สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก

FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITIES OF CRUDE EXTRACTS FROM GREEN MICROALGAE

กตัญญู กองหาญ

กิตติพร เจือจันทร์

เลขหมู่.....
ลงทะเบียน.....117224
วัน,เดือน,ปี.....19 ก.ค. 2554

b.....
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITIES OF CRUDE EXTRACTS FROM GREEN MICROALGAE

KATANYOU KONGHAN

KITTIPORN CHUAJAN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF THE BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก
Free radical scavenging activities of crude extracts from green microalgae

ชื่อนักศึกษา นางสาวกตัญญู กองหาญ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 50050790
นายกิตติพร เจือจันทร์ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 50050796

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2553

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.วีนา ชูโชติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล	
ผศ.วีนา ชูโชติ	
ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก

ชื่อนักศึกษา นางสาวกตัญญู กองหาญ
นายกิตติพร เจือจันทร์

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

ปีการศึกษา 2553

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.วีนา ชูโชติ

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ถูกนำมาวิเคราะห์หาสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด ด้วยวิธีฟอลินชิโอแคลตู และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออน พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 มีปริมาณสารประกอบฟีโนลิกมากที่สุดเท่ากับ 35.5 ± 0.14 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 ด้วยเอทานอลมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมสูงที่สุด สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 ด้วยเอทานอล มีร้อยละความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุดเท่ากับ 68.175 ± 0.38 ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 มีร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนเท่ากับ 42.778 ± 1.48

คำสำคัญ : สาหร่ายสีเขียว สารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Free radical scavenging activities of crude extracts from green microalgae

Students Mrs.Katanyou Konghan

Mr.Kittiporn Chuajan

Degree Bachelor of Science

Major Programe Industrial Microbiology

Academic Year 2010

Advisor Asst. Prof. Weena Choochote

ABSTRACT

Three strains of green microalgae, *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 and *Chlorella* sp. ED53 were studied for antioxidant activity. Hot water and ethanol crude extracts were examined for total phenolic contents using Folin-Ciocalteu method and antioxidant properties using total antioxidant capacity determination, DPPH scavenging assay and ferrous ion chelating ability assay. Results showed the highest total phenolic content of 35.5 ± 0.14 mgGA equiv/g in the ethanol extract from *Chlorella* sp. E53. The ethanol extract from *Chlorella* sp. E53 showed the highest total antioxidant capacity. The highest DPPH radical scavenging of 68.175 ± 0.38 % at 1.4 mg/ml was observed in ethanol *Chlorella* sp. E53 extract . Ethanol extract of *Chlorella* sp.ED53 showed the highest ferrous ion chelation activity of 42.778 ± 1.48 % at 1 mg/ml.

Keywords : Green algae, Antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาผู้เป็นที่รักยิ่งกว่าสิ่งใด ขอบคุณมิตรสหายที่คอยเป็นกำลังใจผลักดันไปสู่ความสำเร็จในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ที่ได้กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำ รวมทั้งได้กรุณาตรวจแก้ไขด้านภาษาและแนะแนวในด้านต่างๆ ในการทำโครงงานพิเศษนี้เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ และ ผศ.ลินจง สุขลำภู ที่ให้ความรู้และคำปรึกษาและแนะนำแนวทางที่ดีมาโดยตลอด รวมทั้งตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่กรุณาให้ความสะดวกในการเบิกใช้อุปกรณ์ สารเคมี และยังให้คำแนะนำวิธีการใช้เครื่องมือต่างๆในห้องปฏิบัติการ สำหรับการทดลองโครงงานพิเศษนี้ ด้วยดีตลอดมา

สุดท้ายขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการที่ได้อำนวยความสะดวกในการดำเนินงาน พี่ๆ ปริญญาโท ที่ช่วยให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในด้านต่างๆ

กตัญญู กองหาญ
กิตติพร เจือจันทร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ความหมายและความสำคัญของสาหร่าย	3
2.2 สาหร่ายสีเขียว	3
2.2.1 สาหร่ายสีเขียวสกุล *Chlorella* sp.	4
2.2.2 สาหร่ายสีเขียวสกุล *Chlorococcum* sp.	5
2.3 อนุมูลอิสระ	5
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ	7
2.4.1 วิตามินซี	7
2.4.2 วิตามินอี	7
2.4.3 ซีเลเนียม	8
2.4.4 เบต้าแคโรทีน	8
2.4.5 ลูทีนและซีแซนทีน	9
2.4.6 ไลโคปีน	10
2.4.7 แอสตาแซนทีน	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและขั้นตอนการยับยั้งปฏิกิริยาด้วยสารต้านการเกิดออกซิเดชัน	10
2.5.1 ระยะเหนี่ยวนำ	11
2.5.2 ระยะเพิ่มจำนวน	11
2.5.3 ระยะยับยั้ง	11
2.5.4 ระยะสิ้นสุด	11
2.6 การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระ	11
2.6.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	11
2.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	12
2.7.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม	12
2.7.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH	13
2.7.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน	13
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่าย	14
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	16
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	16
3.2 สารเคมี	16
3.3 อุปกรณ์	17
3.4 วิธีการทดลอง	18
3.4.1 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์	18
3.4.2 การดำเนินการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์	18
3.4.3 การเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย	19
3.4.4 การสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่าย	19
3.4.5 การประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ	20
3.4.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	24
4.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย	24
4.1.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. C53	24
4.1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. E53	25
4.1.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ED53	25
4.2 น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย	26
4.3 ผลได้สารสกัดหยาบ	26
4.4 ผลการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ	29
4.4.1 ผลการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	29
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์	31
4.5.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม	31
4.5.2 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH	34
4.5.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน	40
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	45
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก ก	53
ภาคผนวก ข	56
ภาคผนวก ค	59
ภาคผนวก ง	80
ภาคผนวก จ	137

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง	6
4.1	น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์	26
4.2	ผลได้ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) และคุณลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล	28
4.3	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล	30
4.4	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล	33
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้กับร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล	36
4.6	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถกำจัดอนุมูลอิระ DPPH ลดลงได้ร้อยละ 50 (EC_{50})	38
4.7	ค่าความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอรัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล	42
4.8	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ Ferrozine ลดลงร้อยละ50	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	สาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris*	4
2.2	สาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum hypnosporum*	5
2.3	โครงสร้างของวิตามินซี	7
2.4	โครงสร้างของวิตามินอี	8
2.5	โครงสร้างของเบต้าแคโรทีน	9
2.6	โครงสร้างของลูทีน	9
2.7	โครงสร้างของซีแซนทีน	9
2.8	โครงสร้างของไลโคปีน	10
2.9	โครงสร้างของแอสตาแซนทีน	10
2.10	สารประกอบฟีนอลิก	12
2.11	แสดงการเกิดปฏิกิริยารีดักชันเพื่อให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ	12
2.12	ปฏิกิริยาการแย่งจับโลหะของสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของเฟอร์รัสไอออน	13
4.1	สาหร่าย *Chlorococcum* sp. C53 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	24
4.2	สาหร่าย *Chlorella* sp. E53 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	25
4.3	สาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 ที่กำลังขยาย 400 เท่า	25
4.4	ลักษณะสารสกัดหยาบของสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์	27
4.5	กราฟผลได้รวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล	29
4.6	กราฟแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	31
4.7	กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล	34
4.8	กราฟแสดงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่

4.9 กราฟแสดงค่า EC_{50} ของสารมาตรฐาน BHT และสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 39

4.10 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 41

4.11 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน EDTA และสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

การดำรงชีวิตของมนุษย์ตั้งแต่ยุคอดีตจนถึงปัจจุบัน ได้มีการนำสาหร่ายมารับประทานเป็นอาหารโดยตรงหรือประกอบเป็นส่วนผสมในอาหารอื่นๆ จนกระทั่งเมื่อความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์พัฒนาขึ้น ทำให้นักวิทยาศาสตร์เล็งเห็นความสำคัญของสาหร่ายมากขึ้นและได้ค้นพบว่าสารสกัด เช่น แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ไฟโคบิลิน (Phycobilins) กรดไขมัน (Fatty acid) โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) และวิตามิน เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็คตรอนโดดเดี่ยว อยู่ในวงอิเล็คตรอน วงนอกสุด (Outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (Unpaired electron) อยู่ในวงโคจรจะทำให้โมเลกุลไม่เสถียร อนุมูลอิสระจึงเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก (Halliwell, 1991) อนุมูลอิสระสามารถเหนี่ยวนำสภาพร่างกายให้เกิดการเจ็บป่วยได้ แต่เมื่อร่างกายได้รับสารต้านอนุมูลอิสระสารต้านนี้จะปกป้องร่างกายจากสภาวะเครียดต่างๆ และสารสำคัญที่มีในสาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถป้องกันการเกิดโรคเบาหวานได้ในหนูทดลอง (Shinya และคณะ, 2002)

รงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ ที่สกัดได้จากสาหร่ายนั้นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากโดยเฉพาะหน่วยย่อยที่เป็น เบต้า-แคโรทีน ซึ่งเป็นรงควัตถุสีเหลืองแดง มีความสามารถในการป้องกันการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือดหรือโรคที่เกิดจากการเสื่อมของอายุ เป็นต้น และแอสตาแซนธิน รงควัตถุที่มีสีเหลืองแดงเช่นเดียวกับเบต้า-แคโรทีน ที่ได้จากการสกัดสาหร่ายสีเขียว *Heamatococcus pluvialis* สามารถที่จะนำไปผสมในอาหารหรือผสมเป็นอาหารสัตว์ เช่น ปลาแซลมอนและกุ้ง เพื่อให้เนื้อสัตว์มีสีสันสวยงาม อีกทั้งยังสามารถนำมาผสมเป็นอาหารของสัตว์ปีกเพื่อให้เนื้อและไข่มีสีสันที่สวยงามเช่นเดียวกันและจากรายงานวิจัยต่างๆพบว่าเม็ดสีที่สกัดได้จากสาหร่ายนั้นสามารถนำมาใช้เป็นสีผสมอาหาร ได้และมีความปลอดภัยมากกว่าสีผสมอาหารที่สังเคราะห์ขึ้น สารแอสต้าแซนทีนสามารถพบได้ในสาหร่ายพวก *Heamatococcus pluvialis* (Margalith, 1999) และ *Haematococcus lacustris* (Hagen และคณะ, 1994) สารแอสตาแซนทีน ที่สกัดได้จาก สาหร่ายสีเขียว นั้น พบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจำพวกเบต้า-แคโรทีน และ สารฟลาโวนอยด์ ที่สกัดได้จาก ผักและผลไม้ และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแอสตาแซนทีนกับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น ได้แก่ ซีแซนทีน(Zeaxanthin) แคนตาแซนทิน (Cataxanthin) ลูทีน (Luthin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เบต้า-แคโรทีน (β-carothin) และวิตามินอี จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและลดลงตามลำดับ (Miki, 1991)

ดังนั้นจึงได้จัดทำโครงงานนี้ขึ้นเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กเพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ในชีวิตประจำวันของมนุษย์ในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการป้องกันอนุมูลอิสระที่มีอยู่ทั่วไปในสภาพแวดล้อมทั่วไปหรือจากสภาวะความเครียดในการปฏิบัติงาน ให้ไม่สามารถทำอันตรายต่อร่างกายหรือเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดโรคต่างๆที่สร้างปัญหาให้กับการดำรงชีวิต

1.2วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาสายพันธุ์ของสาหร่ายที่สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด

1.2.2 เพื่อศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด โดยทำการศึกษาด้วยการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) และการตรวจสอบความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ในปริมาณสูงสุดโดยเปรียบเทียบวิธีการสกัดระหว่างน้ำเป็นตัวทำละลายกับเอทานอลเป็นตัวทำละลาย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ในปริมาณสูงสุด และนำสาหร่ายสายพันธุ์นั้นไปทำการปรับปรุง เพื่อทำการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าต่อไป

. เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความหมายและความสำคัญของสาหร่าย

สาหร่ายคือกลุ่มของสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ ในระบบนิเวศสาหร่ายเป็นผู้ผลิตลำดับต้นของห่วงโซ่อาหาร เหมือนกับพืชทั่วไปที่สามารถเจริญเติบโตได้ด้วยตัวเองจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง รูปแบบของเซลล์มีทั้งที่เป็นเซลล์เดี่ยว (Unicellular) หรือประกอบด้วยเซลล์ที่มากกว่าหนึ่งเซลล์ (Multicellular) จนกระทั่งคล้ายกับพืชขนาดใหญ่ (Giant Kelp) โดยเฉพาะพวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีวิวัฒนาการมายาวนานที่สุด (Murray, 2004) นักวิทยาศาสตร์ได้จัดจำแนกสาหร่ายไว้ใน 2 อาณาจักร คือ สาหร่ายโพรแคริโอต (Prokaryotes) อยู่ในอาณาจักรโมนีรา และสาหร่ายยูแคริโอต (Eukaryotes) อยู่ในอาณาจักรโพรทิสตา สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจัดเป็นโพรคาริโอติกเซลล์ เป็นเซลล์ที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส และผนังเซลล์ประกอบด้วยกรดมิวรามิก (Murmic acid) เซลล์ลูโลสและกรดเพกติก (Pectic acid) ส่วนสาหร่ายสีเขียวจัดเป็นยูคาริโอติกเซลล์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลลูโลส (Cellulose) หรือไคติน (Chitin)() สาหร่ายยังไม่มีลำต้น ราก และใบที่แท้จริงแม้ว่าสาหร่ายหลายเซลล์บางชนิดมีส่วนคล้ายต้น (Stipe) คล้ายราก (Holdflast) และคล้ายใบ (Blade) ก็ตามแต่เซลล์เหล่านั้น ยังไม่สามารถจัดเรียงตัวเป็นเนื้อเยื่อ (วันเพ็ญ, 2549)

2.2 สาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta)

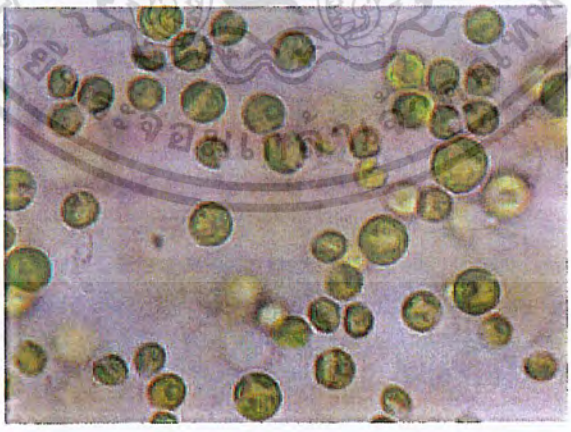
สาหร่ายสีเขียวเป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ที่เป็นยูคาริโอต (Eukaryotes) (Jeffrey และคณะ, 2004) เป็นสิ่งมีชีวิตที่ประกอบด้วยเซลล์ตั้งแต่ 1 เซลล์ขึ้นไปหรือบางชนิดประกอบด้วยแฟลกเจลลา (Flagella) ซึ่งมีมากตั้งแต่ 2 เส้นขึ้นไป หรือจนกระทั่งขึ้นอยู่รอบตัวเซลล์ (Colonial Flagellates) อีกทั้งสาหร่ายสีเขียวยังมีความหลากหลายทางสายพันธุ์มากกว่า 6000 สายพันธุ์ (Thomas, 2002) มีทั้งเคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ พวกเซลล์เดียวที่เคลื่อนที่ได้ โดยมีแฟลกเจลลัมใช้โบกพัด จำนวน 2-4 เส้น เช่น คลามิโดโมแนส (*Chlamydomonas*) พวกเซลล์เดียวที่เคลื่อนที่ไม่ได้ เช่น คลอเรลลา (*Chlorella*) คลอโรคอคคัม (*Chlorococcum*) พวกหลายเซลล์ต่อกันเป็นสายยาว เช่น ยูโลทริกซ์ (*Ulothrix*) อีโดโกเนียม (*Oedogonium*) สไปโรไจรา (*Spirogyra*) หรือเทาน้ำ พวกหลายเซลล์เป็นกลุ่ม (Colonial forms) เช่น วอลวอกซ์ (*Volvox*) เพดิแอสทรัม (*Pediastrum*) ซีนีเดสมัส (*Scenedesmus*) บางชนิดอยู่รวมกันและมีรูปร่าง คล้ายพืชชั้นสูง เช่น สาหร่ายไฟ (Stone wort หรือ *Chara*) (Curtis และBarnes, 1994 ; วันเพ็ญ, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายสีเขียวสามารถดำรงชีวิตได้ด้วยตัวเองโดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ภายในคลอโรพลาสต์ประกอบด้วยรงควัตถุที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์ บี เบต้าแคโรทีน และแซนโทฟิลล์ (Den, 1984) รูปร่างของคลอโรพลาสต์ ของสาหร่ายสีเขียวมีหลายแบบ เช่น รูปร่างเป็นเม็ด ๆ พบในไบรออปซิส (*Bryopsis*) รูปร่างเป็นเกลียวพบในสไปโรไจรา (*Spirogyra*) รูปร่างคล้ายร่างแหพบในอีโดโกเนียม (*Oedogonium*) รูปร่างเป็นแผ่นพบในยูโลทริกซ์ (*Ulothrix*) รูปร่างเป็นรูปดาวพบในซิกนีมา (*Zygnema*) และรูปร่างเป็น เกือกม้าหรือรูปตัวยูพบในคลอเรลลา (*Chlorella*) (ลัดดา, 2542)

ในคลอโรพลาสต์มีอาหารที่เก็บสะสมไว้นอกจากแป้งคือ ไพรีนอยด์ (Pyrenoids) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีโปรตีนเป็นแกนกลาง และมีแผ่นแป้งหุ้มล้อมรอบอยู่ นอกจากคลอโรพลาสต์ในไซโทพลาซึม ยังมีออร์กาเนลต่างๆมากมาย ผนังเซลล์มี 2 ชั้น ชั้นนอกบางชนิดมีเพกติน (Pectin) เคลือบอยู่ภายนอกบาง ๆ บางชนิดจะสร้างสารเมือกห่อหุ้มผนังเซลล์ชั้นในประกอบด้วยเซลลูโลส (Cellulose) บางชนิดมีแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate) หรือ ซิลิกา (Silica) หรือไคติน (Chitin) แทรกอยู่ แต่บางชนิดอาจจะไม่มีผนังเซลล์เลยก็ได้ (Smith, 1950) การสืบพันธุ์พบได้ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศ แบบไม่อาศัยเพศจะใช้วิธีแบ่งเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน (Binary fission) ในพวกเซลล์เดียว หรือการขาดออกเป็นท่อน (Fragmentation) หรือสร้างสปอร์ส่วนแบบอาศัยเพศโดยคอนจูเกชัน (Conjugation) หรือการปฏิสนธิ (Fertilization) (Lee, 1995)

2.2.1 สาหร่ายสีเขียวสกุล *Chlorella* sp.



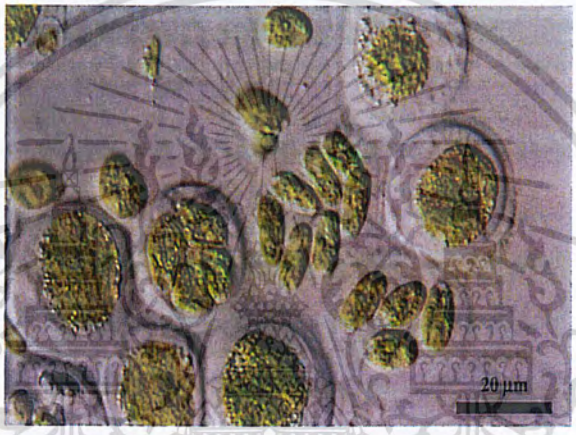
รูปที่ 2.1 สาหร่ายสีเขียว *Chlorella vulgaris*

ที่มา : http://botany.natur.cuni.cz/algo/CAUP/H1998_Chlorella_vulgaris.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว ที่มีรูปร่างเป็นทรงกลมขนาดเล็ก อาจแบนหรืออาจอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม คลอโรพลาสต์มีอันเดียวอาจอยู่ด้านข้างหรือตรงกลาง เป็นรูปถ้วย หรือเป็นแผ่นแบน บางสายพันธุ์อาจมีรูปร่างเป็นตาข่าย และมีไพรีนอยด์ 1 อัน ไม่มีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่จะล่องลอยเป็นอิสระ ภายในประกอบด้วยคลอโรพลาสต์ ซึ่งมีรงควัตถุพวก คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี เป็นส่วนสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (ยุวดี, 2548)

2.2.2 สาหร่ายสีเขียวสกุล *Chlorococcum* sp.



