาย และงานวิจัยนี้ทำการศึกษาเกี่ยวกับไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc* sp. ซึ่งมีรายงานว่าเซลล์ลูโลสเป็นองค์ประกอบ (Nobles et al., 2001; Tsolcha et al.,

2021; Zanchetta et al., 2021) เมื่อได้เซลล์ลูโลสที่สกัดได้จาก *Nostoc* sp. แล้วทำการศึกษาคุณภาพและผลผลิต จากนั้นทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสให้ได้เป็นน้ำตาลรีดิคซ์เพื่อวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการนำ *Nostoc* sp. ไปใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทน เนื่องจากน้ำตาลรีดิคซ์สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอล และนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

การเตรียมไซยาโนแบคทีเรีย Nostoc sp.

ทำการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียตามวิธีของ Laloknam et al. (2014) โดยนำเซลล์ *Nostoc* sp. ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเหลวชนิด BG11 พีเอช 7.5 ที่เตรียมใหม่ 100 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้แสงสีขาว 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25°C เป็นระยะเวลา 14 วัน จากนั้นทำการรวบรวมตะกอนเซลล์โดยนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที และนำตะกอนเซลล์มาอบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

การหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเซลล์ลูโลสจาก Nostoc sp.

การสกัดคลอโรฟิลล์

ซึ่งเซลล์ *Nostoc* sp. อบแห้ง จำนวน 1 กรัม นำไปสกัดคลอโรฟิลล์ออกจากด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟกำลัง 400 วัตต์ ระยะเวลา 15 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที เทส่วนใสเก็บไว้สังเกตสีที่ได้ และวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธีของ (Wellburn, 1994) จากนั้นทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง จนสังเกตเห็นว่าสีของส่วนใสไม่มีการเปลี่ยนแปลง แล้วนำตะกอนไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งผลผลิต ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำเซลล์ *Nostoc* sp. อบแห้งที่ผ่านการสกัดคลอโรฟิลล์ออก โดยความเข้มข้นของเอทานอลที่สามารถสกัดคลอโรฟิลล์ได้สูงสุด คือ ความเข้มข้นที่ถูกเลือกใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

การสกัดลิพิด

ซึ่งเซลล์นอกตอกอบแห้งที่ผ่านการสกัดคลอโรฟิลล์ออกแล้ว จำนวน 1 กรัม นำไปสกัดลิพิดออกจากด้วยเฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแยกด้วยกรวยแยกสารละลายชั้นบนที่เป็นเฮกเซน ไประเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator แล้วชั่งลิพิดที่ได้ (Camongol et al., 2017; Laloknam et al., 2010) สำหรับสารละลายส่วนใสชั้นล่าง

นำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งและนำตะกอนที่ได้ทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง จนปริมาณลิวินินที่ได้ลดลงเหลือน้อยกว่าร้อยละ 20 จากการสกัดครั้งแรกเริ่มต้น แล้วนำตะกอนไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งผลผลิต ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำเซลล์ *Nostoc* sp. อบแห้งที่ผ่านการสกัดคลอโรฟิลล์และลิวินินออกแล้ว โดยความเข้มข้นของเฮกเซนที่สามารถสกัดลิวินินได้สูงสุด คือ ความเข้มข้นที่ถูกเลือกใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

การสกัดโปรตีน

ซึ่งเซลล์ *Nostoc* sp. อบแห้งที่ผ่านการสกัดคลอโรฟิลล์และลิวินินออกแล้ว จำนวน 1 กรัม นำไปสกัดโปรตีนออกด้วย สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องนึ่งความดันไอสูง (Autoclave) อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 1 บรรยากาศ เป็นระยะเวลา 15 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที ระยะเวลา 10 นาที เทส่วนใสแล้วนำไปหาปริมาณ โปรตีนโดยวิธีของ Bradford (1976) และ นำตะกอนที่ได้ทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง จนปริมาณโปรตีนที่ได้ลดลง เหลือน้อยกว่าร้อยละ 20 จากการสกัดครั้งแรกเริ่มต้น แล้วนำตะกอนไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C เป็น ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งผลผลิต ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำเซลล์ *Nostoc* sp. อบแห้งที่ผ่านการสกัดคลอโรฟิลล์ ลิวินิน และโปรตีนออกแล้ว โดยความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด คือ ความเข้มข้นที่ถูกเลือกใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

