สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

การประเมินศักยภาพของพรรณไม้น้ำที่สร้างสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลเพื่อใช้เป็นสมุนไพรในการป้องกันโรคกุ้ง

Evaluation for some potentially on antioxidant capacity and phenolic content of aquarium as herbal medicinal protective against shrimp diseases

RCH
SN
391
.65
Q514ก
ค.1
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 120419
วัน, เดือน, ปี 21 ก.พ. 2555
b 12191889
i.....

คณะผู้วิจัย

นางสาวอัจฉรี เรืองเดช

นางนงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2553

สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ การประเมินศักยภาพของพรรณไม้น้ำที่สร้างสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลเพื่อใช้เป็นสมุนไพรในการป้องกันโรคกุ้ง

Evaluation for some potentially on antioxidant capacity and phenolic content of aquarium plants as herbal medicinal protective against shrimp diseases

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก งบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2553 **จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน** 300,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2552 ถึง 30 กันยายน 2553
ผู้ดำเนินการวิจัย นางสาวอัจฉรี เรืองเดช สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง สจล.
kruschar@kmitl.ac.th

นางนงนุช เลาหะวิสุทธิ์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง สจล.
klnongnu@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ

การประเมินศักยภาพของพรรณไม้ใต้น้ำ 4 ชนิด ประกอบด้วย สาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillat*), สาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour), สาหร่ายคาบอมบ้า (*Cabomba aquatica*) และ สาหร่ายขนนก (*Myriophyllum aquaticum*) พบคุณลักษณะที่เป็นประโยชน์คือมีสารชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และต้านจุลชีพที่จะสามารถทำให้พรรณไม้น้ำเหล่านี้มีมูลค่าเพิ่ม ในการศึกษานี้ใช้สารสกัดคือ อะซิโตน เอทานอล และน้ำ โดยนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบความสามารถในการต้านจุลชีพ สารประกอบฟีนอล และความสามารถในการยับยั้ง DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) พบว่าสาหร่ายข้าวเหนียวที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.25% และ 0.125% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในปลา (*Aeromonas hydrophila*) และเชื้อก่อโรคในกุ้ง (*Vibrio harveyi*) ตามลำดับ แต่กลับพบสารประกอบกลุ่มฟีนอลสูงสุดในสาหร่ายขนนก คือ 76.32 ไมโครกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสาหร่าย ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสาหร่ายข้าวเหนียวและสาหร่ายขนนกมีศักยภาพในการใช้เพื่อการต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลชีพ

คำสำคัญ: พรรณไม้น้ำ สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านจุลชีพ

Abstract

The present study investigated the potential of Four submerged aquatic plants, *Hydrilla verticillata, Utricularia aurea* Lour, *Cabomba aquatica* and *Myriophyllum aquaticum*. The beneficial characteristic as containing bioactive products that display antioxidant and antimicrobial properties can increase the economic value of these

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

plants. In this study, different solvents; acetone, ethanol, and water were used to obtain the extracts. All extracts were evaluated for antimicrobial activity, total phenolic contents, and inhibition of stable DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical. The antimicrobial results showed minimum bactericidal concentration by ethanol extract of *U. aurea* on *Aeromonas hydrophila* (fish disease) and *Vibrio harveyi* (shrimp disease) at the concentration of 0.25% and 0.125%, respectively. While, total phenolic compound was highest in *M. aquaticum* ethanol extract (76.32 ug gallic acid equivalent/g dry sample). These results indicated that *Utricularia aurea* and *Myriophyllum aquaticum* could be potential sources of natural antioxidant and antimicrobial activities.

Keywords: aquatic plant, antioxidant, antimicrobial

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	I
สารบัญ	III
สารบัญตาราง	IV
สารบัญภาพ	V
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	12
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์	16
บทที่ 4 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	30
เอกสารอ้างอิง	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเตรียมหลอดทดลองสำหรับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค	13
2	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือจากการสกัดสาหร่าย 4 ชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	19
3	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ TPC ที่เหลือจากการสกัดสาหร่าย 4 ชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	23
4	ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Aeromonas hydophilla* จากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำ	26
5	ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Aeromonas hydophilla* จากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่สกัดด้วยเอทานอล	27
6	ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Vibrio harveyi* จากสาหร่ายทั้ง 4 ที่สกัดด้วยน้ำ	28
7	ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Vibrio harveyi* จากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่สกัด ด้วยเอทานอล	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สาหร่ายหางกระรอก	1
2	สาหร่ายข้าวเหนียว	2
3	สาหร่ายคาบอมบ้า	2
4	สาหร่ายขนนก	3
5	โครงสร้างของ Tellimagradin II	4
6	ผลการวิเคราะห์ HPLC ของสารสกัดเมทานอลที่ได้จาก *M. spicatum*	4
7	วงจรการเกิดอนุมูลอิสระ	5
8	แสดงวงจรการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ	7
9	โครงสร้างของวิตามิน อี	7
10	โครงสร้างของวิตามิน ซี	7
11	โครงสร้างของเบตาแคโรทีน และ วิตามิน เอ	8
12	อนุภาคอิสระที่เสถียรสามารถรับอิเลคตรอนได้เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ	9
13	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายหางกระรอกด้วย ตัวทำละลายชนิดต่างๆ	17
14	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายข้าวเหนียวด้วยตัวทำละลายชนิด ต่างๆ	17
15	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายคาบอมบ้าด้วยตัวทำละลายชนิด ต่างๆ	18
16	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายขนนกด้วย ตัวทำละลายชนิด ต่างๆ	18
17	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย ทั้ง 4 ชนิด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	19
18	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายหางกระรอก ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	20
19	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายข้าวเหนียว ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	21
20	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายคาบอมบ้า ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	21
21	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายขนนก ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	22
22	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดสาหร่าย 4 ชนิด ที่ระดับน้ำหนักสาหร่าย 0.005 กรัม	24
24	ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดสาหร่าย 4 ชนิด ที่ระดับ น้ำหนักสาหร่าย 0.01 กรัม	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

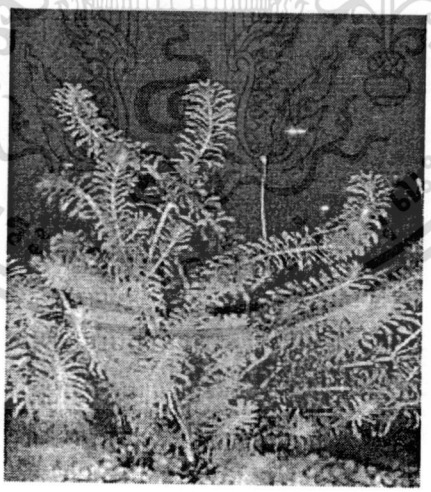
บทที่ 1 บทนำ

พรรณไม้น้ำหรือพืชน้ำหมายถึงพืชที่ขึ้นอยู่ในน้ำโดยอาจจะจมอยู่ใต้น้ำทั้งหมดหรือโผล่บางส่วนขึ้นมาอยู่เหนือน้ำ หรือเป็นพืชที่ขึ้นอยู่ตามริมน้ำ ชายตลิ่ง ประเภทของพรรณไม้น้ำจำแนกตามตามขนาด 2 ประเภท Microphytes คือ พืชที่มีขนาดเล็ก Macrophytes คือ พืชที่มีขนาดใหญ่ จำแนกตามลักษณะการเจริญเติบโตได้ 4 ประเภท พืชลอยน้ำ (Floating plants) พืชใต้น้ำ (Submerged plants) พืชโผล่เหนือน้ำ (Emerged plants) พืชชายน้ำ (Marginal plants) ประเภทที่จะกล่าวถึงคือ พืชใต้น้ำ (Submerged plants) เป็นพรรณไม้น้ำที่มีส่วนของราก ลำต้น และใบอยู่ใต้น้ำทั้งหมด อาจมีรากยึดติดกับพื้นดินใต้น้ำหรือไม่ก็ได้ บางชนิดเมื่อเจริญเต็มที่ก็จะส่งดอกขึ้นมาเจริญที่ผิวน้ำหรือเหนือน้ำ ตัวอย่างเช่น สาหร่ายหางกระรอก(*Hydrilla verticillata)* สาหร่ายข้าวเหนียว(*Utricularia aurea* Lour) สาหร่ายคาบอมบ้า(*Cabomba aquatica*) และสาหร่ายขนนก(*Myriophyllum aquaticum*)

1.ลักษณะของพรรณไม้น้ำ

1.1 สาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillata)*

สาหร่ายหางกระรอกอยู่ในวงศ์เดียวกับสาหร่ายพุงชะโด อยู่ในวงศ์ Certophyllacea มักขึ้นรวมกันอยู่ใต้น้ำ ลำต้นกลมและอวบ แตกแขนงได้มาก มีรากออกตามข้อ ใบเป็นแผ่นเรียวเล็ก ไม่มีก้านใบ ใบออกรอบข้อเป็นชั้นถี่ๆ ทำให้ดูเป็นพวงคล้ายหางกระรอก ชูดอกเดี่ยวสีขาวขึ้นมาบนผิวน้ำ สาหร่ายหางกระรอก ขยายพันธุ์และเพิ่มจำนวนได้รวดเร็วมาก ปัจจุบันใช้ปลูกในตู้ปลาเพื่อความสวยงาม และใช้เป็นวัสดุพืชพันธุ์ในการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ (สุชาดา, 2530)