รูปที่ 2.2 สาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum hypnosporum*
ที่มา : http://www.butbn.cas.cz/ccala/index.php?page=sr&cb1=Chlorococcales

สาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum* sp. เป็นสาหร่ายน้ำจืด พบว่าในชนิดเดียวกันเซลล์อาจมีหลายขนาด และรูปร่างกลมตอนเซลล์อายุน้อย มีผนังเซลล์บาง ส่วนเซลล์ที่แก่แล้วมีผนังเซลล์หนา คลอโรพลาสต์ของเซลล์อายุน้อยจะเป็นรูปถ้วยอยู่ด้านข้างเซลล์อย่างหนาแน่น มีไพรีนอยด์ 1 อันหรือหลายอัน เซลล์ที่แก่แล้วคลอโรพลาสต์จะลดลง พบการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น คลอโรพลาสต์รูปถ้วยและมีจุดรับแสง การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีการสร้างไอโซแกมีท ในบางสภาวะมีการสร้างอะพลาโนสปอร์ ซึ่งในที่สุดจะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น (วันเพ็ญ, 2549)

2.3 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ คือโมเลกุล หรืออิออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุ สั้นมาก จัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี (พรทิพย์, 2554) โดยเฉพาะอนุมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระไฮดรอกซิลที่มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาเคมีสูงที่สุด (Halliwell, 1991) อนุมูลอิสระแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (Reactive oxygen species, RNS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (Reactive nitrogen species, ROS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ (Reactive chlorine species, RCS) (โอภาและคณะ, 2549)

ตารางที่ 2.1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
Reactive oxygen species (ROS, RS)	
Superoxide, Superoxide anion $O^{\cdot-}$	H_2O_2 Ozone O_3
Hydroxyl, $^{\cdot}OH$	Hypobromous acid, HOBr
Hydroperoxyl, $HO_2^{\cdot}$	Hypochlorous acid, HOCl
Peroxyl, $RO_2^{\cdot}$	Singlet oxygen ($O_3{}^1\Delta g$)
Alkoxyl, $RO^{\cdot}$	Organic peroxides, ROOH
Carbonate, $CO_2^{\cdot}$	Peroxynitrite, $ONOO^-$
Carbon dioxide, $CO_2^{\cdot-}$	Peroxynitrous acid, ONOOH
Reactive oxygen species (RNS)	
Nitric oxide, $NO^{\cdot}$	Nitrous acid, HNO_2
Nitrogen dioxide, $NO_2^{\cdot-}$	Nitrosyl cation , NO^+ Nitroxyl anion, NO^-
	Dinitrogen tetroxide, N_2O_4 Dinitrogen trioxide, N_2O_3
	Peroxynitrite, $ONOO^-$ Peroxynitrous acid, ONOOH
	Nitronium (nitryl) cation, NO_2^+
	Akyl peroxynitrites ROONO
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chloride, Cl	Hypochlorous acid, HOCl
	Nitryl (nitronium) Chloride, NO_2Cl
	Chloramines Chlorine gas (Cl_2)
Other	
Thioyl radical($RS^{\cdot}$)	

ที่มา : โอภา และคณะ, 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

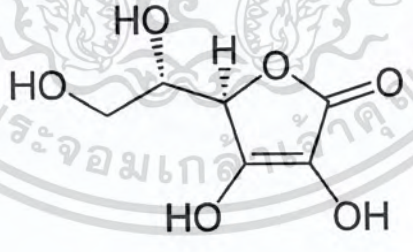
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือ สารที่สามารถยับยั้งและควบคุมป้องกันอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นในร่างกาย ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส คาตาเลส กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส เป็นต้น วิตามิน ได้แก่ วิตามินอี และวิตามินซี เป็นต้น แร่ธาตุ เช่น ซิลิเนียม และสังกะสีเป็นโคแฟกเตอร์ (Co-factors) สารพฤกษเคมี (Phytochemicals) เช่น แคโรทีน (Carotene) ไลโคฟีน (Lycopene) แซนโธฟิล (Xanthophyll) แทนนิน (Tannin) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เป็นต้น (จักรพงศ์, 2554)

2.4.1 วิตามินซี (Vitamin C)

วิตามินซีเป็นวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกายมาก เพราะมีส่วนในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Henson และคณะ, 1991) อีกทั้งยังเสริมสร้างคลอลาเจนในร่างกายและยับยั้งการก่อตัวของสาร เอ็น ไนโตรโซ (N-nitroso) ในกระเพาะอาหาร วิตามินซีที่ละลายในน้ำยังสามารถต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายได้อีกด้วย (Frei และคณะ, 1989)

วิตามินซีสามารถละลายได้ดีในน้ำจึงทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก วิตามินซีประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ สามารถแตกตัวให้ไฮโดรเจนได้ (รูปที่2.3) ดังนั้นจึงจัดเป็นกรดชนิดหนึ่ง กลไกการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินซี จะให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระและตัวมันเองจะกลายเป็นอนุมูลวิตามินซี หรืออนุมูลแอสคอร์เบท (โอภา และคณะ, 2549)



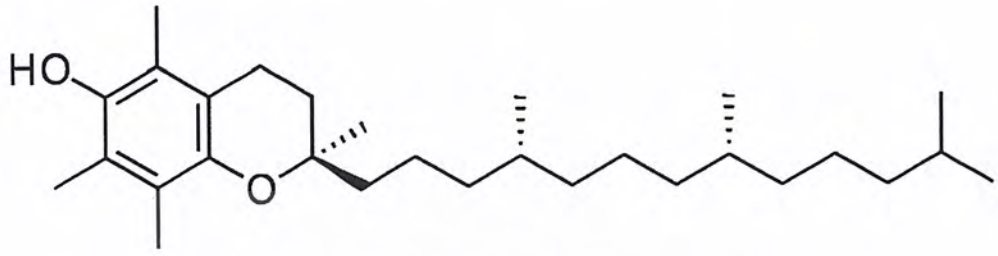
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของวิตามินซี
ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/File:L-Ascorbic_acid.svg

2.4.2 วิตามินอี (Vitamin E)

วิตามินอี เป็นสารประกอบที่ละลายอยู่ในไขมัน พบในอาหารมากมายหลายชนิด อีกทั้งยังเป็นส่วนประกอบโครงสร้างทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิต (Bjomeboe และคณะ, 1990) วิตามินอีมีส่วนในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Knekt และคณะ, 1991) ยับยั้งการก่อตัวของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอ็นไนโตรโซ (N-nitroso) ในกระเพาะอาหาร ได้เช่นเดียวกับวิตามินซี อีกทั้งยังป้องกันการสูญเสียแร่ธาตุซีเลเนียมจากสภาวะเครียดของร่างกาย (Horvath และIp, 1983) และสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันกับออกซิเจนในอากาศ (Horrobin และคณะ, 1991)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของวิตามินอี
ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Tocopherol,_alpha-.svg

วิตามินอี สามารถละลายได้ในไขมัน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของเมมแบรนที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ โดยปกป้องไม่ให้เกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) โดยวิตามินอีจะให้ไฮโดรเจนแก่กรดไขมันที่อยู่ในรูปอนุมูล แล้วตัวมันเองก็จะกลายเป็นอนุมูลวิตามินอี อนุมูลของวิตามินอีจะถูกวิตามินซีรีดิวซ์กลับไปสภาพเดิมเพื่อใช้งานใหม่ได้ (โอภา และคณะ, 2549)

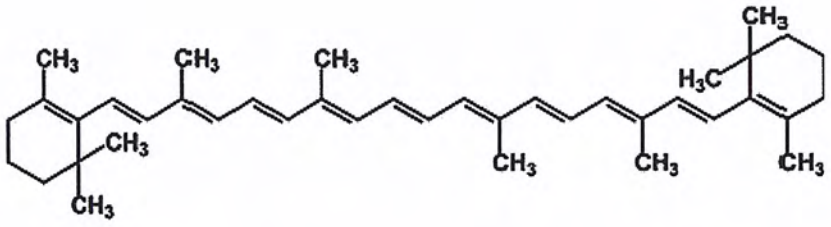
2.4.3 ซีเลเนียม (Selenium)

แร่ธาตุซีเลเนียมเป็นอโลหะชนิดหนึ่งมักเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันรวมตัวเป็นสารประกอบอยู่กับออกซิเจน ทั้งยังเป็นส่วนประกอบในโครงสร้างของพวกกรดอมิโน ซีเลเนียมยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของระบบเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Burk และLevander, 1999) จากการศึกษาพบว่าสารประกอบซีเลเนียมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและป้องกันอันตรายจากสารหนูเทียบเท่ากับสารสกัดจากกระเทียม (Chowdhury และคณะ, 2008)

2.4.4 เบต้า แคโรทีน (β - Carotene)

แบต้า แคโรทีน เป็นสารประกอบอินทรีย์พวกเทอร์พีนอยด์ มีลักษณะเป็นเม็ดสีส้มแดง พบในแครอท มันเทศ และบรอคเคอรี่ แบต้า แคโรทีนที่ได้จากผักและผลไม้สามารถลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม โรคกระเพาะอาหาร และมะเร็งตับอ่อนได้ ซึ่งในธรรมชาติเบต้า แคโรทีนก็เป็นอนุพันธ์ของกรดวิตามินเอชนิดหนึ่ง (Susan และVan, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

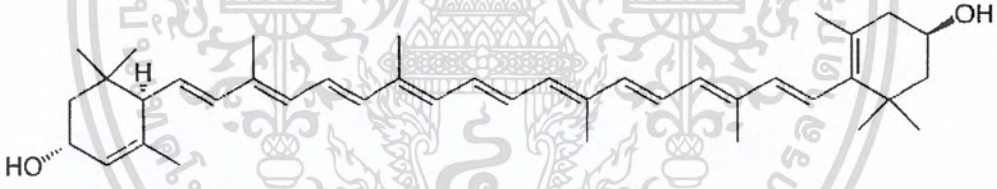


รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเบต้า แคโรทีน

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Beta-Carotene

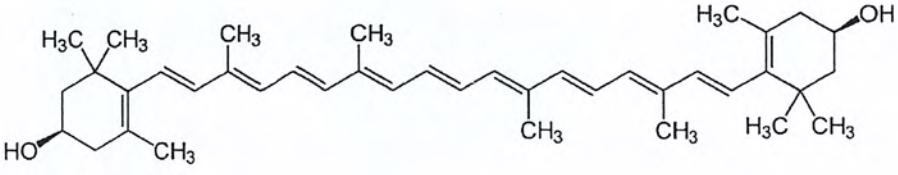
2.4.5 ลูทีนและซีแซนทีน (Lutein and Zeaxanthin)

ลูทีนและซีแซนทีนเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ซึ่งซีแซนทีนเป็นสเตอริโอไอโซเมอร์ (Stereoisomer) ของลูทีน (Johnson, 2002) ลูทีนและซีแซนทีนยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารอาหารหลักในการเสริมสร้างและป้องกันสุขภาพของดวงตาและยังสามารถลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ (Kritchevsky, 1999) โรคหลอดเลือดในสมอง (Hirvonen และคณะ, 2000) และโรคมะเร็ง (Holick และคณะ, 2002)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของลูทีน

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Luteine_-_Lutein.svg



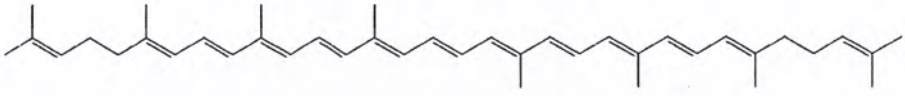
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของซีแซนทีน

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Zeaxanthin2.svg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.6 ไลโคปีน (Lycopene)

ไลโคปีนเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดหนึ่งที่สามารถละลายได้ในไขมันไม่ละลายในน้ำ เป็นไอโซเมอร์ของเบต้า แคโรทีน (Britton, 1995) ไลโคปีนสามารถปกป้องเซลล์จากการถูกทำลายของอนุมูลอิสระได้ (Agarwal และRao, 2000) เช่น สามารถป้องกันเซลล์เม็ดเล็ดขาวจากการถูกทำลายจากสารประกอบพวก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และไนโตรเจนเปอร์ออกไซด์ (Bohm และคณะ, 1995)

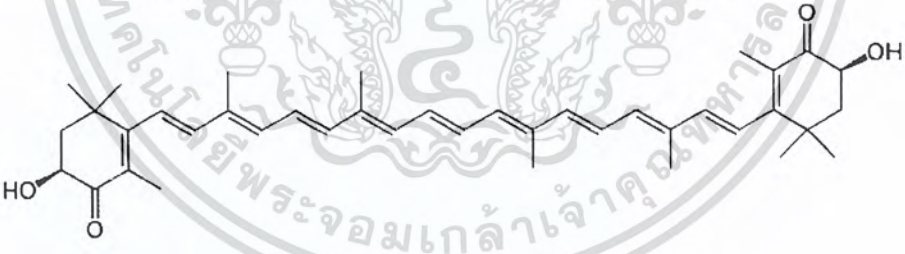


รูปที่ 2.8 โครงสร้างของไลโคปีน

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Lycopene.svg

2.4.7 แอสตาแซนทีน (Astaxanthin)

แอสตาแซนทีนเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดหนึ่งที่เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว จะไม่เปลี่ยนรูปแบบของโครงสร้างหรือเกิดปฏิกิริยากลายเป็นอนุพันธ์ของวิตามินเอ ในปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงมาก (Mortensen และ Skibsted, 1997)



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของแอสตาแซนทีน

ที่มา http://en.wikipedia.org/wiki/File:Astaxanthin.svg

2.5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและขั้นตอนการยับยั้งปฏิกิริยาด้วยสารต้านการเกิดออกซิเดชัน

กลไกของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่เกิดขึ้นได้เองของสารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอนเมื่ออยู่ในสภาวะธรรมชาติสามารถแบ่งได้ 4 ระยะดังนี้ (R_2N_2 = azo compound; LH = substrate; AH = antioxidant) (Denisov และKhudyakov, 1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 ระยะเหนี่ยวนำ (Initiation)

เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระ

$$R_2N_2 \longrightarrow 2R^{\cdot} + N_2 \quad (1)$$

$$R^{\cdot} + O \longrightarrow ROO^{\cdot} \quad (2)$$

$$ROO^{\cdot} + LH \longrightarrow ROOH + L^{\cdot} \quad (3)$$

2.5.2 ระยะเพิ่มจำนวน (Propagation)

เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็นอนุมูลอิสระเปอร์ออกซี (Peroxy radical) ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide) ซึ่งถ้ามีตัวเร่งอนุมูลอิสระก็สามารถเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้อย่างไม่มีที่สิ้นสุด

$$L^{\cdot} + O_2 \longrightarrow LOO^{\cdot} \quad (4)$$

$$LOO^{\cdot} + LH \longrightarrow LOOH + L^{\cdot} \quad (5)$$

2.5.3 ระยะยับยั้ง (Inhibition)

เป็นระยะที่สารต้านอนุมูลอิสระเข้ายับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่เป็นสารรีดักแตนท์ (Reduction) เพื่อให้อิเล็กตรอนหรืออตอมของไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ

$$LOO^{\cdot} + LH \longrightarrow LOOH + L^{\cdot} \quad (6)$$

2.5.4 ระยะสิ้นสุด (Termination)

$$A^{\cdot} + (n\text{-}1)\ LOO^{\cdot} \longrightarrow \text{non-radical product} \quad (7)$$

$$LOO^{\cdot} + LOO^{\cdot} \longrightarrow \text{non-radical produc} \quad (8)$$

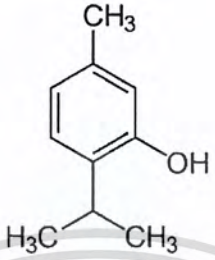
2.6 การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระ

2.6.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด

สารประกอบจำพวกฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืช มีหลายกลุ่มที่สำคัญ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรอฟีนอลิก และแทนนิน เป็นต้น ซึ่งโครงสร้างหลักประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) แทนที่ด้วยหมู่ไฮโดรเจน (Hydroxy group) โดยมากเป็นสารที่มีขั้วละลายในตัวทำละลายจำพวกแอลกอฮอล์ได้ดี โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลจะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปรวมกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ กลูโคส (Glucose) (ปธีรนันท์, 2549) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มนี้ขึ้นกับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล คุณสมบัติในการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกในกรดเบนโซอิก จะส่งผลให้ความสามารถในการให้ไฮโดรเจน ของไฮดรอกซิเบนโซเอท (Hydroxybenzoate) น้อยลง (โอภา และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.10 สารประกอบฟีโนลิก (thymol)
ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Thymol2.svg

การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยสารละลายฟอลินซิโอแคลตู (Folin-Ciocalteu Reagent) โดยทำการปรับสภาวะการทดลองให้เป็นด่าง ด้วยการเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตให้ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ที่ประมาณเท่ากับ 10 เพื่อให้เกิดการแตกตัวของสารประกอบฟีโนลิกเกิดเป็นสารประกอบฟีโนเลตแอนไอออน (Phenolate anion) ซึ่งสามารถเป็นตัวให้อิเลล็กตรอนกับสารละลายฟอลินซิโอแคลตูได้ ซึ่งกลไกการให้อิเล็กตรอนของสารประกอบฟีโนลิกจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินขึ้นดังแสดงในสมการที่ 9 สีของสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นก็จะแปรผันตามความเข้มข้นของสารประกอบฟีโนลิก (Huang และคณะ, 2005)

$$\underset{\text{สารประกอบสีเหลือง}}{Mo\ (VI)} + e \longrightarrow \underset{\text{สารประกอบสีน้ำเงิน}}{Mo\ (V)} \qquad (9)$$

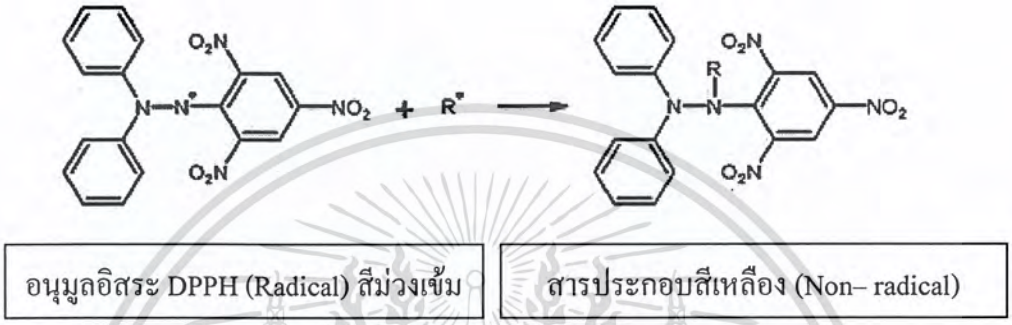
2.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

2.7.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม

สารต้านอนุมูลอิสระโดยรวม (Total antioxidant capacity) เป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้โดยตรง เช่นวิตามินซี วิตามินอี กลูต้าไทโอน และเบต้า แคโรทีน ซึ่งสารเหล่านี้พบมากในผักและผลไม้ชนิดต่างๆ (Davies, 1995 ; Gluliani และCestaro, 1997) อีกทั้งยังมีรายงานการศึกษาของน้ำทับทิมพบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำแอปเปิ้ล (Seeram และคณะ, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม สามารถวิเคราะห์จากวิธีการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom transfer, HAT) ได้แก่ วิธี Oxygen redical absorbance capacity assay (ORAC) และ วิธี Total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) หรือการวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Electron transfer, ET หรือ SET) เช่น วิธี Diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (DPPH) วิธี The ferric reducing ability of plasma assay (FRAP) และวิธี Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) (โอภา และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.11 แสดงเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction) เพื่อให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ (DPPH) ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/File:DPPHreact.png

2.7.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH)

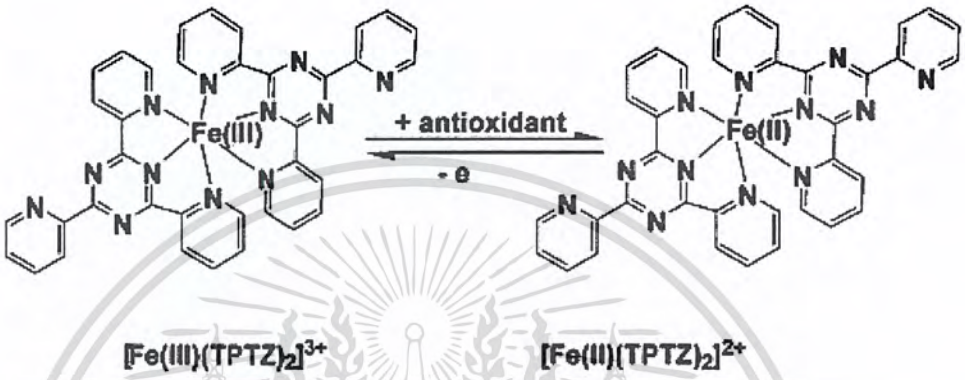
DPPH คือ อนุภาคที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุภาคอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะสามารถทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ ซึ่งตัวอนุมูลอิสระ DPPH เองเมื่อรับอิเล็กตรอนหรือ อะตอมของไฮโดรเจนจากสารที่เป็นตัวรีดักแตนท์ (Reductant) สีของสารละลายจากที่เป็นสีม่วงเข้มจะจางลงจนกระทั่งเป็นสีเหลือง (Mark และAlger, 1997)

2.7.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion - chelating ability assay)

เป็นการทดสอบหาสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม Chelating agent หรือ Sequestrant ได้แก่ กรดซิตริก กรดอะมิโน เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็กและทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรวิธีการทดสอบความสามารถในการรวมตัว เป็นการศึกษาความสามารถในการแย่งจับโลหะไอออน เช่น เหล็กไอออน ของสารสกัดที่ต้องการทดสอบ ซึ่งตัวโลหะไอออนนี้จะเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาเคมีของสารที่จะทำให้เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระต่างๆได้ จากปฏิกิริยาเคมีเมื่อเติมสารเฟอร์โรซิน (Ferrozine) ลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะไปจับกับเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) แล้วจะอยู่ในรูปสารประกอบของเฟอร์โรซินกับเฟอรร์รัสไอออน (Ferrozine-Fe^{2+}complex) ซึ่งจะให้สีแดง (รูปที่2.12) และถ้าสารสกัดทดสอบ มีความสามารถในการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน จะทำให้สีแดงของสารประกอบของเฟอร์โรซินกับเฟอร์รัสไอออนจางลงได้ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 นาโนเมตร (ปธีรนันท์, 2549)



รูปที่ 2.12 ปฏิกิริยาการแย่งจับกับโลหะของสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) (Huang และคณะ, 2005)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่าย

จากรายงานการทดลองการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลหลายชนิด โดยการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum* มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด (Matsukawa และคณะ, 1997)

จากการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของตัวอย่างสาหร่ายทะเลสดตากแห้ง 5 ชนิด คือ *Fucus vesiculosus*, *Laminaria ochroleuca*, *Undaria pinnatifina*, *Chondurs crispus stackh* และ *Porphyra umlibicalis* โดยการสกัดด้วยน้ำ พบว่าสาหร่าย *Fucus vesiculosus* เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีโนลิกรวมมีปริมาณมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกสูงสุดเท่ากับ 0.18 (Jimenez-Escrig และคณะ, 2001)

จากการศึกษาความสามารถในการต้านการออกซิเดชันของสาหร่ายทะเล 4 ชนิด Nori (*Porphyra* sp.), Kumbu (*Laminaria* sp.), Wakame (*Undaria* sp.) และ Hijiki (*Hijikia* sp.) โดยการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล จากนั้นทำการวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสาหร่าย Wakame (*Undaria* sp.) ที่สกัดด้วยเอทานอล มีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้เท่ากับ ร้อยละ 58 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระให้ลดลงได้ร้อยละ 50 มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Ismail และHong, 2002)

จากการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายทะเล 13 ชนิด จากทะเลอีเจียน โดยวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Taonia atomaria* มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด (Nahas และคณะ, 2006)

จากการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* โดยทำการวิเคาะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical) ความสามารถในการยับยั้งการเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) ความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระไฮดรอกซี (Hydroxyl radical) การยับยั้งการแย่งจับโลหะเฟอร์รัสไอออน(Fe^{2+}) ศึกษาความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ และการยับยั้งการรวมตัวของออกซิเจนกับกรดไขมัน (Lipid peroxidation) พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอล ร้อยละ70 มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ทุกวิธี และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูง และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะพบมากในสารละลายที่มีขั้วสูงกว่าสารละลายที่มีขั่วต่ำ (Senevirathne และคณะ, 2006)

จากการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ของสาหร่าย 3 ชนิด *Sargassum dentifolium, Laurencia papillosa* และ *Jania corniculata* ที่มีในประเทศอียิปต์ มาทำการสกัดด้วยเอทานอลและไดคลอโรมีเทน และวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการยับยั้งการเกิด การรวมตัวของออกซิเจนกับกรดไขมันพบว่า สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนของสาหร่ายแต่ละชนิดมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล โดย *Sargassum dentifolium* มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือ *Laurencia papillosa* และ *Jania corniculata* อีกทั้ง สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนของ *Laurencia papillosa* มีความสามารถในการยับยั้งการรวมตัวของออกซิเจนกับกรดไขมันได้สูงที่สุด รองลงมาคือ *Sargassum dentifolium* และ *Jania corniculata* (Shanab, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 สาหร่าย *Chlorella* sp. 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53

3.1.2 สาหร่าย *Chlorococcum* sp. สายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. C53

3.2 สารเคมี

3.2.1 Absolute ethanol ยี่ห้อ Lab-Scan (Analytical reagent)

3.2.2 Ammonium molybdate powder ยี่ห้อ Ajax Finechem # AF705163

3.2.3 Ammonium thiocyanate ยี่ห้อ Merck # 101213

3.2.4 BHT (Butylated hydroxy toluene) ยี่ห้อ Aldrich # B1378

3.2.5 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ยี่ห้อ Sigma # D9132

3.2.6 Di-Sodium hydrogen phosphate 7-hydrate ยี่ห้อ Panreac

3.2.7 EDTA disodium salt (AR grade) ยี่ห้อ Merck # 108418

3.2.8 Ethanol 95 %

3.2.9 Ferrous chloride ยี่ห้อ Merck # 103861

3.2.10 Ferrozine ยี่ห้อ Fluka # 82950

3.2.11 Folin-Ciocalteu phenol reagent ยี่ห้อ Merck # 109001

3.2.12 Gallic acid monohydrate (HPLC grade) ยี่ห้อ Aldrich # 27645

3.2.13 Iron (II) chloride tetrahydrate ยี่ห้อ Merck # 103861

3.2.14 Sodium dihydrogen phosphate dehydrate ยี่ห้อ Fluka Chemika # 71500

3.2.15 Sodium dihydrogen phosphate monohydrate ยี่ห้อ Merck # 6346

3.2.16 Tween 20 ยี่ห้อ Merck # 822184

3.2.17 BB (ภาคผนวก ก)

3.2.18 N-8 (ภาคผนวก ก)

3.2.19 BG-11(ภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 เครื่องแก้ว เช่น ฟลาสก์ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปตต์ และอื่นๆ

3.3.2 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) (รุ่น HA-300MIV บริษัท Hirayama)

