

การสกัดสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์แบบสองขั้นตอน

จากวัสดุเหลือทิ้งสาหร่ายพวงองุ่น

Two-Step Extraction of Phenolic Compounds
and Polysaccharides from Green Caviar Residue

อมรรัตน์ เอ่งฉ้วน

อีเมล: 6351701282@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง

อีเมล: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์ แบบสองขั้นตอน จากวัสดุเหลือทิ้งสาหร่ายพวงองุ่น โดยศึกษาลำดับการสกัดจากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอล ร้อยละ 95 (อัตราส่วน 1:10 น้ำหนักโดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส) และน้ำ (อัตราส่วน 1:40 น้ำหนักโดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส) โดยการสกัดด้วยเอทานอลแล้วตามด้วยการ สกัดน้ำ ให้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดเอทานอลิก (A), ไฮโดรเอทานอลิก (D) และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (E) เท่ากับ 7.2 ± 0.46 , 28.3 ± 4.67 และ 3.0 ± 0.30 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกเท่ากับ 1.39 ± 0.39 , 1.26 ± 0.34 และ 9.89 ± 1.52 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมสารสกัด ตามลำดับ ขณะที่การสกัดด้วยน้ำและตามด้วยเอทานอล ให้ร้อยละผลผลิตของสารสกัด เอทานอลิก (B), ไฮโดรเอทานอลิก (C) และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (F) เท่ากับร้อยละ 29.28 ± 5.27 , 4.88 ± 1.93 และ 1.93 ± 0.03 โดยน้ำหนัก และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 0.68 ± 0.01 , 0.48 ± 0.01 และ 5.72 ± 0.48 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมสารสกัด ตามลำดับ จาก การหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าวิธีการสกัดโดยใช้เอทานอลแล้วตามด้วยน้ำ ให้ปริมาณรวม พอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดที่ 314.06 ± 4.58 มิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ในขณะที่วิธีการ สกัดด้วยน้ำตามด้วยเอทานอล ให้ปริมาณรวมพอลิแซ็กคาไรด์ เท่ากับ 188.17 ± 4.38 มิลลิกรัมสมมูล ของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สารสกัด พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดแบบสองขั้นตอนโดยการสกัดด้วยเอทานอลและตามด้วยน้ำ และสกัดแบบสอง ขั้นตอน โดยการสกัดด้วยน้ำและตามด้วยเอทานอล มีค่าการละลายน้ำที่ 28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

และ 33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และความสามารถรีดิวซ์เหล็ก (FRAP) เท่ากับ 15.33 ± 1.29 และ 17.70 ± 0.34 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัม สารสกัด ตามลำดับ ดังนั้น การเตรียมสารสกัดจากวัสดุเศษเหลือสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีการสกัดแบบสองขั้นตอน มีศักยภาพในการนำไปพัฒนาสารสกัดที่มีฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์ เพื่อประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารเสริม และอุตสาหกรรมเครื่องสำอางต่อไป

