

# รายงานการวิจัย

ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลที่พบในอ่าวไทย

Antioxidant activities of marine seaweed in  
the Gulf of Thailand



คณะผู้วิจัย

นางสาวอัจฉรี เรืองเดช

นางนงนุช เลาทะวิสุทธิ์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้คณะฯ

ประจำปีงบประมาณ 2553

สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## รายงานการวิจัย

ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลที่พบในอ่าวไทย

Antioxidant activities of marine seaweed in  
the Gulf of Thailand



เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน.....  
วัน, เดือน, ปี.....

120417

21.0.11.2555

b. 120417  
i. ....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้คณะฯ

ประจำปีงบประมาณ 2553

สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลที่พบในอ่าวไทย

Antioxidant activities of marine seaweed in the Gulf of Thailand

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก งบประมาณเงินรายได้คณะฯ

ประจำปีงบประมาณ 2553 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 40,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2552 ถึง 30 กันยายน 2553

ผู้ดำเนินการวิจัย นางสาวอัจฉรี เรืองเดช สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง สจล.

[kruschar@kmitl.ac.th](mailto:kruschar@kmitl.ac.th)

นางนงนุช เลหาะวิสุทธิ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง สจล.

[klngongnu@kmitl.ac.th](mailto:klngongnu@kmitl.ac.th)

### บทคัดย่อ

การศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลในอ่าวไทย 5 ชนิด คือ สาหร่ายสีเขียว *Caulerpa lentillifera*, สาหร่ายสีน้ำตาล 3 ชนิด *Sargassum* sp., *Turbinaria* sp. *Padina* sp., และสาหร่ายสีแดง *Gracilaria* sp. โดยใช้ น้ำกลั่น เอทานอล และอะซิโตน เป็นสารสกัด การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า สาหร่ายสีเขียว (*Caulerpa lentillifera*) ที่สกัดด้วยน้ำมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุดใน โดยมีจำนวน DPPH ที่เหลือเท่ากับ  $30.80 \pm 0.92\%$ ,  $65.41 \pm 1.78\%$  และ  $40.02 \pm 2.03\%$  จากสารสกัดที่ใช้ตามลำดับ การหาปริมาณโพลีฟีนอลพบสูงสุดในสาหร่ายสีน้ำตาล *Padina* sp. ที่สกัดด้วยน้ำกลั่น เอทานอล และอะซิโตน มีปริมาณโพลีฟีนอลจำนวน  $40.47 \pm 3.34 \mu\text{g/g}$ ,  $9.91 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$  และ  $8.51 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$  ตามลำดับ การวิเคราะห์ Reducing power พบว่าสาหร่ายสีน้ำตาล *Padina* sp. มีความสามารถในการเป็น reducing agent สูงที่สุด แสดงว่าสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* และ *Padina* sp. มีศักยภาพในการใช้เป็นสารจากธรรมชาติเพื่อการต้านอนุมูลอิสระ

คำสำคัญ: สาหร่ายทะเล สารต้านอนุมูลอิสระ

### Abstract

The antioxidant activity of five species of seaweeds obtained from the Gulf of Thailand consisting of green seaweed (*Caulerpa lentillifera*) three brown seaweeds (*Sargassum* sp., *Turbinaria* sp. and *Padina* sp.) and red seaweed (*Gracilaria* sp.) were determined. Water, ethanol and acetone were used as extraction solvent. The inhibition activity of stable DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical was the best obtained by water extracts of *Caulerpa lentillifera* remained  $30.80 \pm 0.92\%$ ,  $65.41 \pm 1.78\%$  and  $40.02 \pm 2.03\%$ , orderly. The total phenolic content was highest in brown seaweed, *Padina* sp. The results of water, ethanol and acetone extract showed  $40.47 \pm 3.34 \mu\text{g/g}$ ,  $9.91 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$  and  $8.51 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$ , respectively. *Padina* sp. expressed the strong reducing power. These results indicated that *Caulerpa lentillifera* and *Padina* sp. could be potential sources of natural antioxidant resource.

Keywords: seaweed, antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	I
สารบัญ	II
สารบัญตาราง	III
สารบัญภาพ	IV
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์	
บทที่ 4 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	
เอกสารอ้างอิง	



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก	8
2	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือจากการสกัดสำหรับ 5 ชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	14
3	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ TPC ที่ได้จากการสกัดสำหรับ 5 ชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	17



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สาหร่าย <i>Sargassum</i> sp.	1
2	สาหร่าย <i>Gracilaria</i> sp.	2
3	สาหร่าย <i>Caulerpa lentillifera</i>	3
4	อนุภาคอิสระที่เสถียรสามารถรับอิเล็กตรอนได้เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุภาคอิสระ	6
5	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย <i>Sargassum</i> sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	11
6	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย <i>Caulerpa lentillifera</i> ด้วยตัวทำละลายชนิด ต่างๆ	11
7	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย <i>Padina</i> sp. ด้วยตัวทำละลายชนิด ต่างๆ	12
8	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย <i>Gracilaria</i> sp. ด้วยตัวทำละลายชนิด ต่างๆ	12
9	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย <i>Turbinaria</i> sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	13
10	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย ทั้ง 5 ชนิด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	13
11	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย <i>Caulerpa lentillifera</i> ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	15
12	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย <i>Sargassum</i> sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	15
13	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย <i>Padina</i> sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	16
14	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย <i>Turbinaria</i> sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	16
15	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย <i>Sargassum</i> sp. (ซุ่มพร) ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	16
16	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย <i>Gracilaria</i> sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	17
17	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย ทั้ง 5 ชนิด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	17
18	ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดสาหร่าย 4 ชนิด ที่ระดับน้ำหนักสาหร่าย 0.005 กรัม	19
19	ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดสาหร่าย 4 ชนิด ที่ระดับน้ำหนักสาหร่าย 0.01 กรัม	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 1 บทนำ

สาหร่ายทะเล เป็นพืชชั้นต่ำ ไม่มีระบบท่อลำเลียงอาหารจากรากสู่ลำต้นและใบแบบพืชชั้นสูงเช่น หน่วยาทะเล แต่จะใช้วิธีดูดซับน้ำและแร่ธาตุจากน้ำทะเลสู่เซลล์ต่าง ๆ โดยตรง พืชกลุ่มนี้ไม่มีดอกและผล แต่แพร่กระจายพันธุ์ด้วยการสร้างสปอร์และแบ่งตัว สาหร่ายทะเลมีลักษณะมากมายหลายแบบ ตั้งแต่แบบที่เป็นแพลงก์ตอนลอยไปมาในน้ำ ซึ่งมีขนาดเล็กมากมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า บางชนิดเป็นเซลล์เดี่ยว บางชนิดจับตัวกันเป็นกลุ่มเซลล์ หรือเป็นสาย จนถึงชนิดที่เป็นต้นตุ่มคล้ายพืชชั้นสูง

สาหร่ายทะเล แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ตามโครงสร้างและสีของสารสังเคราะห์แสง ได้เป็น 4 กลุ่ม คือ

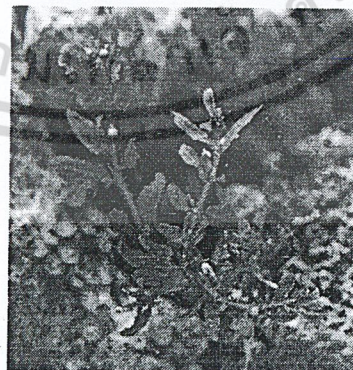
- สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae)
- สาหร่ายสีเขียว (green algae)
- สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae)
- สาหร่ายสีแดง (red algae)

โดยทั่วไป เราสามารถจำแนกกลุ่มสาหร่ายได้จากสีที่เห็น แต่ในประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อนซึ่งมีแสงจัด บางครั้งสาหร่ายจะมีสีเปลี่ยนไปจากที่ควรจะเป็น