3.3.3 เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Evaporator) (รุ่น Laborota บริษัท Heidolph และรุ่น Hei-VAP Adventage บริษัท Heidolph)

3.3.4 เครื่องชั่งสาร (รุ่น AR2140 บริษัท OHAUS)

3.3.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (รุ่น Z36HK บริษัท HERMLE และรุ่น Falcon6/30 บริษัท MSE)

3.3.6 ไมโครเวฟ (Microwave) (รุ่น m1913 บริษัท Samsung)

3.3.7 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) (รุ่น UB10 บริษัท Denver Instrument)

3.3.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (รุ่น Helios Alpha บริษัท BEC thai)

3.3.9 ปิเปตแบบอัตโนมัติ (Autopipette) (รุ่น Fastpettle V-2 บริษัท Labnet)

3.3.10 เครื่องล้างเครื่องแก้วด้วยคลื่นเสียง (Sonicate) (รุ่น 2800HT บริษัท Crest)

3.3.11 เครื่องทำแห้งแบบเย็น (Freeze dry) (รุ่น Lyolab บริษัท Heto)

3.3.12 เครื่องเขย่า (Shaker) (รุ่น innova2000 บริษัท New Brunswick scientific)

3.3.13 ตู้แช่แข็ง (บริษัท Sanyo)

3.3.14 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (รุ่น thermotec2000 บริษัท Contherm)

3.3.15 อ่างน้ำร้อน (Water bath) (รุ่น TEP5-4 บริษัท BEC thai)

3.3.16 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow) (รุ่น LA-CLEANLINE BS-120 บริษัท M-tech maxel technology)

3.3.17 เครื่องให้อากาศ (Pump) (รุ่น 9830 บริษัท Lifetech)

3.3.18 อุปกรณ์วัดความเข้มแสง (Lux metor)

3.3.19 หลอดไฟ

3.3.20 โถดูดความชื้น

3.3.21 กล้องจุลทรรศน์

117224

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์

3.4.1.1 การคัดแยกสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. C53

ทำการเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง บริเวณคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาทำการ Spread plate บนจานอาหาร BG – 11 ทำการคัดแยกสาหร่ายให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Cross streak และตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.4.1.2 การคัดแยกสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. E53

ทำการเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง บริเวณคณะวิศวกรรมศาสตร์ จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาทำการ Spread plate บนจานอาหาร BG – 11 ทำการคัดแยกสาหร่ายให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Cross streak และตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.4.1.3 การคัดแยกสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ED53

ทำการเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง บริเวณคณะวิศวกรรมศาสตร์ จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาทำการSpread plate บนจานอาหาร BG – 11 ทำการคัดแยกสาหร่ายให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Cross streak และตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.4.2 การดำเนินการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

หลังจากทำการตรวจสอบจนแน่ใจว่าไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นแล้ว จึงทำการเพาะเลี้ยงเป็นหัวเชื้อเริ่มต้น โดยใส่เชื้อเริ่มต้น 1 โคโลนี ภายในขวดเพาะเลี้ยงปริมาตร 6 ลิตรโดยเติมอาหารจำนวน 4 ลิตรเป็นเวลา 7 วันจนกระทั่งได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.3-0.5 แล้วจึงนำหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ไปเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในขวดเพาะเลี้ยงปริมาตร 6 ลิตรที่มีอาหารอยู่ 4 ลิตร ทั้งหมดสายพันธุ์ละ 20 ขวด จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. C53 ด้วยอาหาร N-8 สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. E53 ด้วยอาหาร N-8 และสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 ด้วยอาหาร BB ที่อุณหภูมิห้อง ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสงเท่ากับ 3000 ลักส์ และให้อากาศด้วยเครื่องให้อากาศตลอดการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร และนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer) เมื่อสาหร่ายมีการเจริญเติบโตคงที่จะหยุดให้อากาศ และรอให้เซลล์ตกตะกอน เป็นเวลา 7 วัน จึงทำการปั่นเหวี่ยงแยกเอาส่วนใสออก ตะกอนเซลล์ที่ได้นำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเซลล์แห้งที่ได้มาบดละเอียดด้วยครกหินด้วยแรงที่คงที่สม่ำเสมอ แล้วจึงนำเซลล์สาหร่ายที่ได้ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล

3.4.4 การสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

นำสาหร่ายที่เตรียมไว้มาทำการทดลองสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล และน้ำร้อน ซึ่งมีวิธีการสกัดโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Jaime และคณะ (2009) ดังนี้

3.4.4.1 การสกัดด้วยน้ำ

1. นำตัวอย่างสาหร่าย 10 กรัม มาสกัดด้วยน้ำร้อน 100 มิลลิลิตร นำส่วนผสมมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสและทำการเขย่าในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าความเร็ว 130 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที

2. นำส่วนผสมที่ได้จากการสกัดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสด้านบนออกเก็บในหลอดเซ็นติฟิวส์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอดและนำส่วนเซลล์ (Pellet) ไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยวิธีเดิม

3. ส่วนใสที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำนำไประเหยน้ำออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ

4. สารสกัดหยาบที่ได้หลังจากทำการระเหยน้ำออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงเก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปทำการศึกษาต่อไป

3.4.4.2 การสกัดด้วยเอทานอล

1. นำตัวอย่างสาหร่าย 10 กรัมมาสกัดด้วยเอทานอล (ร้อยละ 95) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

2. นำส่วนผสมที่ได้จากการสกัดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสด้านบนออกเก็บในหลอดเซ็นติฟิวส์ปริมาตร50 มิลลิลิตรจำนวน 2 หลอด จากนั้นนำส่วนเซลล์ ไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยวิธีเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำส่วนใสที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้งไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ

4. สารสกัดหยาบที่ได้หลังจากทำการระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงเก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปทำการศึกษาต่อไป

3.4.5 การประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ

3.4.5.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

นำตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ได้แต่ละวิธีของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มาทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีฟอลินซิโอเคลตู (Folin-Ciocalteu method) ที่ดัดแปลงมาจาก Kumar และคณะ (2008) มีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

1. นำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ละลายในเอทานอลความเข้มข้น1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 0.6 มิลลิลิตรในหลอดทดสอบ

2. เติมสารละลายฟอลินซิโอแคลตู (Folin-Ciocalteu phenol reagent) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้ส่วนผสมเข้ากัน

3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน

4. ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นแล้วเขย่าส่วนผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที

5. นำส่วนผสมไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

6. นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิคต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิคและค่าดูดกลืนแสง

3.4.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ

3.4.6.1 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม (Total antioxidant capacity)

นำตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ได้แต่ละวิธีของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มาทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม (Total antioxidant capacity) ดัดแปลงมาจาก (Pan และคณะ, 2006 ; Prieto และคณะ, 1999) มีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. นำสารสกัดหยาบความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดสอบที่มีสารละลายผสม (เตรียมจากกรดซัลฟูริค ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ และแอมโมเนียมโมลิปเดตความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอด เขย่าให้ส่วนผสมเข้ากัน

2. นำส่วนผสมของสารละลายที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60, 90, 120 และ 150 นาทีและเมื่อครบเวลาที่บ่ม นำส่วนผสมมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

3. นำส่วนผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร เทียบกับ blank ซึ่งค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของตัวอย่างพิจารณาจากค่าดูดกลืนแสงที่ได้ โดยทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารกันหืนสังเคราะห์ BHT ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ Blank ได้แก่สารละลายผสม (กรดซัลฟูริค ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ และแอมโมเนียมโมลิปเดต ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 3 มิลลิลิตรและผสมด้วยตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสกัดหยาบ 0.3 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้จะต้องบ่มในสภาวะเดียวกับการทดสอบตัวอย่าง

3.4.6.2 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical)

นำตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ได้แต่ละวิธีของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มาทำการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical) ดัดแปลงจากวิธีการของ Kumar และคณะ (2008) มีวิธีการดังนี้

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอล (Absolute ethanol)

2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT (ใช้เป็นสารมาตรฐานที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) ความเข้มข้น 0.025 – 0.200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอล

3. เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.4 - 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอลและน้ำ (ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด)

4. เติมสารละลายของสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดสอบที่มีสารละลาย DPPH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมทันทีหลังจากเติม DPPH

5. เก็บส่วนผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที

6. นำส่วนผสมไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องยูวี/วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. บันทึกค่าดูดกลืนแสงและนำค่าดูดกลืนแสง ที่ได้ไปคำนวณหาร้อยละความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT

$$\text{Scavenging capacity (SC) \%} = \left[\frac{A_0(A-A_b)}{A_0}\right] \times 100$$

กำหนดให้ $A_o = A_{517}$ ของ DPPH ที่ไม่เติมตัวอย่างสารสกัด

$A = A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดผสมกับ DPPH

$A_b = A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดที่ไม่เติม DPPH

8. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง ที่สามารถกำจัดสารอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่ายหรือสารมาตรฐาน

3.4.6.3 การตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion-chelating ability assay)

นำตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ได้แต่ละวิธีของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มาทำการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอรัสไอออน ดัดแปลงจากวิธีการของ (Wang และคณะ, 2009) มีวิธีการดังนี้

1. ปิเปตสารละลายสารสกัดจากสาหร่ายความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2.7 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายเฟอร์รัสคลอไรด์ ($FeCl_2$) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน

3. เติมสารละลายเฟอโรซิน (Ferrozine) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

4. นำส่วนผสมของสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

5. นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเกลือของอีดีทีเอ (EDTA-Na_2) ที่ความเข้มข้น 0.00005, 0.0001, 0.0005. 0.001, 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรดังนี้

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_0(A_1-A_2)}{A_0}\right] \times 100$$

โดยที่ A_0 = ค่าดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

A_1 = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน EDTA-Na_2

A_2 = ค่าดูดกลืนแสงของ blank

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง ที่มีความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนได้ร้อยละ50 (IC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนและความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่ายหรือสารมาตรฐาน

หมายเหตุ 1. ปฏิกิริยาควบคุม (Control) ให้ใช้น้ำกลั่นปริมาตร 100 ไมโครลิตรแทนสารสกัด

2. Blank ให้ใช้น้ำกลั่นปริมาตร 10 ไมโครลิตรแทนสารละลายเฟอโรซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

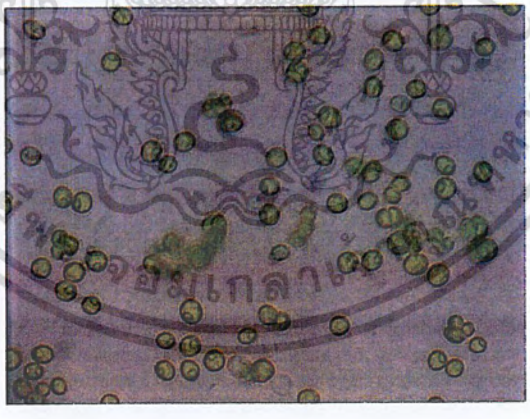
บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorococcum* sp. C53 และ *Chlorella* sp. E53 ด้วยอาหาร N-8 *Chlorella* sp. ED53 ด้วยอาหาร BB ที่สภาวะอุณหภูมิห้อง ให้แสงต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 3,000 ลักส์ และให้อากาศด้วยเครื่องให้อากาศ (Pump) ด้วยอัตราที่คงที่สม่ำเสมอเป็นเวลา 24 ชั่วโมงตลอดการเพาะเลี้ยง

4.1.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. C53

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. C53 ด้วยอาหาร N-8 พบว่าลักษณะเซลล์เป็นทรงรีรูปไข่ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ภายในมีคลอโรพลาสต์ที่เป็นทรงกลม สาหร่ายชนิดนี้ ในระยะเริ่มต้นการเจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) ลักษณะทางกายภาพของเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 4.1)



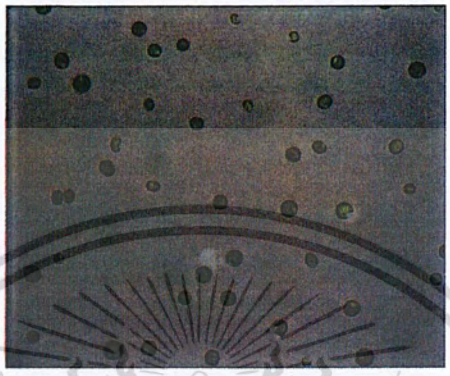
รูปที่ 4.1 สาหร่าย *Chlorococcum* sp. C53 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

4.1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. E53

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella* sp. E53 ในอาหาร N-8 พบว่าลักษณะเซลล์เป็นทรงกลม ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ภายในมีคลอโรพลาสต์ ที่เป็นทรงกลมอยู่ภายในเซลล์ 1 อัน สาหร่ายชนิดนี้ในระยะเริ่มการเจริญเติบโตในระยะปรับตัว ลักษณะทางกายภาพภายนอกของเซลล์มีขนาดเล็กมาก แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปประมาณ 3 วัน ในขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

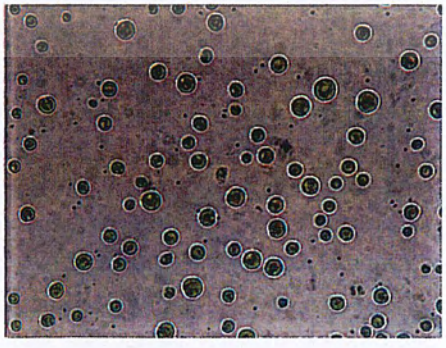
เพาะเลี้ยงขนาด 6 ลิตร พบว่ารูปร่างของเซลล์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่มากขึ้นหรือเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นจากระยะแรก จนกระทั่งเมื่อเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) สีเขียวภายในเซลล์จะค่อยๆจางลงเป็นสีเหลืองและขนาดของเซลล์ก็เล็กลงใกล้เคียงกับระยะปรับตัว (รูปที่ 4.2)



รูปที่ 4.2 สาหร่าย *Chlorella* sp. E53 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

4.1.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ED53

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella* sp. ED53 ในอาหาร BB พบว่าลักษณะเซลล์เป็นทรงกลม ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ภายในมีคลอโรพลาสต์ที่เป็นทรงกลมอยู่ภายในเซลล์ 1 อัน ในระยะปรับตัวก่อนการเจริญเติบโตระยะเอ็กซ์โพเนนเชียล (Exponential phase) และเมื่อเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) ขนาดของเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง สีเขียวของเซลล์เมื่อตรวจสอบโดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าจางลงเล็กน้อยเท่านั้นและเมื่อทำการตรวจสอบโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ก็ลดลงเช่นกัน (รูปที่ 4.3)



รูปที่ 4.3 สาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย

น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 จากการเพาะเลี้ยงเมื่อนำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้แสดงผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

สาหร่าย	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ร้อยละน้ำหนักเซลล์แห้ง
Chlorococcum sp. C53	1.0073	0.10073
Chlorella sp. E53	0.6635	0.06635
Chlorella sp. ED53	0.5116	0.05116

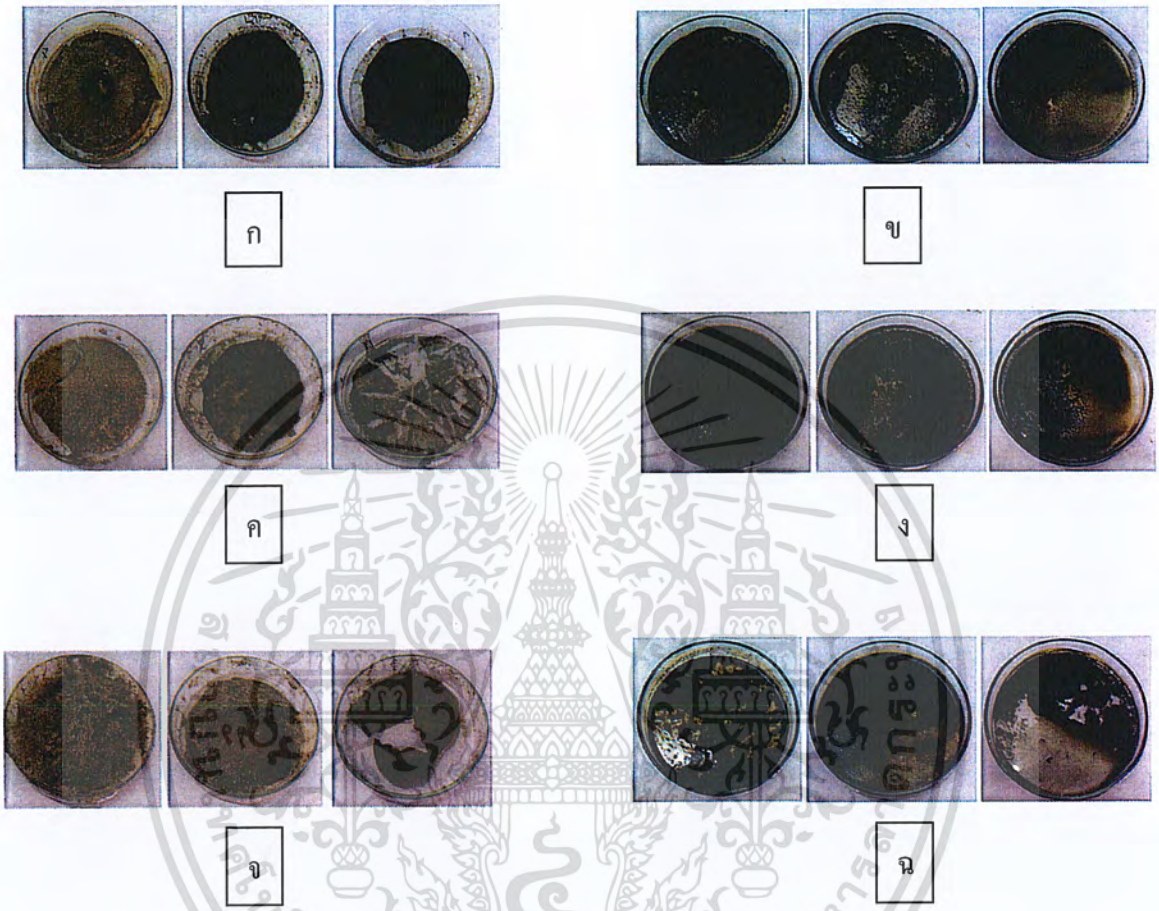
4.3 ผลได้สารสกัดหยาบ

จากการสกัดสารสำคัญในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 โดยนำเซลล์สาหร่ายแห้งที่ผ่านการอบจากข้อ 4.2 มาบดเป็นผง แล้วจึงนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอล (ร้อยละ 95) และน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนของสาหร่าย 10 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง โดยที่น้ำใช้เวลาสกัดครั้งละ 20 นาทีต่อครั้ง ในขณะที่เอทานอลใช้การเวลาสกัดครั้งละ 24 ชั่วโมงต่อครั้ง ผลการสกัดพบว่าในการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด การสกัดครั้งที่ 1 จะได้ปริมาณของสารสกัดมากที่สุดและปริมาณของสารสกัดจะลดลงในการสกัดครั้งต่อไปตามลำดับ (รูปที่ 4.4) และลักษณะของสารสกัดหยาบแสดงให้เห็นในตารางที่ 4.2

จากผลการทดลองพบว่า ผลได้สารสกัดหยาบของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีร้อยละของสารสกัดหยาบมากกว่าที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย และสาหร่ายที่มีร้อยละของสารสกัดหยาบมากที่สุด คือ *Chlorococcum* sp. C53 ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 30.94 ± 0.59 รองลงมาคือสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 มีร้อยละของสารสกัดหยาบเท่ากับร้อยละ 24.87 ± 1.93 และ 23.48 ± 0.49 ตามลำดับ สารสกัดด้วยเอทานอลพบว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. E53 มีร้อยละของสารสกัดหยาบมากที่สุด เท่ากับร้อยละ 19.02 ± 0.31 และสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์*Chlorococcum* sp. C53 และ *Chlorella* sp. ED53 มีร้อยละของสารสกัดหยาบเท่ากับร้อยละ 15.49 ±0.07 และ 13.50 ± 2.10 ตามลำดับ แสดงให้เห็นดังในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.4 ลักษณะสารสกัดหยาบของสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์

(ก) *Chlorococcum* sp. C53 ที่สกัดด้วยน้ำ (ข) *Chlorococcum* sp. C53 ที่สกัดด้วยเอทานอล

(ค) *Chlorella* sp. E53 ที่สกัดด้วยน้ำ (ง) *Chlorella* sp. E53 ที่สกัดด้วยน้ำเอทานอล

(จ) *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำ (ฉ) *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำเอทานอล

จากกการทดลองหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ ผักแว่น (*Oxalis corniculata* โดยใช้ชนิดของตัวทำละลายต่างกันคือ เมทานอล (Methanol) ไดคลอโรมีเทน (Dhichloromethane) เอททิวอะซีเตต (Ethylacetate) บิวทานอล (Butanol) และน้ำ (Water) พบว่ามีร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบที่แตกต่างกันเท่ากับ 32.66, 12.33, 4.00, 7.33 และ 8.00 ตามลำดับ (Alam และคณะ, 2011) เทียบกับร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

sp.C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 พบว่า ร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มีค่ามากกว่าผักแว่นที่สกัดด้วยน้ำเป็นตัวทำละลาย

ตารางที่ 4.2 ผลได้ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) และคุณลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

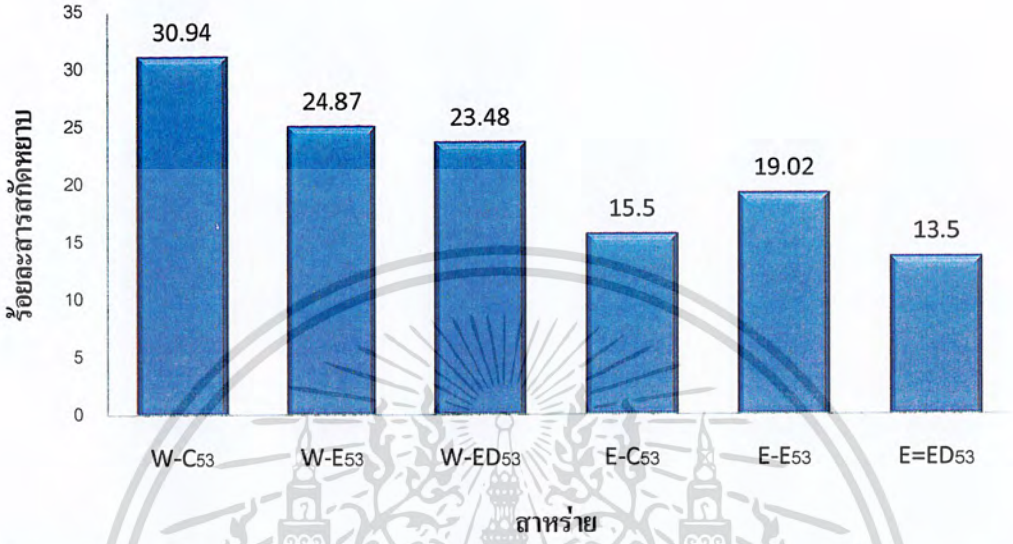
สารสกัด	สาหร่าย	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ผลได้รวม [1] (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)	ลักษณะของสารสกัดหยาบ
น้ำ	*Chlorococcum* sp. C53	1.0073	30.94 ± 0. 59[a]	ในการสกัดครั้งที่ 1 สีของสารสกัดที่ได้มีสีเหลือง แต่เมื่อทำการสกัดครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 สีของสารสกัดที่ได้มีสีเขียวเข้ม ในการสกัดทั้ง 3 ครั้ง พบว่าสีของสารสกัดที่ได้ มีสีเหลือง
	Chlorella sp. E53	0.6635	24.87± 1.93[b]	
	Chlorella sp. ED53	0.5116	23.48± 0. 48[b]	ในการสกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 สีของสารสกัดที่ได้ค่อยๆจางเป็นสีเหลืองตามลำดับ
เอทานอล	*Chlorococcum* sp. C53	1.0073	15.49 ±0.07[a]	สีของสารสกัดทั้ง 3 ครั้งเป็นสีน้ำตาลเข้ม
	Chlorella sp. E53	0.6635	19.02 ± 0.31[b]	สีของสารสกัดทั้ง 3 ครั้งเป็นสีน้ำตาลเข้ม
	Chlorella sp. ED53	0.5116	13.50 ± 2.10[c]	สีของสารสกัดทั้ง 3 ครั้งเป็นสีน้ำตาลเข้ม

