

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
FRESHWATER MICROALGAE



T117180



ณัฐยา ศิริวันสกุล
ธนปติ ผาคำ
ปณิดา สุขเจริญ

สรพ. 2553
เลขทะเบียน 117180
วันเดือนปี 19 ก.ค. 2554

b. 1231199x
i.

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีวินวิทยาอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
FRESHWATER MICROALGAE**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF 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

หัวข้อโครงการพิเศษ การประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก

Evaluation of the antioxidant activity of freshwater microalgae

ชื่อนักศึกษา นางสาวณัฐยา ศิริวนสกุล รหัสนักศึกษา 50050815

นายชนปติ ผาคำ รหัสนักศึกษา 50050820




นางสาวปณิดา สุขเจริญ รหัสนักศึกษา 50050832

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ลินจง สุขคำกู

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการ ผศ. วัฒนา ชูโชติ	
กรรมการ ผศ. ลินจง สุขคำกู	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวณัฐยา ศิริวนสกุล	รหัสนักศึกษา	50050815
	นายชนปติ ผาคำ	รหัสนักศึกษา	50050820
	นางสาวปณิดา สุขเจริญ	รหัสนักศึกษา	50050832
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต		
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม		
ปีการศึกษา	2553		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. ถินจง สุขคำภู		

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้มีจุดประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อนจากสาหร่ายน้ำจืด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 พบว่าสารสกัดหยาบที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายของสาหร่ายน้ำจืดมีลักษณะเหนียวหนืด สีเขียวเข้ม ส่วนสารสกัดหยาบที่ใช้น้ำร้อนเป็นตัวทำละลายมีลักษณะเป็นผงแห้ง สีเขียวอ่อนถึงเขียวอมเหลือง โดยร้อยละของผลได้ของสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนมีปริมาณมากกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดที่ด้วยเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่ามีปริมาณมากกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อน จากการศึกษาการประเมินฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ โดยวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน ผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจาก *Chlamydomonas* sp.W53 ที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันสูงสุดแต่สารสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่ามีค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันต่ำสุดที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พิจารณาจากความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (EC₅₀) ของ *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 ที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 0.939 1.287 และ 0.867 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยน้ำร้อนมีค่า EC₅₀ เท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.184 2.746 และ 2.978 ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดด้วยเอทานอลจาก *Scenedesmus* sp.W53 มีค่าความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 50.42 ± 3.69 โดยค่า IC_{50} ของสารสกัดดังกล่าวมีค่าเป็น 1.016 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน EDTA- Na_2 มีค่าเป็น 0.002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : สาหร่ายน้ำจืด สารสกัดหยาบจากสาหร่าย ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารต้านอนุมูลอิสระ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Evaluation of the antioxidant activity of freshwater microalgae
Students	Miss Nattaya Siriwanasakul student ID 50050815 Mr. Tanapati Phakham student ID 50050820 Miss Panida Sukcharoen student ID 50050832
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Industrial Microbiology
Academic Year	2010
Advisor	Assist. Prof. Linchong Suklampoo

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate antioxidant activity of ethanolic and hot water extracts from 3 species of freshwater microalgae, that were *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 and *Scenedesmus* sp.W53. The crude extracts algae using 95 % ethanol solvent were semi-solid, sticky and dark green in color and the crude extracts using hot water were a dry solid, light green or yellow green in color. The percent yield of hot water extracts gave higher levels than ethanolic extracts. While the total phenolic content of ethanolic extracts from these 3 algae had higher than hot water extracts. The antioxidant properties were assessed by the total antioxidant activity, DPPH radical scavenging activity and ferrous ion chelating assays. The ethanolic extract from *Chlamydomonas* sp.W53 had the highest of the total antioxidant activity but the hot water extract gave the lowest of the total antioxidant activity at the concentration of 0.3 mg/ml. The DPPH radical scavenging activity of ethanolic extracts from *Chlamydomonas* sp. W53, *Chlorella* sp.W53 and *Scenedesmus* sp.W53 were, as EC_{50} 0.939, 1.287 and 0.867 mg/ml, respectively. Whereas that of the hot water extracts were EC_{50} 2.184, 2.746 and 2.978 mg/ml, respectively. Furthermore, the ethanolic extract from *Scenedesmus* sp.W53 showed the highest inhibition of 50.42 ± 3.69 % on metal chelating on ferrous ions activity at 1.0 mg/ml concentration. The IC_{50} of the extract was 1.016 mg/ml, Whereas EDTA, as reference compound, was 0.002 mg/ml.

Keywords : freshwater algae, crude extract of algae, antioxidant activity, free radical

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญาบัตรฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาและคำแนะนำของท่านอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ลินจง สุขคำภู ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีต่อข้าพเจ้า ข้าพเจ้ามีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากอาจารย์ที่ปรึกษา ขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ประธานกรรมการสอบปริญญาบัตร รศ. ดวงใจ โอชัยกุล ท่านอาจารย์กรรมการสอบปริญญาบัตร ผศ. วัฒนา ชูโชติ และ ผศ. ลินจง สุขคำภู ที่ให้คำแนะนำและตรวจสอบข้อชี้แนะในการแก้ไขปริญญาบัตรให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยาที่ช่วยอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์และสารเคมีในการทำวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการที่อำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอขอบคุณบิดา มารดา เพื่อน พี่ และน้องทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ และเป็นมิตรที่ดีเสมอมา

คณะผู้จัดทำ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	IV
สารบัญ	V
สารบัญตาราง	IX
สารบัญรูป	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและวิธีการที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 การเกิดอนุมูลอิสระ	4
2.1.1 ปฏิกริยาออกซิเดชันกับการเกิดอนุมูลอิสระ	4
2.1.2 การเกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิต	4
2.1.3 การเกิดออกซิเดชันในอาหาร	7
2.2 อนุมูลอิสระ	10
2.1.1 ความหมายของอนุมูลอิสระ	10
2.1.2 ชนิดของอนุมูลอิสระ	11
2.1.3 อันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ	13
2.1.4 การป้องกันอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ	13
2.3 ระบบต้านอนุมูลอิสระ	14
2.3.1 ระบบของเอนไซม์	14

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.2 ระบบของสารคีเลทโลหะ	15
2.3.3 ระบบของสารต้านอนุมูลอิสระ	16
2.4 สารประกอบฟีนอล	25
2.4.1 สารประกอบฟีนอลหรือสารฟีนอลิก	25
2.4.2 ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล	27
2.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	29
2.5 การวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน	30
2.5.1 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัด อนุมูลอิสระ DPPH	30
2.5.2 การวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้าน การเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ของกรดลิโนลิอิก	31
2.5.3 การวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กของสารต้าน อนุมูลอิสระ	32
2.5.4 การวิเคราะห์การต้านออกซิเดชันโดยการฟอกจางสีเบต้าแคโรทีน	32
2.4.5 การวิเคราะห์การจับกับเฟอรัสไอออน	33
2.6 สาหร่าย	34
2.6.1 ลักษณะที่สาหร่ายแตกต่างจากพืชสีเขียว	35
2.6.2 สาหร่ายสีเขียว	35
2.6.3 ความสำคัญของของสาหร่าย	42
2.6.4 <i>Chlamydomonas</i> sp.	46
2.6.5 <i>Chlorella</i> sp.	47
2.6.6 <i>Scenedesmus</i> sp.	48
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	50

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	55
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	55
3.1.1 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	55
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	55
3.1.3 ตัวอย่างสาหร่าย	56
3.2 วิธีการทดลอง	56
3.2.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่คัดแยกได้จากธรรมชาติ	56
3 สายพันธุ์	
3.2.2 การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย เพื่อใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ	58
3.2.3 การสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่าย	58
3.2.4 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	59
3.2.5 การประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย	59
3 สายพันธุ์	
3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	61
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	62
4.1 ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่คัดแยกได้จากธรรมชาติ	62
3 สายพันธุ์	
4.2 ผลได้และคุณลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก	63
3 สายพันธุ์	
4.3 ผลการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)	68
4.4 ผลการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย	71
3 สายพันธุ์	
4.4.1 การวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน	71

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมลพิษระ DPPH	74
4.4.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน	81
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	87
เอกสารอ้างอิง	89
ภาคผนวก ก	93
ภาคผนวก ข	95
ภาคผนวก ค	98
ภาคผนวก ง	101
ภาคผนวก จ	123



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	12
2.2	15
2.3	25
4.1	63
4.2	64
4.3	66
4.4	69
4.5	73
4.6	76
4.7	80
4.8	83
4.9	85

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	10
2.2	16
2.3	18
2.4	18
2.5	19
2.6	20
2.7	20
2.8	27
2.9	28
2.10	29
2.11	30
2.12	31
2.13	37
2.14	38
2.15	46
2.16	47
2.17	48
2.18	49
2.19	49
4.1	62
4.2	67

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.3 กราฟผลได้รวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อน	68
4.4 กราฟแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	70
4.5 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเด็ก 3 สายพันธุ์	74
4.6 กราฟแสดงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดทั้ง 3 สายพันธุ์	77
4.7 กราฟความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน BHT	78
4.8 กราฟการหาค่า EC_{50} ของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยสารมาตรฐาน BHT	78
4.9 กราฟแสดงค่า EC_{50} ของสารมาตรฐาน BHT และสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์	81
4.10 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบ	84
4.11 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของ EDTA- Na ₂	86

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการงานพิเศษ

ออกซิเดชัน (Oxidation) เป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่มีการย้ายอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังอีกสารหนึ่ง ปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ที่สามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาถูกโซ่ทำลายเซลล์ได้ ถึงแม้ว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันจะมีความสำคัญต่อชีวิตแต่ก็ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ร่างกายได้ (<http://guru.google.co.th/guru/thread?tid=605dcb0540b3abe1>)

อนุมูลอิสระ (Free radical) หรืออนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (ROS) เป็นสารที่มีอะตอมหรือหมู่อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Singlet หรือ Unpaired electron) เป็นส่วนประกอบอยู่ โดยอะตอมหรือโมเลกุลดังกล่าวนี้จะมีควมว่องไวมากในการเกิดปฏิกิริยากับสารอื่น เช่น โปรตีน ไขมัน กรดนิวคลีอิก ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระกับสารอื่นๆ จะทำให้สูญเสียโครงสร้างทางเคมีและหน้าที่ทางชีวภาพของสารชีวโมเลกุล เกิดการเสื่อมสภาพและการทำลายของเซลล์และเนื้อเยื่อ เกิดเป็นพิษเรื้อรังและพยาธิสภาพได้ภายหลัง (โอภาและคณะ, 2550) การเกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิต เกิดจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน สารที่ได้อยู่ในรูปอนุมูลเหล่านี้มีบทบาทในปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นในเซลล์เป็นอย่างมากและมีความเป็นพิษสูง นอกจากนี้ในอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบสามารถเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้อนุมูลอิสระ ทำให้อาหารมีกลิ่นเหม็นหืนและเสื่อมสภาพ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เป็นสารที่ใช้ป้องกันหรือยับยั้งการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารหรือส่วนประกอบต่างๆของสารที่สามารถพบได้ในธรรมชาติ เช่น ในผัก ผลไม้ มีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังมีการนำมาใช้เพื่อป้องกันเซลล์ผิวหนังจากการถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ ถึงแม้ว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันจะมีความสำคัญต่อชีวิตแต่ก็ก่อให้เกิดความเสียหาย ดังนั้นทั้งพืชและสัตว์จะมีระบบที่ซับซ้อนและสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันตนเอง เช่น มีสารจำพวก กลูตาไทโอน (Glutathione) วิตามินซี วิตามินอี รวมถึงเอนไซม์ เช่น คาตาเลส (Catalase) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) และเปอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ต่างๆ ไว้ใช้ป้องกันตนเอง (<http://medicarezine.com/blog/2009/09/10/antioxidant/>)

