การพัฒนาแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพจากสาหร่าย *Cladophora* sp. ที่มีการชักนำให้เกิด Polyploid เพื่อประยุกต์ใช้ในการผลิตเปลือกแคปซูล

วิรัลพัชร พิริยโยธากุล,กัญญาพัชร คงอินทร์,หทัยภัทร คงคานนท์, สุธี จุ้งลก*, และ อัมพร เพชรโชติ

โรงเรียนเบตง "วีระราษฎร์ประสาน" 19 ถนนรวมวิทย์ ตำบลเบตง อำเภอเบตง จังหวัดยะลา 95110

* Corresponding author: gaschem4159@kbyala.ac.th

บทคัดย่อ

โครงงานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและศึกษาสมบัติของแผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพจากสาหร่าย *Cladophora* sp. เพื่อใช้เป็นวัสดุทางเลือกในการผลิตแคปซูลยาที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพและปลอดภัยต่อการบริโภค โดยเน้นการสกัดเซลลูโลสที่มีความเป็นผลึกสูงจากสาหร่าย *Cladophora* sp. มาเป็นวัตถุดิบหลัก เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีโครงสร้างเส้นใยที่แข็งแรงและมีความบริสุทธิ์ของเซลลูโลสสูงในการเพิ่มศักยภาพของสาหร่าย มีการใช้เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์โดยสารโคลชิซิน (Colchicine) ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการแบ่งเซลล์ที่ระยะเมทาเฟส ทำให้เกิดโพลีพลอยด์ซึ่งช่วยเพิ่มปริมาณสารชีวภาพที่ สังเคราะห์ได้ รวมถึงการเจริญเติบโตของเซลล์ โครงงานนี้มุ่งเน้นการศึกษาสาหร่าย *Cladophora* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียว โดยจะดำเนินการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ จะได้พอลิเมอร์ชีวภาพ จากนั้นจะนำมาขึ้นรูปเป็นเปลือกแคปซูลยาและยังมีกลไกการแตกตัวและการละลาย (Disintegration and Dissolution) ในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารและลำไส้ เพื่อให้มั่นใจว่าแคปซูลสามารถปลดปล่อยตัวยาได้ในตำแหน่งและเวลาที่เหมาะสม โดยทดลองโดยการแช่ในกรด HCl ใช้เวลาเฉลี่ย 27นาที

ผลการทดลองพบว่าแผ่นฟิล์มจากสาหร่าย *Cladophora* sp.จะมีสมบัติเชิงกลที่แข็งแรงเพียงพอต่อการขึ้นรูปเป็นแคปซูล และสามารถละลายได้ตามมาตรฐานทางเภสัชกรรม ซึ่งจะเป็นการยกระดับทรัพยากรท้องถิ่นมาใช้ใน อุตสาหกรรมยาสมัยใหม่ ลดการใช้เจลาตินจากสัตว์และพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ย่อยสลายยาก

คำสำคัญ: *Cladophora* sp. / เซลลูโลส / โคลชิซิน / พอลิเมอร์ชีวภาพ / แคปซูลยา / การแตกตัวและการละลาย

Development of biopolymer films from *Cladophora* sp. induced for polyploidy for application in drug capsule production

Hathaipat Kongkanon, Wiranphat piriyayothakul, Kanyaphat Kong-in, Suthee Junglok*, and Amphon Phetchot[1]

Betong Wiraratprasan School, 19 Ruamwit Road , Betong District, Betong District,Yala 95110

**Corresponding author: gaschem4159@kbyala.ac.th*

Abstract

This project aims to study the effect of inducing polyploidy in *Cladophora* sp .on their cellulose content per unit dry mass. The goal of this study was to develop biodegradable biopolymer films from *Cladophora* sp . for use as orally safe drug capsules.