หมายเหตุ

[1] ผลได้เป็นร้อยละน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้ในการสกัดรวมทั้ง 3 ครั้ง โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[2] a, b ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)



รูปที่ 4.5 กราฟผลได้รวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

W-C53 : Water-*Chlorococcum* sp. C53 E-C53 : Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53

W-E53 : Water-*Chlorella* sp. E53 E-E53 : Ethanol-*Chlorella* sp. E53

W-ED53 : Water-*Chlorella* sp. ED53 E-ED53 : Ethanol-*Chlorella* sp. ED53

4.4 ผลการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ

4.4.1 ผลการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากการศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยศึกษาผลของชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัด ซึ่งได้แก่ เอทานอลและน้ำร้อน (อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส) ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยใช้วิธีฟอลิน ซิโอแคลตู พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยเอทานอล (เข้มข้นร้อยละ 95) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำร้อน ซึ่งสารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 เป็นสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 และ *Chlorococcum* sp. C53 ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 35.5 ± 0.14, 29.1 ± 1.27 และ 23.6 ± 0.57 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมตามลำดับ สารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จาก

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่าย *Chlorella* sp. E53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 11.3 ± 0.14 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัม รองลงมาได้แก่ สารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 10.6 ± 0.00 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัม แต่ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P>0.05) ส่วนสาหร่าย *Chlorococcum* sp. C53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 7 ± 0.85 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัม(ตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.6)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

สารสกัด	สาหร่าย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด[1] (มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
น้ำ	*Chlorococcum* sp. C53	7 ± 0.85[e 2]
	Chlorella sp. E53	11.3 ± 0.14[d]
	Chlorella sp. ED53	10.6 ± 0.00[d]
เอทานอล	*Chlorococcum* sp. C53	23.6 ± 0.57[C]
	Chlorella sp. E53	35.5 ± 0.14[a]
	Chlorella sp. ED53	29.1 ± 1.27[b]

หมายเหตุ

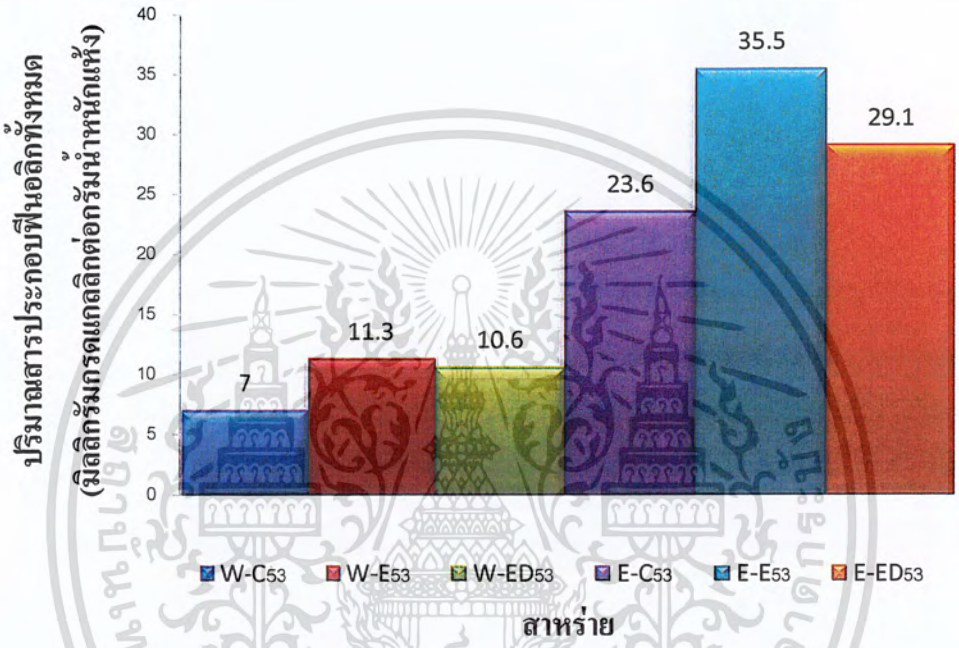
[1] ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้เทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างน้ำหนักแห้ง โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=2)

[2] a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P≤0.05)

จากรายงานการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่าย 12 สายพันธุ์ โดยการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีโนลิก พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำร้อนจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* มีค่ามิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกมากที่สุดเท่ากับ 19.15±0.04 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม (Hajimahmoodi และคณะ, 2010) จากการทดลองการวิเคราะห์หาสารประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟีโนลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบของสาหร่ายสีเขียวทั้ง 3 ชนิด คือ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำพบว่าสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณของมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมน้อยกว่าเมื่อสกัดด้วยเอทานอล เนื่องมาจากโครงสร้างของสารประกอบฟีโนลิกประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งสามารถละลายในตัวทำละลายชนิดที่เป็นแอลกอฮอลได้ดีกว่าชนิดที่เป็นน้ำ



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

W-C53 : Water-*Chlorococcum* sp. C53 E-C53 : Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53

W-E53 : Water-*Chlorella* sp. E53 E-E53 : Ethanol-*Chlorella* sp. E53

W-ED53 : Water-*Chlorella* sp. ED53 E-ED53 : Ethanol-*Chlorella* sp. ED53

4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

4.5.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม (Total antioxidant capacity)

จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมสูงกว่าสารสกัดหยาบที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาในการทำปฏิกริยาเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเมื่อพิจารณาที่เวลา 150 นาที ซึ่งเป็นเวลาที่มากที่สุดที่ทำการทดสอบ พบว่าสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 ที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมสูงที่สุด ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสง 0.468 ± 0.00 รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.437 ± 0.02 และ *Chlorococcum* sp. C53 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.366 ± 0.00 สารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำ สาหร่ายที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมสูงที่สุด คือสาหร่าย *Chlorococcum* sp. C53 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสง 0.108 ± 0.00 รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.096 ± 0.00 ซึ่งผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสาหร่าย*Chlorococcum* sp.C53 และ *Chlorella* sp. E53 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \geq 0.05$) ส่วนสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.074 ± 0.00 แสดงให้เห็นดังในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.7 และจากผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด จึงสรุปได้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดจากสาหร่าย

จากการทดลองวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ ผักแว่น (*Oxalis corniculata*) โดยใช้ชนิดของตัวทำละลายต่างกันคือ เมทานอล (Methanol) ไดคลอโรมีเทน (Dhichloromethane) เอททิวอะซีเตต (Ethylacetate) บิวทานอล (Butanol) และน้ำ (Water) พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรวมเท่ากับ 113.9 ± 0.69, 14.0 ± 1.01, 224.05 ± 0.45, 125.4 ± 0.21 และ 20.4 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อกรัมวิตามินซีตามลำดับ (Alam และคณะ, 2011) แต่ไม่สามารถเทียบกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรวมของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ เนื่องจากผลการทดลองที่ได้ไม่ได้นำมาวิเคราะห์หาปริมาณรวมของวิตามินซีในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมวิตามินซี

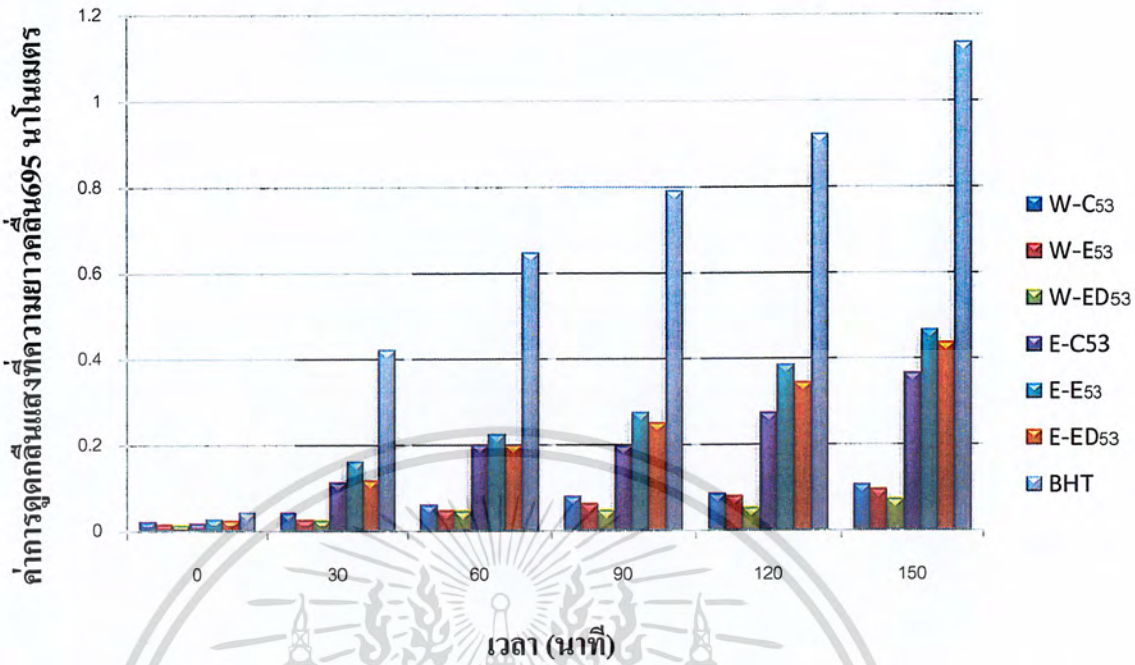
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

สารสกัด	สาหร่าย	เวลา (นาที)					
		0	30	60	90	120	150
น้ำ	*Chlorococcum* sp. C53	$0.022 \pm 0.00^{b\,1}$	0.043 ± 0.00^{c}	0.061 ± 0.00^{c}	0.081 ± 0.01^{d}	0.086 ± 0.01^{d}	0.108 ± 0.00^{d}
	Chlorella sp. E53	0.015 ± 0.00^{c}	0.026 ± 0.00^{d}	0.047 ± 0.00^{c}	0.063 ± 0.00^{e}	0.080 ± 0.00^{d}	0.096 ± 0.00^{d}
	Chlorella sp. ED53	0.014 ± 0.00^{c}	0.025 ± 0.01^{d}	0.046 ± 0.00^{c}	0.048 ± 0.00^{f}	0.054 ± 0.00^{e}	0.074 ± 0.00^{e}
เอทานอล	*Chlorococcum* sp. C53	0.017 ± 0.00^{c}	0.113 ± 0.00^{b}	0.200 ± 0.02^{b}	0.198 ± 0.01^{c}	0.275 ± 0.00^{c}	0.366 ± 0.00^{c}
	Chlorella sp. E53	0.028 ± 0.00^{a}	0.162 ± 0.00^{a}	0.225 ± 0.00^{a}	0.276 ± 0.00^{a}	0.386 ± 0.03^{a}	0.468 ± 0.00^{a}
	Chlorella sp. ED53	0.023 ± 0.00^{b}	0.117 ± 0.01^{b}	0.199 ± 0.00^{b}	0.250 ± 0.01^{b}	0.345 ± 0.00^{b}	0.437 ± 0.02^{b}

หมายเหตุ

a, b, c, d, e, f ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

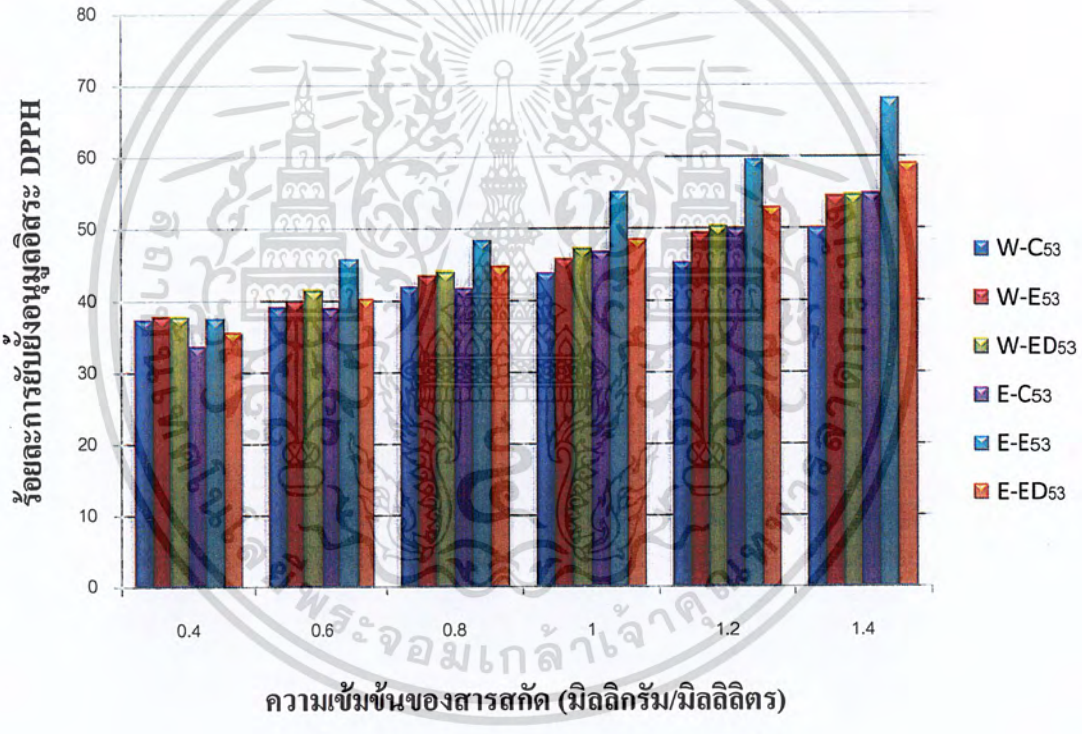
W-C53 : Water-*Chlorococcum* sp. C53
W-E53 : Water-*Chlorella* sp. E53
W-ED53 : Water-*Chlorella* sp. ED53
E-C53 : Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53
E-E53 : Ethanol-*Chlorella* sp. E53
E-ED53 : Ethanol-*Chlorella* sp. ED53

4.5.2 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical)

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3สายพันธุ์ คือ *Chlorococcum* sp.C53, *Chlorella* sp.E53 และ*Chlorella* sp.ED53 โดยใช้ตัวทำละลายสองชนิดในการสกัด คือเอทานอลและน้ำร้อน ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้มีปริมาณเพิ่มขึ้น ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดสอบ นั่นคือความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สาหร่ายที่มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สาหร่าย *Chlorella* sp.E53 ที่สกัดด้วยเอทานอลโดยมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ 68.175 ± 0.38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 และ *Chlorococcum* sp.C53 โดยมีร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 58.975 ± 0.32 และ 54.886 ± 0.87 ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 มีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 54.689 ± 1.14 รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 มีร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ 54.469 ± 0.77 ซึ่งผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสารสกัดของสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 และ *Chlorella* sp. E53 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P>0.05) ส่วน *Chlorococcum* sp. C53 นั้นมีร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ 50.028 ± 1.70 ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

W-C53 : Water-*Chlorococcum* sp. C53
W-E53 : Water-*Chlorella* sp. E53
W-ED53 : Water-*Chlorella* sp. ED53
E-C53 : Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53
E-E53 : Ethanol-*Chlorella* sp. E53
E-ED53 : Ethanol-*Chlorella* sp. ED53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้กับร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล (% Scavenging activity on DPPH radical)

สารสกัด	สาหร่าย	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
		0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4
น้ำ	*Chlorococcum* sp. C53	37.385 ± 1.57$^{a,b\ 1}$	39.163 ± 0.23^{c}	41.996 ± 0.26^{b}	43.881 ± 0.98^{c}	45.221 ± 0.50^{d}	50.028 ± 1.70^{d}
	Chlorella sp. E53	37.801 ± 0.65^{a}	39.902 ± 0.27^{b,c}	43.516 ± 2.72^{b}	45.748 ± 0.29^{b,c}	49.368 ± 1.62^{c}	54.469 ± 0.77^{c}
	Chlorella sp. ED53	37.799 ± 0.34^{a}	41.509 ± 1.72^{b}	44.076 ± 1.23^{a,b}	47.226 ± 0.07^{b}	50.333 ± 2.28^{b,c}	54.689 ± 1.14^{c}
เอทานอล	*Chlorococcum* sp. C53	33.665 ± 0.00^{c}	39.031 ± 0.49^{c}	41.770 ± 1.09^{b}	46.765 ± 0.74^{b,c}	49.934 ± 0.14^{b,c}	54.886 ±0.87^{c}
	Chlorella sp. E53	37.578 ± 1.11^{a,b}	45.792 ± 0.49^{a}	48.371 ± 2.67^{a}	55.156 ± 2.68^{a}	59.639 ± 0.31^{a}	68.175 ± 0.38^{a}
	Chlorella sp. ED53	35.523 ± 0.32^{b,c}	40.240 ± 0.60^{b,c}	44.680 ± 0.48^{a,b}	48.445 ± 1.09^{b}	52.842 ± 0.26^{b}	58.975 ± 0.32^{b}

หมายเหตุ

[1] a, b, c, d ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

จากรายงานผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่าย 12 สายพันธุ์ โดยการวิเคราะห์ความสามารถการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำร้อน สาหร่ายที่ให้ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ *Chlorella vulgaris* มีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 109.02 ± 8.25 (Hajimahmoodi และคณะ, 2010) มากกว่าการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (EC_{50}) เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดที่มีร้อยละของการยับยั้งสูงที่สุดคือ *Chlorella* sp. E53 ที่สกัดจากเอทานอล มีร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ 68.18 นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบทั้งที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายและใช้น้ำเป็นตัวทำละลายของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ มีร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่า 50 ทุกตัว จึงสามารถคำนวณออกมาเป็นความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (EC_{50}) ดังแสดงให้เห็นในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.9

เมื่อพิจารณาในส่วนของสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย สารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่มีค่า EC_{50} มากที่สุด คือ สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp.ED53 ซึ่งมีค่า EC_{50} 1.1492 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp.E53 และ *Chlorococcum* sp.C53 ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.1989 และ 1.4930 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สาหร่ายที่มีค่า EC_{50} สูงที่สุด คือสาหร่าย *Chlorella* sp.E53 มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.8147 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 และ *Chlorococcum* sp.C53 ซึ่งมีค่า EC_{50} 1.0417 และ 1.1755 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากตารางที่ 4.6 พบว่าสารสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายจากสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp.E53 มีค่า EC_{50} ดีที่สุดคือ 0.8147 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์กับสารมาตรฐาน BHT แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่า โดยสารมาตรฐาน BHT มีค่า EC_{50} ที่ดีกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลของสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 ถึง 15 เท่า และดีกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดน้ำของสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 ถึง 22 เท่า

จากการทดลองการสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Enteromorpha compressa*, *Enteromorpha linza* และ *Enteromorpha tubulosa* ด้วยน้ำพบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำที่สุดเท่ากับ 3.25 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสาหร่าย

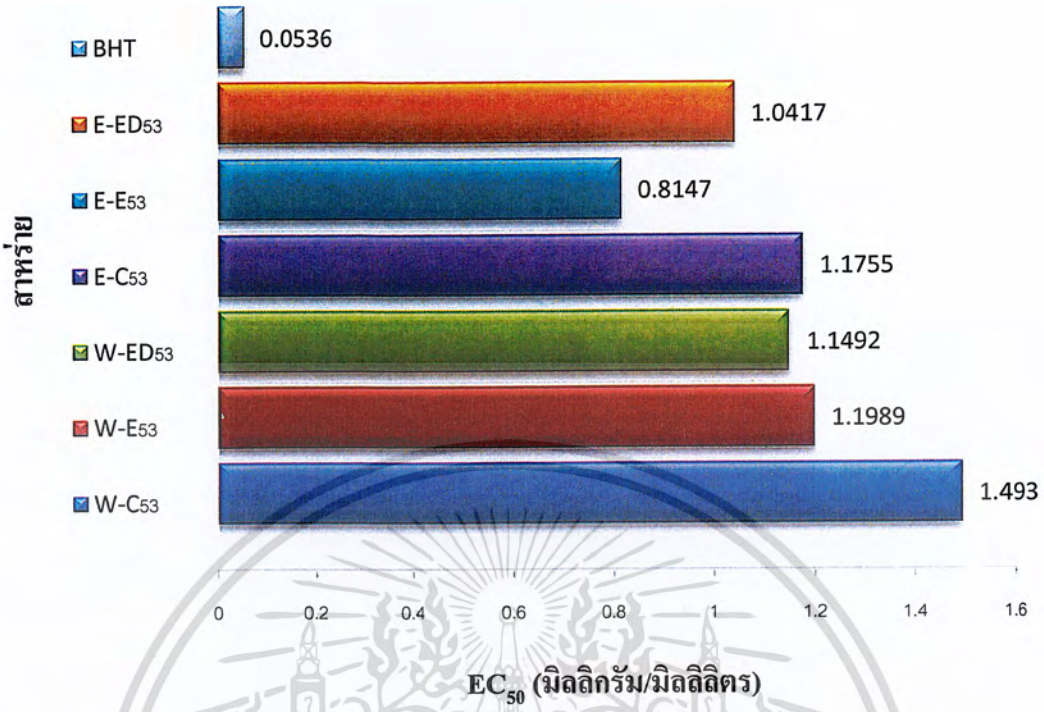
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enteromorpha compressa มีร้อยละของการกำจัดอนุมูลอิสระลดลงได้ร้อยละ 50 (Ganesan และคณะ, 2010) เปรียบเทียบกับการทดลองการวิเคราะห์ร้อยละของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด คือ *Chlorococcum* sp.C53, *Chlorella* sp.E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยเอทานอลพบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ให้ลดลงร้อยละ 50 มีค่าต่ำกว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Enteromorpha* ทั้ง 3 สายพันธุ์ เพราะฉะนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp.C53, *Chlorella* sp.E53 และ *Chlorella* sp. ED53 มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Enteromorpha compressa*, *Enteromorpha linza* และ *Enteromorpha tubulosa*

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถกำจัดอนุมูลอิระ DPPH ลดลงได้ร้อยละ 50 (EC_{50})

ตัวอย่างสารสกัด	สมการเส้นตรง	EC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
Water-*Chlorococcum* sp. C53	y = 11.896x + 32.239 (R^2=0.968)	1.4930
Water-*Chlorella* sp. E53	y = 16.281x + 30.48 (R^2=0.980)	1.1989
Water-*Chlorella* sp. ED53	y = 16.296x + 31.272 (R^2=0.995)	1.1492
Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53	y = 20.545x + 25.85 (R^2=0.994)	1.1755
Ethanol-*Chlorella* sp. E53	y = 28.759x + 26.569 (R^2=0.984)	0.8147
Ethanol-*Chlorella* sp. ED53	y = 22.693x + 26.361 (R^2=0.995)	1.0417
สารมาตรฐาน BHT	y = 207.27x + 38.885 (R^2=0.949)	0.0536

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงค่า EC_{50} ของสารมาตรฐาน BHT และสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

W-C53 : Water-*Chlorococcum* sp. C53 E-C53 : Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53