การฟอกขาว

ซึ่งเซลล์ *Nostoc* sp. อบแห้งที่ผ่านการสกัดคลอโรฟิลล์ ลิวินิน และโปรตีนออกแล้ว จำนวน 1 กรัม นำไปฟอกขาว ด้วยสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 20 และ 30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ กำลังปานกลาง เป็นระยะเวลา 15 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง และสังเกตสีของตะกอน จากนั้นนำตะกอนที่ได้มาทำการฟอกขาวซ้ำ จนสีตะกอนเซลล์คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงจากการฟอกขาว แล้วนำตะกอนไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งผลผลิต ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Charoenman et al., 2021) จากนั้นนำเซลล์ *Nostoc* sp. อบแห้งที่ผ่านการสกัดคลอโรฟิลล์ ลิวินิน โปรตีน และฟอกขาวแล้ว โดยความเข้มข้นของโซเดียมไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่

สามารถสกัดโปรตีนได้สูงสุด คือ ความเข้มข้นที่ถูกเลือกใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

การศึกษาคุณภาพและผลผลิตของเซลล์ที่ถูกสกัดได้จาก *Nostoc* sp.

นำเซลล์ที่ถูกผ่านการสกัดทุกขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น มาศึกษาคุณภาพและผลผลิต ดังนี้ 1) วัดความขาวจากการฟอกสี เริ่มจากบันทึกภาพเซลล์ที่ถูกผ่านการสกัดจาก *Nostoc* sp. ทุกขั้นตอน จากนั้นวิเคราะห์ค่าสีในระบบ RGB ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop เพื่อสังเกตความขาวของเซลล์ที่ถูกสกัดได้จากตัวอย่างเปรียบเทียบกับความขาวของกระดาษกรอง ถ้าตัวอย่างมีความขาวใกล้เคียงกับกระดาษกรองจะมีค่า RGB ใกล้เคียงกัน วิธีการทำเปิดโปรแกรม Adobe Photoshop แล้วสังเกตที่บริเวณแสดงค่าสี RGB ทำการกำหนดตำแหน่งที่ต้องการวัดค่าสี จากรูปภาพที่ปรากฏบนจอภาพ โดยแบ่งภาพออกเป็น 9 ส่วน เท่ากันตามขวางและตามยาว แล้วทำการสังเกตค่าสีตรงกลางของแต่ละส่วน จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของค่าสี RGB ทำการแปลผลความขาวของตัวอย่างเซลล์กับกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 โดยถ้ามีความขาวใกล้เคียงกันจะมีค่าสี RGB เฉลี่ยแตกต่างกันไม่เกินร้อยละ 20 (Charoenman et al., 2021) 2) คำนวณหาร้อยละผลผลิต (% yield) ของเซลล์โดยนำค่าน้ำหนักของผลผลิตของขั้นตอนสุดท้ายหารด้วยขั้นตอนก่อนหน้าแล้วคูณด้วยร้อยละ 3) ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของเส้นใยเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ (Compound microscope)

การศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเซลล์ที่ถูกสกัดจาก *Nostoc* sp.

ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยเซลล์ที่ถูกสกัดจาก *Nostoc* sp. ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ดัดแปลงจาก Laloknam et al. (2017) ดังนี้ ซึ่งผงเอนไซม์รวม (Combizym) ที่มีเอนไซม์เซลลูเลส จำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที นำส่วนใสซึ่งเป็นตัวแทนเอนไซม์เซลลูเลสทำการทดลองต่อไป ชุดควบคุมใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 เป็นตัวแทนเซลล์บริสุทธิ์ โดยตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ซึ่ง จำนวน 0.1 กรัม เติมสารละลายเอนไซม์เซลลูเลส 1 มิลลิลิตร บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที นำส่วนใสไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitro salicylic acid ดัดแปลงจากวิธีของ Miller (1959) แล้วเปลี่ยนตัวอย่างจากกระดาษกรองเป็นเซลล์ที่ถูกสกัดจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านการสกัดในแต่ละขั้นตอน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองจากการวิจัยจัดทำทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย

ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเซลล์จาก *Nostoc sp.*

เมื่อนำเซลล์ *Nostoc sp.* อบแห้ง จำนวน 1 กรัม ไปทำการกำจัดคลอโรฟิลล์ โดยนำมาสกัดด้วยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) พบว่าตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร สามารถกำจัดคลอโรฟิลล์ได้สูงที่สุด ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Effects of ethanol concentration on chlorophyll contents from *Nostoc sp.* extraction (n = 3)

Ethanol conc. % (v/v)	Chlorophyll contents in supernatant (mg/g dry weight)
0	0.25±0.01 ^a
25	0.68±0.03 ^b
50	1.57±0.09 ^c
75	2.39±0.16 ^d
100	3.57±0.20 ^e

Note: a, b, ... is column mean to quality at $p < 0.05$ statistically significant confidence level.

จากนั้นนำเซลล์ *Nostoc sp.* อบแห้งที่ผ่านการกำจัดคลอโรฟิลล์ด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร จำนวน 1 กรัม มาทำการกำจัดลิพิด โดยสกัดด้วยเฮกเซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) พบว่าตัวทำละลายเฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร สามารถกำจัดลิพิดได้สูงที่สุด ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Effects of hexane concentration on lipid contents from *Nostoc sp.* extraction. (n = 3)

Hexane conc. % (v/v)	Lipid contents (mg/g dry weight)
0	0.0±0.0 ^a
25	54.0±2.7 ^b
50	105.0±6.3 ^c
75	152.0±9.9 ^d
100	213.0±11.7 ^e

Note: a, b, ... is column mean to quality at $p < 0.05$ statistically significant confidence level.

จากนั้นนำเซลล์ *Nostoc sp.* อบแห้งที่ผ่านการกำจัดคลอโรฟิลล์และลิพิดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ตามลำดับ มาสกัดโปรตีนโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สามารถกำจัดโปรตีนได้สูงที่สุด ดังแสดงใน Table 3

Table 3 Effects of NaOH concentration on protein contents from *Nostoc sp.* extraction. (n = 3)

NaOH conc. % (w/v)	Protein contents in supernatant (mg/g dry weight)
0	0.0±0.0 ^a
5	27.0±1.4 ^b
10	68.0±4.1 ^c
15	72.0±4.7 ^c
20	75.0±4.1 ^c

Note: a, b, ... is column mean to quality at $p < 0.05$ statistically significant confidence level.

และนำเซลล์ *Nostoc sp.* อบแห้งที่ผ่านการกำจัดคลอโรฟิลล์ ลิพิด และโปรตีน ด้วยตัวทำละลายเอทานอลเฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร และร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ มาทำการฟอกขาวด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 10, 20 และ 30 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) พบว่าความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่เหมาะสมในการฟอกขาว คือที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ดังแสดงใน Table 4

Table 4 Effects of hydrogen peroxide concentration on whitening of cellulose extracts from *Nostoc sp.* using RGB color system (n = 3)

samples	H ₂ O ₂ conc. (% (v/v))	RGB value		
		R	G	B
<i>Nostoc sp.</i>	10	115.7±6.9 ^a	113.4±6.1 ^a	109.2±5.5 ^a
	20	134.5±8.0 ^b	131.8±7.5 ^b	129.7±6.4 ^b
	30	143.2±8.5 ^c	146.4±8.2 ^c	147.3±7.6 ^c
Filterpaper (Whatman No.4)	-	173.5±10.4 ^d	176.2±9.6 ^d	178.1±8.9 ^d

Note: a, b, ... is column mean to quality at $p < .05$ statistically significant confidence level

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเซลล์จาก *Nostoc sp.* คือ กำจัดคลอโรฟิลล์ออกด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร กำจัดลิพิดออกด้วยเฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร

กำจัดโปรตีนออกจากด้วยสารละลายไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และทำการฟอกขาวด้วยสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยปริมาตรต่อปริมาตร โดยพบว่าสีของเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านกระบวนการสกัดตามภาวะดังกล่าว มีสีน้ำตาลอ่อน ดังแสดง Figure. 1b ในขณะที่เซลล์เริ่มต้นมีสีเขียวอมดำ ดังแสดง Figure 1a โดยในขั้นตอนการฟอกขาวมีผลทำให้ความเข้ม ของสีลดลง แต่ไม่สามารถทำให้เซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. มีความขาวที่ใกล้เคียงกับกระดาษกรอง (Figure 1c) ได้



Figure 1 Color comparisons of *Nostoc* sp. starting dry cells (a), *Nostoc* sp. cellulose after all chemical treatments (b), and Filter paper (c)

คุณภาพและผลผลิตของเซลลูโลสที่สกัดได้จาก *Nostoc* sp.

เมื่อพิจารณาค่าร้อยละผลผลิตของเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านการสกัดในขั้นตอนต่าง ๆ พบว่า ร้อยละผลผลิตของเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านขั้นตอนการสกัดทุกขั้นตอน (กำจัดคลอโรฟิลล์ ลิพิด โปรตีน และฟอกขาว) มีค่าเท่ากับ 78.92 โดยมีค่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 เมื่อเทียบกับร้อยละผลผลิตของเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดคลอโรฟิลล์ ลิพิด และโปรตีน ดังแสดงใน Figure 2

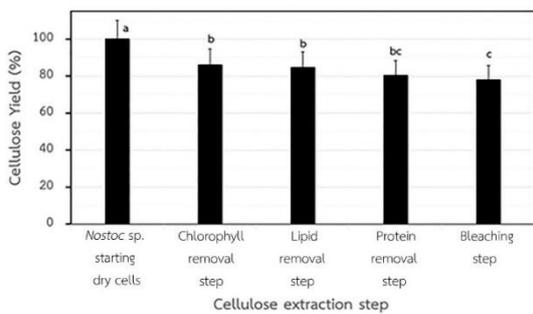


Figure 2 %Yield of cellulose from each cellulose extraction steps: *Nostoc* sp. starting dry cells, chlorophyll removal step using 100% v/v Ethanol, lipid removal step using 100% v/v Hexane, Protein removal step using 10% w/v NaOH, and bleaching step using 30% v/v H₂O₂. (n = 3, p < 0.005)

โดยเมื่อทำการศึกษาลักษณะของเส้นใยเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านการสกัดในขั้นตอนต่าง ๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะของเส้นใยเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. เป็นเส้นสายสั้นกว่าเส้นใยของกระดาษกรอง และโดยเมื่อผ่านขั้นตอนการสกัดโดยใช้สารเคมีที่มากขึ้น เส้นใยจะมีขนาดสั้นลง ดังแสดงใน Figure. 3

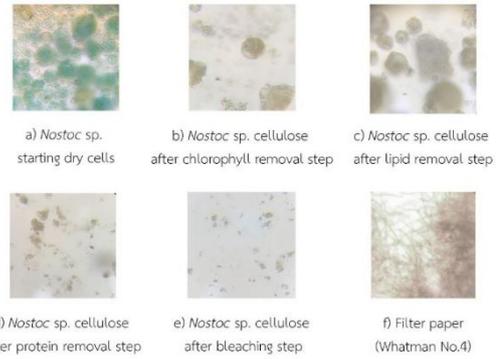


Figure 3 *Nostoc* sp. cellulose fibers from each extraction steps compared with filter paper (control) under compound microscope (400x). (a) *Nostoc* sp. starting dry cells, (b) Chlorophyll removal step using 100% v/v Ethanol, (c) Lipid removal step using 100% v/v Hexane, (d) Protein removal step using 10% w/v NaOH, (e) Bleaching step using 30% v/v H₂O₂, and (f) Filter paper.

เซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านขั้นตอนการสกัดทุกขั้นตอน (กำจัดคลอโรฟิลล์ ลิพิด โปรตีน และฟอกขาว) ที่ผ่านการบ่มกับเอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด เท่ากับ 29.58 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลลูโลส รองลงมาคือเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดคลอโรฟิลล์ ลิพิด และโปรตีน เท่ากับ 28.41 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลลูโลส โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น .05 ตามด้วยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้เซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดคลอโรฟิลล์ และลิพิด เท่ากับ 14.29 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลลูโลส ที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดคลอโรฟิลล์ เท่ากับ 6.37 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลลูโลส และ ตัวอย่างเซลล์แห้งเริ่มต้นให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้อยที่สุด เท่ากับ 3.41 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลลูโลส ดังแสดงใน

Figure 4

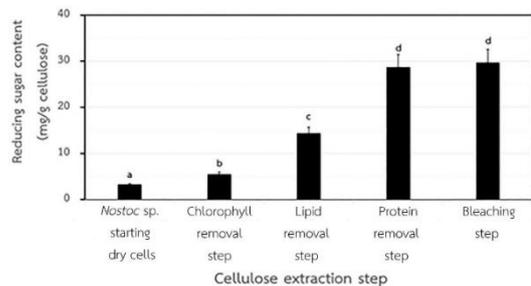


Figure 4 Reducing sugar contents of *Nostoc* sp. cellulose from each cellulose extraction steps: *Nostoc* sp. starting dry cells, chlorophyll removal step using 100% v/v Ethanol, lipid removal step using 100% v/v Hexane, Protein removal step using 10% w/v NaOH, and bleaching step using 30% v/v H₂O₂. (n = 3, p < 0.05)

ในขณะที่กระดาษกรองมาบ่มด้วยเอนไซม์เซลลูเลสสามารถตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 28.38 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลลูโลส (ไม่แสดงผลการศึกษา)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการทดลองพบว่า ร้อยละผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จาก *Nostoc* sp. คิดเป็นร้อยละ 77.82 ซึ่งได้ผลผลิตที่สูงกว่าการสกัดเซลลูโลสจากพืช โดยเปรียบเทียบกับผลการวิจัยก่อนหน้านี้ โดย Song et al. (2019) รายงานว่า ร้อยละผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากปอแก้ว หัวหอม และ ดอกรักอินเดีย คิดเป็นร้อยละ 50.7, 41.1, และ 64.1 ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc* sp. ในงานวิจัยนี้ใช้เวลาเพียง 14 วัน ในขณะที่พืชที่มีรายงานว่าสามารถใช้ในการผลิตเยื่อกระดาษชนิดต่างๆ เช่น พางข้าว อ้อย และ สับปะรด ต้องใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตนาน โดยมีอายุของการเพาะปลูกประมาณ 90 วัน หลังจากการเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว ในกรณีของต้นยูคาลิปตัสใช้ระยะเวลาหลายเดือน ดังนั้นไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc* sp. จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้เป็นแหล่งของเซลลูโลส จากการศึกษาลักษณะเส้นใยเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. พบว่ามีขนาดสั้นกว่าเส้นใยเซลลูโลสจากกระดาษกรอง จึงไม่เหมาะสมในการนำไปทำกระดาษ และหลังจากการฟอกขาวลักษณะปรากฏในด้านสี พบว่ามีสีน้ำตาลอ่อน โดยไม่ใกล้เคียงกับความขาวของกระดาษกรอง อาจเป็นเพราะในไซยาโนแบคทีเรียมีปริมาณรงควัตถุหลายชนิด เช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน และอื่นๆ โดยกระบวนการสกัดโดยใช้สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ไม่สามารถสกัดออกได้ (Laloknam et al., 2017) ดังนั้นแนวทางในการนำเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ไปใช้ประโยชน์ คือการใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลังงานทดแทน โดยการนำเซลลูโลสที่สกัดจาก *Nostoc* sp. มาทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส หรือ การย่อยด้วยกรด เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เอทานอลโดยผ่านกระบวนการหมัก (Capolupo & Faraco, 2016; Ibrahim et al., 2013; Kurokochi & Sato, 2020; Punyanunt et al., 2018; Satari et al., 2019; Song et al., 2019; Szyman'ska et al., 2017) โดยเมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านขั้นตอนการสกัดทุกขั้นตอน (กำจัดคลอโรฟิลล์ ลิพิด โปรตีน และฟอกขาว) กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ที่ผ่านขั้นตอนกำจัดคลอโรฟิลล์ ลิพิด และโปรตีน มีค่าที่ใกล้เคียงกัน หากต้องการนำการใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลังงานทดแทน เช่น เอทานอล ขั้นตอนการฟอกขาวจึงไม่มีความจำเป็น โดยสามารถลดขั้นตอนการสกัด และลดการใช้สารเคมีในกระบวนการสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยที่มีการรายงานเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมเพื่อนำมาผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ในการเป็นสารตั้งต้นของการผลิตเอทานอล (Behera et al., 2014; Camongol et al., 2017; Klaichom et al., 2011; Soontornchai boon &