This project aims to enhance the potential of algae using a colchicine-induced polyploidy technique. Colchicine's ability to inhibit cell division at the metaphase stage leads to polyploidy, which is known to increase the production of bioactive compounds and promote cell growth. Our research specifically focuses on *Cladophora* sp.., a green algae phylogenetically related to Spirulina and Chlorella spp. Biopolymers extracted and purified from *Cladophora* sp .used to fabricate thin biopolymer films. These films will undergo a comprehensive analysis of their physical, chemical, and mechanical properties, Thermal Stability, and biodegradability. Furthermore, their biocompatibility and cytotoxicity were evaluated to assess their potential for various applications.

The expected results indicate that polyploid *Cladophora* sp .was exhibit a higher cellulose content per unit of dry weight than their non-polyploid counterparts. The resulting biopolymer film is anticipated to be biodegradable, offering significant potential benefits for the pharmaceutical industry and public health.

Keywords: *Cladophora* sp . / polyploid / Colchicine / Biopolymer film / Drug Capsule Introduction

1. บทนำ

สาหร่ายนับเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในระบบนิเวศแหล่งน้ำ เนื่องจากมีความสามารถในการสังเคราะห์แสงและมีอัตราการเจริญเติบโตสูง ทำให้เป็นแหล่งผลิตอาหารสำคัญตลอดทั้งปี อีกทั้งยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ [7] ทำให้มีการนำสาหร่ายมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างแพร่หลาย เช่น อาหารเสริม, ปุ๋ย, และพลังงานทดแทน แม้ว่าสาหร่ายบางชนิด เช่น สไปรูลิน่า และ คลอเรลลา จากข้างต้นสาหร่ายมีประโยชน์อีกหลาย โดยสาหร่ายที่เลี้ยงได้สาหร่าย สีเขียว เช่น สาหร่ายสไปรูลิน่า สาหร่ายคลอเรลลา สาหร่ายซีนีเตสมัส เป็นต้น โดยคุณสมบัติเคนของสาหร่ายเหล่านี้คือ ทนทาน สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว และให้คุณค่าทางอาหารและสารสำคัญที่ เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ และเนื่องจากในปัจจุบันความต้องการใช้ประโยชน์สาหร่ายมากขึ้น จึงมีการควบคุม การเพาะเลี้ยงมาก [3] เพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการ ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ทำให้สาหร่ายมีผลผลิตที่ดี คือ การควบคุม การเพาะเลี้ยงอย่างเหมาะสม ปัจจัยสำคัญที่ทำให้สาหร่ายมีผลผลิตที่ดี อาทิ การใช้อุณหภูมิที่เหมาะสม และการเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอนเพื่อเพิ่มมวลชีวภาพและการสะสมสารสำคัญ [2] การจัดการเพาะเลี้ยงภายในฟาร์ม การใช้ปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor) ใน การเพาะเลี้ยง [4] จะได้รับการพัฒนาในเชิงอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง แต่ด้วยความต้องการในตลาดที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้จำเป็นต้องมีการศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ๆ เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตให้สูงขึ้น งานวิจัยที่ผ่านมาได้แสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการใช้เทคนิคทางชีวภาพเพื่อปรับปรุงพันธุ์สาหร่าย เช่น การใช้สาร โคลชิซีน (Colchicine) เพื่อชักนำให้เกิด โพลีพลอยด์ (Polyploid) ซึ่งส่งผลให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น ทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นและสามารถผลิตสารสำคัญต่างๆ ได้มากขึ้น เช่น เซลลูโลส เทคนิคนี้ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตในพืชหลายชนิด เช่น กล้วยไม้ [5] และในสาหร่ายบางชนิด อย่างไรก็ตาม ยังคงมีช่องว่างทางองค์ความรู้เกี่ยวกับการประยุกต์ใช้เทคนิคนี้กับสาหร่ายที่พบในท้องถิ่น ซึ่งมีคุณสมบัติที่น่าสนใจแต่ยังไม่ได้รับการพัฒนาอย่างเต็มที่ เช่น สาหร่าย *Cladophora* sp. ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีปริมาณสารอาหารและรงควัตถุใกล้เคียงกับสาหร่ายที่ใช้ในอุตสาหกรรม การพัฒนาสาหร่ายชนิดนี้จึงอาจเป็นก้าวสำคัญในการสร้างทางเลือกใหม่ให้กับอุตสาหกรรม ด้วยเหตุนี้ โครงการวิจัยนี้จึงมุ่งมั่นที่จะนำเทคนิคการชักนำโพลีพลอยด์มาประยุกต์ใช้กับสาหร่าย *Cladophora* sp.เพื่อเพิ่มปริมาณเซลลูโลส ซึ่งเป็นวัตถุดิบสำคัญในการพัฒนา แคปซูลชีวภาพที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable biopolymer capsules) โดยมุ่งหวังให้เป็นทางเลือกใหม่ที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อทดแทนแคปซูลเจลาตินที่ได้จากสัตว์ ซึ่งจะตอบโจทย์ความต้องการของผู้บริโภคกลุ่มวีแกนและผู้ที่แพ้โปรตีนจากสัตว์ในอนาคต