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) จัดเป็นทรัพยากรชีวภาพ (Bioresource) ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กมีสารประกอบทางเคมีที่สำคัญ เช่น กรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด กรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามิน เกลิโอแร้ รงควัตถุ สารต้านอนุมูลอิสระและสารปฏิชีวนะ (www.nstda.or.th/index.php/news) อีกทั้งยังเป็นแหล่งของโปรตีนสูงมาก ช่วยกระตุ้นให้เซลล์ร่างกายสดชื่นและช่วยชะลอความชราได้ ในสาหร่ายสีเขียวประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้ ต้องได้รับจากการบริโภคพืชหรือสัตว์เท่านั้น ซึ่งมีอยู่ถึง 8 ชนิดที่มีคุณภาพเทียบเท่ากับโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ แต่จะมีเมทไทโอนีน (Methionine) ต่ำกว่า นอกจากนี้ยังมีวิตามินหลากหลาย คือ วิตามินซี เบต้า-แคโรทีน (ซึ่งให้วิตามิน เอ) วิตามินบี1 บี2 บี6 บี12 ไนอาซิน กรดแพนโทเทนิก กรดโฟลิก ไบโอติน โคลีน อินโนซิทอล พีเอบีเอ วิตามินอี และ วิตามินเค ส่วนเกลือแร่ที่มีอยู่ ได้แก่ ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก แคลเซียม แมงกานีส ทองแดง สังกะสี ไอโอดีนและโคบอลต์ รวมทั้งมีกรดไขมันไลโปอิก

งานวิจัยหลายฉบับที่ได้รายงานการสกัดสารสกัดจากสาหร่ายเพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น การประเมินหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิด เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมและสารถนอมอาหาร (Rodriguez – Garcia และ Guil - Gueirero, 2008) การประเมินหาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดแยกส่วนจากสาหร่ายขนาดเล็ก (Li และคณะ, 2006) และศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ *Spirogyra* spp. (จิติกานต์, 2551) ดังนั้น โครงการพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กจำนวน 3 สายพันธุ์ โดยใช้น้ำร้อนและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นทำการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ซึ่งคาดว่าสารสกัดที่ได้จะนำไปใช้ประโยชน์เป็นสารต้านออกซิเดชันจากแหล่งธรรมชาติทดแทนสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กจำนวน 3 สายพันธุ์ โดยใช้อีทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำร้อนเป็นตัวทำละลาย

1.2.2 ประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่ได้จากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

เป็นการศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กจำนวน 3 สายพันธุ์ โดยใช้อีทานอลและน้ำร้อนเป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการต่างๆ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทำให้ทราบสายพันธุ์สาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

1.4.2 เป็นการทดสอบหาสารต้านออกซิเดชันจากแหล่งธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ทดแทนสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์เพื่อให้มีความปลอดภัยมากขึ้น

1.4.3 สาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กสามารถเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น เมื่อเทียบกับการเพาะปลูกพืชซึ่งใช้เวลานาน ดังนั้นจึงสามารถสกัดสารจากสาหร่ายได้มากกว่าการสกัดจากพืชและแต่ละส่วนของพืชมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่เท่ากัน จึงเลือกใช้ได้เพียงบางส่วนเท่านั้น แต่สาหร่ายสามารถนำมาสกัดได้ทั้งเซลล์



ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การเกิดอนุมูลอิสระ

2.1.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชันกับการเกิดอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation reaction) เป็นปฏิกิริยาที่มีการให้อิเล็กตรอน ซึ่งสารที่ให้อิเล็กตรอนจะมีเลขออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เรียกว่า เกิดออกซิเดชัน สารที่ให้อิเล็กตรอนแก่สารอื่น เรียกว่า ตัวรีดิวซ์ (Reducing agent)

ออกซิเดชัน เป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่มีการย้ายอิเล็กตรอนจากสารหนึ่ง ปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ที่จะสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ทำลายเซลล์ได้ แม้ว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันจะมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตแต่ก็ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ร่างกายได้ (<http://guru.google.co.th/guru>)

เซลล์ในร่างกายของมนุษย์จะถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) โดยสร้างอนุมูลอิสระที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อและอวัยวะได้ เพราะอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารประกอบของเซลล์ร่างกาย ได้แก่ กรดนิวคลีอิก โปรตีน กรดอะมิโนอิสระ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ทำให้กลไกต่างๆ ในร่างกายทำงานผิดปกติอนุมูลอิสระเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดโรคและความชรา (http://www.namjai.com/info_2.html)

ดังนั้นทั้งพืชและสัตว์จะมีระบบที่ซับซ้อนและสารต้านอนุมูลอิสระไว้คอยป้องกันความเสียหายที่จะเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่มีต่อองค์ประกอบของเซลล์ เช่น มีสารกลูตาไทโอน (Glutathione) วิตามินซี วิตามินอี รวมถึงเอนไซม์ เช่น คาตาเลส (Catalase) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) และเปอร์ออกซิเดสต่างๆ (Peroxidase) ไว้ใช้ป้องกันตนเอง

2.1.2 การเกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิต

สารอนุมูลอิสระ (free radicals) จัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่าง ๆ ภายในร่างกายเพื่อให้ตัวเองเสถียร แหล่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในตัวคนมี 2 แหล่ง

1. จากภายในร่างกาย ได้แก่ กระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย การเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกาย การสร้างสารเคมีที่หลงเหลือจากกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในร่างกายและเกิดขึ้นในเซลล์ เช่น กระบวนการสลายไขมันในร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. จากแหล่งภายนอกร่างกายที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ ความเครียดการติดเชื้อจากแบคทีเรียและไวรัส รังสี สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ และเขม่าจากเครื่องยนต์ คาร์บอนหรือ ยาฆ่าแมลง เป็นต้น

การเกิดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิต เกิดจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน(O_2^-) และอนุมูลไฮดรอกซิล(OH) เป็นอนุมูลที่พบในเซลล์ มากกว่าอนุมูลอื่นๆ ส่วนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และเปอร์ออกซีไนเตรท($ONOO$) แม้ว่าโครงสร้างไม่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระแต่เป็นสารที่ได้จากปฏิกิริยาต่อเนื่องที่มีอนุมูลอิสระเป็นต้นเหตุ สารที่ได้อยู่ในรูปอนุมูลเหล่านี้มีบทบาทในปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นในเซลล์เป็นอย่างมากและมีความเป็นพิษสูงจึงมีการบัญญัติศัพท์ใหม่ให้ครอบคลุมทั้งอนุมูลอิสระและสารที่ว่านี้ว่า “สารความไวสูง” (โอภาและคณะ, 2549)

สถานะการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย

1. ความผิดปกติของระบบการทำงานของไมโทคอนเดรีย สารที่มีความไวสูง (Reactive species, RS) เกิดขึ้นจากการเผาผลาญภายในไมโทคอนเดรียโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันภายในไมโทคอนเดรีย ปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยเอนไซม์เกิดในไซโตพลาสซึม เยื่อหุ้มนิวเคลียส เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม และเปอร์ออกซิโซม อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-) เป็นอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่เป็นอันตรายและพบมากที่สุดภายในเซลล์ อนุมูล O_2^- เกิดขึ้นจากการรั่วของอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงจากการส่งผ่านอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย และจากเอนไซม์ที่อยู่ในไซโตซอลและเอนไซม์ที่อยู่ในเมมเบรน เช่น แซนทินออกซิเดส ไซโตโครมพี 450 และฟอสโฟไลไลเปอเอ-2 อนุมูล O_2^- สามารถเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระที่มีอันตรายที่สุด ได้แก่ อนุมูลไฮดรอกซิล (OH) และสารเกี่ยวข้องที่ไวต่อปฏิกิริยา คือ เปอร์ออกซีไนเตรท ($ONOO$)

2. กรดอะมิโนที่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาทและระบบสื่อประสาท กรดอะมิโน เช่น กรดกลูตามิก และ กรดแอสปาร์ติก รวมทั้งอนุพันธ์ของกรดอะมิโนทั้งสองนี้เป็นกรดอะมิโนที่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาทและระบบสื่อประสาท เมื่อมีกรดกลูตามิกในปริมาณมากผิดปกติจะทำให้แคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งนำไปสู่การเกิดอนุมูลอิสระจากหลายทิศทาง เช่น จาก respiratory burst ของเม็ดเลือดขาว จากการปลดปล่อยกรดอะมิโนจากเซลล์ประสาท และจากการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์แซนทินดีไฮโดรจีเนสไปเป็นแซนทินออกซิเดส นอกจากนี้การผ่านเข้าออกของแคลเซียมจะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไนตริกออกไซด์ซินเทสทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนตริกออกไซด์ในเซลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อแคลเซียมในเซลล์มีปริมาณมากจะเข้าสู่ไมโทคอนเดรียทำให้เกิดอนุมูลอิสระ

3. เมตาบอลิซึมของสารสื่อประสาท เมตาบอลิซึมของโดพามีนและสารสื่อประสาทในสมองอื่นๆ ทำให้ได้ผลผลิตอนุมูลอิสระหรือสารที่เป็นอันตรายหรือเป็นพิษ ในสภาวะของการเกิดโรคพบว่ามีระดับของโดพามีนเพิ่มขึ้นทั้งภายในและภายนอกเซลล์สามารถทำให้สมองถูกทำลายได้ พิษของโดพามีนเกิดจากโดพามีนถูกออกซิไดซ์แล้วได้ผลผลิต คือ อนุมูลอิสระ สารประกอบควิโนนที่เป็นพิษและสารเมลานิน เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (MAO) จะเปลี่ยนโดพามีนไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ แม้ว่าปราศจากเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดพามีนสามารถเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้เช่นกันจากการเกิดออกซิเดชัน