### 1. ลักษณะของสาหร่ายทะเล

#### 1.1 สาหร่าย *Sargassum* sp.

สาหร่าย *Sargassum* sp. มีชื่อไทยว่า สาหร่ายใบ หรือ สาหร่ายพุง เป็นสาหร่ายสีน้ำตาลขนาดใหญ่ มีลำต้นที่มีลักษณะเหมือนพืชชั้นสูงเรียกว่าทาลัส ส่วนที่เป็นรากสำหรับยึดเกาะ (hold fast) ต้นตั้งตรงบางชนิดอาจแตกแขนงมากจนเป็นพุ่ม แขนงของต้นมีลักษณะกลมหรือแบน เบลต (blade) มีลักษณะเหมือนใบไม้ ขอบใบมีจักรแหลมและมีแกนกลางใบ โคนใบมีถุงลม (air bladder หรือ pneumatocyst) เล็กๆ เกิดอยู่ช่วยพยุงให้ลอยตัวในน้ำ พบได้ในบริเวณเขตร้อน และ เขตอบอุ่น ตามแนวเขตปะการัง และ ก้อนหิน ในระดับน้ำขึ้นน้ำลงหรือ ต่ำกว่าระดับน้ำลงต่ำสุดในบริเวณที่น้ำใส การสืบพันธุ์ สาหร่าย *Sargassum* sp. จะสร้างรีเซปตาเคิล (receptacle) เป็นกระจุกอยู่ที่ปลายแขนง บนรีเซปตาเคิลมีถุงหรือ แอ่งฝังอยู่เรียกว่าคอนเซปตาเคิล (conceptacle) มีอวัยวะสืบพันธุ์แบบยูนิลอคูลาร์ โดยผสมพันธุ์กัน ภายนอก เมื่อได้ไซโกตแล้วจะงอกไปเป็นต้นสปอโรไฟต์ (sporophyte) (กาญจนภาชน, 2527)

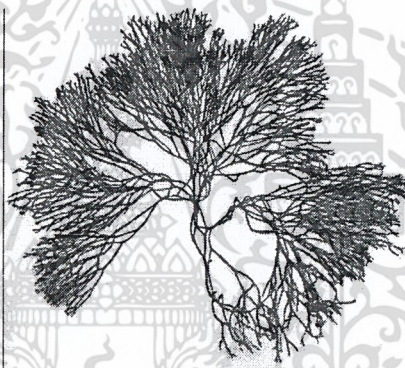


ภาพที่ 1 สาหร่าย *Sargassum* sp.

ที่มา : [http://www.igetweb.com/www/phowiset/private\\_folder/sargassum.jpg](http://www.igetweb.com/www/phowiset/private_folder/sargassum.jpg)

## 1.2 สาหร่าย *Gracilaria* sp.

*Gracilaria* หรือ สาหร่ายผมนาง คือสาหร่ายทะเลสีแดง ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายผมนาง มีทลล์ตั้งตรงเป็นรูปเรียวยาวทรงกระบอกกลมหรือแบน ลักษณะของทลล์มีตั้งแต่บอบบาง อ่อนนุ่ม หักง่าย ไปจนกระทั่งเหนียวเหมือนผึงผืด สามารถเจริญเติบโตได้ 2 ทาง คือการเจริญเติบโตที่เซลล์ปลายยอด และการแตกแขนงด้านข้าง ความยาวของทลล์มีตั้งแต่ 4 ซม.-3.5 ม. เส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 0.5-4.0 มม. สารสีของสาหร่ายผมนาง ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ ดี ไฟโคบิลิน เช่น อาร์ไฟโคอิริทริน อาร์ไฟโคไซยานิน ซี-ออลไฟโคไซยานิน คาร์โรทีนอยด์ เช่น เบต้าแคโรทีน แอนเทอราแซนติน เป็นต้น ในประเทศไทยสามารถพบสาหร่ายผมนาง ได้ทั่วไปบริเวณน้ำตื้นหรือชายฝั่งที่ลมพัดไม่แรงมากนัก พฤติกรรมของการสืบพันธุ์แบบมีเพศเป็น 3 ลักษณะประกอบด้วย gametophyte, sporophyte และ Corposporophyte stages โดยสลับกันไปสามารถรวบรวมสปอร์ได้จากการวางวัสดุต่อสปอร์ในแหล่งน้ำที่มีสาหร่ายชุกชุม จากผลการศึกษาทดลองของไพโรจน์และสุชาติ (2532) พบว่าคาร์โปสปอร์ (carpospore) หรือ สปอร์ของสาหร่ายผมนางตกและเคลื่อนออกจากกระเปาะหุ้มสปอร์สู่ภายนอกได้ดีในน้ำที่มีความเค็ม 30 ppt. Gavino (1986) กล่าวว่าสาหร่ายทะเลในสกุลกราซิลารีเย สามารถเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำกร่อยที่มีความเค็ม 15-24 ppt.



ภาพที่ 2 สาหร่าย *Gracilaria* sp.

ที่มา :[http://www.hawaii.edu/reefalgae/invasive\\_algae/rhodo/grac%20tikva20herb20sht.jpg](http://www.hawaii.edu/reefalgae/invasive_algae/rhodo/grac%20tikva20herb20sht.jpg)

## 1.3 สาหร่าย *Caulerpa* sp.

สาหร่ายชนิดนี้มองคล้ายพวงองุ่นที่ขึ้นเป็นกระจุก จึงมีชื่อสามัญที่เรียกว่า สาหร่ายพวงองุ่น (seagrapes) ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวอยู่ในสกุล *Caulerpa* ขึ้นอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลเขตร้อน เป็นสาหร่ายที่มีพิษน้อยและมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีลักษณะทลล์เป็นท่อนติดต่อกันตลอด มีรากเป็นฝอยทำหน้าที่ยึดเกาะกับพื้น และทอดแขนง ซึ่งมีลักษณะคล้ายไรโซม (rhizome) ออกเป็นระยะ ส่วนที่ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงมีลักษณะคล้ายใบ เรียกว่า รามูรัส (ramulus) มีรูปร่างต่างกัน อาจจะเป็นก้านยาวรี กลมแบน หรือเป็นเส้นเหมือนขนนก ส่วนนี้มีสีเขียว สาหร่ายสกุลนี้ มักขึ้นอยู่ตามพื้นทรายปนโคลน หรือขึ้นเกาะตามซากปะการัง บนก้อนหินในเขตชายฝั่ง นำมารับประทานเป็นผักสดหรือผักจิ้มน้ำพริก



ภาพที่ 3 สาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

ที่มา : <http://www.reefcorner.com/images/GrapeCaulerpa.jpg>

## 2. การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายทะเล

ความสำคัญของสาหร่ายทะเลในแง่ของระบบนิเวศน์ เป็นกลุ่มพืชที่ผลิตออกซิเจน และใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำเหมือนพืชอื่น ๆ ทั่วไป ในแง่ของสิ่งแวดล้อม สาหร่ายทะเลช่วยดูดซับสารอินทรีย์แร่ธาตุในน้ำ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งร่มเงา และหลบภัยของสัตว์น้ำ ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจในพื้นที่ ภาคใต้ฝั่งตะวันออก คือ จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส การใช้ประโยชน์ในประเทศไทยเพื่อการบริโภคโดยตรง แปรรูปเพื่อสกัดสารจำพวกวุ้น หรือสารที่มีลักษณะคล้ายวุ้น หรือนำมาเป็นส่วนผสมในยารักษาโรค ยาสมานแผล เป็นอาหารสัตว์บก และสัตว์น้ำ ทำปุ๋ย สาหร่ายที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมการสกัดวุ้น อการ์ คาราจีแนน อาจเรียกว่าเป็น คาราเก้ (carragar)

สาหร่ายทะเลหลายชนิด นำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยปล่อยให้สาหร่ายทะเลเจริญเติบโตในบ่อพักน้ำทิ้ง เพื่อเป็นการบำบัดคุณภาพน้ำให้ดีขึ้นก่อนปล่อยออกสู่ธรรมชาติ เนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการสะสมโลหะหนักได้แตกต่างกัน จึงมีการนำสาหร่ายไปใช้เป็นตัวชี้วัดมลภาวะในทะเล เช่น *Padina*, *Dictyota*, *Acanthophora*, *Gracilaria* และ *Laurencia*

สาหร่ายทะเลมีวิตามินเอ บี2 บี3 บี6 บี12 วิตามินซี และกรดโฟลิก เฉพาะวิตามินเอนั้นสาหร่ายทะเลมีอยู่มากมาย สาหร่ายทะเล 100 มิลลิกรัม (ถ้าบดเป็นผงประมาณ 1 ช้อนชา) มีปริมาณวิตามินเอถึง 44,500 หน่วยสากล มากกว่าวิตามินเออย่างเป็นแคปซูลสกัดมาขายเกือบ 5 เท่า คือ วิตามินเอ 1 แคปซูลมีเพียง 10,000 หน่วยสากล วิตามินต่างๆที่พบในสาหร่ายช่วยในการสมานแผล และเชื่อมประสานเส้นเลือดที่แตก นอกจากสารต่าง ๆ ข้างต้น สาหร่ายยังมีแร่ธาตุอีกหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม ไนโตรเจน กำมะถัน โคบอลต์ นิกเกิล ทองแดง เหล็ก สังกะสี เป็นต้น