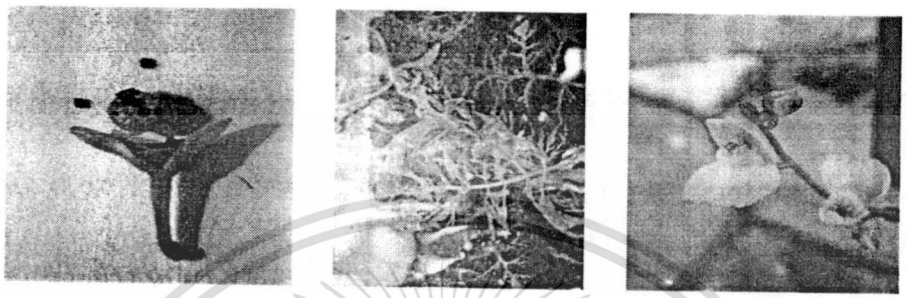
ภาพที่ 1 สาหร่ายหางกระรอก

ที่มา : http://pineapple-eyes.snru.ac.th/animal/nonghan/index.phpq=node/161

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 สาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour)

อยู่ใน Family Lentibbulariaceae เป็นสาหร่ายน้ำจืดชอบขึ้นในที่ตื้น มีลำต้นยาว ใบออกตรงกันเป็นคู่ หรือเป็นกระจุก 4 ใบ ใบแตกเป็นเส้นเล็กๆ เป็นพืชที่กินสัตว์เป็นอาหาร ที่โคนก้านใบจะพองออกมาเป็นถุงเล็กๆ สร้างน้ำย่อย ใช้ย่อยสัตว์น้ำขนาดเล็กที่หลุดเข้าไป มีดอกสีเหลืองขนาดใหญ่เห็นชัดเจน ออกเป็นช่อ ช่อละ 4-8 ดอก ก้านช่อดอกยาวส่งดอกขึ้นมาเจริญอยู่เหนือน้ำ (ดารารัตน์, 2548)



ภาพที่ 2 สาหร่ายข้าวเหนียว

ที่มา : http://pineapple-eyes.snru.ac.th/animal/nonghan/index.php?q=node/173

1.3 สาหร่ายคาบอมบ้า (*Cabomba aquatica*)

สาหร่ายคาบอมบ้ามีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาในแถบประเทศเม็กซิโก และบราซิล จัดเป็นพืชน้ำที่แท้จริง มีต้นผอมยาวในธรรมชาติอาจยาวถึง 2 เมตร แตกกิ่งก้านจำนวนมาก ใบเรียงตัวตรงข้ามกัน และตั้งฉากกันเป็นคู่เรียงตัวกันเป็นรูปวงกลม ตัวใบแตกเป็นใบประกอบแยกย่อยหลายชั้น โดยการแตกของใบจะแตกที่ฐานใบเป็น 5 แฉก แต่ละแฉกจะแตกอีก 4-5 ชั้น ทำให้เกิดเป็นฝอยสีเขียวประมาน 100-300 เส้น มีดอกอยู่ในระดับเหนือน้ำ กลีบดอกสีเหลืองสด เจริญได้ดีในน้ำที่มี pH 6.2-7.0 มีความกระด้างต่ำถึงปานกลาง คืออยู่ในช่วง 40-140 มิลลิกรัม/ลิตร อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 24-28 องศาเซลเซียส (กาญจนรี, 2543)

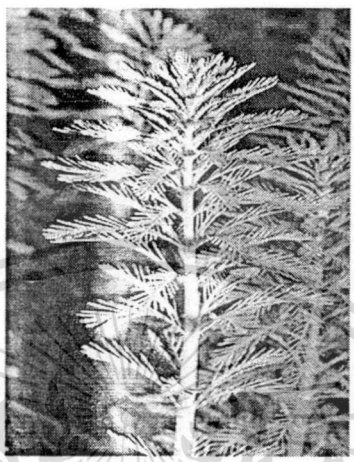
ภาพที่ 3 สาหร่ายคาบอมบ้า

ที่มา : http://images.google.co.th/imgres?hl=th&source=hp&q=cabomba

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 สาหร่ายขนนก (*Myriophyllum aquaticum*)

สาหร่ายขนนกเป็นพรรณไม้น้ำที่อยู่ในวงศ์สาหร่ายญี่ปุ่น Haloragaceae มีการแพร่กระจายอยู่ในทวีปเอเชีย มีลำต้นกลมเรียว แตกกิ่งก้านสาขา มีรากยึดดิน ใบแตกเป็นวงรอบๆ ข้อ ข้อละ 4-5 ใบ ดอกเดี่ยวมีขนาดเล็ก เกิดตามซอกใบเหนือน้ำจำนวนหลายดอก (กาญจนรี, 2543)



ภาพที่ 4 สาหร่ายขนนก

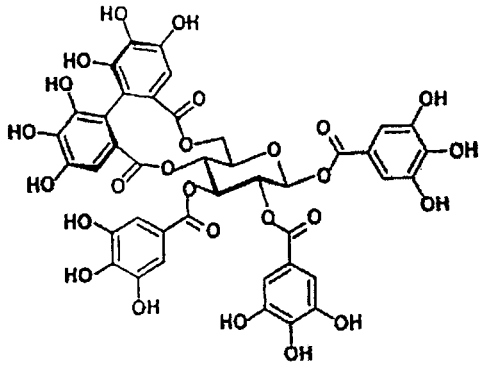
ที่มา : www. gartencenter-shop 24.de/images/ *Myriophyllum_verticillatum*.jpg

2. สารที่พบในพรรณไม้น้ำสกุล Myriophyllum

2.1 Tellimagradin II

Gross *et al*. (1996) รายงานว่าพืชน้ำขนาดใหญ่ *Myriophyllum spicatum* ที่รวบรวมในระหว่างฤดูร้อนปี 1991-1994 จากทะเลสาบทางเหนือของประเทศเยอรมัน โดย snorkel และ scuba นำมาสกัดโดยใช้ส่วนยอดของ *M. spicatum* สกัดด้วยอะซิโตนเหลวพบสาร Tellimagradin II หรือ -1,2,3-tri-O-galloy-4,6(S)-hexaydroxydiphenoy-D-glucose หรือ eugeniin เป็นสารแทนนินที่ละลายน้ำได้ (ภาพที่ 5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

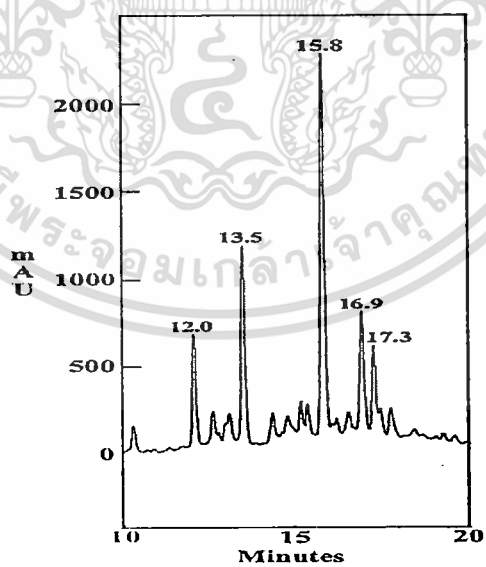


ภาพที่ 5 โครงสร้างของ Tellimagradin II

ที่มา : Gross *et al.* (1996)

2.2 Polyphenol

พืชน้ำขนาดใหญ่ *M. spicatum* รวบรวมจากแม่น้ำ Asakawa โตเกียว สกัดด้วย $CHCl_3$ จากนั้นนำมาแยกสารโดยใช้วิธี HPLC ตามด้วย atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (APCI-MS) เป็นการยืนยันปริมาณสารที่ตรวจพบ (Nakai *et al.* 2002)



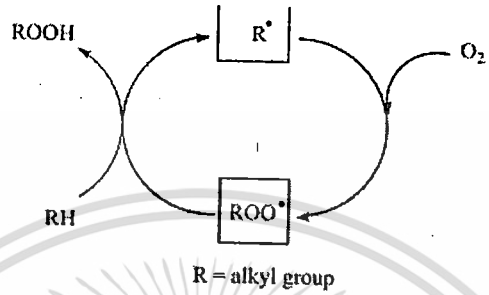
ภาพที่ 6 ผลการวิเคราะห์ HPLC ของสารสกัดเมทานอลที่ได้จาก *M. spicatum*

ที่มา : Nakai *et al.* (2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลอิสระ (free radical) คือโมเลกุล หรืออนุภาคที่ไม่เสถียรเนื่องจากรับหรือขาดอิเล็กตรอนไป 1 ตัว ปกติ ธาตุต่างๆ ที่อยู่ในโมเลกุลที่เสถียรจะต้องมีอิเล็กตรอนอยู่เป็นจำนวนคู่ ในกรณีที่มีการสูญเสีย หรือรับอิเล็กตรอนมาอีก 1 ตัวจะทำให้โมเลกุลนั้นไม่เสถียร สามารถแสกงวงจรการเกิดอนุมูลอิสระดังภาพที่ 7 (นงนภัส , 2551)



ภาพที่ 7 วงจรการเกิดอนุมูลอิสระ

ที่มา : http://en.wiki pedia. org/wiki/antioxidant

โดยปกติจะมีการกล่าวถึงเฉพาะอนุมูลอิสระ (free radicals) ที่เป็นสาเหตุการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น แต่แท้จริงแล้ว Reactive oxygen species (ROS) คือโมเลกุลหรืออิออนที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ 1 หรือ 10^{-3}-10^{-10} วินาที ตัวการสำคัญอีกตัวหนึ่ง ซึ่งมีโมเลกุลที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาที่เป็นทั้งอนุมูลอิสระ (radicals) และที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ (nonradicals) ก็ได้ จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยสามารถตรวจวัด ด้วย Electron Spin Resonance (ESR) โมเลกุล หรืออิออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ (free radicals) และ Reactive oxygen species (ROS) มีดังนี้ (พรทิพย์, 2538)