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการขึ้นรูปของฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพ สำหรับพัฒนาเป็นบรรจุภัณฑ์ยาในรูปแบบแคปซูลที่บริโภคได้และย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

2. เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของเปลือกแคปซูลจากสาหร่าย กับเปลือกแคปซูลเจลาตินทางการค้าเพื่อประเมินความเป็นไปได้ในการใช้งานทดแทน

3. ขอบเขตของการศึกษา

1. ขอบเขตด้านการเตรียมวัตถุดิบและสารตั้งต้น มุ่งเน้นการสกัดเซลลูโลสจากสาหร่าย*Cladophora* spโดยใช้วิธีการทางเคมีที่ลดการใช้สารรุนแรงและไม่มีกระบวนการฟอกขาว เพื่อรักษาโครงสร้างธรรมชาติและลดสารตกค้างในวัสดุที่จะนำมาผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ยา

2. ขอบเขตด้านการพัฒนาและขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ ดำเนินการศึกษาการขึ้นรูปฟิล์มพอลิเมอร์ชีวภาพด้วยเทคนิคการหล่อขึ้นรูปโดยแปรผันสัดส่วนความเข้มข้นของเซลลูโลสสกัดเพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่สุด ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบเปลือกแคปซูลยาผ่านแม่พิมพ์ขนาดมาตรฐาน

3. ขอบเขตด้านการทดสอบและประเมินผล ทำการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและประสิทธิภาพการแตกตัวในสภาวะจำลองทางเดินอาหาร เปรียบเทียบผลการทดลองกับแคปซูลเจลาตินจากสัตว์ที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ เพื่อประเมินความเป็นไปได้ในการนำมาใช้งานจริง

4. วิธีการศึกษา

1. เริ่มต้นด้วยการนำสาหร่าย *Cladophora* sp. มาทำความสะอาดและเตรียมความพร้อมเพื่อเข้าสู่กระบวนการชักนำ Polyploid โดยการแช่ในสารละลาย Colchicine ความเข้มข้น 0.05% ถึง 0.1% เป็นเวลา 24 ถึง 48 ชั่วโมงเพื่อให้โครโมโซมเพิ่มชุดขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เซลล์มีขนาดใหญ่และมีปริมาณเซลลูโลสที่สูงขึ้นกว่าปกติ [1][6][9]

2. ขั้นต่อมาคือการสกัดเซลลูโลสจากสาหร่ายที่เตรียมไว้ โดยนำไปต้มกับโซเดียมไบคาบอเนต 2 กรัม ที่อุณหภูมิ 90°C จากนั้นล้างสาหร่าย *Cladophora* sp. จนค่า pH เป็นกลาง [8]

3. นำเซลลูโลสมาผสมกับสารเพิ่มความยืดหยุ่นเพื่อเตรียมสารละลายพอลิเมอร์ แล้วนำไปเทลงในแม่พิมพ์ที่ทำจาก Food-grade Silicone ซึ่งถอดแบบมาจากแคปซูลยามาตรฐาน เพื่อให้ได้เปลือกแคปซูลที่มีความหนาและขนาดที่สม่ำเสมอ