4. สารพิษทำลายเซลล์ประสาท ความเป็นพิษหรือฤทธิ์ทำลายเซลล์ประสาทมีสาเหตุมาจากความสามารถในการทำให้เกิดอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องที่มีความไวสูง สันนิษฐานว่าการเกิดอนุมูลอิสระอาจเป็นกลไกในช่วงสุดท้ายของการออกฤทธิ์ของสารพิษกลุ่มนี้ สารที่สามารถทำให้เกิดภาวะการออกซิไดซ์ในสมอง ได้แก่ ปรอท โทลูอิน 6-OHDA สารไซยาไนด์ในปริมาณที่ไม่ทำให้ตาย เป็นต้น สารพิษทำลายเซลล์ประสาท เช่น 1-methy-4-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) ผ่านเข้าสู่สมองกลายเป็น 1-methy-4-phenylpyridinium (MPP⁺) และผ่านเข้าสู่เซลล์ประสาท ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของไมโทคอนเดรีย ทำให้เกิดภาวะออกซิไดซ์ ยับยั้งการทำงานของไมโทคอนเดรีย ซึ่งนำไปสู่การออกซิเดชันสารชีวโมเลกุลที่สำคัญ

5. ภาวะขาดเลือด ในช่วงต้นของภาวะขาดเลือดชั่วคราวและเซลล์หรือเนื้อเยื่อยังไม่ตาย เลือดและออกซิเจนกลับมาหล่อเลี้ยงเซลล์ใหม่ ทำให้สารไฮโปรแซนทีนถูกเปลี่ยนเป็นแซนทีนและกรดยูริก ทั้งสารไฮโปรแซนทีนและแซนทีนเมื่อมีออกซิเจนและแซนทีนออกซิเดสรวมอยู่ด้วย จะกระตุ้นการเกิดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-) ทำให้เกิดการเริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ นอกจากนี้อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-) สามารถทำปฏิกิริยากับไนตริกออกไซด์อย่างรวดเร็ว ได้สารพิษเปอร์ออกซีไนเตรท ($ONOO^-$) ซึ่งเป็นอันตรายอย่างยิ่ง

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Free radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน คือ (บังอร และศศิลักษณ์, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

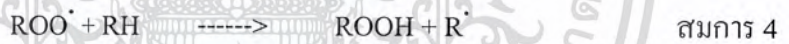
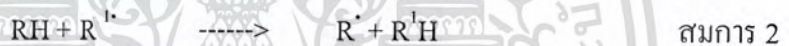
1. ปฏิกิริยาขั้นต้น (Initiation step)

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ มักเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ (Hydrolysis) แสง (Photolysis) รังสี (Radiolysis) และอาจเกิดจากปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์อื่นๆ อีกหลายชนิดที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในเซลล์รวมถึงโมเลกุลที่มีความว่องไวสูงในการทำปฏิกิริยา เช่น nitric oxide (NO) และ singlet oxygen (1O_2) ซึ่งหมายถึงออกซิเจนในสถานะที่ถูกกระตุ้น (Excited state) สิ่งเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต้นของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 1



2. ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง (Propagation step)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาขั้นต้นจะดำเนินปฏิกิริยาต่อไปในปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง โดยเกิดปฏิกิริยาขึ้น 2 ทาง คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียงหรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะพื้น (ground state) ทำให้ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ ดังสมการที่ 2-4



3. ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย (Termination step)

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลมารวมกันได้เป็นสารที่มีความเสถียรจึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 5 และ 6



2.1.3 การเกิดออกซิเดชันในอาหาร

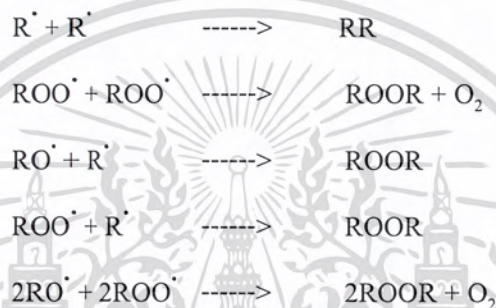
ปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันและไขมัน มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารมาก เนื่องจากเป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนและเป็นปฏิกิริยาที่สามารถเกิดขึ้นได้เอง หรือ ออกซิเดชัน (Auto-oxidation) โดยออกซิเจนเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ไขมันและน้ำมันเกิดปฏิกิริยาที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ยิ่งถ้ามีพันธะคู่มากปฏิกิริยาออกซิเดชันจะยิ่งเกิดขึ้นได้เร็วมากอีกด้วย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบลูกโซ่ของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนและ

อนุมูลอิสระ เกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide) สารเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะแยกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



3. ปฏิกริยาขั้นสุดท้าย (Termination step)

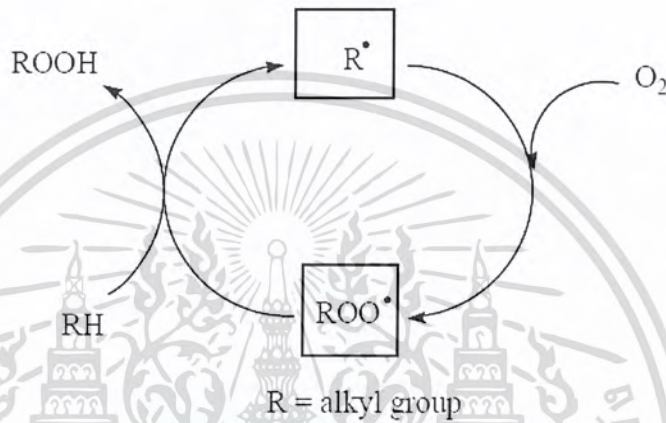
ปฏิกริยาขั้นสุดท้ายเป็นปฏิกริยาของสองโมเลกุล (Bimolecular reaction) ของสารประกอบที่ไม่คงตัวจากปฏิกริยาเพิ่มรวมตัวกันแล้วเกิดเป็นสารประกอบที่มีความคงตัว ซึ่งจะสลายตัวให้สารประกอบที่มีคาร์บอนต่ำ เช่น อัลดีไฮด์ คีโตนและกรดที่ระเหยง่าย ทำให้เกิดกลิ่นหืนในอาหาร



เมื่อ RH แทนกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีไฮโดรเจนเกาะกับคาร์บอนที่ติดกับพันธะคู่
 R[·] แทนอนุมูลอิสระ
 ROOH แทนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

2.2 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ เป็น โมเลกุลหรืออนุภาคที่ไม่เสถียรเนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยว 1 อิเล็กตรอน ปกติธาตุต่างๆที่อยู่ในโมเลกุลที่เสถียรจะต้องมีอิเล็กตรอนเป็นจำนวนคู่ ในกรณีที่มีการสูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนมาอีกหนึ่งตัวจะทำให้โมเลกุลนั้นไม่เสถียร เมื่อโมเลกุลนั้นไม่เสถียร จึงต้องแย่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นๆที่เสถียรอยู่เป็นลูกโซ่ สามารถแสดงวงจรการเกิดอนุมูลอิสระดังรูปที่ 2.1 (<http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>)



รูปที่ 2.1 วงจรการเกิดอนุมูลอิสระ

ที่มา : <http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>

2.2.1 ความหมายของอนุมูลอิสระ

อนุมูล หรือ อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุลหรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง คำจำกัดความนี้หมายถึงรวมถึงอะตอมของไฮโดรเจนและไอออนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งนับว่าเป็นอนุมูลเพราะมีอิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอน แต่ละอิเล็กตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวในแต่ละวงโคจรหรือออร์บิทัล ทั้งนี้การสปिनหรือการหมุนรอบตัวของอิเล็กตรอนทั้งสองจะสปินแบบคู่ขนานในทิศทางเดียวกัน อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะเป็นกลางทางไฟฟ้าและอนุมูลสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คืออิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล A^\bullet อนุมูล $A^{\bullet-}$ และอนุมูล $A^{\bullet+}$ โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวตัวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติจำเพาะคือ มีความว่องไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียรไม่ไวในการเกิดปฏิกิริยาและสามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน อนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก ตัวอย่างของสารอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-) อนุมูลไฮดรอกซี ($\cdot OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO\cdot$) และอนุมูลเปอร์ออกไซด์ ($HO_2\cdot$) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก ขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) อนุมูลวิตามินอีและอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลที่มีความไวสูงรองลงมา การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกันดังนี้ (โสภาและคณะ, 2550)

ก. การแตกของพันธะโควาเลนต์แบบไม่โฮไลซิส



ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลาง(ทางไฟฟ้า)



ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลาง(ทางไฟฟ้า)



2.2.2 ชนิดของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระหรืออนุมูลเป็นศัพท์ที่นิยมใช้ทั้งคู่ เหตุที่มีการตัดคำว่า “อิสระ” ออกเนื่องจากคุณสมบัติที่ไวต่อปฏิกิริยาทำให้สารอนุมูลไม่คงตัวอยู่ในสถานะอิสระได้ ซึ่งเป็นผลมาจากสถานะความเป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวเป็นอิสระไม่มีคู่ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการหลายชนิดที่ไม่อยู่ในสถานะอนุมูล แต่มีความเกี่ยวข้องหรือเป็นผลผลิตของอนุมูลที่มีความไวต่อปฏิกิริยาสูง สารเหล่านี้มีทั้งที่เป็นสารที่ให้กำเนิดอนุมูล เนื่องจากมีความคงตัวต่ำสลายง่าย เช่น โอโซนหรือสารที่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นเกิดเป็นอนุมูล เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ รวมถึงสารที่เป็นผลผลิตของอนุมูลที่มีอันตรายสูง ได้แก่ เปอร์ออกซีไนไตรท์ ซึ่งเรียกโดยรวมว่า สารที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (Reactive species, RS)

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลที่มีบทบาทในทางชีววิทยาแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ(Reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive nitrogen species, RNS)และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ(Reactive chlorine species, RCS) แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง

อนุมูลอิสระ	สารที่เกี่ยวข้อง
Reactive oxygen species (ROS, RS)	
Superoxide, Superoxide anion, $O_2^{\cdot -}$	H_2O_2 , Ozone (O_3)
Hydroxyl, $\cdot OH$	Hypobromous acid (HOBr)
Hydroperxyl, HO_2^{\cdot}	Hypochlorous acid (HOCl)
Peroxyl, RO_2^{\cdot}	Singlet oxygen (O_2)
Alkoxy, RO^{\cdot}	Organic peroxides (ROOH)
Carbonate, $CO_3^{\cdot -}$	Peroxynitrite ($ONOO^{\cdot}$)
Carbon dioxide, $CO_2^{\cdot -}$	Peroxynitrous acid (ONOOH)
Reactive nitrogen species (RNS)	
Nitric oxide, NO^{\cdot}	Nitrous acid (HNO_2)
Nitrogen dioxide, $NO_2 \cdot NO_2^{\cdot -}$	Nitrosyl cation (NO^+)
	Nitroxyl anion ($NO^{\cdot -}$)
	Dinitrogen tetrachloride (N_2O_4)
	Dinitrogen trioxide (N_2O_3)
	Peroxynitrite ($ONOO^{\cdot}$)
	Peroxynitrous acid (ONOOH)
	Nitronium(nitryl) cation (NO_2^+)
	Alkyl peroxy nitrates (ROONO)
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chlorine, Cl	Hypochlorous acid (HOCl)
	Nitryl ZnitroniumX chloride (NO_2Cl)
	Chloramines Chlorine gas (Cl_2)
Others	
Thiyl radical (RS^{\cdot})	

ที่มา : โอภาและคณะ (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 อันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (<http://www.stkc.go.th>)

อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเองและในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรคหรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น จะเกิดภาวะการออกซิเดชันมากเกินไปที่เรียกว่า Oxidative stress ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์และการทำลายเซลล์ เมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจึงเกิดการทำลายโมเลกุลอื่นๆ ต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อในร่างกาย เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้า รอบดวงตา และผิวหนัง ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ (Aging) และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคภัยต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันทำลายตัวเอง (Autoimmune disease) โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆมาก่อน (Reoxygenation injury, Reperfusion injury) รวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด ต้อกระจก อัลไซเมอร์ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน มะเร็ง เป็นต้น

2.2.4 การป้องกันอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (บังอรและศศิลักษณ์, 2549)

โดยธรรมชาติแล้วจะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายหลายชนิด มีทั้งที่เป็นประโยชน์และให้โทษอันประกอบด้วย อนุมูลอิสระที่หลั่งรอดออกมาจากการเผาผลาญออกซิเจนเป็นพลังงาน อนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณต่อเซลล์และอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ต่อการทำงานของเซลล์หรืออวัยวะ ในกรณีหลังจะมีประโยชน์แต่ออกฤทธิ์ในปริมาณที่ต่ำมากไม่เกิดอันตรายต่อเซลล์และร่างกายจะเป็นอันตรายและเสียหายหากมีอนุมูลอิสระในปริมาณมากเกินไป ดังนั้นเซลล์และร่างกายจึงมีกลไกเพื่อควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระไม่ให้สูงจนเกิดอันตรายในสภาวะปกติกลไกเหล่านี้ถือว่าเพียงพอ ต่อการรักษาปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลได้ กล่าวคือสามารถควบคุมได้แม้ว่าจะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น อย่างไรก็ตามหากเกิดภาวะผิดปกติที่ทำให้กลไกการป้องกันเหล่านี้บกพร่องไม่สามารถที่จะควบคุมภาวะสมดุลได้ จะนำไปสู่การเกิดภาวะที่อนุมูลอิสระมีมากเกินไป (Oxidative stress) และเกิดโรคต่างๆขึ้นในร่างกายได้

กลไกที่สำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลได้แก่ เอนไซม์ สารต้านอนุมูลอิสระ และสารคีเลทโลหะ

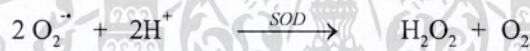
2.3 ระบบการต้านอนุมูลอิสระ

ร่างกายจำเป็นต้องหาทางป้องกันการโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง คือระบบการต้านอนุมูลอิสระหรือระบบสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งประกอบไปด้วยสารต่างๆที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ สารคีเลท โลหะ สารต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 ระบบของเอนไซม์ (Enzyme) (โอภาและคณะ, 2549)

เอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่ำเพื่อชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร(substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยสาร(substrate)เหล่านี้รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ

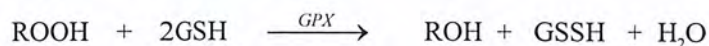
เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (SOD) เอนไซม์ SOD จะทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่เกิดขึ้นในร่างกาย คือ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-) โดยเปลี่ยนอนุมูล O_2^- เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



เอนไซม์คาตาเลส (CAT) เอนไซม์คาตาเลสเป็นเอนไซม์ที่มีฮีม คือ ferriprotoporphyrin เป็นองค์ประกอบ โครงสร้างเอนไซม์คาตาเลสประกอบด้วยหน่วยย่อยของโปรตีนฮีม 4 หน่วยที่เหมือนกัน แต่ละหน่วยย่อยมีขนาด 60 กิโลดาลตัน การจัดเรียงของหน่วยทั้งสี่เป็นแบบเตตระฮีดรัล ดังนั้นเอนไซม์คาตาเลสจึงมีฮีมจำนวน 4 กลุ่มต่อ 1 โมเลกุล เอนไซม์คาตาเลสทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นโมเลกุลของน้ำและออกซิเจน



เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPX) เอนไซม์ออกซิเดสจะมีธาตุซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบอยู่ในโครงสร้างของเอนไซม์ เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPX) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้แก่อลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (ROOH) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยมีกลูตาไทโอน (GSH) ร่วมในปฏิกิริยาด้วย เอนไซม์นี้ปกป้องเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่ให้ถูกทำลายหรือเสียหายจากสภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไป



ตารางที่ 2.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่จัดเป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์

ประเภท	สารต้านอนุมูลอิสระ	
สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย และจัดเป็นเอนไซม์	catalase (CAT)	
	superoxide dismutase (SOD)	
	glutathione peroxidase (GPX)	
	glutathione reductase (GR)	
	glutathione s-transferase (GST)	
สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย แต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์	glutathione	haptoglobin
	lipoic acid	hemopexin
	ceruloplasmin	uric acid
	albumin	bilirubin
	transferrin	cysteine
สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหาร และไม่จัดเป็นเอนไซม์	Tocopherols	carotenoids
	ascorbic acid	steroids
	ubiquinones	thiols
	inosine	taurine
	pyruvate	gallic acid
	flavonoids	trolox
	BHT	BHA

ที่มา : <http://www.stkc.go.th>

2.3.2 ระบบของสารคีเลทโลหะ (Metal chelators) (โอภาและคณะ, 2549)

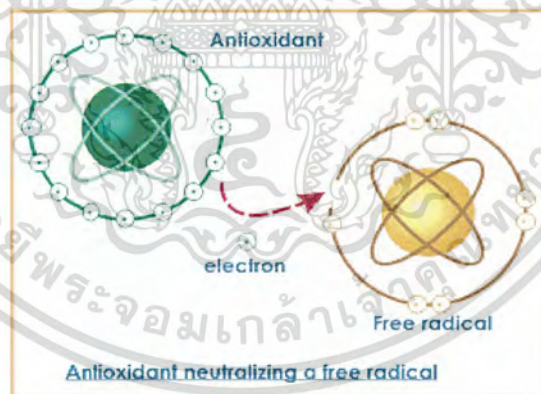
สารที่ทำหน้าที่คีเลทโลหะเป็นกลไกหนึ่งในการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุล ทั้งนี้เนื่องจากโลหะทรานซิชัน เช่น เหล็ก ทองแดง มีส่วนสำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระ สารที่ทำหน้าที่คีเลทโลหะในร่างกาย ส่วนใหญ่เป็น โปรตีนที่จับและแยกโลหะที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนการเกิดอนุมูลไฮดรอกซี ($\cdot\text{OH}$) เข้ามารวมไว้ในโครงสร้างให้อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน โลหะจึงไม่สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเกิดอนุมูลอิสระได้ โปรตีนที่จับกับโลหะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะในร่างกายมีดังนี้ คือ ทรานเฟอร์ริน (Transferrin) เฟอร์ริติน (Ferritin) แลคโตเฟอร์ริน (Lactoferrin) เซรูโลพลาสมิน (Ceruloplasmin) ฮีโมแพ็กซิน (Hemopexin) แฮปโทโกลบิน (Haptoglobin) และอัลบูมิน ในร่างกายธาตุเหล็กจะถูกเก็บสะสมใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปของเฟอร์ริติน เฟอร์ริตินคือโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 460 กิโลดาลตัน มีไอออนเหล็ก (Fe^{3+}) จำนวน 4500 ไอออนเป็นอะตอมกลาง ธาตุเหล็กจะเคลื่อนย้ายไปทั่วร่างกายในรูปของทรานเฟอร์รินซึ่งมีไอออนเหล็ก (Fe^{3+}) จำนวน 2 ไอออนจับอยู่หรือในรูปแลคโตเฟอร์ริน ธาตุเหล็กยังสามารถรวมตัวกับโปรตีนอื่นๆด้วยแรงจับที่แน่นกว่า ได้แก่ ฮีโมโกลบิน ไมโอโกลบิน และเฟอร์โรดอกซิน ธาตุทองแดงจะเคลื่อนย้ายไปทั่วร่างกายในรูปเซรูโลพลาสมิน นอกจากนี้ยังมีสารคีเลทโลหะที่ใช้สำหรับการบำบัดและรักษาโรคโดยควบคุมระดับปริมาณของธาตุเหล็กในผู้ป่วย คือ เดสเฟอร์ร็อกซามีน (Desferrioxamine)

2.3.3 ระบบของสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) (โอภาและคณะ, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นคำศัพท์ที่แปลมาจากคำว่า antiradical ปัจจุบันคำศัพท์นี้ได้ถูกบัญญัติใหม่เป็นสารขจัดหรือกำจัดอนุมูล (Radical scavenger) เพื่อให้ถูกต้องตรงกับการทำงานและอาจใช้คำว่าสารแอนติออกซิเดนท์แทน สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงหรือให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระทำให้อนุมูลอิสระเสถียรเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไปและหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ ดังรูป 2.2



รูปที่ 2.2 สารต้านอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระ

ที่มา : <http://www.knowabouthealth.com>

สารขจัดอนุมูลที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น กรดยูริก บิลิรูบิน จะกำจัดอนุมูล ส่วนวิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบต้าแคโรทีน และยูบิควินอน จะหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูล สารต้านอนุมูลอิสระประเภทหลังมีบทบาทสำคัญในการทำให้ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสิ้นสุดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่อผู้ยืมได้เห็นว่าประโยชน์ของการนำเอกสารนี้ไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีโครงสร้างเคมีที่ละลายไขมันได้ดี ดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์ที่เมมเบรน ได้วิตามินอี จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ วิตามินอีจะทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูล ลิพิดเปอร์ออกไซด์และได้เป็น อนุมูลวิตามินอี (T-O[•]) อนุมูล (T-O[•]) เป็นอนุมูลที่มีความไวต่ำทำให้ ไม่สามารถเกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์ต่อไปได้ วิตามินอีจะละลายน้ำได้ดีมีหน้าที่เปลี่ยนอนุมูล (T-O[•]) ทำให้ได้วิตามินอีกลับคืน โดยการรับอิเล็กตรอนจากอนุมูล (T-O[•]) อนุมูลวิตามินอีจะถูกขับออกทาง ปัสสาวะ

สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆที่มีในธรรมชาติ เช่น กรดอัลฟาไลโปอิก เป็นสารที่มีมวล โมเลกุลต่ำ ซึ่งสามารถดูดซึมจากอาหารเข้าสู่ร่างกายได้อย่างรวดเร็ว เมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์แล้วก็จะถูกรีดิวซ์ไปเป็นไดไฮโดรไลโปอิก ทั้งกรดอัลฟาไลโปอิก และไดไฮโดรไลโปอิก จัดเป็นตัว กำจัดอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงต่ออนุมูลต่างๆ เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O₂⁻) อนุมูลไฮดรอกซี (OH[•]) ไนตริกออกไซด์ (NO) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) สารทั้งสองนี้ทำหน้าที่เปลี่ยนสารที่ได้ทำหน้าที่ไปแล้วให้เวียนกลับคือไปทำหน้าที่ใหม่ ไดไฮโดรไลโปอิก สามารถรีดิวซ์กลูตาไทโอนไดซัลไฟด์ ไดไฮโดรแอสคอร์บิกและอนุมูลเซมิดีไฮโดรแอสคอร์บิก หรือยูบิควิโนน กลับเป็นสารต้านอนุมูลอิสระคืนดั้งเดิม สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้จะรีดิวซ์ อนุมูลวิตามินอีทำให้ได้วิตามินอีกลับคืนมาใหม่