Superoxide anion radical	$O^{\bullet}_2$
Hydroxyl radical	$HO^{\bullet}$
Peroxide radical	$ROO^{\bullet}$
Peroxyl radical	$LOO^{\bullet}$
Hydrogen peroxide	H_2O_2
Ozone	O_3
Singlet oxygen	$1O_2$
Hydrogen radical	$H^{\bullet}$
Methyl radical	$CH^{\bullet}_3$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reactive oxygen species ทำลายโปรตีน, amino acid, และ nucleic acid การป้องกัน ROS โดยสารต้านอนุมูลอิสระมีความซับซ้อนแต่เป็นวิธีที่ได้ผลดีที่สุด superoxide dismutase (SOD) ทำปฏิกิริยากับน้ำทำให้เกิด H_2 O_2 และมีการนำออกซิเจนออกโดยวิธี catalase ใน peroxisome, โดย guaiacol peroxidase (GPX) ในแวคคิวโอล, ผนังเซลล์,cytosol, และ ascorbate peroxidase (APX) ที่อยู่ใน ascorbate glutathione cycle ในคลอโรพลาสต์ และไมโตคอนเดรีย การกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงในการ oxidized glutathione (GSSG) ทำให้น้อยลงโดย GSH โดย GSH (Reduce glutathione) จะกำจัด ROS ด้วยตัวของมันเอง (Srivastava *et al.*, 2006)

โดยหลักการทางเคมีอนุมูลอิสระ และ ROS เกิดโดย

ปฏิกิริยาการแยกอย่างสมมาตร (symmetric separation)

$$X - X \text{ -----> } X^{\cdot} + X^{\cdot}$$

อนุมูลอิสระอื่นๆ

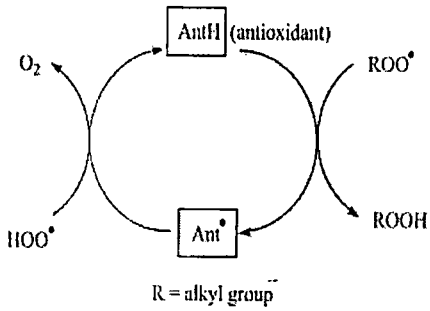
$$X^{\cdot} - HR \text{ ------> } HX + R^{\cdot}$$

แต่อย่างไรก็ตามอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายเหล่านี้สามารถถูกกำจัดไปได้ด้วยสารบางชนิดที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

4. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

ในทางเคมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชั่น กระบวนการออกซิเดชั่นมีหลายรูปแบบ เช่น กระบวนการออกซิเดชั่นที่ทำให้เหล็กกลายเป็นสนิม หรือทำให้น้ำมันพืชเหม็นหืน มลพิษทางอากาศ การหายใจ ควันบุหรี่ รังสียูวี ล้วนทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ในความเป็นจริงไม่มีสารประกอบสารใดสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นได้ทั้งหมด แต่ละกลไกอาจต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันในการหยุดกระบวนการออกซิเดชั่น โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะไปจับกับอนุมูลอิสระที่เป็นตัวเจ้าปัญหา แล้วเกิดอนุมูลอิสระที่เสถียรกว่า ส่งผลให้หยุดวงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ เพราะมันจะรวมตัวกันเองกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร แสดงวงจรการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระดังภาพที่ (ศรีวัฒนา, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 แสดงวงจรการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : http://en.wiki pedia. org/wiki/antioxidant

อาหารหรือยาที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น

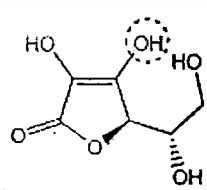
- วิตามินอี เป็นสารที่ละลายได้ดีในน้ำมันจึงพบมากในน้ำมันพืช

Vitamin E (α-Tocopherol)

ภาพที่ 9 โครงสร้างของวิตามิน อี

ที่มา : http://en.wiki pedia. org/wiki/antioxidant.

- วิตามินซี มีมากในพืชผักสีเขียวและผลไม้รสเปรี้ยว เช่น ตำลึง ผักบุ้ง มะนาว



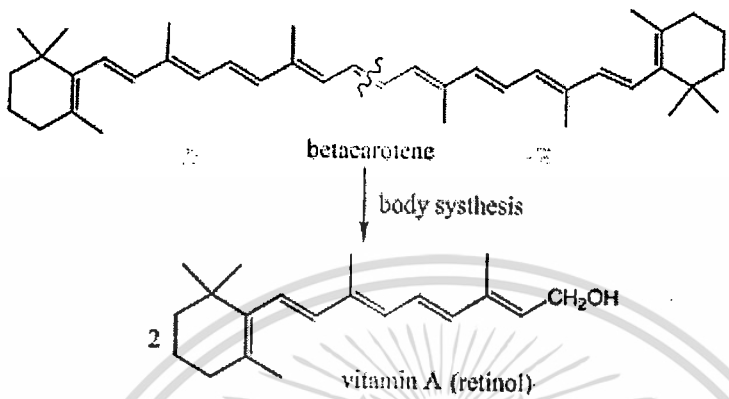
Vitamin C (Ascorbic acid)

ภาพที่ 10 โครงสร้างของวิตามิน ซี

ที่มา : http://en.wiki pedia. org/wiki/antioxidant.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เบตาคาโรทีน รวมทั้งวิตามินเอ (ระบบการทำงานของร่างกายสามารถเปลี่ยนเบตาคาโรทีนไปเป็นวิตามิน เอ ได้) มีมากในผักและ ผลไม้ที่มีสีเหลือง-ส้ม เช่นมะละกอสุก มะม่วงสุก มะเขือเทศและแครอท



ภาพที่ 11 โครงสร้างของเบตาแคโรทีน และ วิตามิน เอ

ที่มา : http://en.wiki pedia. org/wiki/antioxidant.

5. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

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

5.1 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของกรดลิโนลีอิค (Antioxidant activity)

กรดลิโนลีอิคเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้กรดนี้สามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบ ทำให้กลายเป็นอนุมูลอิสระ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น conjugated diene ที่เสถียร สารต้านอนุมูลอิสระมีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบทำให้สารต้านนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลีโนลีอิกได้ ด้วยเหตุนี้ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

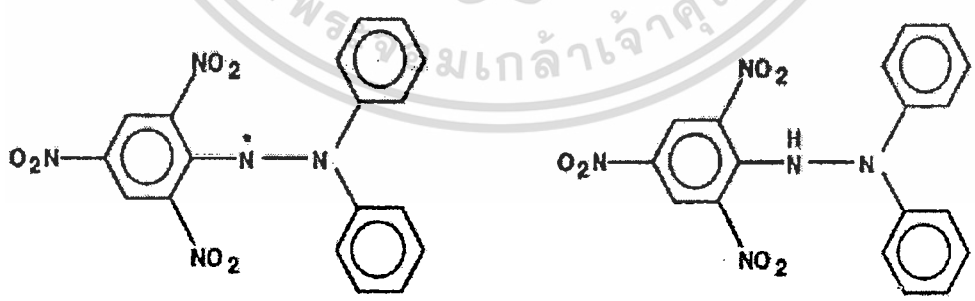
ลีอิคจึงวัดโดยเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลีอิคผสมอยู่ ทิ้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นใช้เครื่อง UV Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร ค่าที่ได้นี้แปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นดังนั้นการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้ (ปวิชนันท์, 2546)

5.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (Reducing power)

สารที่เป็น reducing agent สามารถจ่ายอิเล็คตรอนให้กับอะตอมหรือ โมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น) เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริคไอออน (Fe^{3+}) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ในด้านชีวเคมี อนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด ROS เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ อนุมูลไฮดรอกซิล เป็นต้นเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการให้อิเลกตรอนของแต่ละสารที่สกัดได้ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริคไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่ และค่าของการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากเครื่องมือวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการทางสเปคโตรสโคป(UV Spectrophotometer) จะมีค่าแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอรร์รัสไอออนที่เกิดขึ้น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนคลื่นแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็น reduce agent (ปวิชนันท์, 2546)

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

DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเลคตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical) 2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

ภาพที่ 12 อนุภาคอิสระที่เสถียรสามารถรับอิเลคตรอนได้เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ
ที่มา: pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารประกอบที่สามารถป้องกัน หรือชะลอกระบวนการเกิด oxidation ในสิ่งมีชีวิตซึ่งเป็นสาเหตุในการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง (อัลไซเมอร์) เป็นต้น โดยปกติแล้วร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ก่อนที่จะเกิดอันตราย แต่ถ้ามีการสร้างอนุมูลอิสระเร็วจน หรือมากจนเกินไปร่างกายจะไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ทัน จึงทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และในภาวะที่จำนวนสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายลดลงก็จะก่อให้เกิดอันตรายได้ จึงได้มีการศึกษาถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันอนุมูลอิสระในร่างกายนอกเหนือจากที่ร่างกายจะสามารถกำจัดได้

ในที่นี้จะกล่าวถึงการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในพืชใต้น้ำขนาดใหญ่ เช่น สาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillata*) สาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour) สาหร่ายคาบอมบ้า (*Cabomba aquatica*) สาหร่ายขนนก (*Myriophyllum aquaticum*) สาหร่ายเหล่านี้พบมากในธรรมชาติ โดยการวิเคราะห์จะมีอยู่ 3 วิธี (1) ความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH หรือ 2,2 diphenyl-1-priylhydrazyl (2) การหาปริมาณฟีนอล (Total phenolic content ,TPC) และ (3) Reducing power หรือ ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธีนี้ สามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชใต้น้ำขนาดใหญ่และ เพื่อทดสอบความสามารถของสารที่ได้จากพืชเหล่านี้ในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ ด้วยการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydophilla* และ *Vibrio harveyi* ด้วยวิธี Alamar Colorimetric Microdilution Broth Assay โดยใช้ Alamar Blue เป็นอินดิเคเตอร์ โดยใช้สารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพรรณไม้น้ำใต้น้ำที่พบในธรรมชาติ
2. เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยสารสกัดจากสาหร่ายในระดับความเข้มข้นต่างๆ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพรรณไม้ใต้น้ำเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับพรรณไม้ใต้น้ำที่พบได้ทั่วไป
2. ใช้ประโยชน์จากสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสาหร่ายอบแห้ง