4. ขั้นตอนสุดท้ายคือการทดสอบประสิทธิภาพของแคปซูลที่ผลิตได้ โดยการนำไปทดสอบการแตกตัวในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารเพื่อวัดเปอร์เซ็นต์การปล่อยยาออกมาให้เห็นว่าทำงานได้จริง พร้อมทั้งทำการสังเกตการณ์เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง

5. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

จากการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพ ได้ผลดังนี้

5.1 ผลการศึกษารูปแบบผลงานวิชาการ

จากการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพการแตกตัวของแคปซูลที่ผลิตจากสาหร่าย *Cladophora* sp. กับแคปซูลมาตรฐานทั่วไป โดยทำการทดสอบในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก(HCl) ที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส และการศึกษาความทนทานของแคปซูลต่อสภาพแวดล้อมขณะพกพา ได้นำแคปซูลจากสาหร่าย *Cladophora* sp. ไปวางไว้ในสภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกันเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของแคปซูลจาก *Cladophora* sp.

ผลวิจัยดังแสดงดังตารางที่ 1 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพการแตกตัวของแคปซูลที่ผลิตจากสาหร่าย *Cladophora* sp. กับแคปซูลมาตรฐานทั่วไปในสภาวะจำลอง และ ตารางที่ 2 แสดงการารศึกษาความทนทานของแคปซูลต่อสภาพแวดล้อมขณะพกพา โดยวางแคปซูลจากสาหร่าย Cladophora sp. ไว้ในอุณหภูมิที่แตกต่างกันเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการย่อยสลาย

ประเภทของแคปซูล	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
แคปซูลจากสาหร่าย *Cladophora* sp.	30 นาที	27 นาที	26 นาที
กับแคปซูลมาตรฐานทั่วไป	10 นาที	9 นาที	9 นาที

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความคงทนต่ออุณหภูมิสภาวะแวดล้อม

สภาวะจำลองการพกพา	อุณหภูมิ (°C)	ผลลัพธ์
ห้องปรับอากาศ	20 - 25	คงรูปทรงได้ดี ผิวแห้ง ไม่เหนียว
อุณหภูมิห้องปกติ	30 - 32	คงรูปทรงได้ดี ไม่มีการเปลี่ยนแปลง
สภาวะร้อน	35 - 40	ยังคงรูปทรงเดิมได้ ผิวมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

5.3 ผลการศึกษาข้อมูลผลงานวิชาการในฐานข้อมูล Scopus

แคปซูลจากสาหร่ายสามารถย่อยสลายในสภาวะจำลองกระเพาะอาหาร ได้ในเวลาเฉลี่ย 27.67 นาที ซึ่งช้ากว่าแคปซูลมาตรฐานทั่วไป (14.33 นาที) แต่ยังคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานเภสัชไม่เกิน 30 นาที

ในสภาวะจำลองการพกพา 6 ชั่วโมง แคปซูลจากสาหร่ายไกมีเสถียรภาพสูงโดยเฉพาะในสภาวะร้อน ที่ยังคงรูปทรงได้ดี ไม่ละลายติดกันหรือเหนียวเหนอะหนะ

แม้โคลชิซินจะเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงในรูปสารละลายตั้งต้น แต่คุณสมบัติทางเคมีของสารชนิดนี้มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี (High Water Solubility) และโครงสร้างโมเลกุลไม่เสถียรเมื่อได้รับความร้อนสูงเป็นเวลานาน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในฐานข้อมูลที่ระบุว่ากระบวนการสกัดเซลลูโลสด้วยสารละลายด่าง (Alkaline Extraction) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ร่วมกับการล้างด้วยน้ำสะอาด [10]