คำสำคัญ: สาหร่ายพวงองุ่น, ฟีนอลิก, พอลิแซ็กคาไรด์, การสกัดสารแบบสองขั้นตอน

Abstract

This research aims to extract phenolic compounds and polysaccharides using two-step methods from green caviar residue by studying the extraction sequence from two solvents, namely 95% ethanol (ratio 1:10 w/v at 60°C) and water (ratio 1:40 w/v at 85°C). The extraction with ethanol, followed by water, gave the percentage of yields of ethanolic extract (A), hydroethanolic extract (D), and polysaccharide extract (E) of 7.2 ± 0.4 , 28.3 ± 4.6 , and 3.0 ± 0.30 w/v. respectively, while the total phenolic content was 1.39 ± 0.39 , 1.26 ± 0.34 , and 9.89 ± 1.52 mg gallic acid equivalent/100 g of extract, respectively. Meanwhile, the extraction with water followed by ethanol, gave the percentage of yield of ethanolic extract (B), hydroethanolic extract (C), and polysaccharide extract (F) of 29.28 ± 5.27 , 4.88 ± 1.93 , and 1.93 ± 0.03 %, and the total phenolic content was 0.68 ± 0.01 , 0.48 ± 0.01 and 5.72 ± 0.48 mg gallic acid equivalent/100 g of extract, respectively. It was also found that the extraction with ethanol, followed by water, provided the highest polysaccharide content (314.06 ± 4.58 mg glucose equivalent/per gram extract, which was significantly higher than the extraction with ethanol, followed by water (188.17 ± 4.38 mg gallic acid equivalent per gram of extract) ($p < 0.05$). The water solubility of polysaccharide extracts by two steps of ethanol-to-water and water-to-ethanol extractions was 28 mg/mL and 33 mg/mL, respectively. While antioxidant activity assayed by ferric reducing antioxidant power (FRAP) was 15.33 ± 1.29 and 17.70 ± 0.34 mg Trolox equivalent per gram of extract, respectively. Therefore, the preparation of extracts from green caviar residue using a two-step extraction method have the potential to further develop phenolic and polysaccharide extracts for utilizing in food supplement and cosmetic industries.

Keywords: Green Caviar, Phenolics, Polysaccharides, Two-step Extraction

บทนำ/หลักการและเหตุผล

ปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมทวีความรุนแรงมากขึ้นในปัจจุบัน มีการค้นคว้า พัฒนาในการจัดการปัญหาสิ่งแวดล้อม จึงเป็นที่มาของการให้ความสำคัญในการบริหารจัดการมลพิษรูปแบบใหม่ ประเทศต่าง ๆ จึงมีแนวคิดในการแก้ปัญหา เพื่อให้เกิดความสมดุลและเป็นรากฐานในการพัฒนาทั้งในด้านเศรษฐกิจสังคมของประเทศได้อย่างยั่งยืน โดยมีกระบวนการการลดและนำของเสียมาใช้ประโยชน์สูงสุด เพื่อใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่าและเกิดประโยชน์สูงสุด อีกทั้งยังสามารถนำเศษวัสดุเหลือทิ้ง มาเพิ่มมูลค่าเพื่อสร้างเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ ซึ่งไม่ได้เป็นการแก้ไขปัญหามลพิษเท่านั้น แต่ยังสามารถเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งอีก และยังเป็นการช่วยเหลือชุมชนได้อีกด้วย (ฐิติรัตน์ มานิพรัตน์, 2563) ปัจจุบันการนำวัสดุเหลือทิ้งจากพืชต่าง ๆ เริ่มเป็นที่สนใจของกลุ่มคนบางกลุ่ม ซึ่งที่ผ่านมา มีงานวิจัยหลายประเภท เช่น ศึกษาและพัฒนาวิธีการสกัดและทดสอบประสิทธิภาพสารซาโปนินจากเปลือกเงาะ (อภิรดี และคณะ, 2558) การสกัดสีย้อมธรรมชาติจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ (รังสรรค์ และคณะ, 2559) การใช้ประโยชน์ทางอาหารของใยอาหารและเซลลูโลสจากเปลือกกล้วย

สำหรับพวงองุ่นมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ (Nagai & Yukimoto, 2003) จากการศึกษาของ Matanjun et al. (2009) กล่าวว่า สารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากสำหรับพวงองุ่น (*C. lentillifera*) ส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารด้วยคุณลักษณะที่ดีให้ความชุ่มชื้น มีคุณสมบัติในการยับยั้งการต้านอนุมูลอิสระได้สูง นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค และช่วยลดการอักเสบ (Nagappan & Vairappan, 2014) มีส่วนช่วยในการชะลอ ยับยั้งและขจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทำหน้าที่เป็นผู้ให้อิเล็กตรอน ผู้ให้โปรตอน รวมถึงมีบทบาทในการจับโลหะ (Kahkonen, 1999) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Farvin & Jacobsen, 2013) ช่วยชะลอและขจัดสารอนุมูลอิสระได้ (Dai & Mumper, 2010)

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อสกัดสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์แบบสองขั้นตอนจากสำหรับพวงองุ่นเหลือทิ้งด้วยเทคนิคการสกัดแบบสองขั้นตอน
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงองุ่น