นำสาหร่ายมาล้างน้ำให้สะอาด 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 12000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นดึงส่วนใสมาปิเปตลงหลอดทดลอง 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 ตั้งที่ไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 12000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นดึงส่วนใส มาปิเปตลงหลอดทดลอง 0.5มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteau หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 10% 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ตามวิธี Folin-Ciocealteau (Wolfe *et al.* 2003) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิค

2.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิค

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.2 ปิเปตสารละลายกรดแกลลิคที่เตรียมไว้ลงในหลอดทดลอง โดยให้มีปริมาณกรดแกลลิค ตั้งแต่ 0-140 ไมโครกรัม เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเตรียมหลอดทดลองสำหรับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค

หลอดที่	ไมโครลิตรของ working solution	ไมโครกรัมของกรดแกลลิค	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-Ciocalteau หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที

2.2.1.4 เติมสารละลาย Na_2CO_3 (10%) (วิธีเตรียม Na_2CO_3 จำนวน 10กรัม ละลายด้วยน้ำจำนวน 100 มิลลิลิตร) หลอดละ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 10 นาที เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายหลอดที่ 1 เป็น blank

2.2.1.5 นำผลที่วัดได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับปริมาณของกรดแกลลิคได้เป็นกราฟมาตรฐาน (standard curve)

2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (Reducing power) โดยชั่งสาหร่ายแห้งที่บดละเอียด 0.005 กรัม และ 0.01 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.2M, pH6.6) 2.5 มิลลิลิตร และเติม potassium ferriccyanide (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 ดึงส่วนใส 2.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และเติม $FeCl_3$ (0.1%) 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร (Kumar *et al*, 2008) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิค

2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

2.3.1.2 ปิเปตสารละลายกรดแกลลิคที่เตรียมไว้ลงในหลอดทดลอง โดยให้มีปริมาณกรดแกลลิค ตั้งแต่ 0-140 ไมโครกรัม เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 1

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

2.3.1.4 เติม trichloroacetic acid (10%) 2.5 มิลลิลิตร ดึงstandard 2.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และเติม $FeCl_3$ (0.1%) 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

2.3.1.5 นำผลที่วัดได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับปริมาณของกรดแกลลิคได้เป็นกราฟมาตรฐาน (standard curve)

3. การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากสาหร่ายจะใช้วิธีการ Alamar Colorimetric Microdilution Broth Assay โดยใช้ Alamar Blue เป็นอินดิเคเตอร์

3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรียในอาหาร NB ยกเว้น *Vibrio harveyi* ใช้ TSB โดยบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.1.1 การทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและจำนวนเซลล์

นำเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในอาหารเหลว 1 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบ ต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเทอาหารทิ้ง แล้วล้างเชื้อด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ยกเว้น *Vibrio harveyi* ใช้ 2% โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โดยเติมโซเดียมคลอไรด์ 1 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นเทโซเดียมคลอไรด์ทิ้ง และเติมโซเดียมคลอไรด์ 1 มิลลิลิตร อีกครั้งปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทโซเดียมคลอไรด์ทิ้ง หลังจากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากนั้นทำการเจือจางเชื้อด้วยโซเดียมคลอไรด์แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเจือจาง แล้วนำค่าการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดูดกลืนแสงแต่ละความเจือจางของเชื้อไปเจือจางเพื่อหาจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการหยดเชื้อ 5 จุด ใช้ปริมาตรจุดละ 10 ไมโครลิตร บนอาหาร NA ยกเว้น *Vibrio harveyi* ใช้ TSA แล้วบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ ทำการคำนวณหาจำนวนเซลล์ในปริมาตร 1มิลลิลิตร และนำค่าที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานพร้อมกับหาสมการเส้นตรง

3.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง4 ชนิด (สาหร่ายหางกระรอก, สาหร่ายข้าวเหนียว, สาหร่ายคาบอมบ้า, และสาหร่ายขนนก) ที่ความเข้มข้น 2, 1, 0.5, 0.125, 0.0625, 0.03125, และ 0.015625 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydophilla*, *Vibrio Harveyi* ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ CFU/ml โดยทำการล้างเชื้อแบคทีเรียตามวิธีการในข้อ 3.1.1 เติมเชื้อที่ได้ลงในอาหาร NB ยกเว้น *Vibrio harveyi* ใช้ TSB เพื่อใช้เป็นเชื้อทดสอบ หยดสารสกัดจาสาหร่ายในแต่ละความเข้มข้นลงในจานเพาะเชื้อ 96 หลุม โดยแถวที่ 1 และ 2 เติมอาหาร NB ยกเว้น *Vibrio harveyi* ใช้ TSB ในทุกหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร แถวที่ 3-4 บนแถว A ใส่ยา Oxytetracycline(ยา0.002กรัม/น้ำ 10มิลลิลิตร) หลุมละ 200 ไมโครลิตร โดยทำการ dilute ครั้งละ 100 ไมโครลิตร ส่วนแถวที่ 5-12บนแถว A ใส่สารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด โดยชนิดละ 2 ซ้ำ จำนวนหลุมละ 200 ไมโครลิตร ดึงจากหลุมแรกมา 100 ไมโครลิตร โดยทำการ dilute ครั้งละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติมเชื้อเติมเชื้อแบคทีเรียในทุกหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร และเติม Alamar Blue หลุมละ 1 ไมโครลิตร บ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของ Alamar Blue โดยปกติ Alamar Blue จะมีสีน้ำเงิน ถ้าเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้จะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพู

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบกับสารสกัดจากสาหร่ายที่ความเข้มข้นต่างๆ

2. บันทึกค่าการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระของ DPPH, TPC และ Reducing power

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองได้แก่ ความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH, ปริมาณโพลีฟีนอล มาวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS window version 10.0 เพื่อหาความสัมพันธ์และ ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสาหร่ายแต่ละชนิดในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

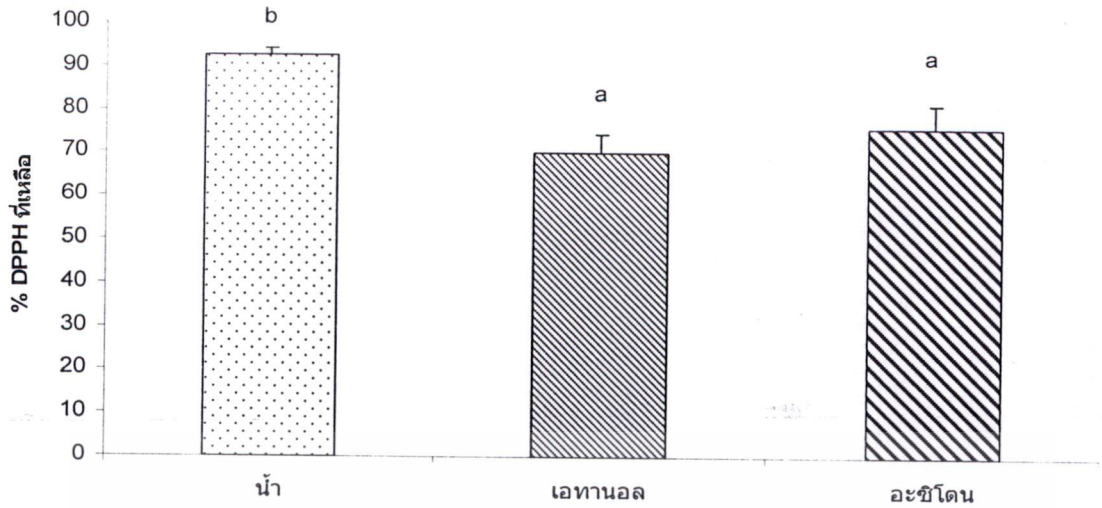
บทที่ 3 ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