นอกจากนั้นแล้วสาหร่ายทะเลยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่โดดเด่นอีกอย่างหนึ่งของสาหร่ายทะเล เนื่องจากมีสารโพลีฟีนอล ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเกิด lipid peroxidation (การหืนของไขมัน) เนื่องจากสารโพลีฟีนอลจะมีวงแหวนฟีนอล ที่สามารถไปจับอิเล็กตรอนที่อิสระของพวก เปอร์ออกไซด์ ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และ ไฮดรอกซีแรดดิคัล นอกจากโพลีฟีนอลแล้ว สารในกลุ่มซัลเฟต โพลีแซคคาไรด์ รงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ เช่น แอสตาแซนทิน ฟิวโคแซนทิน ก็สามารถต้านอนุมูลอิสระได้เช่นกัน

[3] เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระ (unpaired electron) อยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุล ในวงจรดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนอย่างเช่น hydroxyl radical , superoxide anion , hydroperoxyl radical เป็นต้น ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่างๆ ของเซลล์เกิดขึ้นตลอดเวลา นอกจากนี้ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ รังสียูวี (UV-ray) โอโซน (ozone) ควันจากท่อไอเสียรถยนต์ และควันบุหรี่ เป็นต้น ยังสามารถเหนี่ยวนำให้มีการก่อตัวของอนุมูลอิสระเหล่านี้เพิ่มขึ้นได้อีกด้วย อนุมูลอิสระส่วนใหญ่มีความไม่คงตัว และไวต่อการทำปฏิกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) ซึ่งจัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูง (reactive oxygen species, ROS) ที่มีความว่องไวสูงสุด (Halliwell, 1999) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ยังผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนแปลงโปรตีนตลอดจนไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับโปรตีน หรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์นั้นๆ ผิดปกติไป เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นพืชหรือสัตว์ต่างก็มีระบบที่เรียกว่า antioxidant defense system เพื่ออาร์งไว้ซึ่งสมดุลของอนุมูลอิสระภายในร่างกายทั้งสิ้น ระบบกำจัดอนุมูลอิสระดังกล่าวเกิดจากการทำงานของสารต่างๆ ที่รวมเรียกว่า สารต้านออกซิเดชั่น (antioxidants) ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ catalase, glutathione peroxidase และ superoxide dismutase หรือสารประกอบโปรตีนบางอย่างเช่น glutathione, urate, bilirubin, ubiquinol, albumin, ceruloplasmin และ transferrin เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินไปที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้น ภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระส่วนที่ยังหลงเหลืออยู่อาจไปทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสมมากๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง เช่น โรคมะเร็ง, โรคหลอดเลือดหัวใจ, โรค Parkinson, โรค Alzheimer, ไขข้ออักเสบ และต้อกระจก เป็นต้น (Ames et al.,1993) ดังนั้น การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกายจึงน่าจะเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยเสริมการควบคุมและป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้ เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์นั้นถึงแม้จะมีประสิทธิภาพสูง แต่มีข้อจำกัดของการใช้ และมีปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค จึงทำให้การเสาะแสวงหาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในปัจจุบัน

### 4. สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระคือ สารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกัน หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ได้ (Halliwell,1995) สารเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับเหล็ก ( $Fe^{2+}$ ) ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น ปกติร่างกายคนเรานั้นจะมีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติหลากหลายชนิดทั้งที่เป็นเอนไซม์ เช่น superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น urate, bilirubin และ transferrin เป็นต้น เนื่องจากสารเหล่านี้มีจำนวนจำกัด ดังนั้นเมื่อใดก็ตามที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเกินกว่าจะกำจัดได้หมด อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ ดังที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้พวกวิตามินบาง

ชนิด เช่น เบต้า-แคโรทีน ( $\beta$ -carotene), วิตามินซี (vitamin C), วิตามินอี (vitamin E) รวมทั้งสารประกอบกลุ่ม polyphenols ต่างๆ ซึ่งมีรายงานพบมากในพืช ผัก ผลไม้ ทั่วไปยังจัดเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งธรรมชาติที่อยู่อีกกลุ่มหนึ่ง (Sies,1991)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะการออกฤทธิ์ (Sherwin,1990) คือ

#### 4.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ

เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น สารออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าว ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoids, eugenol และ vanillin เป็นต้น มีรายงานว่าสารต้านอนุมูลอิสระชนิดนี้จะทำหน้าที่ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำๆ แต่เมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นไปอาจกลายเป็นสารเสริมฤทธิ์ออกซิเดชันได้

#### 4.2 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ

สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ แต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับ  $Fe^{2+}$  ดักจับออกซิเจน ดูดซับรังสียูวีไว้ เป็นต้น (Gordon, 2001)

### 5. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีที่นิยมทั่วไปมี 3 วิธีคือ (1) Antioxidant activity ซึ่งการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนิก (2) Reducing power เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ และ(3) Scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง โดยได้อธิบายรายละเอียดของแต่ละวิธีดังนี้

#### 5.1 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของกรดลิโนลีนิก (Antioxidant activity)

กรดลิโนลีนิกเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้กรดนี้สามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบ ทำให้กลายเป็นอนุมูลอิสระ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น conjugated diene ที่เสถียร สารต้านอนุมูลอิสระมีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบทำให้สารต้านนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนิกได้ ด้วยเหตุนี้ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนิกจึงวัดโดยเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลีนิกผสมอยู่ ทั้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นใช้เครื่อง UV Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร ค่าที่ได้นี้แปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นดังนั้นการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้ (ปวิชนันท์, 2546)

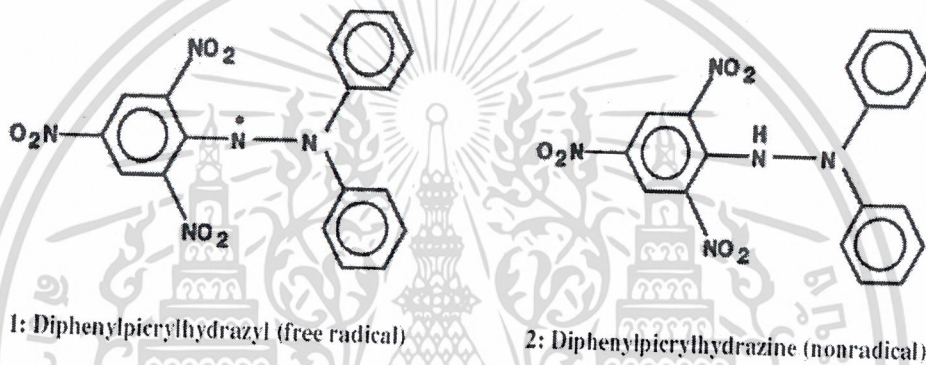
#### 5.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (Reducing power)

สารที่เป็น reducing agent สามารถจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอะตอมหรือ โมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ ( เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น) เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริกไอออน ( $Fe^{3+}$ ) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ในด้านชีวเคมี อนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด ROS

เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ อนุมูลไฮดรอกซิล เป็นต้นเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการให้อิเลคตรอนของแต่ละสารที่สกัดได้ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริคไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่ และค่าของการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่มีความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากเครื่องมือวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการทางสเปกโตรสโคป (UV Spectrophotometer) จะมีค่าแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอร์ริคไอออนที่เกิดขึ้น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนคลื่นแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็น reduce agent (ปวิชนันท์, 2546)

5.3 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (Scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH))

DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเลคตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 4 อนุภาคอิสระที่เสถียรสามารถรับอิเลคตรอนได้เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ ที่มา : [pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm](http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm)

ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรที่อยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้ DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (ปวิชนันท์, 2546)

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ เช่น สาหร่าย *Sargassum* sp., สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* และ สาหร่าย *Gracilaria* sp. เป็นต้น ซึ่งสาหร่ายเหล่านี้พบมากในธรรมชาติ โดยการวิเคราะห์จะมีอยู่ 3 วิธีคือ (1) ความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH หรือ 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (2) การหาปริมาณฟีนอล (Total phenolic content ,TPC) และ (3) Reducing power หรือ ความสามารถในการให้อิเลคตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธีนี้ สามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่

[6]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2 วิธีการทดลอง

### 1. การเตรียมสาหร่ายอบแห้ง

เก็บรวบรวมสาหร่ายจากชายทะเลจังหวัดจันทบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์และจังหวัดชุมพร นำสาหร่ายมาล้างน้ำประปาจนสะอาด หลังจากนั้นนำสาหร่ายมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเมื่ออบจนแห้งแล้วนำสาหร่ายมาบดด้วยเครื่องปั่นอาหารให้เป็นผงละเอียดเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