ขอบเขตการศึกษา

1. การเตรียมตัวอย่างจากวัสดุเหลือทิ้งสาหร่ายพวงองุ่น ด้วยวิธีการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน จากนั้นบดให้เป็นผงละเอียด
2. ทำการเตรียมสารสกัดจากวัสดุเหลือทิ้งสาหร่ายพวงองุ่นโดยใช้ตัวทำละลายน้ำ และเอทานอล เป็นตัวทำละลาย โดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solid-liquid extraction) แบบสองขั้นตอน (Two-step technique)
3. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และพอลิแซ็กคาไรด์ ของวัสดุเหลือทิ้งสาหร่ายพวงองุ่น
4. วิเคราะห์และประเมินผลที่ได้จากการศึกษา และสรุปผลการทดลอง

บททวนวรรณกรรม

สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera* J.Agardh) มีชื่อสามัญว่า Sea grape หรือ Green caviar เป็นสาหร่ายสีเขียวในสกุล *Caulerpa* มีลักษณะคล้ายพวงองุ่น เป็นเม็ดกลมเล็ก ๆ เรียงกันเป็นข้อ คล้ายกับไข่ปลาการ์เวียร์ มีสีเขียวสด สาหร่ายพวงองุ่นสามารถพบได้ตามบริเวณชายฝั่งภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เช่น จังหวัดระยอง และจังหวัดจันทบุรี (พ้วน เพ่งแข็ง, 2535) บริเวณชายฝั่งตะวันตกของอ่าวไทย และชายฝั่งทะเลอันดามัน มหาสมุทรอินเดียบางส่วน ได้แก่ พื้นที่ในจังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี สงขลา และภูเก็ต (นัยนา เพชรแท้, 2529) สาหร่ายพวงองุ่นสดที่เก็บได้ จะเลือกเฉพาะส่วนที่เป็นข้อที่สมบูรณ์ สวยงาม เพื่อจัดจำหน่าย ในส่วนที่ไม่สมบูรณ์จะเป็นส่วนด้านล่าง ซึ่งเป็นส่วนที่เหลือทิ้ง นอกจากนี้สาหร่ายพวงองุ่นที่เก็บได้ในแต่ละรอบ จะมีอายุค่อนข้างสั้น ควรจะบริโภคให้หมดภายใน 3-7 วัน หากจำหน่ายไม่ทันก็จะเป็นของเหลือทิ้ง ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 70 - 80 ของผลผลิตทั้งหมด คุณประโยชน์ของสาหร่ายพวงองุ่น ดังนี้ ช่วยบำรุงหัวใจ ต้านแบคทีเรีย ต้านมะเร็ง ต้านการตกตะกอนของเลือด ต้านเบาหวาน ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ลดอาการไข้ และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สาหร่ายพบสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์คิดเป็นร้อยละ 30-75 น้ำหนักแห้ง โดยพบในผนังเซลล์และมีบทบาท ในกระบวนการทางชีวเคมีของสาหร่าย นอกจากนี้ สารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกที่ดี มีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ สารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบในสาหร่ายจะอยู่ในรูปของซัลเฟตและไม่ใช่ซัลเฟต ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่ายพวงองุ่น ยังมีพบว่า มีสารแอลจินेट (Alginate) ฟลูคองแดน (Fucoïdan) และสารประกอบ ฟีนอลิก มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูง และให้ความชุ่มชื้นสูง อีกทั้งยังเป็นการหาแนวทางเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งจากสาหร่ายพวงองุ่น เพื่อพัฒนาแนวทางการใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งสาหร่ายพวงองุ่นต่อไป

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงองุ่น ได้จากส่วนก้านและใบของสาหร่ายพวงองุ่น โดยทำการล้างทำความสะอาดและคัดแยกส่วนที่เสียออก นำมาตัดเป็นชิ้นประมาณ 2-3 เซนติเมตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที แล้วนำไปอบให้แห้ง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ บดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นทำการสกัดการสกัดสารสำคัญจากวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงองุ่นด้วยตัวทำละลาย (Solid Liquid extraction) แบบต่อเนื่อง (Sequential technique)