6. สรุปผลการศึกษา

จากการที่แคปซูลจากสาหร่ายไกใช้เวลาในการแตกตัวเฉลี่ย 27.67 นาที ซึ่งช้ากว่าแคปซูลมาตรฐานทั่วไปนั้น สามารถอธิบายได้ด้วยลักษณะทางโครงสร้างแบบ คอมโพสิต ระหว่างเซลลูโลสจากสาหร่ายและแป้งมันสำปะหลัง ที่เกิดการสร้าง พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen Bonding) อย่างหนาแน่นภายในโครงสร้าง โดยเส้นใยเซลลูโลสทำหน้าที่เป็นโครงร่างเสริมแรง (Reinforcing Agent) ที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ ส่งผลให้โมเลกุลของของเหลวแทรกซึมเข้าสู่ภายในได้ยากในช่วงแรก กลไกนี้ช่วยให้การปลดปล่อยตัวยาเป็นไปอย่าง ค่อยเป็นค่อยไป (Sustained Release) และช่วยแก้ปัญหาการเสื่อมสภาพหรือการแตกตัวที่เร็วเกินไปเมื่อสัมผัสความชื้นในสภาวะปกติ

ในด้านความคงตัวต่อความร้อน พบว่าที่อุณหภูมิสูง แคปซูลจากสาหร่ายไกมีความโดดเด่นด้าน ความคงตัวทางกายภาพ (Physical Stability) ที่เหนือกว่าแคปซูลเจลาตินมาตรฐาน เนื่องจากเจลาตินมีจุดหลอมเหลวต่ำและไวต่อความร้อนสูง มักเกิดการอ่อนตัวหรือละลายติดกัน แต่โครงสร้างเซลลูโลสจากสาหร่ายมีจุดหลอมเหลวทางเคมีที่สูงกว่าและมีเส้นใยช่วยพยุงโครงสร้างให้คงรูปทรงเดิมได้ดี จึงมีความเหมาะสมอย่างยิ่งกับการใช้งานในสภาพภูมิอากาศเขตร้อนและการพกพาในชีวิตประจำวัน

เอกสารอ้างอิง

[1] กานต์ธิดา บุญลอย, จารุวัตร จันทร์ประดิษฐ์, และ ศุภรชัย นิติพันธ์. (2559). อิทธิพลของสารละลายโคลชิซินต่อการเพิ่มจำนวนโครโมโซมของมะพร้าวนกคุ้ม. *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ, 19*(2), 81–88.

[2] กวินนาฏ เสืออบ, ธัญนันท์ วรรณธง, และ บรอคเคิลเฮอร์ส. (2562). ผลของอุณหภูมิและการเพาะเลี้ยงแบบสองขั้นตอนต่อมวลชีวภาพและการสะสมแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus* PY215. *KKU Science Journal, 47*(2), 243–256.

[3] จิตตนันท์ แก้วมณีสุข. (2564). *การเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่าย Nostoc commune* [วิทยานิพนธ์ดุษฎีนิพนธ์, มหาวิทยาลัยแม่โจ้].

[4] ณัฐจักร วงศ์คำ, จตุพร ภักดี, และ ธนวรรณ พิณรัตน์. (2558). เครื่องปฏิกรณ์ชนิดหมุนวนสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย. *วิศวสารลาดกระบัง, 32*(1), 1–6.

[5] รัชนี เพ็ชร์ช้าง. (2553). ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้โคลชิซีนต่อการเจริญและจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องเงิน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 29*(4), 413–419.

[6] อรวรรณ รักษ์สงฆ์, อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์, และ ธีรพันธ์ บัญญัติรัชต. (2554). ผลของสารโคลชิซีนต่อลักษณะทางสัณฐานของสบู่ดำ. *วารสารวิชาการและวิจัย มทร. พระนคร*, (ฉบับพิเศษ), 319–325.

[7] ยุวดี พีรพรพิศาล. (2556). *Freshwater Algae in Thailand* (พิมพ์ครั้งที่ 2). โชตนาพริ้นท์.

[8] Joris, F., et al. (2014). "Assessing the Biocompatibility of Nanocellulose from Algae." *Toxicology Letters*.

[9] O'Neil, M. J. (2013). The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Royal Society of Chemistry.

[10] Sun, R. C., Sun, X. F., & Liu, G. Q. (2004). Fractional isolation and characterization of cellulose from wheat straw. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*.