### 2. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่าย 3 วิธี คือ

(1) ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (2) การหาปริมาณโพลีฟีนอล (Total Phenolic Content, TPC) และ (3) การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (Reducing power)

2.1) ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH โดยชั่งสาหร่ายแห้งที่บดละเอียด 1 กรัม สกัดด้วยเอทานอล 95%, อะซิโตน และน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นตั้งส่วนใสมาปิเปตลงหลอดทดลอง 1.08 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH (ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์) 0.12 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Murakami *et al.* 2004) และนำมาคำนวณ

สมการ DPPH (Absorbance ที่ 517 นาโนเมตร) = 1.0376(DPPH) – 0.0197

สูตร DPPH %DPPH ที่เหลือ = DPPH (ตัวอย่าง)/DPPH(standard)\*100

2.2) การหาปริมาณโพลีฟีนอล โดยชั่งสาหร่ายแห้งที่บดละเอียด 1 กรัม สกัดด้วยเอทานอล 95%, อะซิโตน และน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นตั้งส่วนใส มาปิเปตลงหลอดทดลอง 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10% 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ตามวิธี Folin-Ciocalteu (Wolfe *et al.* 2003) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

#### 2.2.1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก

2.2.1.1 ละลายกรดแกลลิก 0.0200 กรัม ด้วยเอทานอล (95%) ปรับปริมาตรจนได้ 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

2.2.1.2 ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกที่เตรียมไว้ลงในหลอดทดลอง โดยให้มีปริมาณกรดแกลลิก ตั้งแต่ 0-140 ไมโครกรัม เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 1 การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

หลอดที่	ไมโครลิตรของ working solution	ไมโครกรัมของกรดแกลลิก	มิลลิลิตรน้ำกลั่น
1	0	0	10.00
2	50	20	9.95
3	100	40	9.90
4	150	60	9.85
5	200	80	9.80
6	250	100	9.75
7	300	120	9.70
8	350	140	9.65

2.2.1.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที

2.2.1.4 เติมสารละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (10%) (วิธีเตรียม  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  จำนวน 10 กรัม ละลายด้วยน้ำจำนวน 100 มิลลิลิตร) หลอดละ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 10 นาที เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายหลอดที่ 1 เป็น blank

2.2.1.5 นำผลที่วัดได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับปริมาณของกรดแกลลิกได้เป็นกราฟมาตรฐาน (standard curve)

2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (Reducing power) โดยชั่งสารหยาบแห้งที่บดละเอียด 0.005 กรัม และ 0.01 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.2M, pH6.6) 2.5 มิลลิลิตร และเติม potassium ferricyanide (1%) 2.5 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath 50 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม trichloroacetic acid (10%) 2.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้น ตั้งส่วนใส 2.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และเติม  $\text{FeCl}_3$  (0.1%) 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร (Kumar *et al*, 2008) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก

2.3.1.1 ละลายกรดแกลลิก 0.0200 กรัม ด้วยเอทานอล (95%) ปรับปริมาตรจนได้ 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

2.3.1.2 บีบสารละลายกรดแกลลิกที่เตรียมไว้ลงในหลอดทดลอง โดยให้มีปริมาณกรดแกลลิก ตั้งแต่ 0-140 ไมโครกรัม เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 1

2.3.1.3 เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.2M, pH6.6) 2.5 มิลลิลิตรและเติม potassium ferricyanide (1%) 2.5 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath 50 °C เป็นเวลา 30 นาที

2.3.1.4 เติม trichloroacetic acid (10%) 2.5 มิลลิลิตร ตั้ง standard 2.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และเติม  $\text{FeCl}_3$  (0.1%) 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

2.3.1.5 นำผลที่วัดได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลีนแสงกับปริมาณของกรดแกลลิกได้เป็นกราฟมาตรฐาน (standard curve)

#### การบันทึกข้อมูล

บันทึกค่าการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระของ DPPH, TPC และ Reducing power ของสารห่วยที่ได้จากสารสกัดต่าง ๆ

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองได้แก่ ความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH, ปริมาณโพลีฟีนอล มาวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS window version 10.0 เพื่อหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสารห่วยแต่ละชนิดในการทดลอง

#### สถานที่ทำการศึกษา

ทำการศึกษาดัวอย่างจาก 3 บริเวณคือ บริเวณริมชายหาดของอ่าวคุ้งวิมาน จ.จันทบุรี สถานีวิจัยประมงคลองวาฬ จ. ประจวบคีรีขันธ์ และสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารวิทยาเขตชุมพร อ.ปะทิว จ.ชุมพร และนำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### บทที่ 3 ผลการศึกษาและวิจารณ์

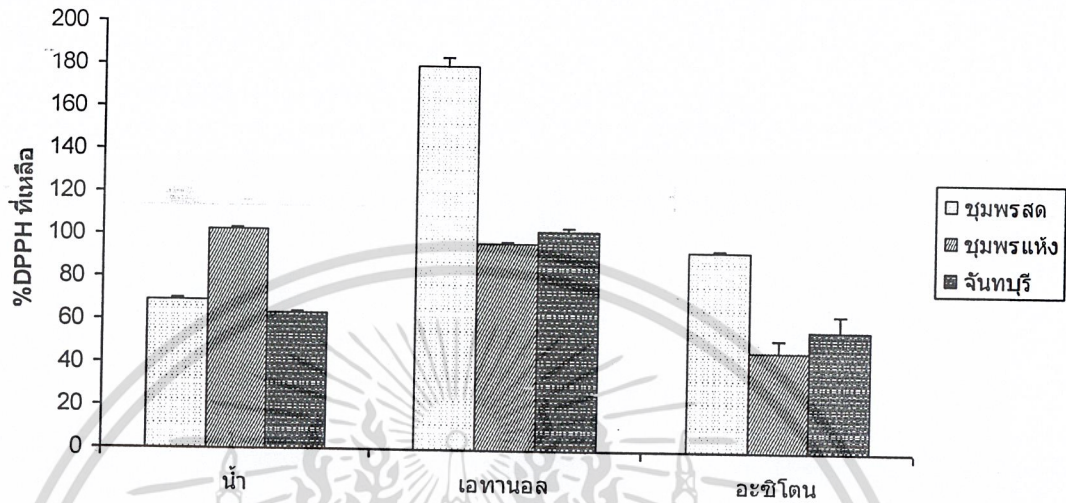
#### 1. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

จากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายทะเลทั้ง 5 ชนิด ประกอบด้วย *Sargassum* sp., *Caulerpa lentillifera*, *Padina* sp., *Gracilaria* sp., *Turbinaria* sp. ด้วยวิธี DPPH พบว่าเปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Sargassum* sp. (ชุมพร) ด้วยอะซิโตน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับการสกัดด้วยเอทานอลและ น้ำกลั่นโดยมีจำนวน  $46.46 \pm 5.94$ ,  $96.38 \pm 1.16$  และ  $102.87 \pm 0.32$  ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Sargassum* sp. (จันทบุรี) ด้วยอะซิโตน และน้ำกลั่น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับการสกัดด้วยเอทานอล โดยมีจำนวน  $56.71 \pm 7.75$ ,  $63.30 \pm 0.86$  และ  $102.46 \pm 1.98$  ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Sargassum* sp. (ชุมพร) โดยการวิเคราะห์สดด้วยน้ำกลั่น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับการสกัดด้วยอะซิโตนและ เอทานอลโดยมีจำนวน  $69.32 \pm 0.94$ ,  $93.49 \pm 0.57$  และ  $180.12 \pm 3.81$  ตามลำดับ (ภาพที่ 5) เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ด้วยน้ำกลั่นและ อะซิโตนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับการสกัดด้วยเอทานอล โดยมีจำนวน  $30.80 \pm 0.92$ ,  $40.02 \pm 2.03$  และ  $65.41 \pm 1.78$  ตามลำดับ (ภาพที่ 6) เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Padina* sp. ด้วยอะซิโตน น้ำกลั่นและ เอทานอล ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยมีจำนวน  $80.60 \pm 9.14$ ,  $85.62 \pm 1.17$  และ  $88.11 \pm 3.34$  ตามลำดับ (ภาพที่ 7) เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Gracilaria* sp. ด้วยน้ำกลั่นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับการสกัดด้วยเอทานอลและอะซิโตน โดยมีจำนวน  $56.54 \pm 0.70$ ,  $81.03 \pm 0.84$  และ  $85.84 \pm 2.11$  ตามลำดับ (ภาพที่ 8) เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Turbinaria* sp. ด้วยอะซิโตนและ เอทานอล มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับการสกัดด้วยน้ำกลั่น โดยมีจำนวน  $75.18 \pm 3.06$ ,  $79.88 \pm 2.33$  และ  $100.94 \pm 5.55$  ตามลำดับ (ดังภาพที่ 9) และ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือในสาหร่ายทั้ง 5 ชนิดพบว่า สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับสาหร่าย *Sargassum* sp., *Padina* sp., *Gracilaria* sp., *Turbinaria* sp. โดยมีจำนวน  $45.41 \pm 6.54$  ซึ่งสามารถทำลายอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสาหร่าย *Sargassum* sp., *Padina* sp., *Gracilaria* sp., *Turbinaria* sp. ที่มีปริมาณ  $81.90 \pm 11.27$ ,  $84.78 \pm 1.39$ ,  $74.47 \pm 5.73$ ,  $85.33 \pm 5.00$  ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสารสกัด พบว่าน้ำกลั่นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับอะซิโตนและ เอทานอล โดยมีจำนวน  $65.88 \pm 11.06$ ,  $90.59 \pm 22.82$  และ  $109.09 \pm 21.60$  ตามลำดับ (ภาพที่ 10 และ ตารางที่ 2)