Pawongrat, 2013) ดังนั้น *Nostoc* sp. จึงเป็นแหล่งทางเลือกที่น่าสนใจในผลิตพลังงานทดแทน โดยนำไปสกัดเซลลูโลสแล้วย่อยให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ให้ได้เอทานอลเพื่อนำไปใช้เป็นพลังงานทดแทนในรูปแบบไบโอเอทานอลได้

สรุปผลการวิจัย

ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ใช้อัตราส่วนของเซลล์แห้ง 1 กรัมต่อตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยมีลำดับขั้นตอนในการสกัดดังนี้ เริ่มด้วยการกำจัดคลอโรฟิลล์โดยใช้เอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร จากนั้นทำการกำจัดลิพิดโดยใช้เฮกเซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร และนำไปกำจัดโปรตีนโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และทำการฟอกขาวโดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยปริมาตรต่อปริมาตร โดยการสกัดเซลลูโลสจาก *Nostoc* sp. ตามขั้นตอนดังกล่าวให้ร้อยละผลผลิตของเซลลูโลสสูงถึง 77.82 และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเท่ากับ 29.58 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลลูโลส

References

- Behera, B.C., Parida, S., Dutta, S.K., & Thatoi, H.N. (2014). Isolation & identification of cellulose degrading bacteria from mangrove soil of Mahanadi river delta & their cellulase production ability. *American Journal of Microbiological Research*, 2(1), 41–46
- Bradford, M.M. (1976). A rapid & sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye–binding. *Analytical Chemistry*, 72 (1–2), 248–254.
- Bualuang, A., Kongwitthaya, S. & Laloknam, S. (2013). Application of Micro-Alga. *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 4(1), 72–79. (in Thai)
- Camongol, R.C., Agarin, R.A.B., & Panaligan, L.P. (2017). Determination of Fatty Acid Content of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Seed. *Asia Pacific Journal of Multidisciplinary Research*, 5(4), 47–50.
- Capolupo, L., & Faraco, V. (2016). Green methods of lignocellulose pretreatment for biorefinery development. *Applied microbiology & biotechnology*, 100(22), 9451–9467.