2. การสกัดแบบสองขั้นตอนโดยการสกัดด้วยเอทานอลและตามด้วยน้ำ โดยนำผงวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงองุ่น มาทำการสกัดโดยการ วิชเชยา ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตรต่อปริมาตร (V/V) โดยใช้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อเอทานอลเท่ากับ 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (W/V) นำตัวอย่างชิ้นที่ได้มาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ เรียกสารสกัดนี้ว่า สารสกัดเอทานอล จากนั้นมาทำการสกัดด้วยน้ำร้อน เพื่อสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ (ดัดแปลงจาก Sapon et al., 2020; Zhang et al., 2013) โดยใช้อัตราส่วนกากตัวอย่างต่อน้ำ เท่ากับ 1:40 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (W/V) จากนั้นนำไปสกัดบนเครื่องเขย่า เพื่อให้เกิดการตกตะกอน จากนั้นนำส่วนใสไปตกตะกอนด้วยเอทานอลที่แช่เย็น ในอัตราส่วน 1:5 โดยปริมาตรต่อปริมาตร (V/V) จากนั้นทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดตะกอนวุ้น หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่เพื่อให้เกิดวุ้นเกิดการตกตะกอน เก็บตัวอย่างทั้งสองส่วน โดยเทส่วนตะกอนวุ้น ซึ่งเรียก สารสกัดส่วนนี้ว่า สารสกัดเอทานอล-น้ำ (Hydroalcoholic extract)

3. การสกัดแบบสองขั้นตอนโดยการสกัดด้วยน้ำและตามด้วยเอทานอล โดยนำผงวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงองุ่นที่บดเป็นผงละเอียดมาทำการสกัดด้วยน้ำร้อน โดยใช้อัตราส่วนเดิมจากนั้นนำไปสกัดบนเครื่องเขย่า เพื่อให้เกิดการตกตะกอน เก็บส่วนผสมใสที่ลอยเหนือตะกอนไปทำระเหย จากนั้นนำส่วนใสไปตกตะกอนด้วยเอทานอลที่แช่เย็น ในอัตราส่วน 1:5 โดยปริมาตรต่อปริมาตร (V/V) จากนั้นทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดตะกอนวุ้น หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เกิดการตกตะกอน โดยเทส่วนตะกอนวุ้น ซึ่งเรียกว่า สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide extract) ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อและนำไปอบจนแห้ง ชั่งน้ำหนักที่ได้ ส่วนสารละลายใสให้นำไประเหย นำส่วนผสมที่เหลือจากการระเหยนำไปอบจนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ได้ ซึ่งเรียก สารสกัดส่วนนี้ว่า สารสกัดเอทานอล-น้ำ จากนั้นนำผงแห้งที่ได้มาทำการสกัดแบบวิธีเขย่าด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (V/V) โดยใช้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อตัวสกัดเท่ากับ 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (W/V) สกัดบนเครื่องเขย่า เพื่อให้เกิดการตกตะกอน เก็บส่วนน้ำ (Supernatant) จากนั้นนำไปทำระเหยเพื่อเอาตัวทำละลายออก นำตัวอย่างชิ้นที่ได้มาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอีกครั้งและชั่งน้ำหนัก เรียกสารสกัดนี้ว่า สารสกัดเอทานอล (Ethanol extract)