นอกจากนี้ในอาหาร เช่น ผลไม้ ผักและสมุนไพร ที่มีสารโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ สำคัญจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ กรดคาเฟอิกในกาแฟ resveratrol ในไวน์แดง เคอร์คูริน ในขมิ้น แคปไซซินในพริกขี้หนู นอกจากสารโพลีฟีนอลแล้ว สารฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชต่างๆ มากกว่า 5,000 ชนิด ซึ่งแบ่งเป็นประเภทได้อย่างน้อย 10 กลุ่มในทางเคมี สารฟลาโวนอยด์ที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวางได้แก่ quercetin และ catechin

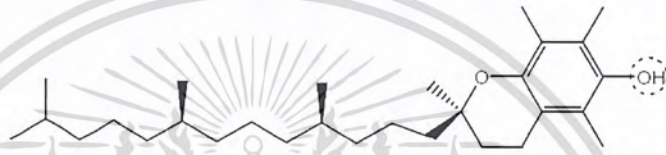
สารต้านอนุมูลอิสระในอุดมคติควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ

1. มีความจำเพาะเจาะจงสูงในการเข้าจับอนุมูลอิสระโดยตรงและกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดสิ้นไป (Quenching)
2. สามารถเกิดทำปฏิกิริยาคีเลทกับโลหะได้
3. เป็นสารต้านออกซิเดชันได้
4. ไม่มีผลกระทบต่อการแสดงออกของยีน

2.3.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ที่รู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม เบต้าแคโรทีน วิตามินเอและฟฤทษเคมี (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenol) ไอโซฟลาโวน เป็นต้น (<http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>)

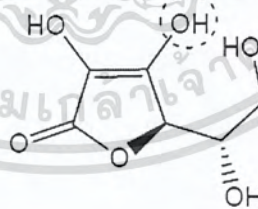
วิตามินอี (Vitamin E) เป็นสารที่ละลายได้ดีในไขมันจึงพบมากในน้ำมันพืชต่างๆ แหล่งอาหารสำคัญที่พบ ได้แก่ น้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย เมล็ดดอกทานตะวัน เมล็ดอัลมอนต์ จมูกข้าวสาลี



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของวิตามินอีหรือแอลฟาโทโคฟีรอล

ที่มา : <http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>

วิตามินซี (Vitamin C) มีมากในพืช ผักสีเขียวและผลไม้รสเปรี้ยว เช่น ตำลึง ผักบุ้ง พริกหยวก ส้ม มะนาว สับปะรด ฝรั่ง มะขามป้อม มะละกอสุก พริกชี้ฟ้าเขียว บร็อกโคลี ผักคะน้า ยอดสะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก

ที่มา : <http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>

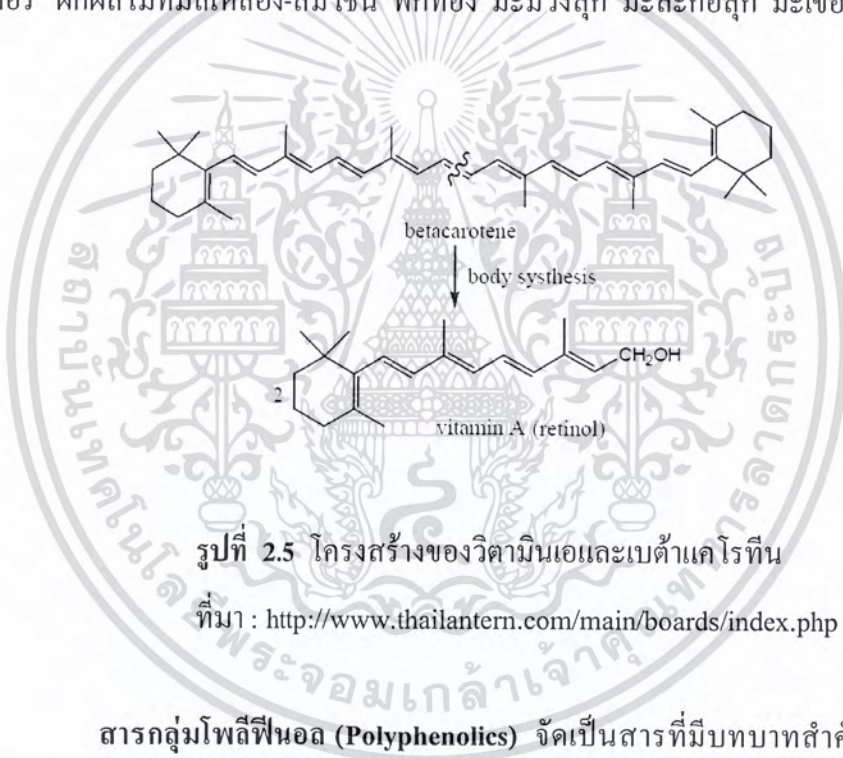
สารประกอบซีลีเนียม (Selenium-Se complex) จะอยู่ในรูปของสารเชิงซ้อนกับ เอนไซม์ในร่างการ เช่น selenium-glutathione peroxidase (SeGPx) ช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเป็น มะเร็งปอด ลำไส้และต่อมลูกหมาก (ถ้าร่างกายมีซีลีเนียมมากเกินไปจะเป็นอันตรายได้ซึ่งหมายถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับเอาธาตุซีลีเนียมเข้ามาโดยตรง) พบมากในอาหารทะเล ปู ปลา กุ้ง หอย ปลาหมึก เนื้อสัตว์ และตับ บะหมี่ เนื้อแดง เนื้อไก่ไข่ ขนมันปิ้งโฮลวีต เมล็ดดอกทานตะวัน และถั่วต่างๆ

วิตามินเอ (Vitamin A) พบมากใน ตับหมู ตับไก่ ไข่ น้ำมัน พืชผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักนึ่ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะเขือเทศ

แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ได้แก่ เบต้าแคโรทีน ลูทีนและไลโคพีน ส่วนใหญ่ สารที่มีบทบาทสำคัญคือ เบต้าแคโรทีน (β -carotene) (ระบบการทำงานของร่างกายสามารถเปลี่ยน β -carotene เป็น วิตามินเอได้) มีมากในผักที่มีสีเขียวเข้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักนึ่ง บลอคเคอรี่ ผักผลไม้ที่มีสีเหลือง-ส้ม เช่น ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ แครอท



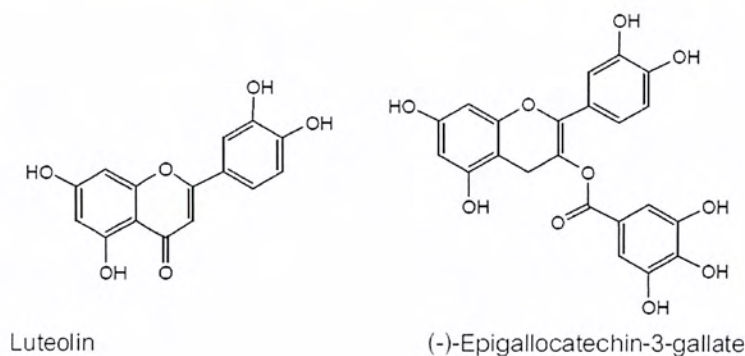
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของวิตามินเอและเบต้าแคโรทีน

ที่มา : <http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>

สารกลุ่มโพลีฟีนอล (Polyphenolics) จัดเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบมากในธรรมชาติได้แก่ พืช ผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ชอคโกแลตและไวน์แดง ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ นับจากโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโพรพานอยด์และฟลาโวนอยด์ จนถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น

อนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ (Flavonoid derivatives) มักพบมากในพืชจำพวกชา กาแฟ โดยเฉพาะใบชาเขียว และเมล็ดกาแฟสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

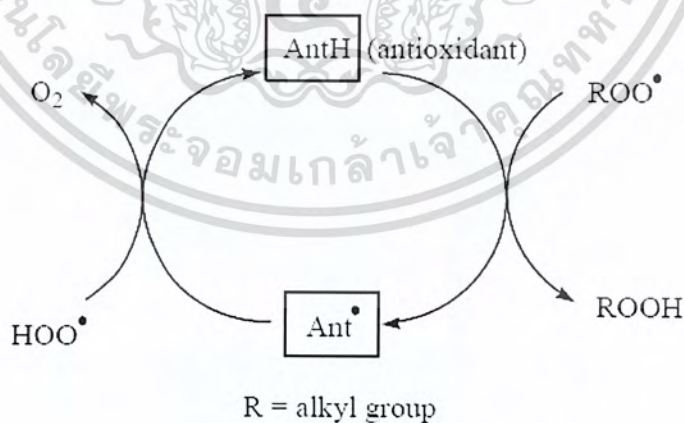


รูปที่ 2.6 โครงสร้างของตัวอย่างอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์

ที่มา : <http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>

2.3.3.2 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่มีหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายจะถูกกำจัดด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะจับกับอนุมูลอิสระแล้วเกิดอนุมูลตัวใหม่ที่เสถียรกว่า ส่งผลให้หุควงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ขึ้นมาอีก เนื่องจากเกิดการรวมตัวกันกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร แสดงวงจรการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระดังรูปที่ 2.7

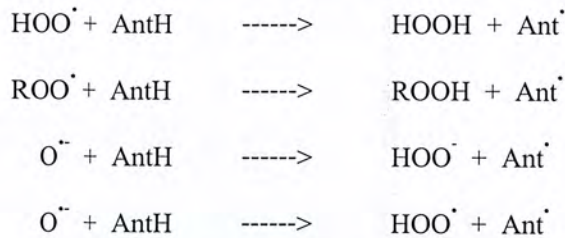


รูปที่ 2.7 วงจรการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : <http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ สามารถเขียนสมการแสดงการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดังนี้ (<http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>)



2.3.3.3 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ (บึงอร และศศิลักษณ์, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งสารจากธรรมชาติ เช่น กรดอะมิโน กรดแอสคอร์บิก แคลโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน โทโคฟีรอล เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เช่น บีเอชเอ บีเอชที ทีบีเอชคว เป็นต้น โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

1. Primary antioxidant

สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก(Phenolic compounds) ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลธรรมชาติและสังเคราะห์ บีเอชเอ บีเอชที ทีบีเอชควและอื่นๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าว ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

2. Oxygen scavenger

สารในกลุ่มนี้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี เป็นต้น สารในกลุ่มนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้

3. Secondary antioxidant

สารในกลุ่มนี้ได้แก่ ไตรโพรพิเนตและกรดไตรโพรพินิค ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

4. Enzymic antioxidant

สารในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆซึ่งแบ่งเป็น primary antioxidant enzyme และ auxiliary antioxidant enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. Chelating agent หรือ sequestrant

สารในกลุ่มนี้ได้แก่ กรดซิตริก กรดอะมิโน เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