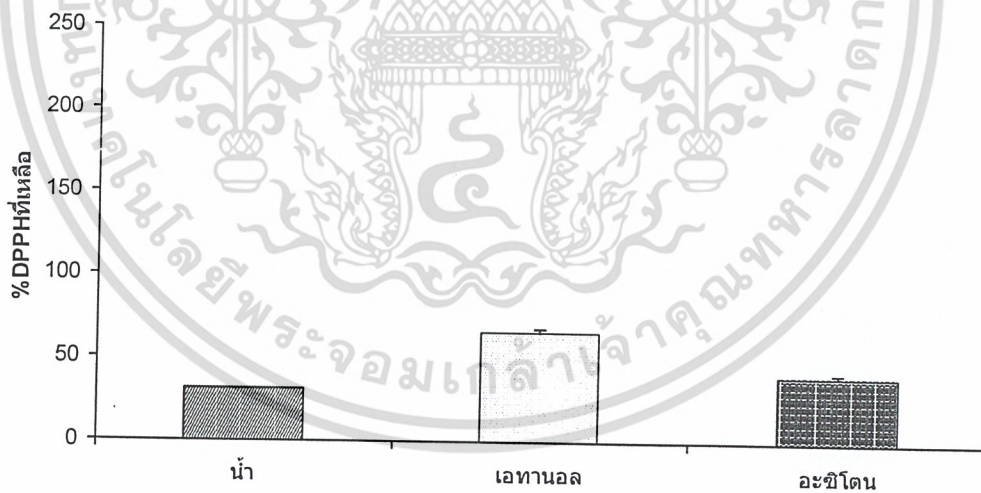
สอดคล้องกับการศึกษาของ Chun et al. (2006) พบว่าโครงสร้างของสารประกอบที่พบในสาหร่าย *Caulerpa* ได้แก่ Caulerpal A และ Caulerpal B จะมีกิจกรรมซึ่งยับยั้ง Human protein tyrosine phosphatase 1B (hPTP1B) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคเบาหวานและโรคอ้วน และจากการศึกษาของ Chew et al. (2008) พบว่าค่า DPPH เมื่อดูจากค่า  $IC_{50}$  ในสาหร่าย *Padina* กลับมีค่าต่ำสุด และสูงสุดใน *Caulerpa* อาจเนื่องมาจาก กรดโพลีติก, ไรอามิน และวิตามิน C ที่พบในสาหร่ายชนิดนี้

[10]

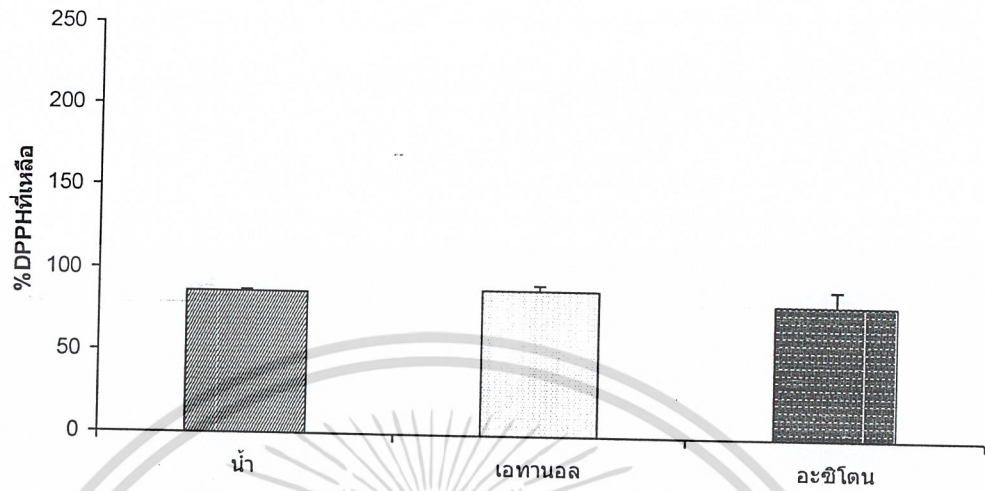
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



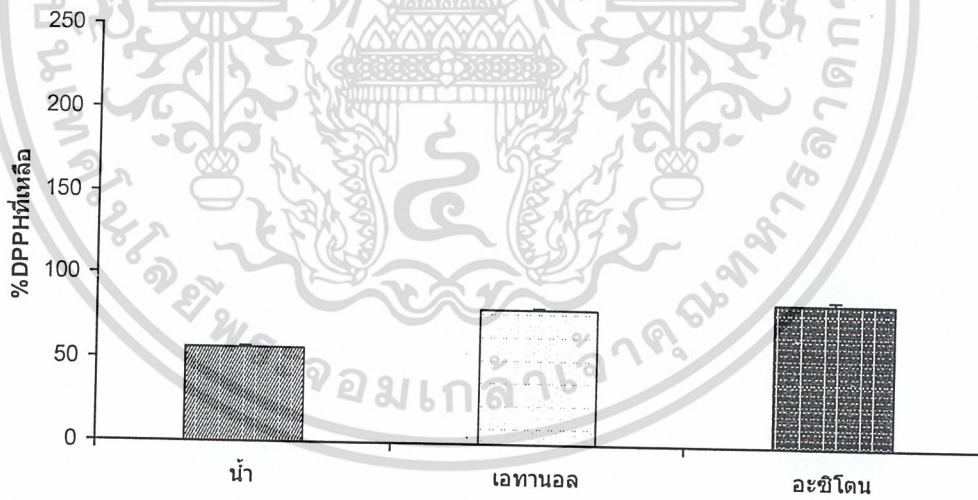
ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Sargassum* sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ



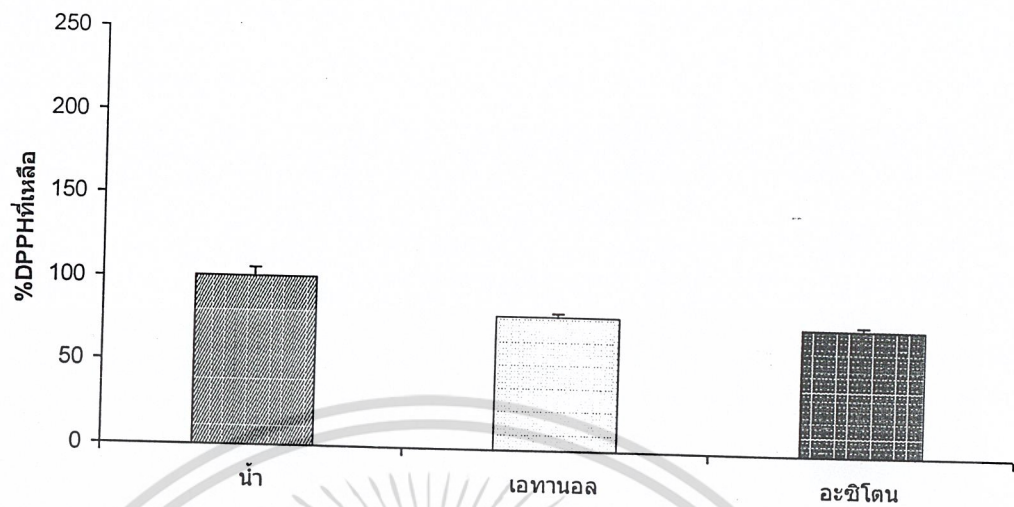
ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ



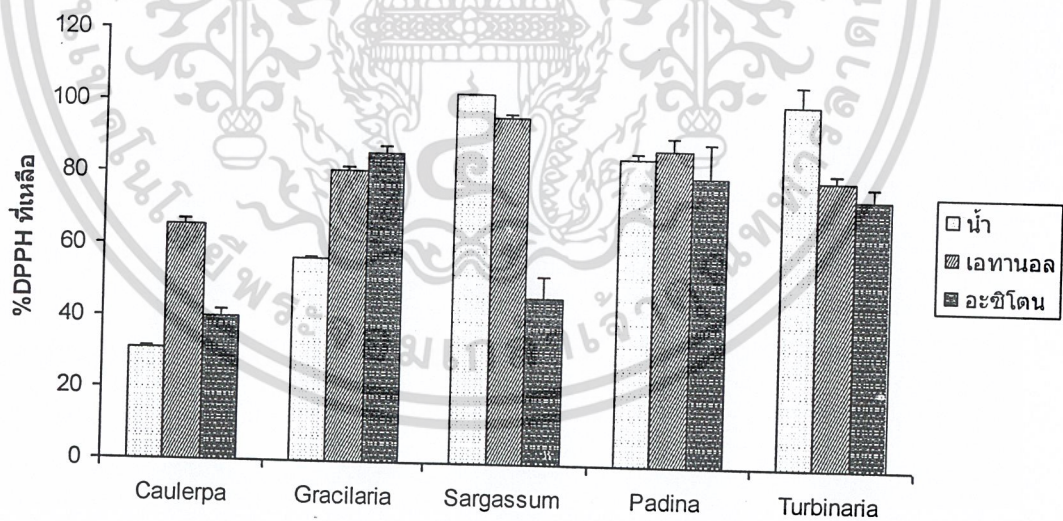
ภาพที่ 7 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Padina* sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ



ภาพที่ 8 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Gracilaria* sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ



ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย *Turbinaria* sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ



ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย ทั้ง 5 ชนิด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือจากการสกัดสาหร่าย 5 ชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

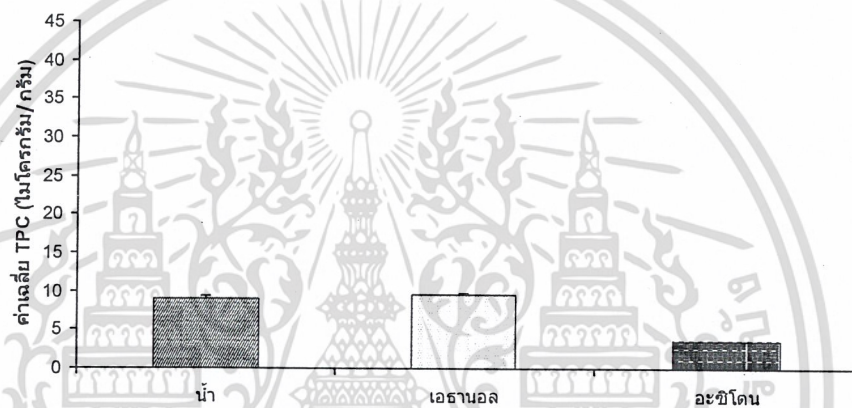
ชนิดสาหร่าย	สารสกัด			Mean±SE
	น้ำ	เอทานอล	อะซิโตน	
<i>Sargassum</i> (ชุมพร)	98.87±0.32	96.38±1.16	46.46±5.94	81.90±11.27 <sup>cd</sup>
<i>Sargassum</i> (จันทบุรี)	63.30±0.86	92.46±1.98	56.71±7.75	74.16±9.03 <sup>b</sup>
<i>Sargassum</i> (ชุมพร) สด	69.32±0.94	99.12±3.81	93.49±0.57	90.31±21.27 <sup>e</sup>
<i>Caulerpa</i>	30.80±0.92	65.41±1.78	40.02±2.03	45.41±6.54 <sup>a</sup>
<i>Padina</i>	85.62±1.17	88.11±3.34	80.60±9.14	84.78±1.39 <sup>d</sup>
<i>Gracilaria</i>	56.54±0.70	81.03±0.84	85.84±2.11	74.47±5.73 <sup>b</sup>
<i>Turbinaria</i>	99.94±5.55	79.88±2.33	75.18±3.06	85.33±5.00 <sup>d</sup>
Mean±SE	72.77±10.67 <sup>b</sup>	99.06±15.61 <sup>c</sup>	68.33±8.53 <sup>a</sup>	

\*ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

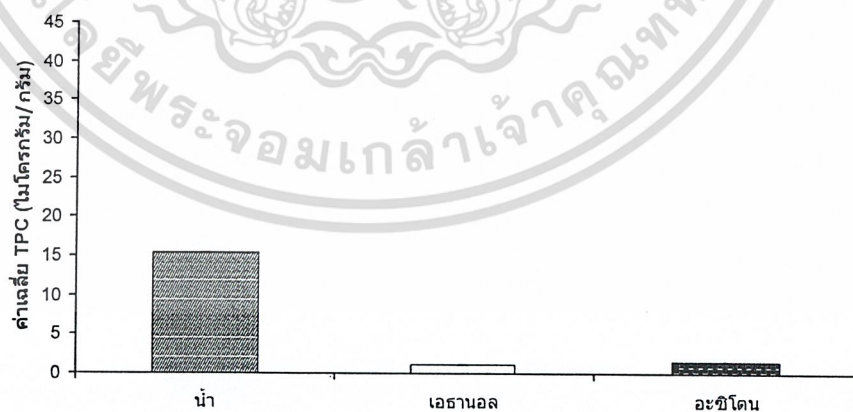
## 2. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) ในสาหร่ายทั้ง 5 ชนิด คือ *Sargassum* sp., *Caulerpa lentillifera*, *Padina* sp., *Turbinaria* sp. และ *Gracilaria* sp. พบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ด้วยเอทานอลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการสกัดด้วยน้ำกลั่น และ อะซิโตน โดยมีจำนวน 9.49±0.18, 9.08±0.26 และ 3.46±0.04 และ ตามลำดับ (ภาพที่ 11) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายสาหร่าย *Sargassum* sp. (จันทบุรี) ด้วย น้ำกลั่นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการสกัดด้วยอะซิโตนและ เอทานอล โดยมีจำนวน 15.33±0.04, 1.40±0.08 และ 1.03±0.11 ตามลำดับ (ภาพที่ 12) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Padina* sp. ด้วยน้ำกลั่นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการสกัดด้วยเอทานอลและ อะซิโตน โดยมีจำนวน 40.47±3.34, 9.91±0.02 และ 8.51±0.11 ตามลำดับ (ภาพที่ 13) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Turbinaria* sp. ด้วยน้ำกลั่น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการสกัดด้วยอะซิโตนและ เอทานอล โดยมีจำนวน 11.19±0.13, 4.21±0.17 และ 2.89±0.04 ตามลำดับ (ภาพที่ 14) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Sargassum* sp. (ชุมพร) ด้วยน้ำกลั่น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการสกัดด้วยอะซิโตนและ เอทานอล โดยมีจำนวน 34.74±0.12, 6.31±0.08 และ 6.18±0.05 ตามลำดับ (ภาพที่ 15) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Gracilaria* sp. ด้วยน้ำกลั่น เอทานอลและอะซิโตน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เนื่องจากไม่พบสารประกอบฟีนอลในสาหร่าย *Gracilaria* sp. (ภาพที่ 16) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารฟีนอลในสาหร่ายทั้ง 5 ชนิดพบว่า สาหร่าย *Padina* sp. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับการสกัดด้วย *Sargassum* sp.

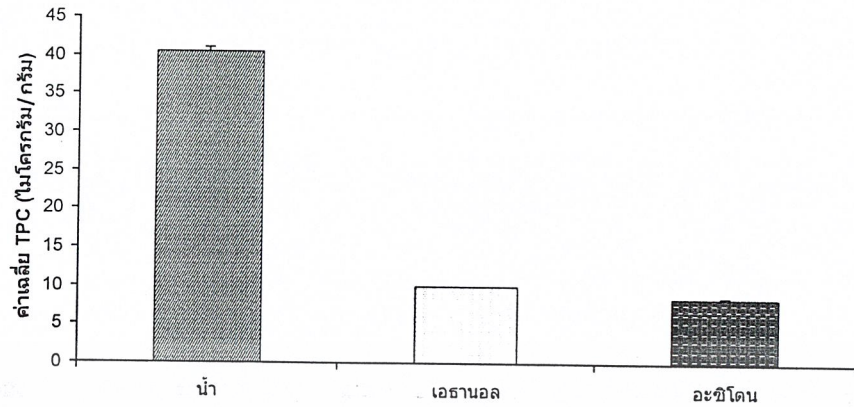
(ชุมพร), *Caulerpa lentillifera*, *Turbinaria* sp. และ *Sargassum* sp. (จันทบุรี) โดยมีจำนวน 19.63±6.59 , 15.75±6.00 , 7.34±1.22 , 6.10±1.62 และ 5.92±2.97 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสารสกัดพบว่า น้ำกลั่นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับเอทานอล และอะซิโตน โดยมีปริมาณ 22.16±5.76, 5.90±1.57 และ 4.78±1.09 ตามลำดับ (ภาพที่ 17 และตารางที่ 3) สอดคล้องกับการศึกษาของ Connan et al. (2006) พบว่าสาหร่ายสีน้ำตาลทั่วไปจะมีปริมาณ polyphenols สูงกว่าสาหร่ายทะเลสีแดงและสีเขียว และสอดคล้องกับการศึกษาของ Yan et al. (1996, 1999) พบว่าสารประกอบ phenolic เป็นสารที่เกิดในพืช และมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งเป็นคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระ องค์ประกอบหลักๆ ที่ได้จากการสกัดสาหร่ายจะเป็นพวก phlorotannins และ fucoxanthin