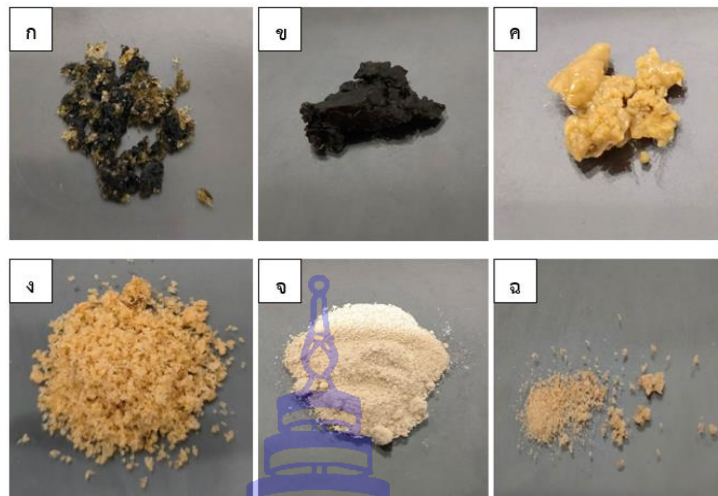
4. หาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวม ด้วยวิธีฟินอล-ซัลฟิวริก นำสารละลายตัวอย่างในความเข้มข้นที่ต่างกัน ผสมกับสารละลายฟินอลเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมกับสารละลายกรดซัลฟิวริก ปริมาณ 2.5 มิลลิลิตร แล้วทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 นาที จะทำให้สารละลายเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองอมส้ม จากนั้น นำสารละลายที่ได้ไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง (Ice bath) เพื่อหยุดการเกิดปฏิกิริยาเป็นระยะเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยใช้น้ำตามกลูโคสเป็นสารมาตรฐานและรายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัด (ดัดแปลงวิธีจาก DuBois et al., 1956)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP โดยการเตรียม FRAP reagent โดยการผสม 300 มิลลิโมลของอะซิเตทบัฟเฟอร์ กับสาร $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 20 ไมโครโมล ผสมให้ละลายเข้ากับสาร 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine ที่อยู่ในกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 40 ไมโครโมล และ น้ำกลั่น ผสมให้สารเข้ากัน นำสารละลายของสารทดสอบ เติมน้ำ และสาร FRAP reagent ลงในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ผลวิจัย

เมื่อสกัดสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์แบบสองขั้นตอนจากวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงองุ่น เมื่อทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล-น้ำ ได้สารสกัดทั้ง 3 ตัวอย่าง ได้แก่ สารสกัดเอทานอล (A) สารสกัดเอทานอล-น้ำ (D) และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (E) มีปริมาณน้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.43 ± 0.092 , 5.70 ± 0.66 และ 0.6 ± 0.06 กรัม ตามลำดับ และมีปริมาณผลผลิตโดยเฉลี่ยของการสกัดเท่ากับร้อยละ 7.2 ± 0.46 , 28.3 ± 4.67 และ 3.0 ± 0.3 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ เมื่อทำการสกัดแบบลำดับจากน้ำเป็นเอทานอล ได้สารสกัดทั้ง 3 ตัวอย่าง ได้แก่ สารสกัดด้วยเอทานอล (B) สารสกัดด้วยเอทานอล-น้ำ (C) และ สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (F) มีปริมาณน้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยเท่ากับ คือ 1.46 ± 0.264 , 0.24 ± 0.097 และ 0.097 ± 0.001 กรัม ตามลำดับ และมีปริมาณผลผลิตโดยเฉลี่ยของการสกัดเท่ากับ ร้อยละ 29.28 ± 5.27 , 4.88 ± 1.93 และ 1.93 ± 0.03 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ลักษณะตะกอนที่ได้ ดังแสดงในภาพที่ 1

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบจากสารสกัดที่ได้ด้วยการเอทานอล-น้ำ ได้แก่ สารสกัดด้วยเอทานอล (A) สารสกัดด้วยเอทานอล-น้ำ (D) และ สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (E) พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 1.392 ± 0.388 , 1.259 ± 0.337 และ 9.890 ± 1.524 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ สารสกัดจากน้ำเป็นเอทานอล ได้แก่ สารสกัดด้วยเอทานอล (B) สารสกัดด้วยเอทานอล-น้ำ (C) และ สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (F) พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 0.676 ± 0.01 , 0.485 ± 0.009 และ 5.719 ± 0.476 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด พบว่ามีความสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้สูง