2.3.3.4 ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดธรรมชาติ

1. วิตามินอีจากธรรมชาติ

วิตามินอีจากธรรมชาติอยู่ในรูป d-tocopherol หรือ d-alpha-tocopherol ส่วนวิตามินอีสังเคราะห์จะอยู่ในรูป dl-tocopherol หรือ dl-tocopherol จากงานวิจัยพบว่า วิตามินอีในรูป d-form ซึ่งได้จากธรรมชาติมีผลดีต่อร่างกายมนุษย์อย่างน้อยสองเท่าเมื่อเทียบกับวิตามินอีในรูป dl-form ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ วิตามินอีมีความสามารถในการจับอนุมูลออกซิเจนอิสระ ซึ่งช่วยป้องกันเซลล์ถูกทำลาย และยังช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยเฉพาะในผู้สูงอายุ

2. สารสกัดจากชาเขียว (Green tea extract)

ชาเขียวเป็นชาที่พบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในชาเขียว มีชื่อว่า ECGG (Epigallocatechin Gallate) ซึ่งเป็นสารประกอบพอลิฟลาโวนอยด์ โดยได้พบว่า สารนี้ช่วยป้องกันการทำลายของเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ซึ่งมีผลในการป้องกันโรคหัวใจ โรคฟันและเหงือก รวมถึงช่วยควบคุม glucose metabolism ให้เป็นไปตามปกติ ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ ECGG สูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 25-1,000 เท่า

3. สารสกัดจากโรสแมรี่ (Rosemary extract)

โรสแมรี่เป็นสมุนไพรที่ใช้เพื่อให้อาหารมีกลิ่นและรสชาติในอาหารอเมริกันและยุโรป โรสแมรี่ (*Rosmarinum officinalis* L.) มีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น rosmarinic acid, carnosol และ carnosic acid ซึ่งสารเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการชะลอและป้องกันเซลล์จากการถูกทำลายจากอนุมูลอิสระ ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้สารสกัดโรสแมรี่ เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ลดการเกิดการหืนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เมื่อเร็วๆ นี้ European Safety Authority (EFSA) ได้ยอมรับให้ผู้ผลิตอาหารสามารถใช้สารสกัดโรสแมรี่เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารชนิดต่างๆ ได้อย่างปลอดภัย ข้อดีของสารสกัดโรสแมรี่ คือ สามารถทนความร้อนได้สูงถึง 240 องศาเซลเซียส จึงเหมาะสำหรับใช้เติมในน้ำมันทอดและขนมขบเคี้ยว

4. สารสกัดจากทับทิม (Pomegranate extract)

ทับทิมเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลที่สำคัญ คือ ellagic acid ซึ่งมีประสิทธิภาพในการจับอนุมูลอิสระสูงมาก จากงานวิจัย พบว่า สารสกัดทับทิมช่วยลดความเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจ โดยลดและป้องกันเซลล์ถูกทำลายจาก LDL oxidation , macrophage oxidative และ foam cell formation นอกจากนี้ สารสกัดทับทิมช่วยลดความดันโลหิตโดยยับยั้งการทำงานของ serum angiotension converting enzyme (ACE)

5. สารสกัดจากเมล็ดองุ่น (Grape seed extract)

สารสกัดองุ่นประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด สารที่สำคัญ คือ oligomeric procyanidins (OPCs) และ resveterol ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึงห้าสิบเท่า ดังนั้นสารสกัดองุ่นมีสรรพคุณที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย รักษาอาการที่มีต้นเหตุมาจากอนุมูลอิสระ เช่น อาการปวด ลดอาการอักเสบ หลอดเลือดประาะ chronic venous insufficiency, varicose veins, macular degeneration และ diabetic retinopathy นอกจากนี้งานวิจัยยังพบว่า OPCs ช่วยทำให้ผิวใส ระบบการหมุนเวียนเลือดเป็นปกติ ช่วยป้องกันคอลลาเจนถูกทำลายซึ่งเป็นสาเหตุของการเหี่ยวบนเมื่ออายุมากขึ้น ดังนั้นสารสกัดองุ่นจึงถูกนำมาใช้ในเครื่องสำอาง ครีมบำรุงผิว

6. ไลโคปีน (Lycopene)

ไลโคปีนเป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ พบมากในมะเขือเทศและผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศ นักวิจัยพบว่า ไลโคปีนซึ่งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงมากสามารถลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งและโรคหัวใจ นักวิจัยได้ทดลองในกลุ่มผู้ชายจำนวน 50,000 คน โดยให้รับประทานมะเขือเทศและผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศมากกว่า 10 ครั้งต่อหนึ่งสัปดาห์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าสามารถลดอัตราเสี่ยงในการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากได้

7. วิตามินซี

นอกจากประโยชน์ในการเสริมภูมิคุ้มกันร่างกาย ช่วยป้องกันโรคหวัดและบรรเทาอาการภูมิแพ้แล้ว วิตามินซียังช่วยสร้างเนื้อเยื่อคอลลาเจน เพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผิวพรรณ คลายความเครียด ความอ่อนเพลีย แก่สภาวะการเป็นหมันในผู้ชาย โดยช่วยเพิ่มความแข็งแรง และปริมาณของตัวอสุจิจากอสุจิอีกด้วย

8. สารสกัดจากใบแปะก๊วย

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบแปะก๊วย เป็นผลมาจากสารในกลุ่มฟลาโวนโกลโคไซด์ ที่มีอยู่มากกว่า 20 ชนิดในใบแปะก๊วย ซึ่งช่วยต้านอนุมูลอิสระในร่างกายได้ ทั้งนี้นอกจากคุณสมบัติอันโดดเด่นในการป้องกันความเสื่อมของเซลล์สมองและช่วยบำรุงสุขภาพสมองอย่างมีประสิทธิภาพ คุณสมบัติในการเพิ่มการไหลเวียนของโลหิตทั่วร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่สมองยังช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดอุดตันได้

9. กรดอัลฟาไลโปอิก

สารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาตินี้ทำหน้าที่สำคัญ ๆ หลายอย่างในร่างกาย การใช้เป็นอาหารเสริมจะมีบทบาทสำคัญในการช่วยปรับปรุงกระบวนการเผาผลาญน้ำตาลให้เป็นพลังงาน จึงช่วยป้องกันและบรรเทาโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยเบาหวานได้ดี

10. ลูทีน

เป็นสารธรรมชาติพบได้มากในพืชผักที่มีสีเขียวเข้ม เช่น ผักกาดเขียว ใบหยิก ผักปวยเล้ง ในชีวิตประจำวันนอกจากจะต้องเผชิญกับรังสียูวีในแสงแดดที่กระทบต่อดวงตาโดยตรงแล้ว ยังต้องเจอกับแสงจ้าจากเครื่องคอมพิวเตอร์และทีวีวันละหลายชั่วโมง เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เซลล์ในตาอ่อนแอหรือเสื่อมสภาพและตาบอดได้ ซึ่งการรับประทานลูทีนจะเป็นสารอาหารที่ช่วยป้องกันการเสื่อมของจอรับภาพและจอประสาทตาได้ดี เพราะมีส่วนร่วมในการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่สำคัญ

11. โคอีนไซม์คิวเท็น



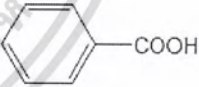
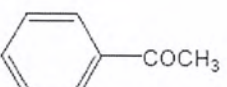
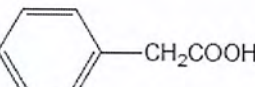
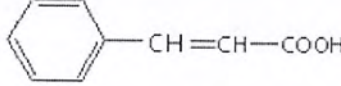
มีหน้าที่หลักในกระบวนการสร้างพลังงานในระดับเซลล์ เพื่อให้เซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายทำงานได้อย่างปกติ หากร่างกายขาดโคเอ็นไซม์คิวเท็นถึงร้อยละ 75 ก็อาจเสียชีวิตได้ ทั้งนี้เซลล์ที่ต้องการพลังงานสูงและมีความต้องการโคเอ็นไซม์คิวเท็นมากเป็นพิเศษได้แก่ เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เซลล์สมอง เพื่อให้มีความตื่นตัว เพิ่มทักษะในการจดจำและผ่อนคลายจากความตึงเครียด ส่วนเซลล์ผิวหนังต้องการโคเอ็นไซม์คิวเท็นเพื่อช่วยฟื้นฟูความสดใส

2.4 สารประกอบฟีนอล (ปริยพันธ์, 2549)

2.4.1 สารประกอบฟีนอลหรือสารฟีนอลิก

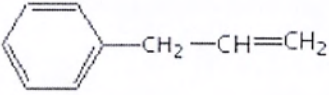
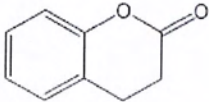
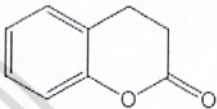
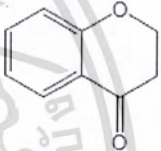
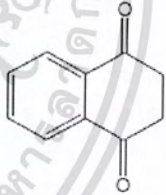
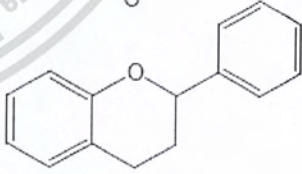
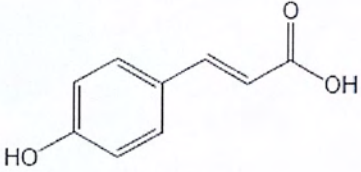
สารประกอบจำพวกฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืชมีหลายกลุ่มที่สำคัญเช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิกและแทนนิน เป็นต้น ซึ่งโครงสร้างหลักประกอบด้วย aromatic ring แทนที่ด้วย hydroxy group โดยมากเป็นสารที่มีขั้วละลายในตัวทำละลายจำพวกแอลกอฮอล์ได้ดี โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลจะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปรวมกับหมู่ไฮดรอกซิล(OH-group) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ กลูโคส(Glucose) นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเองหรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก(Carboxylic acid) กรดอินทรีย์(Organic acid) อะมีน(Amine) และไขมัน

ตารางที่ 2.3 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลกลุ่มต่างๆ

Class	Basic Skeleton	Basic Structure
Simple phenols	C_6	
Benzoquinones	C_6	
Phenolic acids	C_6-C_1	
Acetophenones	C_6-C_2	
Phenylacetic acids	C_6-C_2	
Hydroxycinnamic acids	C_6-C_3	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

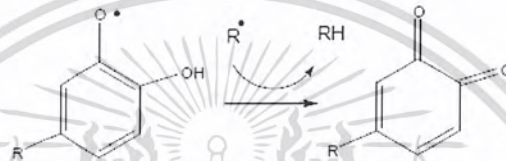
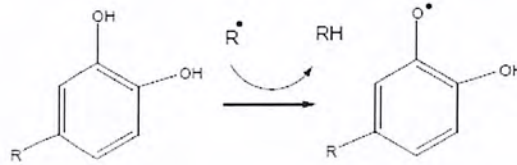
ตารางที่ 2.3 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลกลุ่มต่างๆ (ต่อ)