W-E53 : Water-*Chlorella* sp. E53 E-E53 : Ethanol-*Chlorella* sp. E53

W-ED53 : Water-*Chlorella* sp. ED53 E-ED53 : Ethanol-*Chlorella* sp. ED53

Ismail and Hong (2002) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการออกซิเดชันของสาหร่ายทะเล 4 ชนิดคือ Nori (*Porphyra* sp.), Kumbu (*Laminaria* sp.), Wakame (*Undaria* sp.) และ Hijiki (*Hijikia* sp.) นำมาสกัดด้วยน้ำและเอทานอล และทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของ Kumbu มีความสามารถในการยับยั้งสูงที่สุด คือ 63% แต่ Wakame ที่สกัดด้วยเอทานอล แสดงความสามารถในการยับยั้งได้สูงสุดคือ 58% และมีค่า EC_{50}= 0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองการวิเคราะห์ร้อยละของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด คือ *Chlorococcum* sp.C53, *Chlorella* sp.E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และสกัดด้วยเอทานอลพบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ให้ลดลงร้อยละ 50 มีค่าสูงกว่าสารสกัดหยาบจากสารสกัดด้วยน้ำของ Kumbu และสารสกัดด้วยเอทานอลของ Wakame ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp.C53, *Chlorella* sp.E53 และ *Chlorella* sp. ED53 มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH น้ออยกว่าสาหร่ายสายพันธุ์ Kumbu และWakame

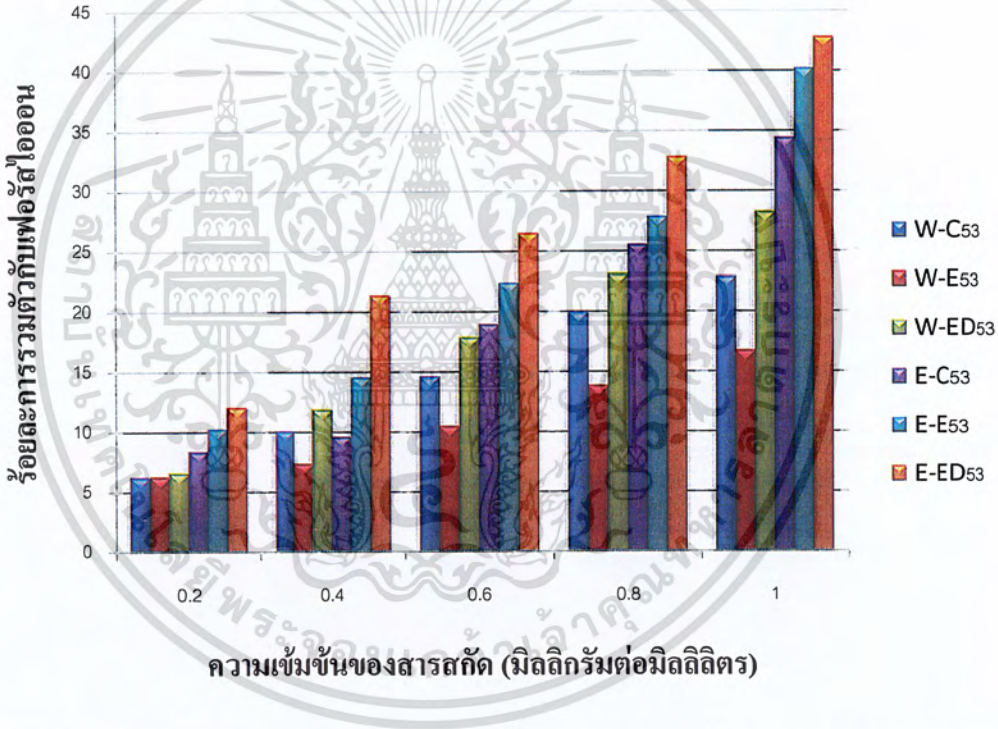
4.5.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion - chelating ability assay)

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนจะเพิ่มขึ้นด้วย เพื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นสูงสุดในการทดสอบ เท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลจะมีค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนสูงกว่าสารสกัดหยาบที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งสาหร่ายที่มีค่าร้อยละความสามารถในการรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออนสูงที่สุด คือ สาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 จะมีค่าสูงที่สุด คือ 42.778 ± 1.48 รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E53 โดยมีค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออน 40.228 ± 0.89 กรัม ซึ่งผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนของสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 และ *Chlorella* sp. E53 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P>0.05$) ส่วน *Chlorococcum* sp. C53 นั้นมีร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนเท่ากับ 34.394 ± 0.84 สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ED53, *Chlorococcum* sp. C53 และ *Chlorella* sp. E53 มีค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งกับเฟอรัสไอออนเป็น 28.232 ± 0.46, 22.886 ± 1.17 และ 16.725 ± 1.21 ตามลำดับ (รูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.7)

จากการทดลองของ Wang และคณะ (2009) พบว่าฤทธ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ด้วยน้ำ โดยควบคุมสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิเท่ากับ 120 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ของสาหร่าย *Laminaria japonica* แล้วทำการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน พบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.76 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของ F1 (fraction ที่ 1) มีร้อยละในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออนเท่ากับ 18.97 ซึ่งมากกว่าสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หยาบจาก สาหร่าย *Chlorococcum* sp. C53 และ *Chlorella* sp. E53 ที่สกัดด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่สาหร่าย *Chlorella* sp. ED53 มีร้อยละการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนที่มากกว่าสาหร่าย *Laminaria japonica* แต่เมื่อทำการสกัดด้วยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเท่ากับ 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 มีร้อยละของการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนมากกว่าสาหร่าย *Laminaria japonica* ที่สกัดด้วยน้ำ



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

W-C53 : Water-*Chlorococcum* sp. C53

W-E53 : Water-*Chlorella* sp. E53

W-ED53 : Water-*Chlorella* sp. ED53

E-C53 : Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53

E-E53 : Ethanol-*Chlorella* sp. E53

E-ED53 : Ethanol-*Chlorella* sp. ED53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ค่าความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอรัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล (% inhibition)

สารสกัด	สาหร่าย	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
น้ำ	*Chlorococcum* sp. C53	$6.205 \pm 0.47^{d\ 1}$	$10.070 \pm 1.01^{c,d}$	14.618 ± 0.82^{d}	19.951 ± 1.38^{d}	22.886 ± 1.17^{d}
	Chlorella sp. E53	6.241 ± 0.11^{d}	7.324 ± 0.78^{e}	10.477 ± 0.80^{e}	13.834 ± 1.07^{e}	16.725 ± 1.21^{e}
	Chlorella sp. ED53	6.554 ± 0.60^{d}	11.872 ± 0.56^{c}	17.858 ± 0.27^{c}	23.119 ± 0.62^{c}	28.232 ± 0.46^{c}
เอทานอล	*Chlorococcum* sp. C53	8.341 ± 0.47^{c}	9.590 ± 0.82^{d}	18.948 ± 1.05^{c}	$25.531 \pm 0.45^{b,c}$	34.394 ± 0.84^{b}
	Chlorella sp. E53	10.251 ± 0.85^{b}	14.560 ± 0.78^{b}	22.399 ± 0.89^{b}	27.878 ± 1.14^{b}	40.228 ± 0.89^{a}
	Chlorella sp. ED53	12.002 ± 0.41^{a}	21.338 ± 0.38^{a}	26.446 ± 0.53^{a}	32.803 ± 2.27^{a}	42.778 ± 1.48^{a}

หมายเหตุ

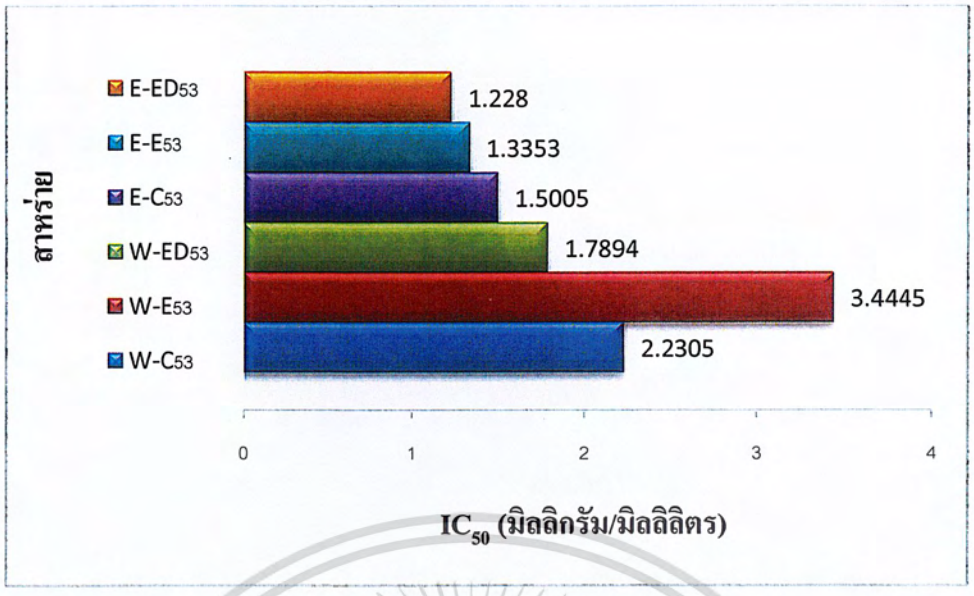
[1] a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

Bermejo และคณะ (2008) ทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนของสาหร่าย *Spirulina platensis* พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนได้ร้อยละ 50 มีค่าเท่ากับ 0.537 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งน้อยกว่าสารสกัดหยาบจาก สาหร่าย *Chlorococcum* sp. C53 และ *Chlorella* sp. E53 และ*Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp.C53, *Chlorella* sp.E53 และ *Chlorella* sp. ED53 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนน้อยกว่าสาหร่าย *Spirulina platensis*

ตารางที่ 4.8 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ Ferrozine ลดลงร้อยละ 50 (IC_{50})

ตัวอย่างสารสกัด	สมการเส้นตรง	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
Water-*Chlorococcum* sp. C53	$y = 21.622x + 1.7727$ (R^2=0.994)	2.2305
Water-*Chlorella* sp. E53	$y = 13.739x + 2.6765$ (R^2=0.978)	3.4445
Water-*Chlorella* sp. ED53	$y = 27.302x + 1.1456$ (R^2=0.999)	1.7894
Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53	$y = 34.024x - 1.0535$ (R^2=0.962)	1.5005
Ethanol-*Chlorella* sp. E53	$y = 36.635x + 1.0818$ (R^2=0.968)	1.3353
Ethanol-*Chlorella* sp. ED53	$y = 36.508x + 5.1686$ (R^2=0.988)	1.2280
สารมาตรฐาน EDTA		0.0028

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

W-C53 : Water-*Chlorococcum* sp. C53
E-C53 : Ethanol-*Chlorococcum* sp. C53
W-E53 : Water-*Chlorella* sp. E53
E-E53 : Ethanol-*Chlorella* sp. E53
W-ED53 : Water-*Chlorella* sp. ED53
E-ED53 : Ethanol-*Chlorella* sp. ED53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายสีเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53 และ *Chlorella* sp.E53 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร N-8 และ *Chlorella* sp.ED53 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BB และสกัดโดยใช้น้ำร้อน และเอทานอล (ร้อยละ 95) พบว่าสารสกัดที่ได้จากน้ำร้อนมีร้อยละของผลได้เป็น 30.94 ± 0. 59, 24.87 ± 1.93 และ 23.48± 0.49 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสารสกัดด้วยเอทานอลมีร้อยละของผลได้เป็น 15.50 ±0.07, 19.02 ± 0.31 และ 13.50 ± 2.10 ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีลักษณะหนืดมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำมีลักษณะเป็นผงแห้ง มีสีอ่อนกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอล

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากเอทานอลจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อน โดยสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella sp.* E53 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดเท่ากับ 35.5 ± 0.14 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม

การศึกษาการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายมีการวิเคราะห์ 3 วิธี ได้แก่ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม พบว่าสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella sp.*E53 ที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมสูงที่สุดเท่ากับ 0.468 ± 0.00 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella sp.*E53 ที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุดเท่ากับ 68.175 ± 0.38 และ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Chlorococcum* sp.C53 ,*Chlorella* sp.E53 และ *Chlorella* sp.ED53 สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 มีค่าเท่ากับ 1.4930 , 1.1989 และ 1.1492 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลเป็นตัวทำละลายของสาหร่าย *Chlorococcum* sp.C53, *Chlorella* sp.E53 และ *Chlorella* sp.ED53 สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 มีค่าเท่ากับ 1.1755, 0.8147 และ 1.0417 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอรัสไอออน พบว่าสารสกัดของสาหร่าย *Chlorella* sp.ED53 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่าร้อยละความสามารถในการรวมตัวกับเฟอรัสไอออนสูงที่สุดเท่ากับ 42.778 ± 1.48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทุกวิธี ควรทำต่อเนื่องอย่างรวดเร็วที่สุด เนื่องจากฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในสารสกัดหยาบของสาหร่ายสามารถเสื่อมสลายได้ง่าย

2. การวิเคราะห์ที่ใช้ไมโครปิเปตเป็นอุปกรณ์การทดลองทุกครั้ง ควรตรวจดูว่าไม่เกิดฟองอากาศ และไม่มีหยดน้ำที่ปลายทิป (Tip) เพราะอาจเป็นสาเหตุให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จักรพงศ์ ไพบูลย์. 2554. สารต้านอนุมูลอิสระ.
[Online].Available : http://www.novabizz.com/Health/Supplement/Antioxidants.html.

ปธีรนันท์ บัวสด. 2549. การตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ของเครื่องดื่มชาโดยใช้วิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศิลปากร.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ.
[Online].Available : http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html. (3/1/2554)

ยุวดี พีพรพิศาล. 2548. สาหร่ายน้ำจืดในภาคเหนือของประเทศไทย. กรุงเทพ : โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย. 362.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. แพลงก์ตอนพืช. ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร. 851.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. วิทยาศาสตร์สาหร่าย (Phycology). กรุงเทพ : โอเดียนสโตร์. 517.

โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุณจง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ : พีเอสพริ้นท์. 190.

Agarwal, S. and Rao, A. V. 2000. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases.Canadian Medical Association. 163: 739-744.

Alam, B.M., Hossain, S.M., Chowdhury, S.N., Mazumder, H.E.M., Haque, E.M. and Islam, A. 2011. Invitro and in vivo antioxidant and toxicity evaluation of different fractions of *Oxalis corniculata* Linn. Academic journal inc. Journol of Phamacology and Toxicology 6.4:337-348

Bermejo, P., Pinero, E., Villar, A. M. 2008. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*.Food Chemistry. 110: 436-445

Bjomeboe, A., Bjomeboe, G. E. and Drevon, C. A. 1990. Absorption, transport and distribution of vitamin E. Journal of Nutrition. 120: 233-42.

Bohm, F., Tinkler, J. H. and Truscott, T. G. 1995. Carotenoids protect against cell membrane damage by the nitrogen dioxide radical. Nature Medicine. 1: 98- 99.

Britton, G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. The FASEB Journal.9: 1551-1558.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Burk, R.F. and Levander, O. A. 1999. Selenium. Modern Nutrition in health and disease ninth. 265-276.

Chowdhury, R., Dutta, A., Chaudhuri, S. R., Sharma, N., Giri, A. K. and Chaudhuri, K. 2008. In Vitro and in vivo reduction of sodium arsenite induced toxicity by aqueous garlic extract. Food and Chemical Toxicology. 46: 740-751.

Curtis, H. and Barnes, N. S. 1994. Invitation of biology. Worth Publishers, New York. 210.

Davies, K. J. A. 1995. Free radical and oxidative stress: environment. Drugs and food addition. London : Portland Press. 24: 54-76

Den, C. 1984. Seaweeds of the British Isles. Natural history museum. 20: 192

Denisov, E. T. and Khudyakov, I. V. 1987. Mechanism of action and reactivities of the free radicals of inhibitors. ABS Publication. 87: 1313-1357.

Frei, B., England, L. and Ames, B. N. 1989. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America. 86: 6377-6381.

Ganesan, K., Kumar K. S. and Rao, S. P. V. 2010. Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 12: 73-78.

Giuliani, A. and Cestaro, B. B. 1997. Exercise, Free Radical Generation and Vitamin. 6: 355-367.

Hagen, C., Braune, W., Birckner, E., and Nuske, J. 1994. Functional aspects of secondary carotenoids in *Haematococcus lacustris*. New phytologist. 125: 625-633

Hajimahmoodi, M., Faramarzi, M. A., Mohammadi, N., Soltani, N., Oveisi, M. R. and Varcheh, N. N. 2010. Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. Journal of Applied Phycology. 22: 43-50

Halliwell, B. 1991. Drug antioxidant effects: A basis for drug selection. Drugs. 42(4): 569-605.

Henson, D. E ., Block, G. and Levine, M.1991 . Ascorbic acid. Biologic functions and relation to cancer. Oxford Journals. 83: 547-550.

Hirvonen, T., Virtamo, I. and Korhonen, P. 2000. Intake of flavonoids, carotenoids, vitamin C and E, and risk of stroke in male smokers. National public health Institute. 31: 2301-2306.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Holick, C. N., Michaud, D. S. and Stolzenberg-Solomon R. 2002. Dietary carotenoids, serum beta carotene, and retinol and risk of lung cancer in the Alpha-Tocopherol. American Journal of Epidemiology. 156: 536-547.

Horrobin, D. F. 1991. Is the main problem in free radical damage caused by radiation, oxygen and other toxins the loss of membrane essential fatty acids rather than the accumulation of toxic materials. Medical hypotheses. 35: 23-26.

Horvath, P. M. and Ip, C. 1983. Synergistic effect of vitamin E and selenium in the chemoprevention of mammary carcinogenesis in rats. American Association Cancer Research. 43: 5335- 41.

Huang, D., Ou, B. and Prior, L. R. 2005. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricaltural and Food Chemisty. 53: 1841-1856.

Ismail, A. and Hong, T. S. 2002. Antioxidant activity of selected commercial seaweeds. Malaysian Journal of Nutrition. 8: 167-177.

Jaime, L., Rodrıguez-Meizoso, I., Cifuentes, A., Santoyo, S., Suarez, S., Ibanez, E. and Francisco, F. J. 2009. Pressurized liquids as an alternative process to antioxidant carotenoids' extraction from *Haematococcus pluvialis* microalgae. Food Science and Technology. 43: 105 -112.

Jeffrey, D., Palmer, Douglas, E., Soltis, W. and Mark, W. 2004. The plant tree of life: an overview and some point of view. American Journal of Botany 91: 1437-1445.

Jimenez-Escrig, A., Jimenez-Jimenez, I., Pulido, R. and Saura-Calixto, F. 2001. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. Journal Science Food Agriculture. 81: 530-534.

Johnson, E. J. 2002. The role of carotenoids in human health. Nutrition clinical Care ; 5 : 56-65.

Knekt, P., Aromaa, A., Maatela, I., Aaran, R. K. and Nikkari, T. 1991. Vitamin E and cancer prevention. American Journal Clinical Nutrition. 53: 283- .86.

Kritchevsky S. B. 1999. Beta-carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. Journal Nutrition. 129:5-8.

Kumar, S. R., Ganesan, R. and Rao, S. P. V. 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty – An edible seaweed. Food Chemistry. 107: 289-295.

Lee, R.E. 1995. Phycology. Cambridge University Press, New York. 645.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Margalith, P. Z. 1999. Production of ketocarotenoids by microalgae. Applied Microbiol. Biotechnol. 51: 431-438.

Mark. S. M. and Alger. 1997. Polymer science dictionary. Springer. 152: 1- 631

Matsukawa, R., Dubinsky, Z., Kishimoto, E., Masaki, K., Musuda, Y., Takeuchi, T., Chihara, M., Yamamoto, Y., Niki, E., and Karube, I. 1997. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. Journal Apply Phycology. 9: 29-35.

Miki, W. 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. Pure and Apply Chemistry. 63: 141-146.

Mortensen, A. and Skibsted, L. H. 1997. Importance of carotenoid structure in radical scavenging reactions. Journal Agriculture Food Chemistry. 45: 2970—2977.

Murray, W. 2004. Introduction to Botany. San Francisco, CA: Pearson education. 626.

Nahas, R., Abatis, D., Anagnostopoulou, M. A., Kefalas, P., Vagias, C. and Roussis, V. 2006. Radical-scavenging activity of aegean sea marine alage. Journal Food Chemistry. 102(3): 577-581.

Pan, Y., Zhu, J., Wang, H., Zhang, X. and Zhang, Y. 2006. Antioxidant activity of ethanolic extract of *Cortex fraxini* and use in peanut oil. Food Chemistry. 103: 913-918.

Prieto, P. Pineda, M. and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity thought the formation of a phosphomolydenum complex : specific applicationtothe determination of vitamin E. Analytical Biochemistry. 269: 337-341.

Seeram, N.P., Adam, L.S., Hening, S. M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair M.G. and Heber, D. 2005. In vitro antiproliferative, apoptptic and antioxidant activity of punicalagin, ellagic acid and total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. Journal Nutrition Biochemistry. 16: 360-367

Senevirathne, M., Kim, S. H., Siriwardhana, N., Ha, J. H., Lee, K. W. and Jeon, Y. J. 2006. Antioxidant potential of *Ecklonia cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. Journal Food Science Technology. 12(1): 27-38.

Shanab, S. M. M. 2007. Antioxidant and antibiotic activities of some seaweeds (Egyptian Isolates). International journal Agriculture Biology. 9(2): 220-225.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shinya, S., Yu, N., Terumi, N., Kazue, T., Keisuke, M., Hiroshi, S. and Chuyen , N. 2002. Antioxidant and anti-cataract effects of *Chlorella* on rats with streptozotocin-induced diabetes. Japan. Journal Nutrition Science Vitaminal. 49: 334-339

Smith, G.M. 1950. The fresh-water algae of the United States. McGraw-Hill Book Company, New York. 679.

Susan, D. and Van, A. 1998. Vitamin A in kirk-othmer encyclopedia of chemical technology. New York : John Wiley. 99–107.

Thomas, D. 2002. Seaweeds. The Natural History Museum, London. 564.