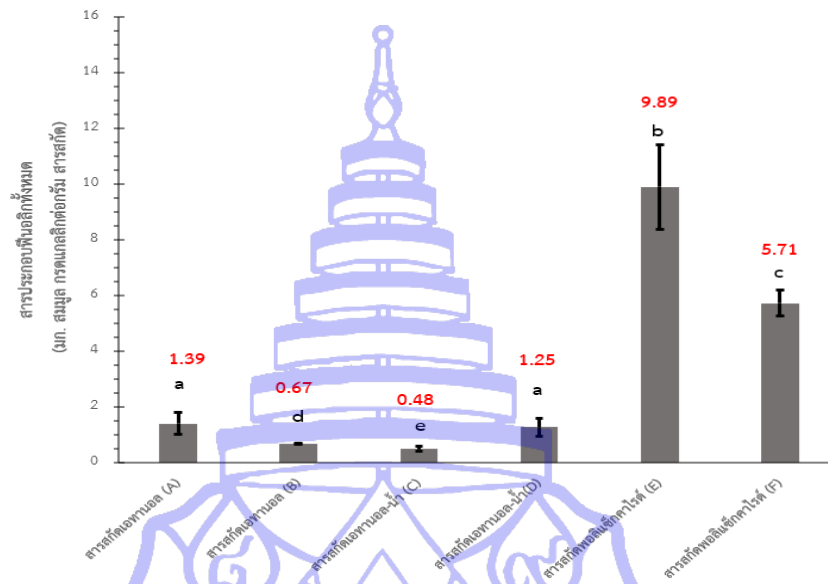


ภาพที่ 1 ลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยเอทานอล-น้ำ และน้ำ-เอทานอล

- (ก) วิธีเอทานอล-น้ำ สารสกัดที่ได้คือ สารสกัดเอทานอล (A) ลักษณะมีสีดำ เหนียว หยาบ
- (ข) วิธีน้ำ-เอทานอล สารสกัดที่ได้คือ สารสกัดเอทานอล (B) มีลักษณะเหนียว สีดำ
- (ค) วิธีเอทานอล-น้ำ สารสกัดที่ได้คือ สารสกัดเอทานอล-น้ำ (D) มีลักษณะ ชุ่ม สีน้ำตาล เหนียว
- (ง) วิธีน้ำ-เอทานอล สารสกัดที่ได้คือ สารสกัดน้ำ-เอทานอล (C) มีลักษณะผงหยาบ สีน้ำตาล เหลือง
- (จ) สกัดด้วยเอทานอล-น้ำ สารสกัดที่ได้คือ สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (E) มีลักษณะผงสีขาว ๆ ละเอียด
- (ฉ) สกัดด้วยน้ำ-เอทานอล สารสกัดที่ได้คือ สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (F) มีลักษณะผงสี หยาบ สีน้ำตาลเหลือง

เมื่อทำการสกัดและเปรียบเทียบทั้ง 2 วิธี พบว่าการสกัดด้วยวิธีจากเอทานอลเป็นน้ำ มีความสามารถในการสกัดประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่สูง ลักษณะตะกอนที่ได้ สังเกตและอธิบายในภาพที่ 2 อุไรวรรณ วัฒนกุล และคณะ (2562) ได้ทำการศึกษาสารพฤษเคมีที่สำคัญในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงด้วยระดับธาตุอาหารต่างกัน โดยทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายพวงองุ่นแห้ง ที่เลี้ยงด้วยธาตุอาหาร โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตด้วยเอทานอลร้อยละ 20 เมื่อสังเกตจากลักษณะทางกายภาพ พบว่ามีความสอดคล้องกัน กล่าวคือ สารพอลิแซ็กคาไรด์มีลักษณะสีขาวใสปนเขียวเล็กน้อย เมื่ออยู่ในน้ำจะมีลักษณะเป็นเมือกหยุ่น และมีความสามารถในการละลายน้ำได้เล็กน้อยเช่นเดียวกับชุดการทดลอง ที่เลี้ยงด้วยธาตุอาหารโซเดียมไนเตรท นอกจากนี้ยังพบว่าได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเตาสด คิดเป็นร้อยละ 12.9 และสาหร่ายเตาแห้งคิดเป็นร้อยละ 15.89 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณต่ำเพราะยังมีสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดอื่นที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ เมื่อสกัดด้วยน้ำร้อน ที่ค่าพีเอช 6.0 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 นาที