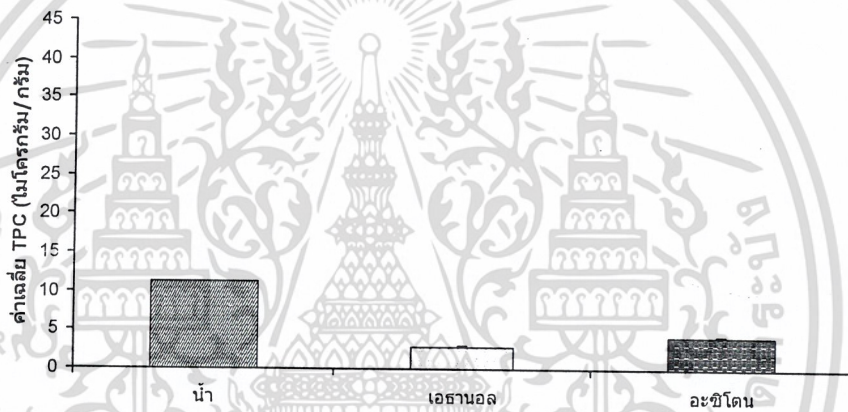
ภาพที่ 11 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ



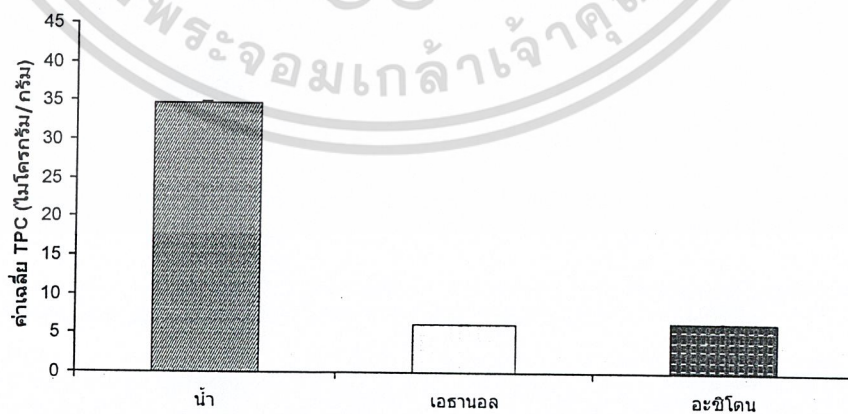
ภาพที่ 12 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Sargassum* sp. (จันทบุรี) ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ



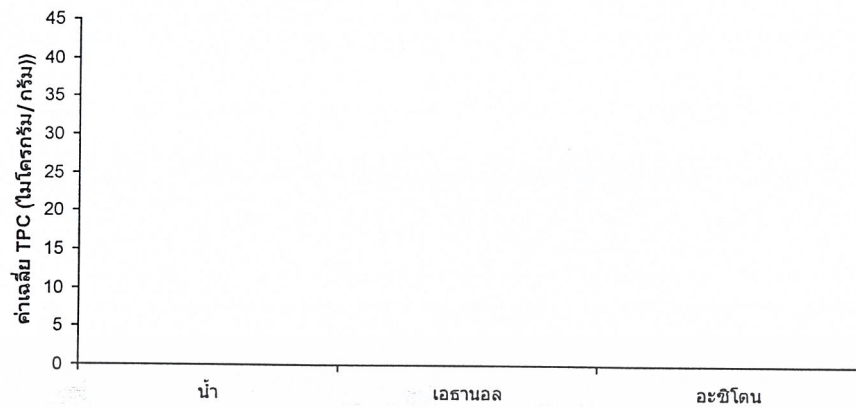
ภาพที่ 13 ปริมาณสารประกอบฟอสฟอรัสทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Padina* sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ



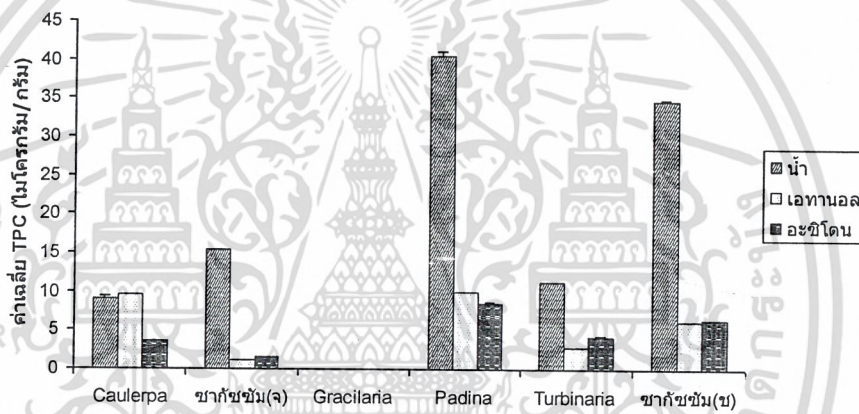
ภาพที่ 14 ปริมาณสารประกอบฟอสฟอรัสทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Turbinaria* sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 15 ปริมาณสารประกอบฟอสฟอรัสทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Sargassum* sp. (ชุมพร) ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 16 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่าย *Gracilaria* sp. ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 17 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายทั้ง 5 ชนิด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ TPC ที่ได้จากการสกัดสาหร่าย 5 ชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ชนิดสาหร่าย	สารสกัด			Mean±SE
	น้ำ	เอทานอล	อะซิโตน	
Caulerpa	9.08±0.26	9.49±0.18	3.46±0.04	7.34±1.22 <sup>c</sup>
Sargassum (จ)	15.33±0.04	1.03±0.11	1.40±0.08	5.92±1.57 <sup>d</sup>
Gracilaria	0	0	0	0
Padina	40.47±3.34	9.91±0.02	8.51±0.11	19.63±6.59 <sup>a</sup>
Turbinaria	11.19±0.13	2.89±0.04	4.21±0.17	6.10±1.62 <sup>d</sup>
Sargassum (ข)	34.74±0.12	6.18±0.05	6.31±0.08	15.75±6.00 <sup>b</sup>
Mean±SE	22.16±5.76 <sup>a</sup>	5.90±1.57 <sup>b</sup>	4.78±1.09 <sup>c</sup>	

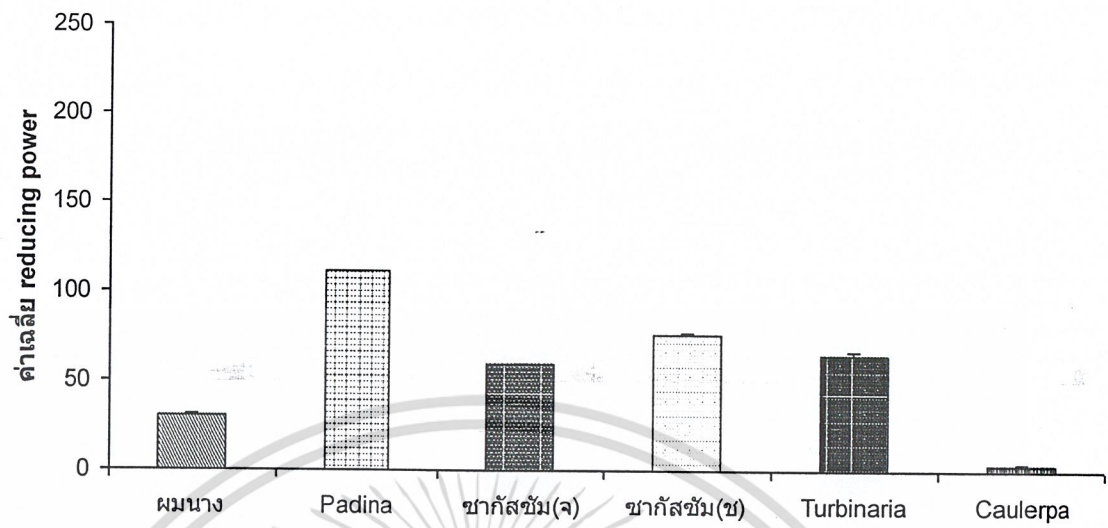
\*ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