Class	Basic Skeleton	Basic Structure
Phenylpropenes	C_6-C_3	
Coumarins	C_6-C_3	
isocoumarins	C_6-C_3	
Chromones	C_6-C_3	
Naphthoquinones	C_6-C_4	
Flavonoids	$C_6-C_3-C_6$	
Lignins	$(C_6-C_3)_n$	

ที่มา : ปรีชนันท์ (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลไกของสารจำพวกฟีนอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังแสดงรูปที่ 2.8 คือเมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเล็กตรอนไป แต่ในโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (Delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป



รูปที่ 2.8 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอล

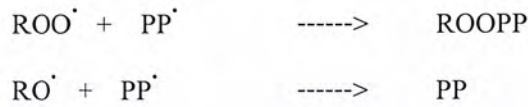
ที่มา : <http://www.lib.ubu.ac.th/jdb/jubon/pdfjubon/jubon-2006-08-02.76-88.pdf>

2.4.2 ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล

คุณสมบัติของสารประกอบฟีนอลที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน คือ การเป็นสารต้านออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระและการใช้สารประกอบฟีนอลในการป้องกันโรคต่างๆ โดยสารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้ (<http://www.stkc.go.th>)

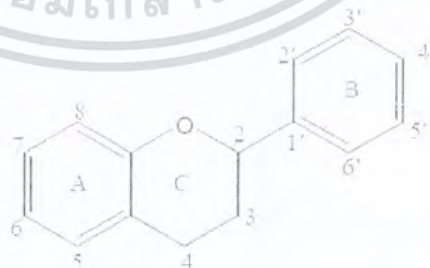


เมื่อสารประกอบฟีนอลให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วยจึงทำให้สารประกอบฟีนอลสามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระได้ถึงสองเท่าดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

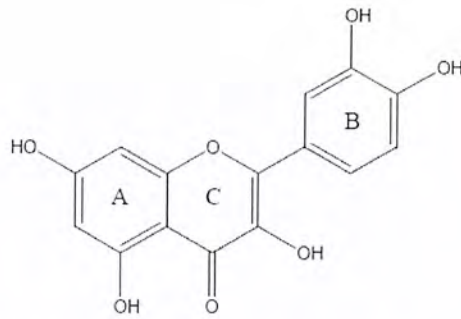


สารประกอบฟีนอลที่ถูกพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน นั้นสามารถพบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น เมล็ด (ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย ข้าวและงา) ผล (องุ่น ส้ม และพริกไทยดำ) ใบ (ชาและเครื่องเทศต่างๆ)และส่วนอื่นๆ(มันเทศ และหัวหอม) และหนึ่งในสารประกอบฟีนอลที่เป็นที่รู้จักกันดีก็คือฟลาโวนอยด์ (ได้แก่ flavones, flavonols, isoflavones, catechins, flavonones และ chalcones) และ cinnamic acid derivatives (caffeic acid, ferulic acid, chlorogenic acid และอื่นๆ)

จากการทดลองพบว่าทั้งฟลาโวนอยด์และ cinnamic acid derivatives มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ตีมากในอาหารที่เป็นไขมันและไขมันผสมกับน้ำและปัจจัยที่ส่งเสริมคุณสมบัติดังกล่าวคือ ตำแหน่งและจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลและโครงสร้างอื่นของโมเลกุลตัวอย่างเช่น โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ แสดงในรูปที่ 2.9 หมู่ไฮดรอกซิลของวงแหวน B ซึ่งถือเป็นปัจจัยหลักที่ใช้ในการพิจารณาความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ในกรณีของฟลาโวนอยด์นั้นพบว่าหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง para (C4') วงแหวน B จะมีผลให้มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันมากกว่าที่ตำแหน่ง ortho (C2' และ C6') ในขณะที่หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง meta (C3' และ C5') จะไม่มีสมบัติดังกล่าว นอกจากนี้หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C5 (วงแหวน A) และ 4 - keto group (C=O ที่คาร์บอนตัวที่ 4 ของวงแหวน C) (รูปที่ 2.10) จะเป็นกลุ่มของ quercetin ที่ไวต่อการทำปฏิกิริยากับโลหะ ซึ่งเป็นการช่วยลดการเกิดออกซิเดชันได้อีกทาง หนึ่งส่วนหมู่ไฮดรอกซิลของวงแหวน A (รูปที่ 2.10) ที่ตำแหน่ง C5 และหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C3 และพันธะคู่ระหว่าง C2 และ C3 ในวงแหวน C (รูปที่ 2.10) จะมีผลเล็กน้อยต่อคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของฟลาโวนอยด์



รูปที่ 2.9 โครงสร้างพื้นฐานและการระบุตำแหน่งคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลฟลาโวนอยด์
ที่มา : ปริญนันท์ (2549)



รูปที่ 2.10 สูตรโครงสร้างของ quercetin

ที่มา : ปริยนันท์ (2549)

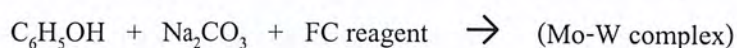
ในอาหารและเครื่องดื่มที่มาจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ ธัญพืชต่างๆ น้ำผลไม้ ไวน์ เบียร์ ชาและกาแฟจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลในปริมาณที่แตกต่างกัน เนื่องจากการสร้างสารประกอบฟีนอลของพืชจะมีทั้งปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง

คุณสมบัติของสารประกอบฟีนอลเป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระ สามารถนิยามความหมายของคำว่า สารต้านออกซิเดชันได้โดยอาศัยหลักพื้นฐาน 2 ข้อดังนี้คือ

1. ที่ความเข้มข้นต่ำ สารตั้งต้นก็จะสามารถถูกชะลอหรือสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาได้
2. อนุมูลอิสระที่ถูกกำจัดออกไปแล้วจะต้องมีความเสถียร (stable)

2.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compounds) มีความสัมพันธ์กับความจุของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant capacity) ซึ่งสามารถหาโดยวิธี Folin-Ciocalteu เป็นการศึกษากการเกิดสีโดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยสารประกอบฟีนอลิกในสารละลายในสภาวะเป็นด่างหรือในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (pH 10) และสาร Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วยกรดฟอสฟอโมลิบดิก ($H_3PMo_{12}O_{40}$) และกรดฟอสฟอทังสเทนดิก ($H_3PW_{12}O_{40}$) ถูกรีดิวซ์โดย phenolic hydroxyl groups ในสารละลาย Na_2CO_3 (ด่าง) เกิดเป็น tungsten และ molybdenum blue ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อน Mo-W สีน้ำเงิน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ปริมาณสารฟีนอลิกรวมใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานและรายงานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกหรือ GAE (Gallic Acid Equivalents)



สารฟีนอลิก

สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

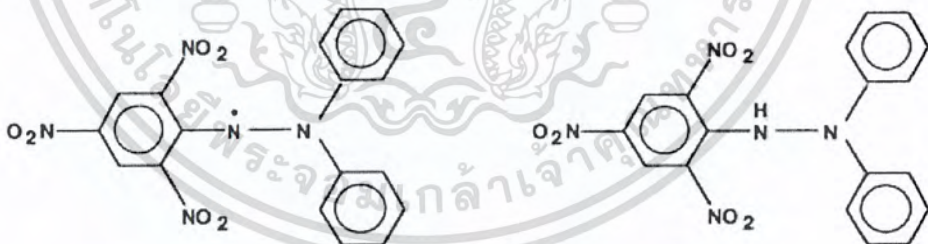
2.5 การวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน

การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total Antioxidant Capacity, TAC) มีหลายวิธีได้แก่

- การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom transfer, HAT)
 - วิธี Oxygen radical absorbance capacity assay (ORAC)
 - วิธี Total radical – trapping antioxidant parameter (TRAP)
- การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Electron transfer, ET หรือ SET)
 - วิธี Diphenyl – 1 – picrylhydrazyl assay (DPPH)
 - วิธี The ferric reducing ability of plasma assay (FRAP)
 - วิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

2.5.1. การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals Scavenging, DPPH)

DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระและเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่น จะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังรูปที่ 2.11



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

รูปที่ 2.11 โครงสร้างของสาร DPPH ที่เป็นอนุมูลอิสระและไม่เป็นอนุมูลอิสระ

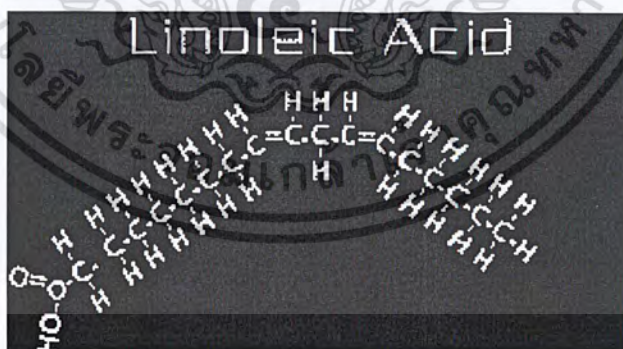
ที่มา : <http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm>

การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นทดสอบประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรที่อยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมากเพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้ DPPH (มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์) ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (<http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm>)

2.5.2 การวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ของกรดลิโนลินิก (Antioxidant activity)

กรดลิโนลินิกเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ดังรูปที่ 2.12 ทำให้กรดนี้สามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบ ทำให้กลายเป็นอนุมูลอิสระ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น conjugated diene ที่เสถียร (Erikson, 1987) สารต้านอนุมูลอิสระมีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้สารนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลิโนลินิกได้ ด้วยเหตุนี้ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลินิก จึงวัดโดยเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลินิกผสมอยู่ ทั้งไว้ระยะหนึ่ง วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร (<http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm>) ค่าที่ได้นี้แปรผันตรงกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น ดังนั้น การลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้



รูปที่ 2.12 กรดไขมันลิโนลินิก (Linoleic acid)

ที่มา : <http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm>

2.5.3 การวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP)

สารที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์ (Reducing agent) สามารถจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอะตอมหรือโมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (เช่น เหล็ก ทองแดง) เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี



ในด้านชีวเคมีอนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิดอนุมูลออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล เป็นต้น

การทดสอบความสามารถในการเป็นรีดิวซ์เป็นการศึกษาความสามารถในการเป็นรีดิวซ์ หรือเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ โดยสารทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัวจากการวัดปฏิกิริยารีดักชันของ $Fe^{3+}(CN)_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN)_6$ ซึ่งจะให้มีสีน้ำเงิน ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริกไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่ สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็นรีดิวซิงเอเจนต์ (<http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm>)

2.5.4 การวิเคราะห์การต้านออกซิเดชันโดยการฟอกจางสีเบต้าแคโรทีน (Beta Carotene Bleaching , BCB)

เป็นวิธีการเพื่อวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัด ใช้หลักการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีนและกรดลิโนเลอิกในอิมัลชันเฟส โดยหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดที่มีคุณสมบัติในการจับกับอนุมูลอิสระของกรดลิโนเลอิกเปอร์ออกไซด์ที่ทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์เบต้าแคโรทีน หากสารสกัดมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีจะเข้าไปจับกับอนุมูลของกรดลิโนเลอิกทำให้ลดการสูญเสียสีส้มของเบต้าแคโรทีนลงได้