Wang, J., Zhang, Q., Zhang Z. and Li, Z. 2009. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. Chinese Academy of Sciences. 42(2): 127-132

[Online].Available : http://botany.natur.cuni.cz/algo/CAUP/H1998_Chlorella_vulgaris.html (10/5/2554)

[Online].Available : http://www.butbn.cas.cz/ccala/index.php?page=sr&cb1=Chlorococcales (10/5/2554)

[Online].Available : http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/bb.html (10/5/2554)

[Online].Available : http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/BG11.html (10/5/2554)

[Online].Available : http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/N8.html (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/Beta-Carotene (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Astaxanthin.svg (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/File:DPPHreact.png (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/File:L-Ascorbic_acid.svg (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Luteine_-_Lutein.svg (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Lycopene.svg (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Thymol2.svg (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Tocopherol,_alpha-.svg (10/5/2554)

[Online].Available : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Zeaxanthin2.svg (10/5/2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย

อาหารสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวสามารถใช้ได้ทั้งอาหารสูตร BG-11 สูตร N-8 และสูตร BBโดยมีองค์ประกอบของสารเคมีต่างๆดังนี้

ก-1 อาหารสูตร BG-11

(http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/BG11.html)

$NaNO_3$	1.5	กรัม
K_2HPO_4	0.04	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.075	กรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.036	กรัม
Citric acid	0.006	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.006	กรัม
EDTA (disodium salt)	0.001	กรัม
$NaCO_3$	0.02	กรัม
Trace metal mix A5	1.0	มิลลิลิตร
วุ้น	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

หลังจากกระบวนการนึ่งฆ่าเชื้อและทำให้เย็นลง ปรับพีเอชให้มีค่าเป็น 7.1

Trace metal mix A5:

H_3BO_3	2.86	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.81	กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.222	กรัม
$NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	0.39	กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.079	กรัม
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	49.4	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-2 อาหารสูตร N-8 (http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/N8.html)

$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	260.0	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	740.0	มิลลิกรัม
$CaCl_2$	10.0	มิลลิกรัม
Fe EDTA	10.0	มิลลิกรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	50.0	มิลลิกรัม
KNO_3	1000.0	มิลลิกรัม
Trace element mixture	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

หลังจากกระบวนการนึ่งฆ่าเชื้อและทำให้เย็นลง ปรับพีเอชให้มีค่าเป็น 6.8

Trace element mixture

$AL(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$	3.58	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	12.98	กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1.83	กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	3.20	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ก-3 อาหารสูตร BB (http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/bb.html)

$NaNO_3$ (5.0 g/200 ml)	10.0	มิลลิลิตร
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (1.5 g/200 ml)	10.0	มิลลิลิตร
NaCl (0.5 g/200 ml)	10.0	มิลลิลิตร
K_2HPO_4 (1.5 g/200 ml)	10.0	มิลลิลิตร
KH_2PO_4 (3.5 g/200 ml)	10.0	มิลลิลิตร
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0.5 g/200 ml)	10.0	มิลลิลิตร
H_3BO_3 (1.14 g/100 ml)	1.0	มิลลิลิตร
Trace elements solution	1.0	มิลลิลิตร
EDTA stock	1.0	มิลลิลิตร
Fe solution	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วุ้น	15	กรัม

Trace elements solution:

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.82	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.44	กรัม
MoO_3	0.71	กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1.57	กรัม
$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	0.49	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

EDTA stock:

$EDTANa_2$	5.0	กรัม
KOH	3.1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

Fe solution:

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	4.98	กรัม
conc H_2SO_4	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ก-4 วิธีการเตรียมอาหาร

ชั่งสารเคมีตามอัตราส่วนที่กำหนด ละลายด้วยน้ำกลั่นสะอาดปรับปริมาตรให้ได้ตามความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่สภาวะอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย

ข-1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

1. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 20

ชั่งสาร Na_2CO_3 ในรูปผงแห้งมา 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)

ข-2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total antioxidant capacity)

1. สารละลายผสม (Mix solution)

ต้องการเตรียมสารละลายผสมปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขวดเดียวกัน เนื่องจากเป็นสารละลายผสม) สามารถทำได้โดย

1.1 สารละลายกรดซัลฟิวลิก 0.06 โมลาร์ จากกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 96

สิ่งที่ทราบ H_2SO_4 มีมวลโมเลกุล 98 กรัมต่อโมลและความหนาแน่น 1.84 กรัมต่อมิลลิลิตร

จากสูตร เปลี่ยนความเข้มข้นจากร้อยละโดยมวลเป็นโมลาร์ ได้ว่า

$$mol/dm^3 = \frac{\%*10*density}{MW\ \ of\ \ solute}$$

$$mol/dm^3 = \frac{96*10*1.84}{98}$$

ดังนั้น กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 96 มีความเข้มข้นเป็น 18.0245 โมลาร์

ต้องการเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.06 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คำนวณได้จาก

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(18.0245)V = (0.06)(1{,}000)$$

ดังนั้น V = 1.665 มิลลิลิตร

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.06 โมลาร์ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จะต้องใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 96 ปริมาตร 1.665 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรตเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ จากผงแห้ง

สิ่งที่ทราบ $NaH_2PO_4.H_2O$ มีมวลโมเลกุล 138 กรัมต่อโมล

สาร 1 โมลาร์จะต้องใช้ $NaH_2PO_4.H_2O$ ผงแห้ง 138 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ถ้าต้องการสารเข้มข้น 26 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $26\times10^{-3}\times138$ กรัม เท่ากับ 3.864 กรัม ถ้าต้องการเตรียมสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรตเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรตจำนวน 3.864 กรัมละลายน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

1.3 สารละลายแอมโมเนียมโมลิปเดตเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ จากผงแห้ง

สิ่งที่ทราบ $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ มีมวลโมเลกุล 1,235.86 กรัมต่อโมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ ผงแห้ง 1,235.86 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ถ้าต้องการสารเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $4\times10^{-3}\times1,235.86$ กรัม เท่ากับ 4.9434 กรัม ถ้าต้องการเตรียมสารละลายแอมโมเนียมโมลิปเดตเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของแอมโมเนียมโมลิปเดตจำนวน 4.9434 กรัม ละลายน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

ข-3 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีสารที่ต้องใช้ทำปฏิกิริยาดังนี้

1. สารละลาย DPPH ในเอทานอล ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์

สิ่งที่ทราบ $C_{18}H_{12}N_5O_6$ (DPPH) มีมวลโมเลกุล 395 กรัมต่อโมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ผงแห้ง 395 กรัม ละลายในเอทานอล 1,000 มิลลิลิตรถ้าต้องการสารเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $0.5\times10^{-3}\times395$ กรัม เท่ากับ 0.1975 กรัม ถ้าต้องการเตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของ DPPH จำนวน 0.1975 กรัม ละลายเอทานอลและปรับปริมาตรด้วยเอทานอลเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

หมายเหตุ ในการเตรียมสาร DPPH จะทำการเตรียมครั้งละ 100 มิลลิลิตร เนื่องจากว่าสาร DPPH ไม่สามารถเก็บไว้ได้หลายวัน เมื่อเตรียมแล้วจำเป็นที่จะต้องใช้เลยและควรเก็บให้พ้นแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากละลาย DPPH ด้วยเอทานอล ให้นำสารละลายไปกวนโดยใช้แท่งกวนแม่เหล็ก (Magnetic stirrer) เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองโดยใช้ตัวกรองมิลลิพอร์ (Millipore) และใช้เมมเบรนที่มีขนาดของรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

ข-4 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออน

การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออนมีสารที่ต้องใช้ทำปฏิกิริยาดังนี้

1. สารละลายเฟอร์รัสคลอไรด์ ($FeCl_2$) เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

สิ่งที่ทราบ $FeCl_2$ มีมวลโมเลกุล 199 กรัมต่อโมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ $FeCl_2$ ผงแห้ง 199 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตรถ้าต้องการสารเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $5\times10^{-3}\times199$ กรัมเท่ากับ 0.995 กรัม ถ้าต้องการเตรียมสารละลายเฟอร์รัสคลอไรด์เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของเฟอร์รัสคลอไรด์จำนวน 0.995 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

2. สารละลายเฟอร์โรซีน (Ferrozine) เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

สิ่งที่ทราบ เฟอร์โรซีน มีมวลโมเลกุล 492.46 กรัมต่อโมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ เฟอร์โรซีนผงแห้ง 492.46 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตรถ้าต้องการสารเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $5\times10^{-3}\times492.46$ กรัมเท่ากับ 2.465 กรัมถ้าต้องการเตรียมสารละลายเฟอร์โรซีนเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของเฟอร์โรซีนจำนวน 2.465 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางผลการวิจัย

ตารางที่ ค-1 ผลได้ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

สาหร่าย	สารสกัด	ชุดการทดลอง	ผลได้การสกัด (กรัม)				ผลได้การสกัด (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)	ค่าเฉลี่ยผลได้การสกัดของแต่ละชุดการทดลอง (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	รวม		
Chlorococcum sp. C53	น้ำ	1	2.0328	0.6954	0.3238	3.0520	30.520	30.94 ± 0.59
		2	2.0451	0.7045	0.3863	3.1359	31.359	
	เอทานอล	1	0.8436	0.5011	0.1996	1.5443	15.443	15.50 ± 0.07
		2	0.8301	0.4493	0.2746	1.5540	15.540	
Chlorella sp. E53	น้ำ	1	1.4667	0.8264	0.3301	2.6232	26.232	24.87 ± 1.93
		2	1.2633	0.7498	0.3374	2.3505	23.505	
	เอทานอล	1	1.2561	0.4487	0.2191	1.9239	19.239	19.02 ± 0.31
		2	1.1666	0.4371	0.2758	1.8795	18.795	
Chlorella sp. ED53	น้ำ	1	1.4055	0.6508	0.2570	2.3133	23.133	23.48 ± 0.48
		2	1.0219	0.9376	0.4223	2.3818	23.818	
	เอทานอล	1	0.7981	0.4487	0.2523	1.4991	14.991	13.50 ± 2.10
		2	0.7423	0.2740	0.1854	1.2017	12.017	

ตารางที่ ค-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

สาหร่าย	สารสกัด	ชุดการทดลอง	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร						เปอร์เซ็นต์กรดแกลลิก						ค่าเฉลี่ยของชุดการทดลอง
			1	2	3	4	5	ค่าเฉลี่ย	1	2	3	4	5	ค่าเฉลี่ย	
Chlorococcum sp. C53	น้ำ	1	0.016	0.017	0.015	0.017	0.015	0.0160	7.60	8.60	6.60	8.60	6.60	7.60	7.00 ± 0.85
		2	0.015	0.014	0.015	0.014	0.016	0.0148	6.60	5.60	6.60	5.60	7.60	6.40	
	เอทานอล	1	0.033	0.030	0.034	0.031	0.030	0.0316	24.6	21.6	25.6	22.6	21.6	23.2	23.6 ± 0.57
		2	0.029	0.035	0.034	0.032	0.032	0.0324	20.6	26.6	25.6	23.6	23.6	24.0	
Chlorella sp. E53	น้ำ	1	0.019	0.021	0.022	0.017	0.019	0.0196	10.6	12.6	13.6	8.60	10.6	11.2	11.3 ± 0.14
		2	0.021	0.021	0.017	0.022	0.018	0.0198	12.6	12.6	8.60	13.6	9.60	11.4	
	เอทานอล	1	0.044	0.042	0.045	0.042	0.046	0.0438	35.6	33.6	36.6	33.6	37.6	35.4	35.5 ± 0.14
		2	0.045	0.047	0.047	0.040	0.041	0.0440	36.6	38.6	38.6	31.6	32.6	35.6	
Chlorella sp. ED53	น้ำ	1	0.020	0.018	0.020	0.019	0.018	0.0190	11.6	9.60	11.6	10.6	9.60	10.6	10.6 ± 0.00
		2	0.020	0.021	0.021	0.016	0.017	0.0190	11.6	12.6	12.6	7.60	8.60	10.6	
	เอทานอล	1	0.040	0.033	0.034	0.038	0.038	0.0366	31.6	24.6	25.6	29.6	29.6	28.2	29.1 ± 1.27
		2	0.038	0.040	0.039	0.036	0.039	0.0384	29.6	31.6	30.6	27.6	30.6	30.0	

ตารางที่ ค-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำ

สาหร่าย	เวลา (นาที)	ชุดการทดลอง	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร					ค่าเฉลี่ยของชุดการทดลอง
			1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย	
Chlorococcum sp. C53	0	1	0.025	0.024	0.021	0.021	0.023	0.022 ± 0.00
		2	0.020	0.021	0.020	0.023	0.021	
	30	1	0.032	0.035	0.047	0.048	0.041	0.043 ± 0.00
		2	0.040	0.039	0.039	0.061	0.045	
	60	1	0.069	0.055	0.049	0.064	0.059	0.061 ± 0.00
		2	0.062	0.063	0.065	0.059	0.062	
	90	1	0.105	0.088	0.073	0.080	0.087	0.081 ± 0.01
		2	0.045	0.086	0.079	0.083	0.074	
	120	1	0.107	0.096	0.010	0.096	0.077	0.086 ± 0.01
		2	0.106	0.107	0.091	0.075	0.095	
	150	1	0.138	0.088	0.093	0.107	0.107	0.108 ± 0.00
		2	0.111	0.120	0.089	0.112	0.108	
Chlorella sp. E53	0	1	0.017	0.014	0.015	0.014	0.015	0.015 ± 0.00
		2	0.019	0.014	0.014	0.010	0.014	
	30	1	0.024	0.025	0.026	0.026	0.025	0.026 ± 0.00
		2	0.030	0.025	0.020	0.028	0.026	
	60	1	0.044	0.035	0.053	0.049	0.045	0.047 ± 0.00
		2	0.061	0.043	0.047	0.046	0.049	
	90	1	0.054	0.067	0.058	0.064	0.061	0.063 ± 0.00
		2	0.054	0.046	0.076	0.082	0.065	
	120	1	0.092	0.077	0.063	0.087	0.080	0.080 ± 0.00
		2	0.072	0.079	0.085	0.085	0.080	
	150	1	0.090	0.100	0.102	0.105	0.099	0.096 ± 0.00
		2	0.085	0.097	0.095	0.090	0.092	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 (ต่อ)

Chlorella sp. ED53	0	1	0.014	0.014	0.013	0.013	0.014	0.014 ± 0.00
		2	0.013	0.012	0.014	0.015	0.014	
	30	1	0.045	0.025	0.024	0.025	0.030	0.025 ± 0.01
		2	0.011	0.022	0.022	0.024	0.020	
	60	1	0.043	0.048	0.045	0.048	0.046	0.046 ± 0.00
		2	0.055	0.040	0.040	0.050	0.046	
	90	1	0.040	0.041	0.050	0.057	0.047	0.048 ± 0.00
		2	0.035	0.043	0.061	0.056	0.049	
	120	1	0.054	0.045	0.062	0.054	0.054	0.054 ± 0.00
		2	0.042	0.052	0.055	0.061	0.053	
	150	1	0.071	0.072	0.070	0.087	0.075	0.074 ± 0.00
		2	0.055	0.063	0.095	0.075	0.072	

ตารางที่ ค-4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย สีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอล

สาหร่าย	เวลา (นาที)	ชุดการทดลอง	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร					ค่าเฉลี่ยของชุดการทดลอง
			1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย	
Chlorococcum sp. C53	0	1	0.015	0.015	0.012	0.012	0.014	0.017 ± 0.00
		2	0.019	0.020	0.021	0.021	0.020	
	30	1	0.110	0.117	0.111	0.104	0.111	0.113 ± 0.00
		2	0.120	0.134	0.097	0.110	0.115	
	60	1	0.180	0.185	0.185	0.194	0.186	0.200 ± 0.02
		2	0.206	0.208	0.208	0.232	0.214	
	90	1	0.194	0.196	0.178	0.199	0.192	0.198 ± 0.01
		2	0.150	0.203	0.214	0.143	0.203	
	120	1	0.291	0.280	0.276	0.247	0.274	0.275 ± 0.00
		2	0.263	0.262	0.278	0.296	0.275	
	150	1	0.355	0.369	0.385	0.360	0.367	0.366 ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-4 (ต่อ)

		2	0.344	0.358	0.368	0.390	0.365	
Chlorella sp. E53	0	1	0.027	0.028	0.027	0.027	0.027	0.028 ± 0.00
		2	0.028	0.028	0.027	0.028	0.028	
	30	1	0.161	0.168	0.165	0.165	0.165	0.162 ± 0.00
		2	0.158	0.165	0.141	0.171	0.159	
	60	1	0.236	0.225	0.211	0.231	0.226	0.225 ± 0.00
		2	0.202	0.190	0.256	0.245	0.223	
	90	1	0.260	0.265	0.284	0.296	0.276	0.276 ± 0.00
		2	0.282	.288	0.265	0.265	0.275	
	120	1	0.407	0.385	0.405	0.418	0.404	0.386 ± 0.03
		2	0.404	0.369	0.347	0.352	0.368	
	150	1	0.494	0.457	0.458	0.476	0.471	0.468 ± 0.00
		2	0.497	0.512	0.414	0.433	0.464	
Chlorella sp. ED53	0	1	0.024	0.022	0.020	0.023	0.022	0.023 ± 0.00
		2	0.023	0.022	0.024	0.024	0.023	
	30	1	0.125	0.129	0.115	0.128	0.124	0.117 ± 0.01
		2	0.118	0.107	0.107	0.103	0.109	
	60	1	0.190	0.185	0.193	0.213	0.195	0.199 ± 0.00
		2	0.160	0.220	0.217	0.210	0.202	
	90	1	0.246	0.270	0.242	0.263	0.255	0.250 ± 0.01
		2	0.246	0.242	0.263	0.230	0.245	
	120	1	0.340	0.327	0.356	0.359	0.346	0.345 ± 0.00
		2	0.343	0.361	.314	0.353	0.343	
	150	1	0.469	0.423	0.421	0.485	0.450	0.437 ± 0.02
		2	0.440	0.441	0.410	0.406	0.424	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-5 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้กับร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำ (% Scavenging activity on DPPH radical)

สาหร่าย	ความเข้มข้น (mg/ml)	ชุดการทดลองที่	จำนวนซ้ำ	A_0	A_b	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ					
						A			ค่าเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์ของ A			เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของ A	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้น
Chlorococcum sp. C53	0.4	1	1	3.953	0.271	2.645	2.65	2.743	2.6793	39.94435	39.81786	37.46522	39.07581	38.498	37.385 ± 1.57
			2	3.953	0.275	2.715	2.73	2.742	2.7290	38.27473	37.89527	37.59170	37.92057		
		2	1	3.953	0.274	2.820	2.822	2.717	2.7863	35.59322	35.54263	38.19884	36.44489	36.272	
			2	3.953	0.276	2.780	2.843	2.783	2.8020	36.65570	35.06198	36.57981	36.09917		
	0.6	1	1	3.953	0.314	2.654	2.663	2.738	2.6850	40.80445	40.57678	38.67948	40.02024	39.325	39.163 ± 0.23
			2	3.953	0.355	2.837	2.729	2.777	2.7810	37.21224	39.94435	38.73008	38.62889		
		2	1	3.953	0.345	2.681	2.779	2.781	2.7470	40.90564	38.42651	38.37592	39.23602	39.000	
			2	3.953	0.351	2.761	2.816	2.738	2.7717	39.03365	37.64230	39.61548	38.76381		
	0.8	1	1	3.953	0.489	2.783	2.777	2.781	2.7803	41.96813	42.11991	42.01872	42.03558	42.179	41.996 ± 0.26
			2	3.953	0.495	2.781	2.764	2.780	2.7750	42.17050	42.60056	42.19580	42.32229		
		2	1	3.953	0.473	2.773	2.779	2.774	2.7753	41.81634	41.66456	41.79104	41.75732	41.812	
			2	3.953	0.455	2.748	2.774	2.737	2.7530	41.99342	41.33569	42.27169	41.86694		

ตารางที่ ค-5 (ต่อ)

Chlorococcum sp. C53	1.0	1	1	3.953	0.504	2.700	2.703	2.793	2.7320	44.44726	44.37136	42.09461	43.63774	43.187	43.881 ± 0.98
			2	3.953	0.495	2.752	2.776	2.748	2.7587	42.90412	42.29699	43.00531	42.73548		
		2	1	3.953	0.524	2.75	2.737	2.677	2.7213	43.68834	44.01720	45.53504	44.41353	44.574	
			2	3.953	0.485	2.648	2.725	2.636	2.6697	45.28206	43.33418	45.58563	44.73396		
	1.2	1	1	3.953	0.526	2.706	2.667	2.703	2.6920	44.85201	45.8386	44.9279	45.20617	45.573	45.221 ± 0.50
			2	3.953	0.544	2.736	2.600	2.707	2.6810	44.54844	47.98887	45.28206	45.93979		
		2	1	3.953	0.573	2.748	2.726	2.759	2.7443	44.97850	45.53504	44.70023	45.07125	44.869	
			2	3.953	0.566	2.742	2.752	2.766	2.7533	44.95320	44.70023	44.34607	44.66650		
	1.4	1	1	3.953	0.631	2.680	2.639	2.645	2.6547	48.16595	49.20314	49.05135	48.80681	48.828	50.028 ± 1.70
			2	3.953	0.606	2.626	2.624	2.634	2.6280	48.89957	48.95016	48.69719	48.84898		
		2	1	3.953	0.531	2.439	2.446	2.499	2.4613	51.73286	51.55578	50.21503	51.16789	51.227	
			2	3.953	0.545	2.459	2.443	2.510	2.4707	51.58108	51.98583	50.29092	51.28594		
Chlorella sp. E53	0.4	1	1	3.953	0.106	2.562	2.595	2.558	2.5717	37.86997	37.03516	37.97116	37.62543	37.343	37.801 ± 0.65
			2	3.953	0.105	2.592	2.561	2.626	2.5930	37.08576	37.86997	36.22565	37.06046		
		2	1	3.953	0.186	2.621	2.648	2.649	2.6393	38.40121	37.71819	37.69289	37.93743	38.258	
			2	3.953	0.193	2.638	2.570	2.655	2.6210	38.14824	39.86845	37.71819	38.57829		

ตารางที่ ค-5 (ต่อ)

Chlorella sp. E53	0.6	1	1	3.953	0.119	2.473	2.412	2.454	2.4463	40.45029	41.99342	40.93094	41.12488	39.708	39.902 ± 0.27
			2	3.953	0.161	2.619	2.608	2.574	2.6003	37.81938	38.09765	38.95775	38.29159		
		2	1	3.953	0.275	2.572	2.604	2.676	2.6173	41.89223	41.08272	39.26132	40.74543	40.096	
			2	3.953	0.291	2.675	2.704	2.675	2.6847	39.69137	38.95775	39.69137	39.44683		
	0.8	1	1	3.953	0.156	2.469	2.518	2.485	2.4907	41.48748	40.24791	41.08272	40.93937	41.593	43.516 ± 2.72
			2	3.953	0.161	2.430	2.488	2.414	2.4440	42.60056	41.13332	43.00531	42.2464		
		2	1	3.953	0.325	2.470	2.476	2.473	2.4730	45.73741	45.58563	45.66152	45.66152	45.438	
			2	3.953	0.325	2.477	2.518	2.477	2.4907	45.56033	44.52315	45.56033	45.21460		
	1.0	1	1	3.953	0.375	2.468	2.492	2.469	2.4763	47.05287	46.44574	47.02757	46.84206	45.952	45.748 ± 0.29
			2	3.953	0.345	2.503	2.527	2.520	2.5167	45.40855	44.80142	44.97850	45.06282		
		2	1	3.953	0.455	2.582	2.592	2.631	2.6017	46.19276	45.93979	44.95320	45.69525	45.543	
			2	3.953	0.44	2.602	2.572	2.622	2.5987	45.30736	46.06628	44.80142	45.39169		
	1.2	1	1	3.953	0.28	2.323	2.342	2.321	2.3287	48.31773	47.83709	48.36833	48.17438	48.221	49.368 ± 1.62
			2	3.953	0.287	2.307	2.355	2.334	2.3320	48.89957	47.68530	48.21654	48.26714		
		2	1	3.953	0.464	2.410	2.435	2.409	2.4180	50.77157	50.13913	50.79686	50.56919	50.514	
			2	3.953	0.459	2.430	2.437	2.385	2.4173	50.13913	49.96205	51.27751	50.45957		
	1.4	1	1	3.953	0.358	2.134	2.153	2.193	2.160	55.07210	54.59145	53.57956	54.41437	55.013	54.469 ± 0.77
			2	3.953	0.364	2.126	2.107	2.123	2.1187	55.42626	55.90691	55.50215	55.61177		

ตารางที่ ค-5 (ต่อ)

		2	1	3.953	0.545	2.3482	2.366	2.323	2.3457	54.38401	53.93372	55.02150	54.44641	53.924	
			2	3.953	0.532	2.371	2.353	2.398	2.3740	53.47837	53.93372	52.79535	53.40248		
Chlorella sp. ED53	0.4	1	1	3.953	0.102	2.510	2.622	2.610	2.5807	39.08424	36.25095	36.55452	37.29657	37.558	37.799 ± 0.34
			2	3.953	0.100	2.568	2.515	2.591	2.5580	37.56641	38.90716	36.98457	37.81938		
		2	1	3.953	0.158	2.587	2.551	2.636	2.5913	38.5530	39.46370	37.31343	38.44338	38.039	
			2	3.953	0.154	2.667	2.597	2.594	2.6193	36.42803	38.19884	38.27473	37.63386		
	0.6	1	1	3.953	0.353	2.633	2.581	2.648	2.6207	42.32229	43.63774	41.94283	42.63429	42.723	41.509 ± 1.72
			2	3.953	0.361	2.594	2.65	2.621	2.6217	43.51126	42.09461	42.82823	42.81137		
		2	1	3.953	0.227	2.532	2.556	2.618	2.5687	41.68986	41.08272	39.51429	40.76229	40.294	
			2	3.953	0.223	2.595	2.614	2.596	2.6017	39.99494	39.51429	39.96964	39.82629		
	0.8	1	1	3.953	0.433	2.598	2.610	2.623	2.6103	45.23147	44.92790	44.59904	44.91947	44.949	44.076 ± 1.23
			2	3.953	0.447	2.623	2.654	2.589	2.6220	44.95320	44.16899	45.81331	44.97850		
		2	1	3.953	0.313	2.604	2.556	2.491	2.5503	42.04402	43.25828	44.90261	43.40164	43.203	
			2	3.953	0.296	2.508	2.571	2.568	2.5490	44.04250	42.44877	42.52466	43.00531		
	1.0	1	1	3.953	0.467	2.597	2.569	2.513	2.5597	46.11687	46.82520	48.24184	47.06130	47.276	47.226 ± 0.07
			2	3.953	0.460	2.437	2.597	2.573	2.5357	49.98735	45.93979	46.54693	47.49136		
		2	1	3.953	0.448	2.529	2.559	2.546	2.5447	47.35644	46.59752	46.92639	46.96011	47.175	
			2	3.953	0.434	2.452	2.538	2.551	2.5137	48.95016	46.77460	46.44574	47.39017		