120417

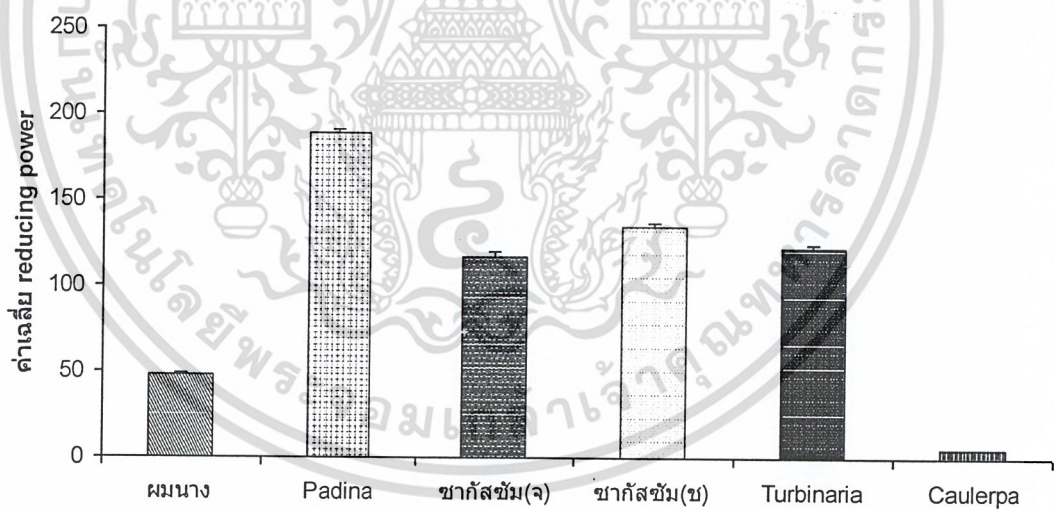
### 3. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Reducing power

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่าย 5 ชนิดคือ สาหร่าย *Sargassum* sp., สาหร่าย *Padina* sp., สาหร่าย *Turbinaria* sp., สาหร่าย *Gracilaria* sp. และ สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* พบว่าสาหร่าย *Padina* sp. ที่มีน้ำหนัก 0.01 กรัม (ภาพที่ 19) มีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าที่น้ำหนัก 0.005 กรัม (ภาพที่ 18) โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับสาหร่ายอีก 4 ชนิด โดยมีจำนวน  $188.23 \pm 2.33$  และ  $111.20 \pm 0.66$  ตามลำดับ ความสามารถในการเป็น reduce agent รองลงมา คือ สาหร่าย *Sargassum* sp. (ชุมพร) พบว่าที่น้ำหนัก 0.01 กรัม (ภาพที่ 19) มีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าน้ำหนัก 0.005 กรัม (ภาพที่ 18) โดยมีจำนวน  $134.19 \pm 2.47$  และ  $75.89 \pm 0.68$  ตามลำดับ สาหร่าย *Turbinaria* sp. ที่น้ำหนัก 0.01 กรัม (ภาพที่ 19) มีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าน้ำหนัก 0.005 กรัม (ภาพที่ 18) โดยมีจำนวน  $122.22 \pm 1.82$  และ  $64.72 \pm 1.71$  ตามลำดับ สาหร่าย *Sargassum* sp. (จันทบุรี) พบว่าที่น้ำหนัก 0.01 กรัม (ภาพที่ 19) มีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าน้ำหนัก 0.005 กรัม (ภาพที่ 18) โดยมีจำนวน  $116.22 \pm 3.37$  และ  $59.39 \pm 0.37$  ตามลำดับ สาหร่าย *Gracilaria* sp. พบว่าที่น้ำหนัก 0.01 กรัม (ภาพที่ 19) มีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าน้ำหนัก 0.005 กรัม (ภาพที่ 18) โดยมีจำนวน  $47.87 \pm 0.56$  และ  $30.72 \pm 0.36$  ตามลำดับ สาหร่ายที่มีความสามารถในการเป็น reduce agent ต่ำที่สุด คือ สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ซึ่งที่น้ำหนัก 0.01 กรัม (ภาพที่ 19) ยังมีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าน้ำหนัก 0.005 กรัม (ภาพที่ 18) โดยมีจำนวน  $4.98 \pm 0.49$  และ  $3.61 \pm 0.38$  ตามลำดับ

สอดคล้องกับการศึกษาของ Chew et al. (2008) ซึ่งวิเคราะห์ Ferrous ion chelating assay (FIC) พบว่าในสาหร่ายสีน้ำตาล *Padina* มีสูงที่สุดเนื่องจากสาร phlorotannins ที่มักพบในสาหร่ายสีน้ำตาล จะเป็นคีเลตที่สำคัญ



ภาพที่ 18 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดสาหร่าย 4 ชนิด ที่ระดับน้ำหนักร้อยละ 0.005 กรัม



ภาพที่ 19 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดสาหร่าย 4 ชนิด ที่ระดับน้ำหนักร้อยละ 0.01 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึ [19] เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### บทที่ 4 สรุปผล

จากการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายทั้ง 5 ชนิด ประกอบด้วย *Sargassum* sp., *Caulerpa lentillifera*, *Padina* sp., *Gracilaria* sp., *Turbinaria* sp. พบว่าการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* สามารถทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด โดยมีจำนวน  $45.41 \pm 6.54$  % ส่วนการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล สาหร่าย *Padina* sp. พบปริมาณสารฟีนอลมากที่สุด โดยมีจำนวน  $19.63 \pm 6.59$  ไมโครกรัม/กรัม และการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี Reducing power สาหร่าย *Padina* sp. มีความสามารถของการเป็น reduce agent เท่ากับ  $188.23 \pm 2.33$  มิลลิกรัม/กรัม และมีความสามารถของการเป็น reduce agent มากกว่าสาหร่ายชนิดอื่น

#### ข้อเสนอแนะ

เมื่อวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายทะเลจนทราบแล้วว่าชนิดใดมีสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ควรนำไปผสมอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อทดสอบว่า สาหร่ายทะเลชนิดนั้นสามารถเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์น้ำได้หรือไม่

## เอกสารอ้างอิง

- กาญจนภาชน์ ลีวมโนมนท์. 2527. สหายาย คณะประมง ม.เกษตร น. 205-206.
- ปวิชนันท์ รัชส์ัจ. 2546. การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกถั่วเขียว.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.  
เข้าถึงได้จาก.<http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7html.19/02/2553>
- ไพโรจน์ พรหมานนท์ และสุชาติ เตชะนราวงศ์. 2532. การเจริญพันธุ์ของคาร์โปสปอร์สำหรับผสมนาง.  
วารสารการประมง 42(6):425-433.
- Ames, B.N., M.K. Shigenaga, and T.M. Hagen. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci USA 90:7915-7922.
- Chew, Y.L., Y.Y. Lim, M. Omar, K.S. Khoo. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT 41:1067-1072.
- Chun, M.S., Y.G. Wei, and X. Shen. 2006. Two novel aromatic valerenane-type sesquiterpenes from the Chinese green alga *Caulerpa taxifolia*. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 16:2947-2950.
- Gavino C.T. 1986. Seaweed Culture in the Asia-Pacific Region. RAPA Publication 1987/8. Food and Agriculture Organization of United Nation. Bangkok, 41 p.
- Gordon, M.H., F. Paiva-Martins, and M. Almeida. 2001. Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49(5):2480-2485.
- Halliwel, B. 1995. Oxygen radical, nitric oxide and human inflammatory joints disease. Annals of the Rheumatic Diseases. 54:505-510.
- Halliwel, B. 1999. Antioxidant defense mechanisms: from beginning to the end (of the beginning). Free Radic Res. 31:261-272.
- Kumar, K.S., K. Ganesan, and P.V.S. Rao. 2008. Antioxidant potential of solvent extract of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty-An edible seaweed. Food Chemistry 107: 289-295.

Murakami, M., T. Yamaguchi, H. Takamura and T. Matoba. 2004. A comparative study on the various in vitro assay of active oxygen scavenging activity in food. Food Science and Technology Research 67: 119-125.

Sherwin, E.R. 1990. Antioxidant. In: Branen R. (ed.), Food Additives. New York: Marcel Dekker, pp. 139-193.

Sies, H. 1991. Oxidative Stress: from basic research to clinical application. Am J Med. 91:315-385.

Wolfe, K., X. Wu and R.H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peel. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 609-614.