- Charoenman, V., Phetprom, N., Boonburapong, B., Bualuang, A., & Laloknam. (2021). Optimization of cellulose extraction from filamentous cyanobacteria. in *Proceedings of 14th University Research Network National Conference*. Bangkok: Srinakharinwirot University, 1,116–1,126. (in Thai)
- Danyuttasilp, Y. & Laloknam, S. (2013). Increasing of oxygen gas in waste water from Saen Sab Canal using filamentous Cyanobacteria. *Advance Science Journal*, 13(2), 24–34. (in Thai)
- Gemec, M., Turhan, I., Karhan, M., & Demirci, A. (2015). Ethanol production via repeated–batch fermentation from carob pod extract by using *Saccharomyces cerevisiae* in biofilm reactor. *Fuel*, 161, 304–311.
- Gumienna, M., Szwengiel, A., Szczepańska–Alvarez, A., Szambelan, K., Lasik–Kurdyś, M., Czamecki, Z., & Sitarski, A. (2016). The impact of sugar beet varieties & cultivation conditions on ethanol productivity. *Biomass & Bioenergy*, 85, 228–234.
- Ibrahim, M. M., El–Zawawy, W. K., Jüttke, Y., Koschella, A., & Heinze, T. (2013). Cellulose & microcrystalline cellulose from rice straw & banana plant waste: preparation & characterization. *Cellulose*, 20(5), 2403–2416.
- Klaichom, N., Srinophakun, P., & Thanapimmetha, A. (2011). Reducing sugar production from sweet sorghum bagasse by acid hydrolysis. *Kasetsart Engineering Journal*, 75, 91–102. (in Thai)
- Kurokochi, Y., & Sato, M. (2020). Steam treatment to enhance rice straw binderless board focusing hemicellulose & cellulose decomposition products. *Journal of Wood Science*, 66(1), 1–8.
- Laloknam, S., Bualuang, A., Boonburapong, B., Rai, V., Takabe, T., & Incharoensakdi, A. (2010). Salt stress induced glycine–betaine accumulation with amino & fatty acid changes in cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. *Asian Journal of Food & Agro–Industry*, 3(1), 25–34.
- Laloknam, S., Kanchitanurak, P., Boonburapong, B., Rai, V. & Kongvitthaya, S. (2014). Inorganic & Organic Compounds of Freshwater Filamentous Cyanobacteria under Normal & Salt Stress Conditions. *Journal of Chemistry & Chemical Engineering*, 8, 1059–1067.
- Laloknam, S. & Nakong, K. (2016). Potential of Phycocyanin–Producing Cyanobacteria in Sansab Canal. *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 7(2), 377–388. (in Thai)
- Laloknam, S., Panjapatanasiri, J., Sookchuay, N., & Klongkian, S. (2017). Cellulose extraction from Macro–Alga. in *Proceedings of 10th SWU Research National Conference*. Bangkok: Srinakharinwirot University, 701–711. (in Thai)
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426–428.
- Nobles, D. R., Romanovicz, D. K., & Brown Jr, R. M. (2001). Cellulose in cyanobacteria. Origin of vascular plant cellulose synthase?. *Plant physiology*, 127(2), 529–542.
- Poolsawasdi, A., Yadee, S., Boonburapong, B. & Laloknam, S. (2015). Potential of cyanobacterium *Oscillatoria* sp. SWU121 to promote the rice growth under salt stress condition. *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 6(2), 243–255. (in Thai)
- Punyanunt, S., Piyachomkwan, K., & Sriroth, K. (2018). Preparation & characterization of cellulose gel from cassava pulp for food applications. *King Mongkut’s Agricultural Journal*. 36(2), 106–116. (in Thai)
- Rivillas–Acevedo, L., & Soriano–García, M. (2006). Antimicrobial peptides from plants as mechanism of defense. *Actualidades Biológicas*, 28(85), 155–169.
- Satari, B., Karimi, K., & Kumar, R. (2019). Cellulose solvent–based pretreatment for enhanced second–generation biofuel production: a review. *Sustainable energy & fuels*, 3(1), 11–62.
- Sarma, M.K, Kaushik, S., & Goswami, P. (2016). Cyanobacteria: A metabolic power house for harvesting solar energy to produce bio–electricity & biofuels. *Biomass & Bioenergy*, 90, 187–201.
- Shen, Y., Gao, J., & Li, L. (2017). Municipal wastewater treatment via co–immobilized microalgal–bacterial symbiosis: microorganism growth & nutrients removal. *Bioresource Technology*, 1(243),905–913.
- Soontomchaiboon, W., & Pawongrat, R. (2013). Utilization of natural wastes as supporting materials for cell immobilization & its application for ethanol production. *Veridian E–Journal SU*, 6(1), 795–807. (in Thai)