พบว่า สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดร้อยละ 47 แร่ธาตุร้อยละ 31 และซัลเฟตร้อยละ 19 โดยน้ำหนักแห้ง เมื่อพิจารณาสารประกอบมอนอแซ็กคาไรด์หลัก (ร้อยละโดยมวล) ได้แก่ กาแลคโตส แมนโนส ซิโลส และกลูโคส ร้อยละ 37, 32, 19 และ 11 ตามลำดับ สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง 3,830 กิโลดาลตัน



ภาพที่ 2 ปริมาณสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดจากวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงอุ้งน

ผลการทดสอบการหาปริมาณรวมพอลิแซ็กคาไรด์ โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารมาตรฐาน และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัด (ดัดแปลงวิธีจาก DuBois et al., 1956) จากการหาปริมาณรวมพอลิแซ็กคาไรด์พบว่ามีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์อยู่ระหว่าง 2.14 ± 0.03 ถึง 314.06 ± 4.58 มิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ซึ่งสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (E) ที่สกัดด้วยวิธีจากเอทานอลเป็นน้ำให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดเท่ากับ 314.06 ± 4.58 มิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัดและสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (F) ด้วยวิธีสกัดจากน้ำเป็นเอทานอลให้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ เท่ากับ 188.17 ± 4.38 มิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์รวมของสารสกัดจากวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงอุ๋น

| ตัวอย่าง | มิลลิกรัมสมมูลของกลูโคสต่อ กรัมสารสกัด |
|---------------------------|---|
| สารสกัดเอทานอล (A) | 8.70 ± 0.23 ^a |
| สารสกัดเอทานอล (B) | 12.90 ± 0.24 ^a |
| สารสกัดเอทานอล-น้ำ (C) | 2.44 ± 0.12 ^b |
| สารสกัดเอทานอล-น้ำ (D) | 2.14 ± 0.03 ^b |
| สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (E) | 314.06 ± 4.58 ^c |
| สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (F) | 188.17 ± 4.38 ^d |

หมายเหตุ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05) ภายในกลุ่มตัวอย่างที่ทำการทดสอบ

จากการทดสอบค่าการละลายน้ำของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าวิธีสกัดแบบสองขั้นตอนจากเอทานอลเป็นน้ำ มีค่าการละลายน้ำเท่ากับ 28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่วิธีสกัดจากน้ำเป็นเอทานอล มีค่าการละลายน้ำเท่ากับ 33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าการละลายน้ำจากทั้งสองวิธีมีค่าที่แตกต่างกันเนื่องมาจากขั้นตอนการสกัดในขั้นตอนที่สองอาจพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ที่มีผลต่ออัตราการละลายของน้ำได้ จากรายงานของ กิตติมาภรณ์ ชุมพงค์ (2558) ได้ศึกษาการพัฒนาสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายวากาเมะเพื่อเป็นสารให้ความชุ่มชื้นผิว พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายวากาเมะที่ปริมาณต่าง ๆ ตั้งแต่ระดับปริมาตร 0.6 - 6 มิลลิกรัม มาละลายในน้ำ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายวากาเมะที่สามารถ ละลายน้ำได้คือ ความเข้มข้นที่ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (0.5 %w/v)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Ferric reducing antioxidant power assay) ของตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นความสามารถของสารในการ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ดังนั้น จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ ที่สกัดด้วยวิธีเอทานอล-น้ำ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเท่ากับ 17.09 ± 0.91 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอคซ์ต่อกรัมสารสกัด ในขณะที่เดียวกันสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ ที่สกัดด้วยวิธีน้ำ-เอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเท่ากับ 17.70 ± 0.34 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอคซ์ต่อกรัมสารสกัด