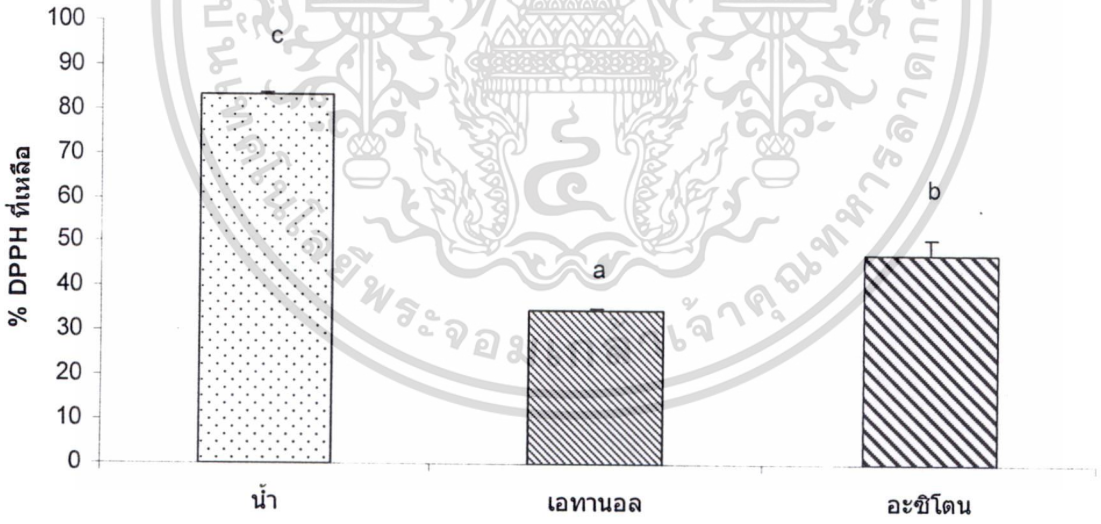
จากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในพืชใต้น้ำทั้ง 4 ชนิด ประกอบด้วย สาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillat*), สาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour), สาหร่ายคาบอมบ้า (*Cabomba aquatica*), สาหร่ายขนนก (*Myriophyllum aquaticum*) ด้วยวิธี DPPH พบว่าเปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายหางกระรอกด้วยเอทานอลและ อะซิโตนมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) กับการสกัดด้วยน้ำ โดยมีจำนวน 70.32±4.22, 70.06±5.24 และ 92.60±1.43% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 13) เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายข้าวเหนียวด้วย เอทานอลมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) กับการสกัดด้วยอะซิโตนและน้ำ โดยมีจำนวน 34.78±0.48, 47.53±3.36 และ 83.49±0.54% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 14)เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายคาบอมบ้าด้วยเอทานอล มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) กับการสกัดด้วยน้ำและ อะซิโตน โดยมีจำนวน 50.21±0.23, 75.12±0.82 และ 83.20±2.64% ตามลำดับ (ดังภาพ 15) เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายขนนกด้วยเอทานอล มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) กับการสกัดด้วยน้ำและ อะซิโตนโดยมีจำนวน 49.15±0.14, 60.96±2.99 และ 60.73±1.32% ตามลำดับ(ดังภาพที่ 16) และ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือในสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดพบว่า สาหร่ายข้าวเหนียวและสาหร่ายขนนกมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับสาหร่ายคาบอมบ้าและสาหร่ายหางกระรอก โดยมีจำนวน 55.27±9.22% และ 56.95±2.46%ตามลำดับ ซึ่งสามารถทำลายอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสาหร่ายคาบอมบ้าและสาหร่ายหางกระรอก ที่มีปริมาณ 69.72±6.36% และ 79.66±4.22% ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสารสกัด พบว่าเอทานอลมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับน้ำและ อะซิโตน โดยมีจำนวน 51.12±5.65, 78.04±5.20 และ 67.03±6.25% ตามลำดับ (ดังภาพที่ 17 และ ดังตารางที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



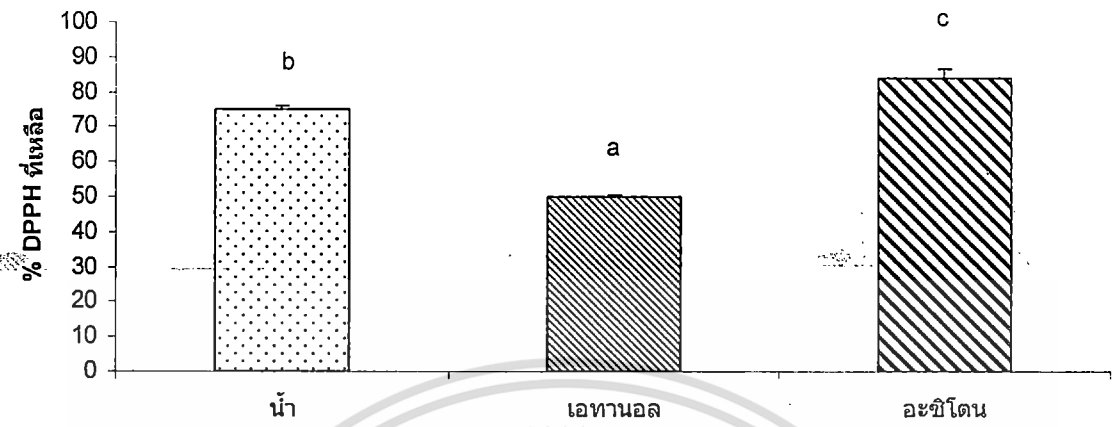
ภาพที่ 13 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายหางกระรอกด้วย ตัวทำละลายชนิดต่างๆ



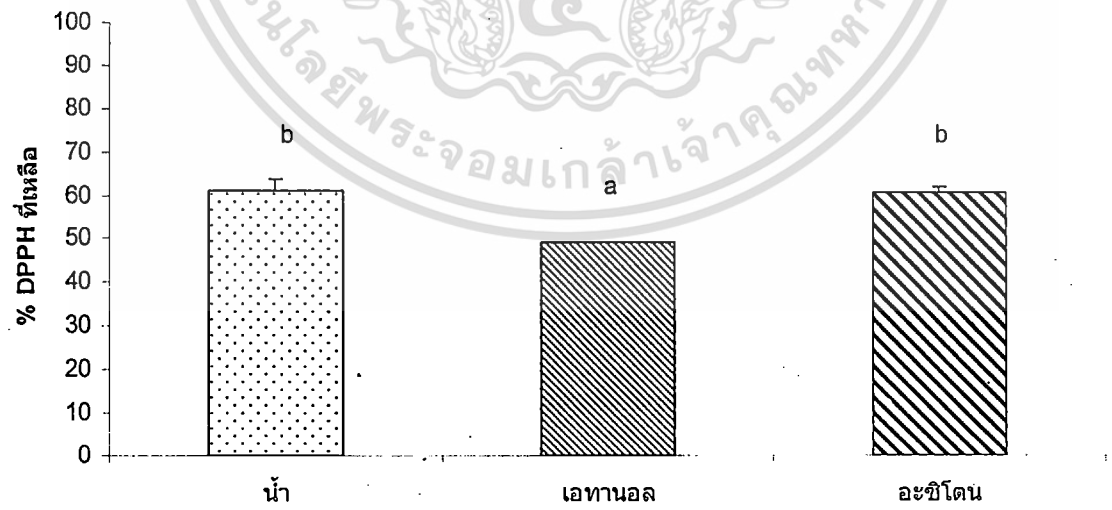
ภาพที่ 14 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายข้าวเหนียวด้วย ตัวทำละลายชนิด ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

120419

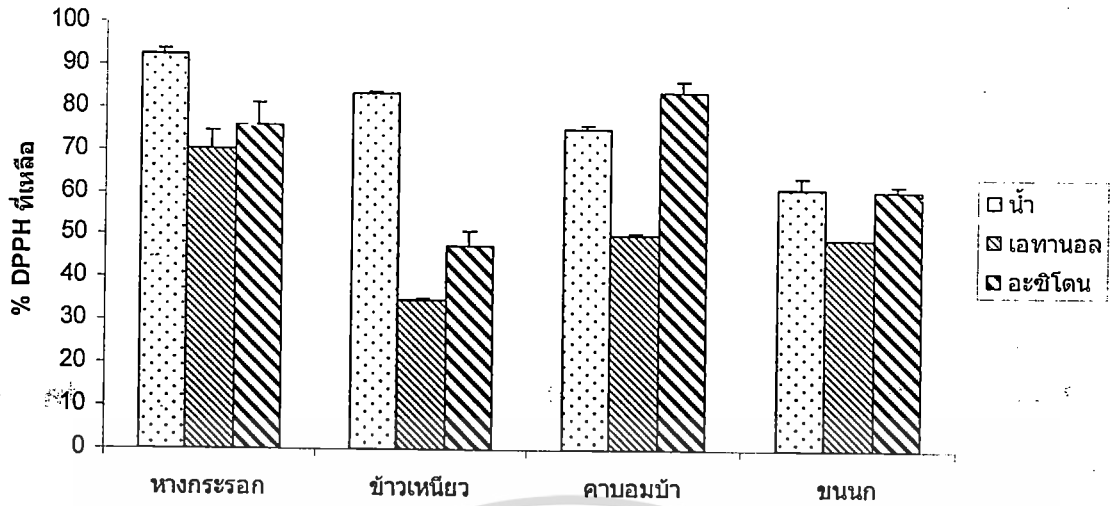


ภาพที่ 15 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายคาบอมบ้าด้วย ตัวทำละลายชนิด ต่างๆ



ภาพที่ 16 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่ายขนนกด้วย ตัวทำละลายชนิด ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 17 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือของการสกัดจากสาหร่าย ทั้ง 4 ชนิด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ DPPH ที่เหลือจากการสกัดสาหร่าย 4 ชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ชนิดสาหร่าย	สารสกัด			
	น้ำ	เอทานอล	อะซิโตน	Mean±SE
หางกระรอก	92.60±1.43	70.32±4.22	70.06±5.24	79.66±4.22 [c]
ข้าวเหนียว	83.49±0.54	34.78±0.48	47.53±3.36	55.27±9.22 [a]
คาบอมบ้า	75.12±0.82	50.21±0.23	83.20±2.64	69.72±6.36 [b]
ขนนก	60.96±2.99	49.15±0.14	60.73±1.32	56.95±2.46 [a]
Mean±SE	78.04±5.20 [c]	51.12±5.65 [a]	67.03±6.25 [b]	

*ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล

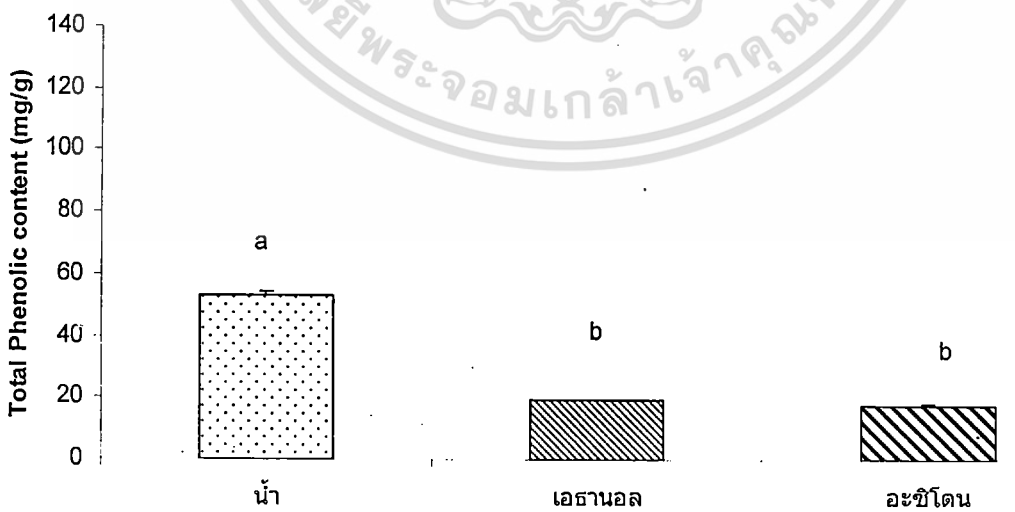
การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด(TPC) ในสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด คือ สาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillat*), สาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour), สาหร่ายคาบอมบ้า (*Cabomba aquatica*), สาหร่ายขนนก (*Myriophyllum aquaticum*) พบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายหางกระรอกด้วยน้ำมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)กับการสกัดด้วยเอทานอล และอะซิโตน โดยมีจำนวน 53.48±0.76, 19.42±0.26 และ 17.69±0.5mg/g ตามลำดับ (ดังภาพที่ 18) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายข้าวเหนียวด้วยน้ำมีความแตกต่างทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)กับการสกัดด้วยเอทานอล และอะซิโตน โดยมีจำนวน 45.95±1.26, 17.12±1.20 และ9.12±0.46mg/g ตามลำดับ (ดังภาพที่ 19) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายคาบอมบ้าด้วยน้ำมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)กับการสกัดด้วยเอทานอลและ อะซิโตน โดยมีจำนวน 114.94±1.08, 33.47±0.39 และ 16.43±0.33 mg/g ตามลำดับ (ดังภาพที่ 20) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายขนนกด้วยน้ำ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)กับการสกัดด้วยเอทานอลและ อะซิโตน โดยมีจำนวน 78.77±0.22, 76.32±1.22 และ 18.46±0.14mg/g ตามลำดับ (ดังภาพที่ 21) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารฟีนอลในสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดพบว่า สาหร่ายขนนก มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับสาหร่ายคาบอมบ้า, สาหร่ายหางกระรอก ,และสาหร่ายข้าวเหนียว โดยมีจำนวน 57.85±12.46 , 54.95±19.22 , 30.20±7.36 และ 24.06±7.07mg/g ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสารสกัดพบว่า น้ำมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) กับเอทานอล และ อะซิโตน โดยมีปริมาณ 73.28±12.05, 36.58±10.63 และ15.42±1.65 mg/g ตามลำดับ (ดังภาพที่ 22 และ ดังตารางที่ 3)

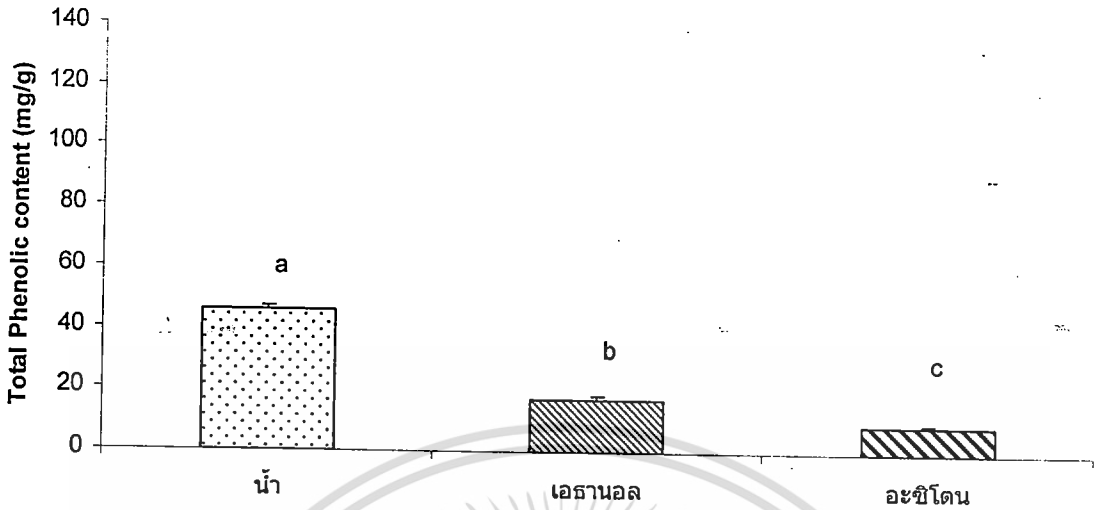
สอดคล้องกับการศึกษาของ Marko *et al.* (2008) พบว่า *Myriophyllum spicatum* มี polyphenols, tellimagradin II จำนวนมากซึ่งสามารถยับยั้งการเติบโตของแมลงที่กินพืชเป็นอาหาร, algae และ cyanobacteria

สอดคล้องกับการศึกษาของ Tawaha *et al.* (2007) พบว่าการสกัดด้วยน้ำจากพืชอาหารมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล

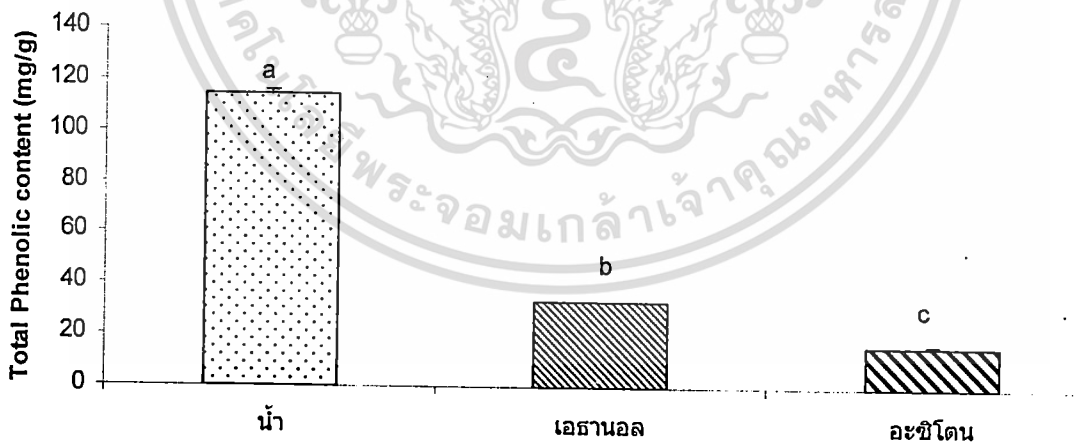


ภาพที่ 18 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายหางกระรอก ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

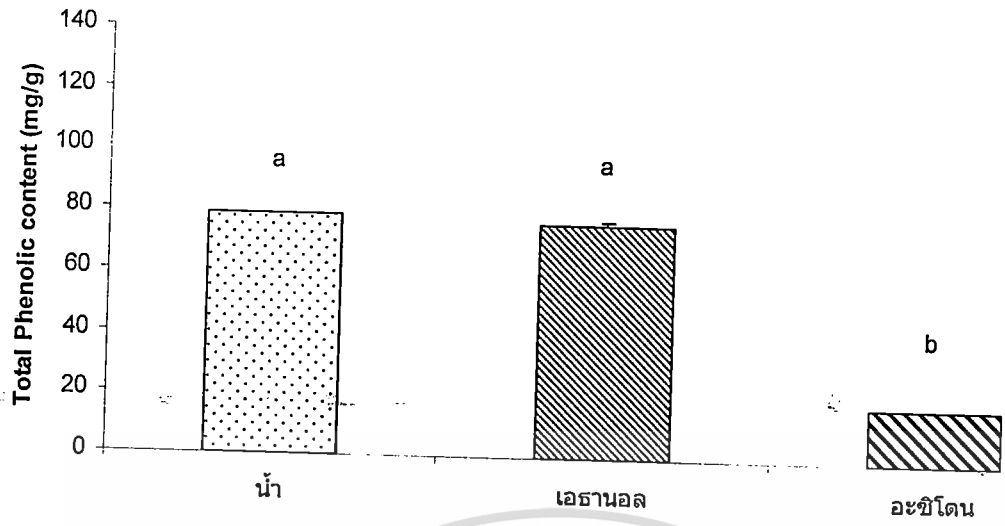


ภาพที่ 19 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายข้าวเหนียว ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