ตารางที่ ค-5 (ต่อ)

Chlorella sp. ED53	1.2	1	1	3.953	0.655	2.572	2.562	2.531	2.5550	51.50519	51.75816	52.54237	51.93524	51.948	50.333 ± 2.28
			2	3.953	0.671	2.585	2.596	2.529	2.5700	51.58108	51.30281	52.99772	51.96054		
		2	1	3.953	0.471	2.446	2.517	2.499	2.4873	50.03795	48.24184	48.69719	48.99233	48.718	
			2	3.953	0.466	2.509	2.509	2.494	2.5040	48.31773	48.31773	48.69719	48.44422		
	1.4	1	1	3.953	0.678	2.402	2.453	2.437	2.4307	56.38755	55.09739	55.50215	55.66237	55.494	54.689 ± 1.14
			2	3.953	0.691	2.431	2.487	2.453	2.4570	55.98280	54.56615	55.42626	55.32507		
		2	1	3.953	0.566	2.374	2.379	2.377	2.3767	54.26259	54.13610	54.18669	54.19513	53.883	
			2	3.953	0.540	2.375	2.375	2.376	2.3753	53.57956	53.57956	53.55426	53.57113		

ตารางที่ ค-6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้กับร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอล (% Scavenging activity on DPPH radical)

สาหร่าย	ความเข้มข้น (mg/ml)	ชุดการทดลองที่	จำนวนซ้ำ	A_0	A_b	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ					
						A			ค่าเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์ของ A			เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของ A	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้น
Chlorococcum sp. C53	0.4	1	1	3.493	0.199	2.459	2.514	2.484	2.4857	35.29917	33.72459	34.58345	34.53574	33.663	33.665 ± 0.00
			2	3.493	0.173	2.534	2.538	2.490	2.5207	32.40767	32.29316	33.66733	32.78939		
		2	1	3.493	0.175	2.502	2.461	2.485	2.4827	33.38105	34.55482	33.86774	33.93454	33.667	
			2	3.493	0.176	2.503	2.540	2.464	2.5023	33.38105	32.32179	34.49757	33.40013		
	0.6	1	1	3.493	0.259	2.361	2.439	2.354	2.3847	39.82250	37.58946	40.0229	39.14496	38.687	39.031 ± 0.49
			2	3.493	0.259	2.407	2.448	2.395	2.4167	38.50558	37.33181	38.84913	38.22884		
		2	1	3.493	0.270	2.392	2.387	2.407	2.3953	39.24993	39.39307	38.82050	39.15450	39.374	
			2	3.493	0.267	2.396	2.415	2.320	2.3770	39.04953	38.50558	41.22531	39.59347		
	0.8	1	1	3.493	0.349	2.420	2.391	2.378	2.3963	40.70999	41.54022	41.9124	41.38754	41.001	41.770 ± 1.09
			2	3.493	0.352	2.516	2.390	2.373	2.4263	38.04752	41.65474	42.14143	40.61456		
		2	1	3.493	0.354	2.371	2.337	2.371	2.3597	42.25594	43.22932	42.25594	42.58040	42.528	
			2	3.493	0.356	2.383	2.347	2.366	2.3653	41.96965	43.00029	42.45634	42.47543		

ตารางที่ ค-6 (ต่อ)

Chlorococcum sp. C53	1.0	1	1	3.493	0.436	2.299	2.298	2.303	2.3000	46.66476	46.69339	46.55024	46.63613	46.240	46.765 ± 0.74
			2	3.493	0.432	2.328	2.327	2.316	2.3237	45.72001	45.74864	46.06356	45.84407		
		2	1	3.493	0.438	2.321	2.264	2.271	2.2853	46.09218	47.72402	47.52362	47.11327	47.290	
			2	3.493	0.441	2.298	2.244	2.286	2.2760	46.83653	48.38248	47.18007	47.46636		
	1.2	1	1	3.493	0.523	2.283	2.313	2.299	2.2983	49.61351	48.75465	49.15545	49.17454	49.838	49.934 ± 0.14
			2	3.493	0.528	2.248	2.277	2.246	2.2570	50.75866	49.92843	50.81592	50.50100		
		2	1	3.493	0.542	2.294	2.276	2.260	2.2767	49.84254	50.35786	50.81592	50.33877	50.029	
			2	3.493	0.539	2.296	2.273	2.317	2.2953	49.69940	50.35786	49.09820	49.71848		
	1.4	1	1	3.493	0.663	2.240	2.212	2.261	2.2377	54.85256	55.65417	54.25136	54.91936	54.270	54.886 ±0.87
			2	3.493	0.626	2.270	2.235	2.233	2.2460	52.93444	53.93644	53.9937	53.62153		
		2	1	3.493	0.607	2.172	2.159	2.170	2.1670	55.19611	55.56828	55.25336	55.33925	55.501	
			2	3.493	0.627	2.152	2.217	2.158	2.1757	56.34125	54.48039	56.16948	55.66371		
Chlorella sp. E53	0.4	1	1	3.493	0.324	2.471	2.501	2.455	2.4757	38.53421	37.67535	38.99227	38.40061	38.362	37.578 ± 1.11
			2	3.493	0.317	2.484	2.456	2.474	2.4713	37.96164	38.76324	38.24792	38.32427		
		2	1	3.493	0.244	2.451	2.479	2.472	2.4673	36.81649	36.01489	36.21529	36.34889	36.793	
			2	3.493	0.241	2.448	2.402	2.45	2.4333	36.81649	38.13341	36.75923	37.23638		

ตารางที่ ค-6 (ต่อ)

Chlorella sp. E53	0.6	1	1	3.493	0.494	2.352	2.375	2.407	2.3780	46.8079	46.14944	45.23332	46.06356	46.135	45.792 ± 0.49
			2	3.493	0.491	2.394	2.371	2.345	2.3700	45.51961	46.17807	46.92242	46.20670		
		2	1	3.493	0.380	2.182	2.399	2.324	2.3017	48.41111	42.19868	44.34583	44.98521	45.448	
			2	3.493	0.398	2.284	2.284	2.294	2.3740	46.00630	46.00630	45.72001	45.91087		
	0.8	1	1	3.493	0.629	2.374	2.361	2.355	2.3633	50.04294	50.41512	50.58689	50.34832	50.258	48.371 ± 2.67
			2	3.493	0.620	2.355	2.377	2.350	2.3607	50.32923	49.69940	50.47237	50.16700		
		2	1	3.493	0.499	2.389	2.351	2.370	2.3700	45.89178	46.97967	46.43573	46.43573	46.483	
			2	3.493	0.489	2.383	2.36	2.327	2.3567	45.77727	46.43573	47.38048	46.53116		
	1.0	1	1	3.493	0.807	2.400	2.283	2.297	2.3267	54.39450	57.74406	57.34326	56.49394	57.052	55.156 ± 2.68
			2	3.493	0.809	2.296	2.285	2.288	2.2897	57.42914	57.74406	57.65817	57.61046		
		2	1	3.493	0.588	2.221	2.222	2.228	2.2237	53.24936	53.22073	53.04896	53.17301	53.259	
			2	3.493	0.587	2.228	2.202	2.220	2.2167	53.02033	53.76467	53.24936	53.34478		
	1.2	1	1	3.493	0.930	2.306	2.319	2.304	2.3097	60.60693	60.23476	60.66419	60.50196	59.858	59.639 ± 0.31
			2	3.493	0.934	2.400	2.273	2.403	2.3587	58.03035	61.66619	57.94446	59.21367		
		2	1	3.493	0.752	2.178	2.143	2.172	2.1643	59.17549	60.1775	59.34727	59.56675	59.419	
			2	3.493	0.744	2.183	2.146	2.171	2.1667	58.80332	59.86258	59.14687	59.27092		
	1.4	1	1	3.493	1.047	2.149	2.105	2.116	2.1233	68.45119	69.71085	69.39593	69.18599	68.442	68.175 ± 0.38
			2	3.493	1.049	2.161	2.189	2.182	2.1773	68.16490	67.36330	67.5637	67.69730		

ตารางที่ ค-6 (ต่อ)

		2	1	3.493	0.959	2.115	2.096	2.068	2.0930	66.90524	67.44918	68.25079	67.53507	67.907	
			2	3.493	0.954	2.050	2.079	2.057	2.0620	68.62296	67.79273	68.42256	68.27942		
Chlorella sp. ED53	0.4	1	1	3.493	0.241	2.447	2.483	2.455	2.4617	36.84512	35.81449	36.61609	36.42523	35.752	35.523 ± 0.32
			2	3.493	0.232	2.513	2.488	2.498	2.4997	34.69797	35.41368	35.1274	35.07968		
		2	1	3.493	0.255	2.559	2.542	2.443	2.5147	34.03951	34.52620	37.36044	35.30871	35.294	
			2	3.493	0.256	2.545	2.492	2.513	2.5167	34.46894	35.98626	35.38506	35.28008		
	0.6	1	1	3.493	0.354	2.431	2.455	2.471	2.4523	40.53822	39.85113	39.39307	39.92747	39.813	40.240 ± 0.60
			2	3.493	0.358	2.477	2.457	2.459	2.4643	39.33581	39.90839	39.85113	39.69844		
		2	1	3.493	0.379	2.459	2.438	2.491	2.4627	40.45233	41.05354	39.53622	40.34736	40.667	
			2	3.493	0.384	2.462	2.428	2.446	2.4453	40.50959	41.48297	40.96765	40.98674		
	0.8	1	1	3.493	0.486	2.433	2.371	2.391	2.3983	44.25995	46.03493	45.46235	45.25241	45.019	44.680 ± 0.48
			2	3.493	0.483	2.364	2.426	2.445	2.4117	46.14944	44.37446	43.83052	44.78481		
		2	1	3.493	0.494	2.443	2.445	2.431	2.4397	44.20269	44.14543	44.54624	44.29812	44.341	
			2	3.493	0.494	2.434	2.455	2.421	2.4367	44.46035	43.85915	44.83252	44.38401		
	1.0	1	1	3.493	0.606	2.351	2.320	2.397	2.3560	50.04294	50.93043	48.72602	49.8998	49.213	48.445 ± 1.09
			2	3.493	0.568	2.380	2.328	2.390	2.3660	48.12482	49.61351	47.83853	48.52562		
		2	1	3.493	0.562	2.375	2.368	2.401	2.3813	48.09619	48.29659	47.35185	47.91488	47.676	
			2	3.493	0.557	2.365	2.428	2.386	2.3930	48.23934	46.43573	47.63813	47.43773		

ตารางที่ ค-6 (ต่อ)

	1.2	1	1	3.493	0.704	2.355	2.344	2.334	2.3443	52.73404	53.04896	53.33524	53.03941	53.025	52.842 ± 0.26
			2	3.493	0.704	2.338	2.334	2.364	2.3453	53.22073	53.33524	52.47638	53.01078		
		2	1	3.493	0.741	2.405	2.392	2.387	2.3947	52.36187	52.73404	52.87718	52.65770	52.658	
			2	3.493	0.743	2.407	2.401	2.382	2.3967	52.36187	52.53364	53.07758	52.65770		
	1.4	1	1	3.493	0.846	2.266	2.326	2.279	2.2903	59.34727	57.62954	58.97509	58.65063	58.746	58.975 ± 0.32
			2	3.493	0.846	2.283	2.286	2.282	2.2837	58.86058	58.77469	58.88921	58.84149		
		2	1	3.493	0.869	2.311	2.285	2.294	2.2967	58.71743	59.46178	59.20412	59.12778	59.214	
			2	3.493	0.869	2.272	2.307	2.293	2.2907	59.83395	58.83195	59.23275	59.29955		

หมายเหตุ A_o คือ A_{517} ของ DPPH ที่ไม่เติมตัวอย่างสารสกัด

A คือ A_{517} ของตัวอย่างสารสกัดผสมกับ DPPH

A_b คือ A_{517} ของตัวอย่างสารสกัดที่ไม่เติม DPPH

เปอร์เซ็นต์ของ A คือ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

ตารางที่ ค-7 ค่าความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำ (% inhibition)

สาหร่าย	ความเข้มข้น (mg/ml)	ชุดการทดลองที่	A_0	A_2	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร				เปอร์เซ็นต์การแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออน				
					A_1			ค่าเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์ของ A_1			เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้น
Chlorococcum sp. C53	0.2	1	1.147	0.030	1.114	1.099	1.116	1.1097	5.492589	6.800349	5.318221	5.870	6.205 ± 0.47
		2	1.147	0.035	1.095	1.114	1.112	1.1000	7.585004	5.928509	6.102877	6.539	
	0.4	1	1.147	0.051	1.070	1.109	1.093	1.0907	11.15955	7.759372	9.154316	9.358	10.070 ± 1.01
		2	1.147	0.063	1.105	1.068	1.086	1.0863	9.154316	12.38012	10.81081	10.782	
	0.6	1	1.147	0.073	1.059	1.041	1.077	1.0590	14.03662	15.60593	12.46731	14.037	14.618 ± 0.82
		2	1.147	0.089	1.078	1.062	1.045	1.0617	13.77507	15.17001	16.65214	15.199	
	0.8	1	1.147	0.091	1.021	1.002	1.038	1.0203	18.91892	20.57541	17.43679	18.977	19.951 ± 1.38
		2	1.147	0.113	1.019	1.002	1.039	1.0200	21.01133	22.49346	19.26765	20.924	
	1.0	1	1.147	0.108	1.003	0.984	1.019	1.0020	21.97036	23.62685	20.57541	22.058	22.886 ± 1.17

ตารางที่ ค-7 (ต่อ)

		2	1.147	0.121	0.996	1.013	0.979	0.9960	23.71404	22.23191	25.19616	23.714	
Chlorella sp. E53	0.2	1	1.147	0.028	1.106	1.104	1.103	1.1043	6.015693	6.190061	6.277245	6.161	6.241 ± 0.11
		2	1.147	0.038	1.112	1.111	1.116	1.1130	6.408021	6.495205	6.059285	6.321	
	0.4	1	1.147	0.046	1.112	1.11	1.124	1.1153	7.061901	7.236269	6.015693	6.771	7.324 ± 0.78
		2	1.147	0.055	1.116	1.103	1.116	1.1117	7.49782	8.631212	7.49782	7.876	
	0.6	1	1.147	0.071	1.086	1.123	1.104	1.1043	11.50828	8.282476	9.938971	9.910	10.477 ± 0.80
		2	1.147	0.082	1.098	1.103	1.106	1.1023	11.42110	10.98518	10.72363	11.043	
	0.8	1	1.147	0.099	1.096	1.078	1.114	1.0960	13.07759	14.6469	11.50828	13.078	13.834 ± 1.07
		2	1.147	0.114	1.096	1.111	1.074	1.0937	14.38535	13.07759	16.3034	14.589	
	1.0	1	1.147	0.119	1.081	1.109	1.062	1.0840	16.12903	13.68788	17.78553	15.867	16.725 ± 1.21
		2	1.147	0.131	1.076	1.094	1.059	1.0763	17.61116	16.04185	19.09329	17.582	

ตารางที่ ค-7 (ต่อ)

Chlorella sp. ED53	0.2	1	1.147	0.042	1.120	1.14	1.096	1.1187	6.015693	4.272014	8.108108	6.132	6.554 ± 0.60
		2	1.147	0.041	1.089	1.126	1.109	1.1080	8.631212	5.405405	6.887533	6.975	
	0.4	1	1.147	0.067	1.082	1.064	1.101	1.0823	11.50828	13.07759	9.851787	11.479	11.872 ± 0.56
		2	1.147	0.070	1.059	1.076	1.094	1.0763	13.77507	12.29294	10.72363	12.264	
	0.6	1	1.147	0.096	1.041	1.023	1.057	1.0403	17.61116	19.18047	16.21622	17.669	17.858 ± 0.27
		2	1.147	0.100	1.059	1.040	1.021	1.0400	16.39058	18.04708	19.70357	18.047	
	0.8	1	1.147	0.123	1.005	0.988	1.023	1.0053	23.10375	24.58588	21.53444	23.075	23.119 ± 0.62
		2	1.147	0.125	0.989	1.024	1.006	1.0063	24.67306	21.62162	23.19093	23.162	
	1.0	1	1.147	0.144	0.989	0.953	0.971	0.9710	26.33827	29.47690	27.90759	27.908	28.232 ± 0.46
		2	1.147	0.144	0.980	0.947	0.964	0.9637	27.13165	30.00872	28.52659	28.556	

ตารางที่ ค-8 ค่าความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอล (% inhibition)

สาหร่าย	ความเข้มข้น (mg/ml)	ชุดการทดลองที่	A_0	A_2	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร				เปอร์เซ็นต์การแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออน				
					A_1			ค่าเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์ของ A_1			เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้น
Chlorococcum sp. C53	0.2	1	1.147	0.027	1.043	1.101	1.081	1.0750	11.46469	6.408021	8.15170	8.675	8.341 ± 0.47
		2	1.147	0.033	1.085	1.086	1.095	1.0887	8.326068	8.238884	7.454228	8.006	
	0.4	1	1.147	0.053	1.044	1.095	1.111	1.0833	13.60070	9.154316	7.759372	10.171	9.590 ± 0.82
		2	1.147	0.056	1.093	1.108	1.098	1.0997	9.590235	8.282476	9.154316	9.009	
	0.6	1	1.147	0.089	1.016	1.025	1.042	1.0277	19.22406	18.43941	16.95728	18.207	18.948 ± 1.05
		2	1.147	0.097	1.018	0.994	1.044	1.0187	19.74717	21.83958	17.48038	19.689	
	0.8	1	1.147	0.121	0.980	0.972	0.986	0.9793	25.15257	25.85004	24.62947	25.211	25.531 ± 0.45
		2	1.147	0.121	0.946	0.993	0.977	0.9720	28.11683	24.01918	25.41412	25.850	
	1.0	1	1.147	0.155	0.927	0.895	0.921	0.9143	32.69398	35.48387	33.21709	33.798	34.394 ± 0.84

ตารางที่ ค-8 (ต่อ)

		2	1.147	0.163	0.909	0.928	0.889	0.9087	34.96077	33.30427	36.70445	34.990	
Chlorella sp. E53	0.2	1	1.147	0.059	1.066	1.107	1.073	1.0820	12.24935	8.674804	11.63906	10.854	10.251 ± 0.85
		2	1.147	0.050	1.102	1.107	1.050	1.0863	8.282476	7.846556	12.81604	9.648	
	0.4	1	1.147	0.097	1.073	1.087	1.09	1.0833	14.90846	13.68788	13.42633	14.008	14.560 ± 0.78
		2	1.147	0.089	1.062	1.047	1.079	1.0627	15.17001	16.47777	13.68788	15.112	
	0.6	1	1.147	0.114	1.001	0.995	0.996	0.9973	22.71142	23.23452	23.14734	23.031	22.399 ± 0.89
		2	1.147	0.114	1.010	0.993	1.031	1.0113	21.88317	23.3653	20.05231	21.767	
	0.8	1	1.147	0.134	0.982	0.948	0.983	0.9710	26.1116	29.07585	26.02441	27.071	27.878 ± 1.14
		2	1.147	0.128	0.909	0.997	0.932	0.9460	31.90933	24.23714	29.9041	28.684	
	1.0	1	1.147	0.168	0.863	0.874	0.847	0.8613	39.45074	38.49172	40.84568	39.596	40.228 ± 0.89
		2	1.147	0.150	0.832	0.837	0.816	0.8283	40.54054	40.10462	41.93548	40.860	

ตารางที่ ค-8 (ต่อ)

Chlorella sp. ED53	0.2	1	1.147	0.053	1.066	1.031	1.091	1.0627	11.68265	14.73409	9.503051	11.973	12.002 ± 0.41
		2	1.147	0.048	1.064	1.041	1.066	1.0570	11.4211	13.42633	11.24673	12.031	
	0.4	1	1.147	0.082	1.000	0.980	0.982	0.9873	19.96513	21.70881	21.53444	21.069	21.338 ± 0.38
		2	1.147	0.077	0.964	0.983	0.983	0.9767	22.71142	21.05493	21.05493	21.607	
	0.6	1	1.147	0.124	0.961	0.975	0.954	0.9633	27.02703	25.80645	27.63731	26.824	26.446 ± 0.53
		2	1.147	0.118	0.968	0.975	0.955	0.9660	25.89364	25.28335	27.02703	26.068	
	0.8	1	1.147	0.156	0.955	0.946	0.936	0.9457	30.38361	31.16827	32.04010	31.197	32.803 ± 2.27
		2	1.147	0.158	0.918	0.893	0.920	0.9103	33.74019	35.91979	33.56582	34.409	
	1.0	1	1.147	0.201	0.869	0.858	0.881	0.8693	41.76112	42.72014	40.71491	41.732	42.778 ± 1.48
		2	1.147	0.212	0.858	0.841	0.870	0.8563	43.67916	45.16129	42.63296	43.824	

หมายเหตุ A_0 คือ ค่าดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

A_1 คือ ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน EDTA-Na_2

A_2 คือ ค่าดูดกลืนแสงของ blank

เปอร์เซ็นต์ของ A_1 คือ เปอร์เซ็นต์การแย่งจับกับเฟอรัสไอออน

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติ

ง-1ผลได้ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

ง-1 ผลได้ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล ในสัดส่วนของสาหร่าย 10 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการสกัดแบบเขย่า

ตารางที่ ง-1.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของผลได้ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	30.9395	.59326	.41950	25.6092	36.2698	30.52	31.36
W-E53	2	24.8685	1.92828	1.36350	7.5436	42.1934	23.51	26.23
W-ED53	2	23.4755	.48437	.34250	19.1236	27.8274	23.13	23.82
E-C53	2	15.4915	.06859	.04850	14.8752	16.1078	15.44	15.54
E-E53	2	19.0170	.31396	.22200	16.1962	21.8378	18.80	19.24
E-ED53	2	13.5040	2.10294	1.48700	-5.3901	32.3981	12.02	14.99
Total	12	21.2160	6.24483	1.80273	17.2482	25.1838	12.02	31.36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-1.2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนผลได้ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	420.146	5	84.029	57.095	.000
Within Groups	8.830	6	1.472		
Total	428.976	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-1.3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ผลได้ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
	2	13.5040			
E-C53	2	15.4915			
E-E53	2		19.0170		
W-ED53	2			23.4755	
W-E53	2			24.8685	
W-C53	2				30.9395
Sig.		.152	1.000	.295	1.000

ง-2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล ในสัดส่วนของสาหร่าย 10 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ในสภาวะการสกัดแบบเขย่า โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

ตารางที่ ง-2.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	7.0000	.84853	.60000	-.6237	14.6237	6.40	7.60
W-E53	2	11.3000	.14142	.10000	10.0294	12.5706	11.20	11.40
W-ED53	2	10.6000	.00000	.00000	10.6000	10.6000	10.60	10.60
E-C53	2	23.6000	.56569	.40000	18.5175	28.6825	23.20	24.00
E-E53	2	35.5000	.14142	.10000	34.2294	36.7706	35.40	35.60
E-ED53	2	29.1000	1.27279	.90000	17.6644	40.5356	28.20	30.00
Total	12	19.5167	11.02904	3.18381	12.5091	26.5242	6.40	35.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2.2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1335.337	5	267.067	593.483	.000
Within Groups	2.700	6	.450		
Total	1338.037	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2.3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
W-C53	2	7.0000				
W-ED53	2		10.6000			
W-E53	2		11.3000			
E-C53	2			23.6000		
E-ED53	2				29.1000	
E-E52	2					35.5000
Sig.		1.000	.337	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร