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (Ferric reducing antioxidant power assay) จากวัสดุเหลือทิ้งสำหรับพวงอุ้งนุ่น

| ตัวอย่าง | ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด) |
|---------------------------|--|
| สารสกัดเอทานอล (A) | 17.09±0.91 ^a |
| สารสกัดเอทานอล (B) | 11.50±0.63 ^b |
| สารสกัดเอทานอล-น้ำ (C) | 3.01±0.71 ^c |
| สารสกัดเอทานอล-น้ำ (D) | 2.49±0.68 ^d |
| สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (E) | 15.33±1.29 ^e |
| สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (F) | 17.70±0.34 ^a |

หมายเหตุ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สัญลักษณ์ภาษาอังกฤษตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05) ภายในกลุ่มตัวอย่างที่ทำการทดสอบ

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ (Discussion and Suggestion)

จากการศึกษานี้พบว่า วิธีการสกัดด้วยเอทานอล-น้ำ สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกและพอลิแซ็กคาไรด์ได้ดี และมีฤทธิ์ในยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูง เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยวิธีน้ำ-เอทานอล ดังนั้น การสกัดด้วยวิธีเอทานอล-น้ำ สามารถนำไปพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ หรือประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ได้

รายการอ้างอิง

- กิตติมาภรณ์ ชุมพงค์. (2558). การพัฒนาสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายวากาเมะเพื่อเป็นสารให้ความชุ่มชื้นผิว *Development of Wakame polysaccharide extract for application as moisturizer*. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
- ฐิติรัตน์ มานีพารักษ์. (2563). การบริหารจัดการขยะมูลฝอยตามหลัก 3R ของพื้นที่เขตกรุงเทพฯ ตะวันออก. *วารสารการบริหารการปกครองและนวัตกรรมท้องถิ่น*, 4(1).
- นัยนา เพชรแท้. (2529). *อนุกรมวิธานของสาหร่ายทะเลที่เกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี*. [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทไม่ได้ออกพิมพ์]. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พวัน เพ็งเซ็ง. (2535). *ศึกษาองค์ประกอบของชนิดของสาหร่ายทะเลที่พบในปัจจุบันกับที่เคยพบในอดีตที่ อ่าวเพ จังหวัดระยอง*. [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทไม่ได้ออกพิมพ์]. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- รังสรรค์ จรอนันต์, สาคร ชลสาคร และรัตนพล มงคลรัตนาสีทธิ. (2559). การสกัดสี้อมธรรมชาติจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ. ใน *รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 4* (หน้า 1-16) วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน.
- อภิรดี กอร์ปไปบูลย์, อรวินิตินี ชูศรี และศิริพร เต็งรัง. (2558). *การพัฒนาวิธีการสกัดและทดสอบประสิทธิภาพสารซาโปนินจากเปลือกเงาะ*. กรมวิชาการเกษตร.
- อุไรวรรณ วัฒนกุล. 2562. องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอกผสม 3 สายพันธุ์. พัทลุง: มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง สถาบันวิจัยและพัฒนา
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolic: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313 - 7352.
- Farvin, K. H. S. & Jacobsen, C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish Coast. *Food Chemistry*, 138, 1670 - 1681.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. ... Heinonen, M., (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., 47, 3954 - 3962.
- Matanjun, P., (2009). Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology*, 21.1, 75 - 80.
- Nagai, T., & Yukimoto, T., (2003). Preparation and functional properties of beverages made from sea algae. *Food Chemistry*, 81, 327 - 332.
- Nagappan, T., & Vairappan, C.S. (2014). Nutritional and bioactive properties of three edible species of green algae, genus *Caulerpa* (Caulerpaceae). *Journal of Applied Phycology*, 26, 1019 - 1027.
- Sopon A., Thongdet, E., Punarak, P., & Suksai, S., (2020). The Potential of sea grapes (*Caulerpa Lentilifera*) extracted polysaccharide as prebiotics on Inhibiting Pathogenic Bacteria *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Environmental Science and Development*, 11, 572 - 576.
- Zhang, Z. F., Lv, G. Y., He, W. Q., Shi, L. E., & Fan, L. F., (2013). Effects of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Flammulina velutipes*. *Carbohydrate Polymers*, 98, 1524 - 1531.