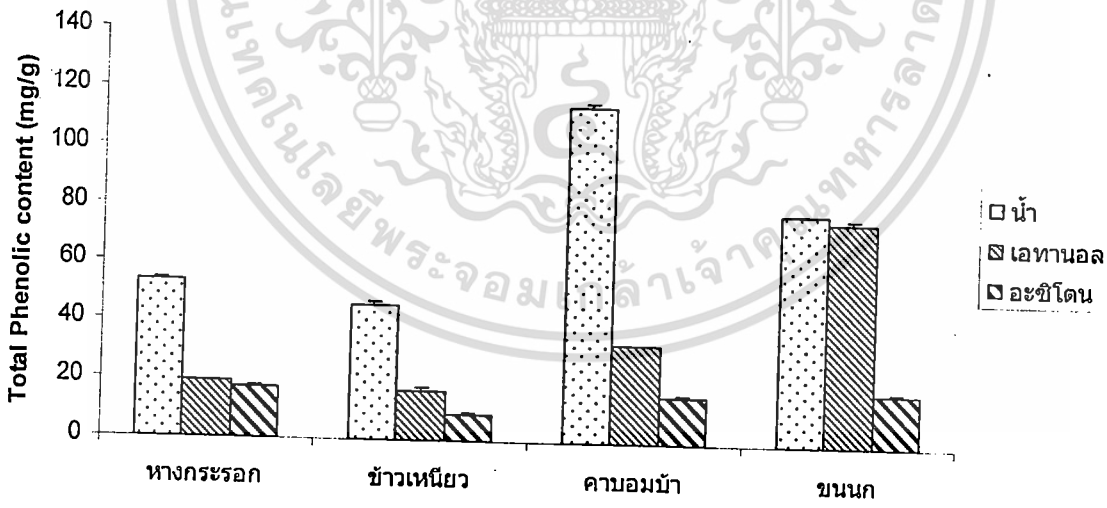


ภาพที่ 20 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายคาบอมบ้า ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 21 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายขนนก ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ



ภาพที่ 22 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (TPC) จากการสกัดสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ TPC ที่เหลือจากการสกัดสาหร่าย 4 ชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

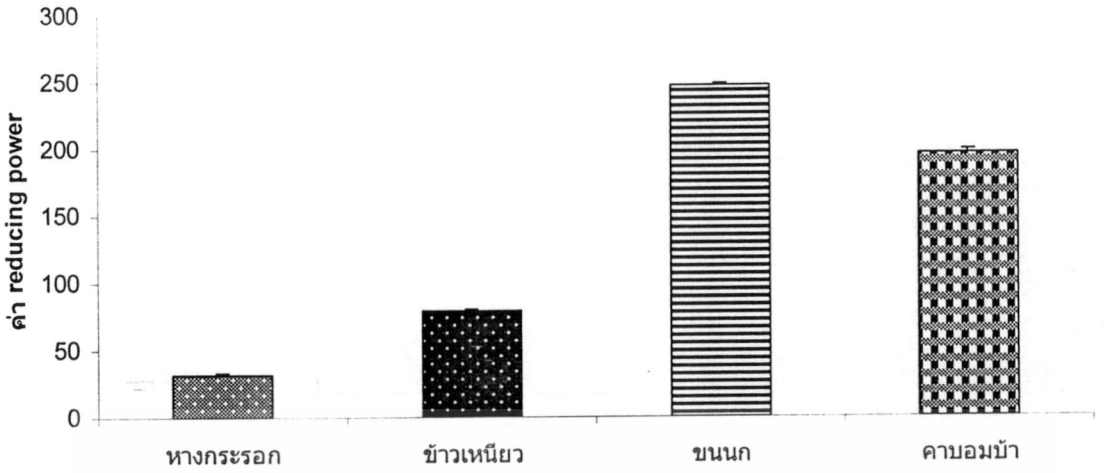
ชนิดสาหร่าย	สารสกัด			
	น้ำ	เอทานอล	อะซิโตน	Mean±SE
หางกระรอก	53.48±0.76	19.42±0.26	17.69±0.5	30.20±7.36 [c]
ข้าวเหนียว	45.95±1.26	17.12±1.20	9.12±0.46	24.06±7.07 [d]
คาบอมบ้า	114.94±1.08	33.47±0.39	16.43±0.33	54.95±19.22 [b]
ขนนก	78.77±0.22	76.32±1.22	18.46±0.14	57.85±12.46 [a]
Mean±SE	73.28±12.05 [a]	36.58±10.63 [b]	15.42±1.65 [c]	

*ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

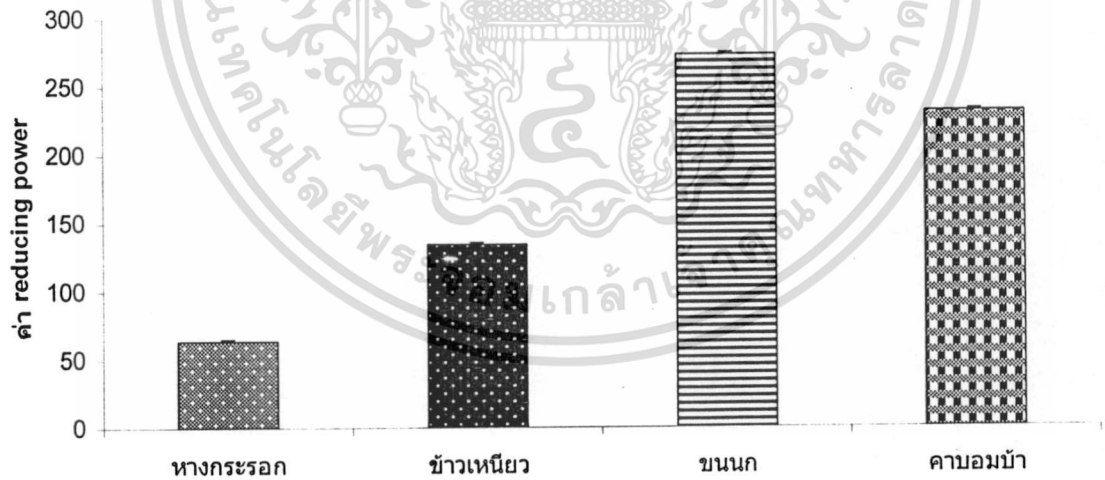
3. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Reducing power

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่าย 4 ชนิดคือ สาหร่ายหางกระรอก (*Hydrilla verticillat*, สาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour), สาหร่ายคาบอมบ้า (*Cabomba aquatica*), สาหร่ายขนนก (*Myriophyllum aquaticum*) พบว่าสาหร่ายขนนกที่มีน้ำหนัก 0.01 กรัม (ภาพที่ 24) มีความสามารถของการเป็น reduce agent มากกว่าที่น้ำหนัก 0.005 กรัม (ภาพที่ 23) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) กับสาหร่ายอีก 3 ชนิด โดยมีจำนวน 273.36±1.25 และ 247.05±1.95 ตามลำดับ ความสามารถของการเป็น reduce agent รองลงมา คือ สาหร่ายคาบอมบ้าพบว่าที่น้ำหนัก 0.01 กรัม มีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าน้ำหนัก 0.005 กรัม โดยมีจำนวน 231.53±2.32 และ 196.46±2.25 ตามลำดับ ส่วนสาหร่ายข้าวเหนียวที่น้ำหนัก 0.01 กรัม มีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าน้ำหนัก 0.005 กรัม เช่นกัน โดยมีจำนวน 135.04±1.58 และ 78.54±1.78 ตามลำดับ และสาหร่ายที่มีความสามารถของการเป็น reduce agent ต่ำที่สุด คือสาหร่ายหางกระรอก ซึ่งที่น้ำหนัก 0.01 กรัม ยังมีความสามารถในการเป็น reduce agent มากกว่าน้ำหนัก 0.005 กรัม โดยมีจำนวน 63.83±1.91 และ 32.57±6.85 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 23 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดสาหร่าย 4 ชนิด ที่ระดับน้ำหนักสาหร่าย 0.005 กรัม



ภาพที่ 24 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดสาหร่าย 4 ชนิด ที่ระดับน้ำหนักสาหร่าย 0.01 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydophilla* จากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำ

จากการทดลองการนำสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด คือ สาหร่ายหางกระรอก สาหร่ายข้าวเหนียว สาหร่ายคาบอมบ้า และสาหร่ายขนนก ที่ความเข้มข้น 2, 1, 0.5, 0.125, 0.0625, 0.03125, และ 0.015625 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydophilla* ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ CFU/ml โดยอาศัยหลักการ Alamar Colorimetric Microdilution Broth Assay โดยใช้ Alamar Blue เป็นอินดิเคเตอร์ พบว่า oxytetracycline สามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydophilla* ได้ที่ความเข้มข้น 0.625% ส่วนสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสาหร่ายขนนกสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydophilla* ได้ที่ความเข้มข้น 1% ส่วนสาหร่ายข้าวเหนียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydophilla* ได้ที่ความเข้มข้น 2% ซึ่งสีของ Alamar Blue ไม่เปลี่ยนสีเป็นสีชมพูยังคงเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งหมายความว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ส่วนสาหร่ายหางกระรอกและสาหร่ายคาบอมบ้าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ การที่สาหร่ายขนนกสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydophilla* ได้ดีที่สุดเนื่องจากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH พบว่าสาหร่ายขนนกมีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่น (ตารางที่ 4)

สอดคล้องกับการศึกษาของ ญาดา(2551) พบว่าสารประกอบเคมีในพืชนอกเหนือจากคุณสมบัติในการเป็นยารักษาโรคแล้วยังสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ สารประกอบเคมีในพืชที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ ได้แก่ ฟีนอลิก โพลีฟีนอยด์ และการวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลพบว่า สาหร่ายขนนกมีปริมาณโพลีฟีนอลสูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Aeromonas hydophilla* จากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ที่สกัดด้วยน้ำ

สารสกัดสาหร่าย (เปอร์เซ็นต์)	ชนิดสาหร่าย											
	อาหาร NA		Oxytetracycline		หางกระรอก		ข้าวเหนียว		คาบอมบ้า		ขนนก	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
2	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
1	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
0.5	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.0625	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.015625	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ หมายถึง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้, - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydophilla* จากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล

จากการทดลองการนำสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง4 ชนิดคือ สาหร่ายหางกระรอก สาหร่ายข้าวเหนียว สาหร่ายคาบอมบ้า และสาหร่ายขนนก ที่ความเข้มข้น 2, 1, 0.5, 0.125, 0.0625, 0.03125, และ 0.015625 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydophilla* ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ CFU/ml โดยอาศัยหลักการ Alamar Colorimetric Microdilution Broth Assay โดยใช้ Alamar Blue เป็นอินดิเคเตอร์ พบว่า oxytetracycline สามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydophilla* ได้ที่ความเข้มข้น 0.125% ส่วนสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าสาหร่ายข้าวเหนียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydophilla* ได้ที่ความเข้มข้น 0.25% รองลงมาสาหร่ายขนนกสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydophilla* ได้ที่ความเข้มข้น 0.5% ส่วนสาหร่ายหางกระรอกและสาหร่ายคาบอมบ้าสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ระดับความเข้มข้น 1% ซึ่งสีของ Alamar Blue ไม่เปลี่ยนสีเป็นสีชมพูยังคงเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งหมายความว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ การที่สาหร่ายข้าวเหนียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydophilla* ได้ดีที่สุดเนื่องจากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, พบว่าสาหร่ายข้าวเหนียวมีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่น (ตารางที่ 5)

สอดคล้องกับการศึกษาของ ดารารัตน์และ คณะ (2548) พบว่าในสาหร่ายข้าวเหนียวมีสารฟูคอยแดน (fucoidan) ซึ่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และ จุลินทรีย์

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Aeromonas hydophilla* จากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด ที่สกัดด้วยเอทานอล

สารสกัดสาหร่าย (เปอร์เซ็นต์)	ชนิดสาหร่าย											
	อาหาร NA		Oxytetracycline		หางกระรอก		ข้าวเหนียว		คาบอมบ้า		ขนนก	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.5	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
0.25	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
0.125	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.06125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.015625	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ หมายถึง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้, - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* จากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำ

จากการทดลองการนำสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง4 ชนิด คือ สาหร่ายหางกระรอก สาหร่ายข้าวเหนียว สาหร่ายคาบอมบ้า และสาหร่ายขนนก ที่ความเข้มข้น 2, 1, 0.5, 0.125, 0.0625, 0.03125, และ 0.015625 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ CFU/ml โดยอาศัยหลักการ Alamar Colorimetric Microdilution Broth Assay โดยใช้ Alamar Blue เป็นอินดิเคเตอร์ พบว่า oxytetracycline สามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ที่ความเข้มข้น 0.25% ส่วนสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสาหร่ายข้าวเหนียวและสาหร่ายขนนกสามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ที่ความเข้มข้น 2% ซึ่งสีของ Alamar Blue ไม่เปลี่ยนสีเป็นสีชมพูยังคงเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งหมายความว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ส่วนสาหร่ายหางกระรอกและสาหร่ายคาบอมบ้าไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ การที่สาหร่ายขนนกและสาหร่ายข้าวเหนียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ดีที่สุดเนื่องจากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH พบว่าสาหร่ายขนนกและสาหร่ายข้าวเหนียว มีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่น (ตารางที 6)

สอดคล้องกับการศึกษาของ Gross *et al.* (1996) พบว่า *Myriophyllum spicatum* ที่มีสาร polyphenol จำนวนมาก สามารถป้องกันต่อต้านสัตว์กินพืช และแบคทีเรีย

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Vibrio harveyi* จากสาหร่ายทั้ง 4 ที่สกัดด้วยน้ำ

สารสกัดสาหร่าย (เปอร์เซ็นต์)	ชนิดสาหร่าย											
	อาหาร NA		Oxytetracycline		หางกระรอก		ข้าวเหนียว		คาบอมบ้า		ขนนก	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
2	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
1	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.06125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.015625	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ หมายถึง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

- หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* จากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล

จากการทดลองการนำสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง4 ชนิด คือ สาหร่ายหางกระรอก สาหร่ายข้าวเหนียว สาหร่ายคาบอมบ้า และสาหร่ายขนนก ที่ความเข้มข้น 2, 1, 0.5, 0.125, 0.063, 0.031, และ 0.016 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ CFU/ml โดยอาศัยหลักการ Alamar Colorimetric Microdilution Broth Assay โดยใช้ Alamar Blue เป็นอินดิเคเตอร์ พบว่า oxytetracycline สามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ที่ความเข้มข้น 0.0625% ส่วนสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าสาหร่ายข้าวเหนียว สามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ที่ความเข้มข้น 0.125% สาหร่ายขนนกสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ระดับความเข้มข้น 0.5% สาหร่ายคาบอมบ้าสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ 2% ซึ่งสีของ Alamar Blue ไม่เปลี่ยนสีเป็นสีชมพูยังคงเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งหมายความว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ และ สาหร่ายหางกระรอกไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ การที่สาหร่ายข้าวเหนียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ดีที่สุดเนื่องจากการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH พบว่าสาหร่ายข้าวเหนียว มีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่น (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Vibrio harveyi* จากสาหร่ายทั้ง 4 ชนิดที่สกัด ด้วยเอทานอล

สารสกัดสาหร่าย (เปอร์เซ็นต์)	ชนิดสาหร่าย											
	อาหาร NA		Oxytetracycline		หางกระรอก		ข้าวเหนียว		คาบอมบ้า		ขนนก	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
2	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
1	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
0.5	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
0.25	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
0.125	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
0.0625	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
0.03125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.015625	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ หมายถึง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

- หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 สรุปผล

จากการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายทั้ง 4 ชนิด คือ สาหร่ายหางกระรอก, สาหร่ายข้าวเหนียว, สาหร่ายคาบอมบ้า, และสาหร่ายขนนก พบว่าการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สาหร่ายข้าวเหนียวและสาหร่ายขนนกสามารถทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด โดยมีจำนวน 55.27±9.22 และ 56.95±2.46 ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล สาหร่ายขนนกพบปริมาณสารฟีนอลมากที่สุด โดยมีจำนวน 57.85±12.46 และการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี Reducing power สาหร่ายขนนกที่มีน้ำหนักแห้ง 0.01 กรัม มีความสามารถของการเป็น reduce agent เท่ากับ 273.36±1.25 ซึ่งมากกว่าน้ำหนักแห้ง 0.005กรัม เท่ากับ 247.05±1.95 และมีความสามารถของการเป็น reduce agent มากกว่าสาหร่ายชนิดอื่น

การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydophilla* ด้วยสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสาหร่ายขนนกสามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดที่ 1% ส่วนสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล สาหร่ายข้าวเหนียวสามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดที่ 0.25% และการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในกุ้งอย่าง *Vibrio harveyi* สาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสาหร่ายข้าวเหนียวและสาหร่ายขนนกยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดที่ 2% ส่วนสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล สาหร่ายข้าวเหนียวยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดที่ 0.125%

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาต่อไป เมื่อทราบแล้วว่าในพรรณไม้น้ำชนิดใดที่มีสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ควรนำไปผสมอาหารเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์น้ำต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนรี พงษ์ฉวี และ วันเพ็ญ มีกาญจน์. 2543. พรรณไม้น้ำสวยงาม. หนังสือกรมประมง. หน้า 31. เข้าถึงได้จาก.http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7html.19/02/2553

ญาดา ชพานนท์. 2551. การเพาะเลี้ยงรากหม่อนเพื่อการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระและสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง หน้า 19.

ดารารัตน์ ชูสวัสดิ์. 2548. สาหร่ายข้าวเหนียวเพชฌฆาตในหนองน้ำ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นงนภัส ดวงดี. 2551. อนุมูลอิสระ. รายงานประจำปี 2551. เข้าถึงได้จาก www.dss.go.th/dssweb/st/.../cp_2_2551_Antioxidant.pdf. 19/02/2553.

ปวิชนันท์ รักษ์สัจ. 2546. การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกถั่วเขียว.มหาลัยเกษตรศาสตร์.

พรทิพย์ วริชวงศ์. 2538. อนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระ. เขียนเมื่อ 1/11/2548. เข้าถึงได้จาก. http://brandname 4.U.is.in.th./md=content. 19/02/2553

ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์. 2539. สารต้านอนุมูลอิสระ. เข้าถึงได้จาก. http://www.elib-online.com/doctors49/food-food002,html.19/02/2553.

สุชาดา ศรีเพ็ญ. 2542. พรรณไม้น้ำในประเทศไทย. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนพับลิชชิ่ง กรุงเทพฯ 312 หน้า.

Gross, E., M. Mayer, and G. Schilling. 1996. Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. Phytochemistry 95: 133-138.

Kumar, K.S., K. Ganesan, and P.V.S. Rao. 2008. Antioxidant potential of solvent extract of Kappaphycus aluarezii (Doty) Doty-An edible seaweed.Food Chemistry 107: 289-295.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Marko, M.D., E.M. Gross, R.M. Newman and F.K. Gleason. 2008. Chemical profile of the North American native *Myriophyllum sibiricum* compared to the invasive *M. spicatum*. Aquatic Botany 88: 57-65.

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.

Nakai, S., Y. Inoue, M. Hosomi, and A. Murakami. 2002. Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. Chemical engineering 34: 3026-3032.

Srivastava, S., S. Mishra, R.D. Tripathi, S. Dwivedi, and D.K. Gupta. 2006. Copper-induced oxidative stress and responses of antioxidant and phytochelatins in *Hydrilla verticillata* (L.F.) Royle. Aquatic Toxicology 80: 405-415.

Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharibeh, M., Mohammad, M. and El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry 104: 1372-1378.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้