ง-3.1 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 0 นาที

ตารางที่ ง-3.1.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 0 นาที

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	.0805	.00919	.00650	-.0021	.1631	.07	.09
W-E53	2	.0630	.00283	.00200	.0376	.0884	.06	.07
W-ED53	2	.0480	.00141	.00100	.0353	.0607	.05	.05
E-C53	2	.1975	.00778	.00550	.1276	.2674	.19	.20
E-E53	2	.2755	.00071	.00050	.2691	.2819	.28	.28
E-ED53	2	.2500	.00707	.00500	.1865	.3135	.25	.26
Total	12	.1524	.09618	.02776	.0913	.2135	.05	.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.1.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 0 นาที

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	15.936	.002
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.000	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.1.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 0 นาที

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
W-ED53	2	.0140		
W-E53	2	.0145		
E-C53	2	.0170		
W-C53	2		.0220	
E-ED53	2		.0225	
E-E53	2			.0275
Sig.		.173	.760	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-3.2 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 30 นาที

ตารางที่ ง-3.2.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 30 นาที

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	.0430	.00283	.00200	.0176	.0684	.04	.05
W-E53	2	.0255	.00071	.00050	.0191	.0319	.03	.03
W-ED53	2	.0250	.00707	.00500	-.0385	.0885	.02	.03
E-C53	2	.1130	.00283	.00200	.0876	.1384	.11	.12
E-E53	2	.1620	.00424	.00300	.1239	.2001	.16	.17
E-ED53	2	.1165	.01061	.00750	.0212	.2118	.11	.12
Total	12	.0808	.05494	.01586	.0459	.1157	.02	.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.2.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 30 นาที

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.033	5	.007	201.080	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.033	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.2.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 30 นาที

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
W-ED53	2	.0250			
W-E53	2	.0255			
W-C53	2		.0430		
E-C53	2			.1130	
E-ED53	2			.1165	
E-E53	2				.1620
Sig.		.933	1.000	.564	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-3.3 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 60 นาที

ตารางที่ ง-3.3.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 60 นาที

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	.0605	.00212	.00150	.0414	.0796	.06	.06
W-E53	2	.0470	.00283	.00200	.0216	.0724	.05	.05
W-ED53	2	.0460	.00000	.00000	.0460	.0460	.05	.05
E-C53	2	.2000	.01980	.01400	.0221	.3779	.19	.21
E-E53	2	.2245	.00212	.00150	.2054	.2436	.22	.23
E-ED53	2	.1985	.00495	.00350	.1540	.2430	.20	.20
Total	12	.1294	.08259	.02384	.0769	.1819	.05	.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.3.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 60 นาที

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.075	5	.015	206.481	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.075	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.3.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 60 นาที

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
W-ED53	2	.0460		
W-E53	2	.0470		
W-C53	2	.0605		
E-ED53	2		.1985	
E-C53	2		.2000	
E-E53	2			.2245
Sig.		.150	.866	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-3.4 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 90 นาที

ตารางที่ ง-3.4.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 90 นาที

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	.0805	.00919	.00650	-.0021	.1631	.07	.09
W-E53	2	.0630	.00283	.00200	.0376	.0884	.06	.07
W-ED53	2	.0480	.00141	.00100	.0353	.0607	.05	.05
E-C53	2	.1975	.00778	.00550	.1276	.2674	.19	.20
E-E53	2	.2755	.00071	.00050	.2691	.2819	.28	.28
E-ED53	2	.2500	.00707	.00500	.1865	.3135	.25	.26
Total	12	.1524	.09618	.02776	.0913	.2135	.05	.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.4.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลที่เวลา 90 นาที

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.102	5	.020	592.989	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.102	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.4.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 90 นาที

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
W-ED53	2	.0480					
W-E53	2		.0630				
W-C53	2			.0805			
E-C53	2				.1975		
E-ED53	2					.2500	
E-E53	2						.2755
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-3.5 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 120 นาที

ตารางที่ ง-3.5.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 120 นาที

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	.0860	.01273	.00900	-.0284	.2004	.08	.10
W-E53	2	.0800	.00000	.00000	.0800	.0800	.08	.08
W-ED53	2	.0535	.00071	.00050	.0471	.0599	.05	.05
E-C53	2	.2745	.00071	.00050	.2681	.2809	.27	.28
E-E53	2	.3860	.02546	.01800	.1573	.6147	.37	.40
E-ED53	2	.3445	.00212	.00150	.3254	.3636	.34	.35
Total	12	.2041	.14155	.04086	.1141	.2940	.05	.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.5.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 120 นาที

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.220	5	.044	323.094	.000
Within Groups	.001	6	.000		
Total	.220	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.5.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 120 นาที

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
W-ED53	2	.0535				
W-E53	2	.0800	.0800			
W-C53	2		.0860			
E-C53	2			.2745		
E-ED53	2				.3445	
E-E53	2					.3860
Sig.		.063	.625	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-3.6 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 150 นาที

ตารางที่ ง-3.6.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 150 นาที

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	.1075	.00071	.00050	.1011	.1139	.11	.11
W-E53	2	.0955	.00495	.00350	.0510	.1400	.09	.10
W-ED53	2	.0735	.00212	.00150	.0544	.0926	.07	.08
E-C53	2	.3660	.00141	.00100	.3533	.3787	.37	.37
E-E53	2	.4675	.00495	.00350	.4230	.5120	.46	.47
E-ED53	2	.4370	.01838	.01300	.2718	.6022	.42	.45
Total	12	.2578	.17627	.05088	.1458	.3698	.07	.47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.6.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 150 นาที

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.341	5	.068	1039.747	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.342	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3.6.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่เวลา 150 นาที

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
W-ED53	2	.0735				
W-E53	2		.0955			
W-C53	2		.1075			
E-C53	2			.3660		
E-ED53	2				.4370	
E-E53	2					.4675
Sig.		1.000	.189	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ง-4.1 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-4.1.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	37.3850	1.57402	1.11300	23.2430	51.5270	36.27	38.50
W-E53	2	37.8005	.64700	.45750	31.9874	43.6136	37.34	38.26
W-ED53	2	37.7985	.34012	.24050	34.7427	40.8543	37.56	38.04
E-C53	2	33.6650	.00283	.00200	33.6396	33.6904	33.66	33.67
E-E53	2	37.5775	1.10945	.78450	27.6095	47.5455	36.79	38.36
E-ED53	2	35.5230	.32385	.22900	32.6133	38.4327	35.29	35.75
Total	12	36.6249	1.72646	.49838	35.5280	37.7219	33.66	38.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.1.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.440	5	5.688	7.850	.013
Within Groups	4.348	6	.725		
Total	32.787	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.1.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E-C53	2	33.6650		
E-ED53	2	35.5230	35.5230	
W-C53	2		37.3850	37.3850
E-E53	2		37.5775	37.5775
W-ED53	2			37.7985
W-E53	2			37.8005
Sig.		.072	.059	.655

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-4.2 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-4.2.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	39.1625	.22981	.16250	37.0977	41.2273	39.00	39.33
W-E53	2	39.9020	.27436	.19400	37.4370	42.3670	39.71	40.10
W-ED53	2	41.5085	1.71756	1.21450	26.0768	56.9402	40.29	42.72
E-C53	2	39.0305	.48578	.34350	34.6659	43.3951	38.69	39.37
E-E53	2	45.7915	.48578	.34350	41.4269	50.1561	45.45	46.14
E-ED53	2	40.2400	.60387	.42700	34.8145	45.6655	39.81	40.67
Total	12	40.9392	2.49329	.71975	39.3550	42.5233	38.69	46.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.2.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64.467	5	12.893	19.761	.001
Within Groups	3.915	6	.652		
Total	68.381	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.2.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E-C53	2	39.0305		
W-C53	2	39.1625		
W-E53	2	39.9020	39.9020	
E-ED53	2	40.2400	40.2400	
W-ED53	2		41.5085	
E-E53	2			45.7915
Sig.		.203	.103	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-4.3 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-4.3.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	41.9955	.25951	.18350	39.6639	44.3271	41.81	42.18
W-E53	2	43.5155	2.71883	1.92250	19.0878	67.9432	41.59	45.44
W-ED53	2	44.0760	1.23461	.87300	32.9835	55.1685	43.20	44.95
E-C53	2	41.7645	1.07975	.76350	32.0633	51.4657	41.00	42.53
E-E53	2	48.3705	2.66933	1.88750	24.3875	72.3535	46.48	50.26
E-ED53	2	44.6800	.47942	.33900	40.3726	48.9874	44.34	45.02
Total	12	44.0670	2.61273	.75423	42.4069	45.7271	41.00	50.26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.3.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57.585	5	11.517	3.948	.062
Within Groups	17.505	6	2.917		
Total	75.090	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.3.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
E-C53	2	41.7645	
W-C53	2	41.9955	
W-E53	2	43.5155	
W-ED53	2	44.0760	44.0760
E-ED53	2	44.6800	44.6800
E-E52	2		48.3705
Sig.		.156	.051

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-4.4 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-4.4.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	43.8805	.98076	.69350	35.0687	52.6923	43.19	44.57
W-E53	2	45.7475	.28921	.20450	43.1491	48.3459	45.54	45.95
W-ED53	2	47.2255	.07142	.05050	46.5838	47.8672	47.18	47.28
E-C53	2	46.7650	.74246	.52500	40.0942	53.4358	46.24	47.29
E-E53	2	55.1555	2.68206	1.89650	31.0582	79.2528	53.26	57.05
E-ED53	2	48.4445	1.08682	.76850	38.6798	58.2092	47.68	49.21
Total	12	47.8698	3.82466	1.10409	45.4397	50.2998	43.19	57.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.4.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	150.932	5	30.186	18.155	.001
Within Groups	9.976	6	1.663		
Total	160.909	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.4.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
W-C53	2	43.8805		
W-E53	2	45.7475	45.7475	
E-C53	2	46.7650	46.7650	
W-ED53	2		47.2255	
E-ED53	2		48.4445	
E-E53	2			55.1555
Sig.		.074	.094	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-4.5 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-4.5.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	45.2210	.49780	.35200	40.7484	49.6936	44.87	45.57
W-E53	2	49.3675	1.62140	1.14650	34.7998	63.9352	48.22	50.51
W-ED53	2	50.3330	2.28395	1.61500	29.8125	70.8535	48.72	51.95
E-C53	2	49.9335	.13506	.09550	48.7201	51.1469	49.84	50.03
E-E53	2	59.6385	.31042	.21950	56.8495	62.4275	59.42	59.86
E-ED53	2	52.8415	.25951	.18350	50.5099	55.1731	52.66	53.03
Total	12	51.2225	4.66124	1.34559	48.2609	54.1841	44.87	59.86

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.5.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	230.724	5	46.145	33.458	.000
Within Groups	8.275	6	1.379		
Total	238.999	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.5.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
W-C53	2	45.2210			
W-E53	2		49.3675		
E-C53	2		49.9335	49.9335	
W-ED53	2		50.3330	50.3330	
E-ED53	2			52.8415	
E-E53	2				59.6385
Sig.		1.000	.456	.054	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-4.6 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-4.6.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	50.0275	1.69635	1.19950	34.7864	65.2686	48.83	51.23
W-E53	2	54.4685	.77004	.54450	47.5500	61.3870	53.92	55.01
W-ED53	2	54.6885	1.13915	.80550	44.4537	64.9233	53.88	55.49
E-C53	2	54.8855	.87045	.61550	47.0648	62.7062	54.27	55.50
E-E53	2	68.1745	.37830	.26750	64.7756	71.5734	67.91	68.44
E-ED53	2	58.9800	.33093	.23400	56.0067	61.9533	58.75	59.21
Total	12	56.8708	5.97597	1.72511	53.0738	60.6677	48.83	68.44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.6.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	387.056	5	77.411	80.378	.000
Within Groups	5.779	6	.963		
Total	392.835	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4.6.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
W-C53	2	50.0275			
W-E53	2		54.4685		
W-ED53	2		54.6885		
E-C53	2		54.8855		
E-ED53	2			58.9800	
E-E52	2				68.1745
Sig.		1.000	.695	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการหาความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออน

ความสามารถในการหาความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorococcum* sp. C53, *Chlorella* sp. E53 และ *Chlorella* sp. ED53 ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร

ง-5.1 ความสามารถในการหาความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-5.1.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	6.2045	.47305	.33450	1.9543	10.4547	5.87	6.54
W-E53	2	6.2410	.11314	.08000	5.2245	7.2575	6.16	6.32
W-ED53	2	6.5535	.59609	.42150	1.1978	11.9092	6.13	6.98
E-C53	2	8.3405	.47305	.33450	4.0903	12.5907	8.01	8.68
E-E53	2	10.2510	.85277	.60300	2.5892	17.9128	9.65	10.85
E-ED53	2	12.0020	.04101	.02900	11.6335	12.3705	11.97	12.03
Total	12	8.2654	2.33389	.67374	6.7825	9.7483	5.87	12.03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.1.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	58.373	5	11.675	45.350	.000
Within Groups	1.545	6	.257		
Total	59.918	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.1.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
W-C53	2	6.2045			
W-E53	2	6.2410			
W-ED53	2	6.5535			
E-C53	2		8.3405		
E-E53	2			10.2510	
E-ED53	2				12.0020
Sig.		.530	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-5.2 ความสามารถในการหาความสามารถในการการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-5.2.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	10.0700	1.00692	.71200	1.0232	19.1168	9.36	10.78
W-E53	2	7.3235	.78135	.55250	.3033	14.3437	6.77	7.88
W-ED53	2	11.8715	.55508	.39250	6.8843	16.8587	11.48	12.26
E-C53	2	9.5900	.82166	.58100	2.2077	16.9723	9.01	10.17
E-E53	2	14.5600	.78065	.55200	7.5462	21.5738	14.01	15.11
E-ED53	2	21.3380	.38042	.26900	17.9200	24.7560	21.07	21.61
Total	12	12.4588	4.77853	1.37944	9.4227	15.4950	6.77	21.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.2.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	247.816	5	49.563	88.459	.000
Within Groups	3.362	6	.560		
Total	251.177	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.2.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
W-E53	2	7.3235				
E-C53	2		9.5900			
W-C53	2		10.0700	10.0700		
W-ED53	2			11.8715		
E-E53	2				14.5600	
E-ED53	2					21.3380
Sig.		1.000	.545	.053	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-5.3 ความสามารถในการหาความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-5.3.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	14.6180	.82166	.58100	7.2357	22.0003	14.04	15.20
W-E53	2	10.4765	.80115	.56650	3.2784	17.6746	9.91	11.04
W-ED53	2	17.8580	.26729	.18900	15.4565	20.2595	17.67	18.05
E-C53	2	18.9480	1.04793	.74100	9.5327	28.3633	18.21	19.69
E-E53	2	22.3990	.89378	.63200	14.3687	30.4293	21.77	23.03
E-ED53	2	26.4460	.53457	.37800	21.6431	31.2489	26.07	26.82
Total	12	18.4576	5.39655	1.55785	15.0288	21.8864	9.91	26.82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.3.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	316.779	5	63.356	106.445	.000
Within Groups	3.571	6	.595		
Total	320.351	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.3.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
W-E53	2	10.4765				
W-C53	2		14.6180			
W-ED53	2			17.8580		
E-C53	2			18.9480		
E-E53	2				22.3990	
E-ED53	2					26.4460
Sig.		1.000	1.000	.207	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-5.4 ความสามารถในการหาความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-5.4.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	19.9505	1.37674	.97350	7.5810	32.3200	18.98	20.92
W-E53	2	13.8335	1.06844	.75550	4.2340	23.4330	13.08	14.59
W-ED53	2	23.1185	.06152	.04350	22.5658	23.6712	23.08	23.16
E-C53	2	25.5305	.45184	.31950	21.4709	29.5901	25.21	25.85
E-E53	2	27.8775	1.14056	.80650	17.6299	38.1251	27.07	28.68
E-ED53	2	32.8030	2.27123	1.60600	12.3968	53.2092	31.20	34.41
Total	12	23.8522	6.32635	1.82626	19.8327	27.8718	13.08	34.41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.4.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	430.545	5	86.109	53.240	.000
Within Groups	9.704	6	1.617		
Total	440.249	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.4.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
W-E53	2	13.8335				
W-C53	2		19.9505			
W-ED53	2			23.1185		
E-C53	2			25.5305	25.5305	
E-E53	2				27.8775	
E-ED53	2					32.8030
Sig.		1.000	1.000	.107	.115	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง-5.5 ความสามารถในการหาความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ง-5.5.1 ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความคลาดเคลื่อนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W-C53	2	22.8860	1.17097	.82800	12.3653	33.4067	22.06	23.71
W-E53	2	16.7245	1.21269	.85750	5.8289	27.6201	15.87	17.58
W-ED53	2	28.2320	.45821	.32400	24.1152	32.3488	27.91	28.56
E-C53	2	34.3940	.84287	.59600	26.8211	41.9669	33.80	34.99
E-E53	2	40.2280	.89378	.63200	32.1977	48.2583	39.60	40.86
E-ED53	2	42.7780	1.47927	1.04600	29.4873	56.0687	41.73	43.82
Total	12	30.8738	9.68564	2.79600	24.7198	37.0277	15.87	43.82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.5.2 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1025.179	5	205.036	182.274	.000
Within Groups	6.749	6	1.125		
Total	1031.928	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5.5.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ของความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอรร์รัสไอออน ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan[a]

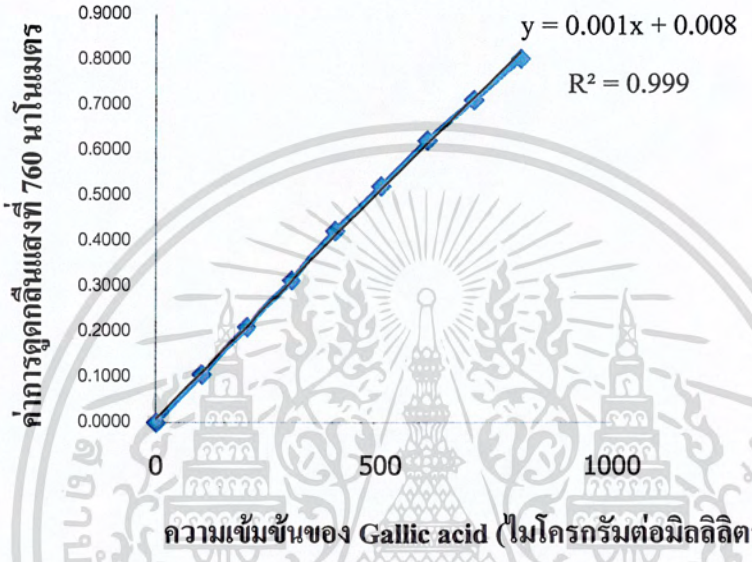
Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
W-E53	2	16.7245				
W-C53	2		22.8860			
W-ED53	2			28.2320		
E-C53	2				34.3940	
E-E53	2					40.2280
E-ED53	2					42.7780
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.053

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

กราฟมาตรฐาน

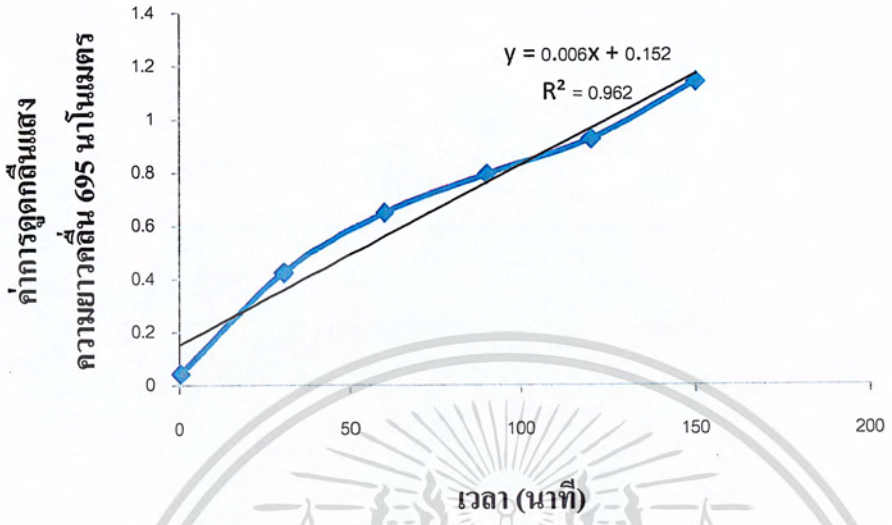
จ-1 กราฟมาตรฐานของการหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด



รูปที่ จ-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของกรดแกลลิก โดยแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

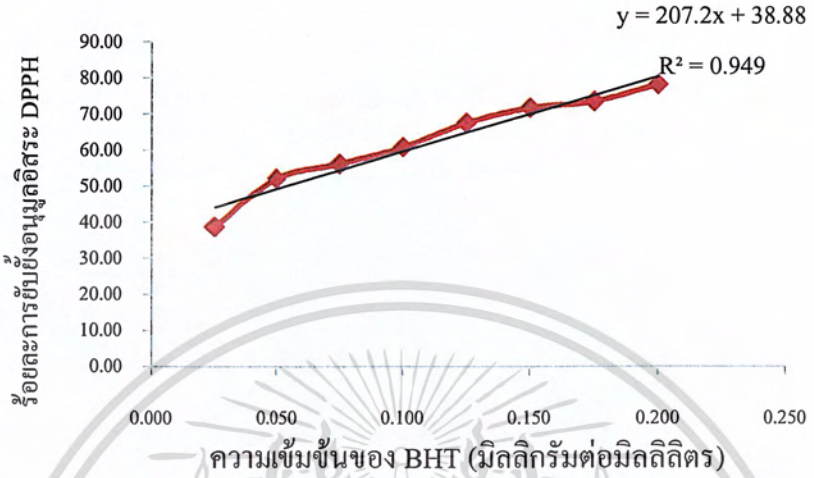
จ-2 กราฟมาตรฐานของการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม



รูปที่ จ-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร ของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ BHT โดยแปรผันตามเวลาที่ 0, 30, 60, 90, 120 และ 150 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

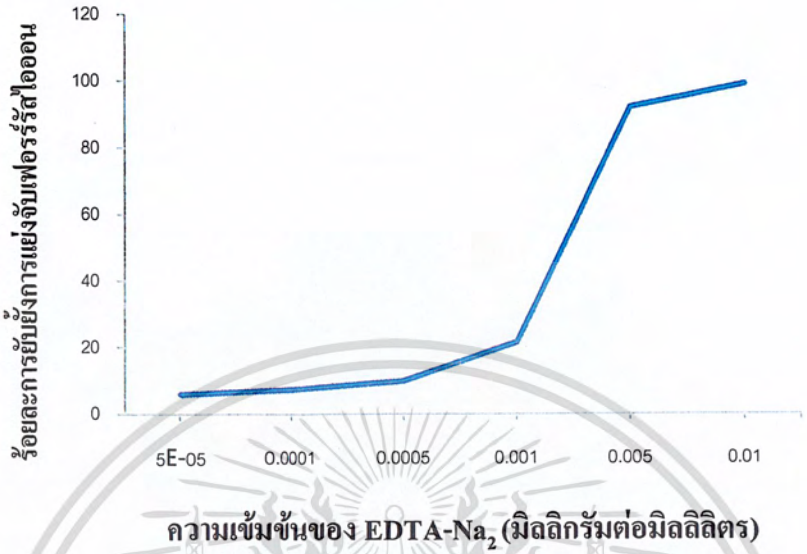
จ-3 กราฟมาตรฐานของการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH



รูปที่ จ-3 ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ BHT โดยแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ 0.025, 0.050, 0.075, 0.010, 0.125, 0.150 0.175 และ 0.200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ-4 กราฟมาตรฐานของการหาความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับกับเฟอร์รัสไอออน



รูปที่ จ-4 ร้อยละการแย่งจับกับเฟอรัสไอออนของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ EDTA-Na_2 โดยแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ 0.00005, 0.0001, 0.0005, 0.001, 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้