- Song, K., Zhu, X., Zhu, W., & Li, X. (2019). Preparation & characterization of cellulose nanocrystal extracted from *Calotropis procera* biomass. *Bioresources & Bioprocessing*, 6(1), 1–8.
- Suktalord, P., Pratsaphan, R., Rakchad, S., Petchpool, T., Kerdsonbat, P., & Laloknam, S. (2016). The Use of Alga as Water Quality Indicator in Sansab Canal *Journal of Research Unit on Science, Technology & Environment for Learning*, 7(1), 14–27. (in Thai)
- Szymańska-Chargot, M., Chylińska, M., Gdula, K., Koziol, A., & Zdunek, A. (2017). Isolation & characterization of cellulose from different fruit & vegetable pomaces. *Polymers*, 9(10), 1–16.
- Tamunaidu, P., Matsui, N., Okimori, Y., & Saka, S. (2013). Nipa (*Nypa fruticans*) sap as a potential feedstock for ethanol production. *Biomass & bioenergy*, 52, 96–102.
- Thajuddin, N., & Subramanian, G. (2005). Cyanobacterial biodiversity & potential applications in biotechnology. *Current science*, 47–57.
- Tsolcha, O.N., Patrino, V., Economou, C.N., Dourou, M., Aggelis, G., & Tekerlekopoulou, A.G. (2021). Utilization of biomass derived from cyanobacteria-based agro-industrial wastewater treatment & raisin residue extract for bioethanol production. *Water*, 13(4), 486.
- Tsuji, K., Ghazalli, N.F., & Ariffin, Z. (2011). Biological & ethnobotanical characteristics of Nipa Palm (*Nypa fruticans* Wurmb.): A Review. *Sains Malaysiana*, 40 (12), 1407–1412.
- Wellburn, A.R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a & b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144(3), 307–313.
- Zanchetta, E., Damergi, E., Patel, B., Borgmeyer, T., Pick, H., Pulgarin, A., & Ludwig, C. (2021). Algal cellulose, production & potential use in plastics: Challenges & opportunities. *Algal Research*, 56, 102288

Research article

Cellulose extraction from cyanobacteria *Nostoc* sp. for alternative energy source

Nisarath Phetprom¹, Vasin Charoenman¹, Bongkoj Boonburapong¹,
Aporn Bualuang² and Surasak Laloknam^{1*}

¹Department of General Science, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Wattana, Bangkok 10110.

²Chulabhorn International College of Medicine, Thammasat University, Khlong Luang Khlong Luang, Pathumthani 12120

ARTICLE INFO**Article history**

Received: 22 July 2021

Revised: 3 August 2021

Accepted: 29 August 2021

Online published: 30 September 2021

Keyword

Cyanobacteria,

Cellulose

Yield

ABSTRACT

Cyanobacteria contains cellulose that can be hydrolyzed into reducing sugars utilized for biofuels production. This research aimed to optimize conditions for cellulose extraction of cyanobacteria, *Nostoc* sp. and to determine total reducing sugars after hydrolyzed by cellulase enzymes. Dried cyanobacteria *Nostoc* sp. cells were subjected to 4 steps cellulose extraction process with different solvent concentrations: 1) chlorophyll removal using 25, 50, 70 and 100 % (v/v) ethanol, 2) lipid removal using 25, 50, 70 and 100 % (v/v) hexane, 3) protein removal using 5, 10, 15, and 20 % (w/v) sodium hydroxide, and 4) bleaching process using 10, 20, and 30 % (v/v) hydrogen peroxide. The results showed that the optimal solvent concentration of cyanobacteria *Nostoc* sp. cellulose extraction process was 100 % (v/v) ethanol, 100 % (v/v) hexane, 10 % (w/v) sodium hydroxide, and 30 % (v/v) hydrogen peroxide with the average yield of 78.92%. Cyanobacteria *Nostoc* sp. cellulose was digested by cellulase to determine reducing sugar contents. The results showed that *Nostoc* sp. contains the reducing sugar contents 27.45 mg/g cellulose. This finding suggested that cyanobacteria *Nostoc* sp. cellulose could hydrolyzed into reducing sugars that can be used as renewable energy source.

*Corresponding author

E-mail address: surasak2515@hotmail.com (S. Laloknam)

Online print: 30 September 2021 Copyright © 2021. This is an open access article, production and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University.