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันวิธีการฟอกจางสีเบต้าแคโรทีนทำได้โดยการผสมสารเบต้าแคโรทีนกับกรดลิโนเลอิก โดยมีทวินเป็นตัวกลางช่วยให้เบต้าแคโรทีน

และกรดลิโนเลอิกเข้ากันได้ดี จากนั้นกระตุ้นโดยการใช้ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียสเพื่อให้เกิดเอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญตใดหนาไปไซประโยชน์ขนคานการคาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกโดยการแตกตัวของอะตอมไฮโดรเจนออกจากสารกลุ่ม diallylic methylene ของกรดลิโนเลอิก ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลซึ่งจะออกซิไดซ์เบต้าแคโรทีนทำให้กลุ่มธาตุที่มีสีส้มของเบต้าแคโรทีนสลายตัว การเปลี่ยนแปลงสีสามารถวัดได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ถ้าในสารสกัดทดสอบมีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระจะสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระของกรดลิโนเลอิก ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการสลายตัวหรือการเจือจางสีของเบต้าแคโรทีนได้ (สุภาธร, 2552)

2.4.5 การวิเคราะห์การจับกับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion Chelating Assay, FIC)

เป็นการทดสอบหาสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม chelating agent หรือ sequestrant ได้แก่ กรดซิตริก กรดอะมิโน เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

วิธีการทดสอบความสามารถในการรวมตัวหรือแย่งจับโลหะไอออน เช่น เหล็กไอออนของสารสกัดที่ต้องการทดสอบ ซึ่งตัวโลหะไอออนนี้จะเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาเคมีของสารที่จะทำให้เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระต่างๆได้ จากปฏิกิริยาเคมี เมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไปจะไปจับกับเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) แล้วจะอยู่ในรูป Ferrozine - Fe^{2+} complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารสกัดทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับ Fe^{2+} จะทำให้สีแดงของ Ferrozine - Fe^{2+} complex จางลงได้ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 นาโนเมตร

2.6 สาหร่าย (Algae)

สาหร่าย เป็นพืชชั้นต่ำที่ไม่มีราก ลำต้นและใบที่แท้จริง มีตั้งแต่ขนาดเล็กลงด้วยตาเปล่าไม่เห็น ต้องมองด้วยกล้องจุลทรรศน์ ไปจนถึงขนาดใหญ่ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก ลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง มีส่วนที่เหมือนราก ลำต้นและใบ รวมเรียกว่าทัลลัส (Thallus) ซึ่งเซลล์ของสาหร่ายมีลักษณะเหมือนเซลล์พืชทั่วไป จัดเป็นพวกยูแคริโอติกเซลล์ (Eukaryotic cell) ยกเว้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่จัดเป็นโพรคาริโอติกเซลล์ (Prokaryotic cell) เซลล์ประกอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ ผนังเซลล์ ไซโทพลาซึม ภายในไซโทพลาซึมมีออร์แกเนลล์ต่างๆและนิวเคลียส บางชนิดอาจมีแฟลกเจลลัม (Flagellum) หรือบางชนิดอาจไม่มีก็ได้ (ปราณี, 2549) ซึ่งสาหร่ายจะมีแบบแผนการสืบพันธุ์ที่แตกต่างกันอย่างหลากหลายและเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสร้างอาหารได้เองโดยกระบวนการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับพืชชั้นสูง (วันเพ็ญ, 2549)

จุลสาหร่าย (microalgae) เป็นพืชชั้นต่ำที่ไม่มีระบบท่อน้ำ ท่ออาหาร มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นชัดเจนด้วยตาเปล่า ต้องตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูง การดำรงชีพเป็นแบบพึ่งตนเอง โดยการผลิตสารอาหารและพลังงาน ผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง บริเวณที่พบจุลสาหร่ายคือแหล่งน้ำที่มีสีเขียว พื้นดินที่ชื้นแฉะ บนผิวใบไม้ ต้นไม้ ร่องน้ำ หรือพื้นผนังที่มีความชื้นสูง จุลสาหร่ายชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน (Colony) จึงพบเห็นในลักษณะเป็นแผ่นสีเขียวสด หรือ สีเขียวคล้ำ บางครั้งมีลักษณะเป็นเมือกก้อนๆ (www.kasettrang.ac.th/km/micro4-9.doc) ซึ่งจุลสาหร่ายแต่ละชนิดจะเจริญเติบโตในธรรมชาติที่มีสภาวะแตกต่างกัน มีบางประเภทที่โตได้เร็วกว่าประเภทอื่น ๆ บางสายพันธุ์โตในน้ำจืด หรือบางชนิดโตได้ดีในน้ำทะเลและบางชนิดจะสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่ค่อนข้างรุนแรง ซึ่งจุลสาหร่ายชนิดอื่น ๆ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เช่น สไปรูลิน่าเจริญเติบโตในสภาวะที่เป็นด่างมากๆ (pH 9-11) หรือ *Dunaliella* ที่สามารถเจริญเติบโตในสภาพที่มีความเค็มสูง ๆ ได้ มนุษย์จึงนำจุลสาหร่ายมาใช้ประโยชน์หลายด้าน (<http://www.eng.chula.ac.th/newsletter/index.php?q=node/118>)

จุลสาหร่ายจัดเป็นทรัพยากรชีวภาพ(Bioresource)ที่มีความสำคัญยิ่งทางเศรษฐกิจ เนื่องจากสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเป็นจำนวนมากได้ตามความต้องการและมีศักยภาพในการนำมาเป็นวัตถุดิบของโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เพื่อผลิตสารที่เป็นประโยชน์หลายชนิด เพราะภายในเซลล์ของจุลสาหร่ายมีสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีคุณค่าในเชิงพาณิชย์สูงอยู่มากมาย อันได้แก่ กรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด กรดไขมัน ไม่อิ่มตัว วิตามิน

เกลือแร่ รงควัตถุหรือสีธรรมชาติและสารปฏิชีวนะ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1 ลักษณะที่สาหร่ายแตกต่างจากพืชสีเขียว

สาหร่ายมีลักษณะต่างจากพืชสีเขียวดังนี้ (วันเพ็ญ, 2549)

1. สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีเซลล์ทำหน้าที่ทั้งเพื่อการยังชีพและเพื่อการสืบพันธุ์อยู่ในเซลล์เดียวกัน โดยเฉพาะสาหร่ายเซลล์เดียวจะใช้เซลล์เป็นเซลล์สืบพันธุ์และเมื่อรวมกันเป็นไซโกต (Zygote) แล้วไซโกตจะไม่พัฒนาไปเป็นระยะเอ็มบริโอ (Embryo)
2. เซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายบางชนิดจะมีอวัยวะสืบพันธุ์ที่ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ (Multicellular gametangia) อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ไม่มีเซลล์อื่นห่อหุ้มยกเว้น สาหร่ายไฟ (Stonewort) ที่มีเซลล์ที่เป็นหมัน (Sterile cell) ห่อหุ้ม
3. เซลล์สืบพันธุ์ที่สร้างภายในอวัยวะสืบพันธุ์หลายเซลล์นั้น ทุกๆเซลล์สามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ (Ferile cell)
4. การสร้างสปอร์จะสร้างได้จากเซลล์เพียงเซลล์เดียว หรือจากอวัยวะสร้างสปอร์ที่ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ เรียกว่า สปอแรนเจีย (Sporangia) และทุกๆเซลล์สร้างสปอร์ได้
5. สาหร่ายยังไม่มีต้น รากและใบ แม้ว่าสาหร่ายหลายเซลล์บางชนิดมีส่วนคล้ายต้น (Stipe) คล้ายราก (Holdfast) และคล้ายใบ (Blade) ก็ตาม แต่เซลล์เหล่านั้นยังไม่สามารถจัดเรียงตัวเป็นเนื้อเยื่อที่แท้จริง เช่น เกล็ด

2.6.2 สาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายในควิซันนี้มีสีเขียวเหมือนหญ้า ส่วนประกอบของรงควัตถุจะเป็นเช่นเดียวกับที่พบในพืชชั้นสูงคือ มีคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี แคโรทีนและแซนโทฟิลล์ สาหร่ายสีเขียวเป็นพวกที่พบในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำทะเล หรือแม้แต่นดินก็ขึ้นได้ ขนาดมีตั้งแต่เล็กมากซึ่งประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว ไปจนถึงขนาดใหญ่ มีลักษณะเป็นต้น หรือ Thallus พวกที่มีขนาดเล็กมากอยู่ในลักษณะแพลงก์ตอน ส่วนพวกที่มีขนาดใหญ่มักมีที่ยึดเกาะแบบแบนติก (Bentic form) หรือ อีพิไฟต์ (Epiphytic form) (กาญจนภาชน์, 2527)

2.6.2.1 ส่วนประกอบของเซลล์

1. ผนังเซลล์ โดยทั่วไปแล้วผนังเซลล์มี 2 ชั้น ผนังชั้นในเป็นพวกเซลลูโลสและผนังชั้นนอกเป็นเพกติน แต่มีบางชนิดที่เป็นกลุ่มแบบเดียวกับ *Volvox* ผนังเซลล์ไม่มีเซลลูโลสมีแต่เพกติน บางสกุลอาจมีสารจำพวกไคติน หินปูนหรือซิลิกาหุ้มอยู่ภายนอกอีกชั้นหนึ่ง ทำให้แข็งจับดูจะรู้สึกสากหรือกระด้างมือ เช่น สาหร่ายใน Order Cladophorales ส่วนพวกเดสมิดส์

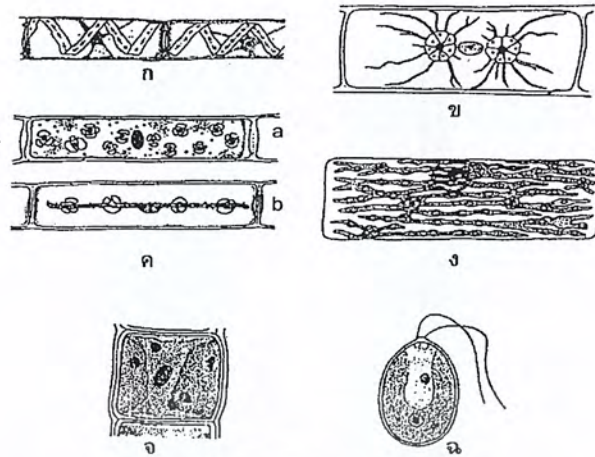
(Desmids) สามารถผลิตสารเมื่อออกมาหุ้มอยู่ภายนอกผนังเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ปกติหรือเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายสีเขียวบางชนิดไม่มีผนังเซลล์ (กาญจนภาชน์, 2527)

2. ไซโตพลาซึม (Cytoplasm) ซึ่งจะประกอบด้วยออร์แกเนลชนิดต่างๆ จะขอกกล่าวบางออร์แกเนลที่มีลักษณะพิเศษจากเซลล์พืชชั้นสูงอื่นๆ ดังนี้ (ยูวดี, 2549)

2.1 คลอโรพลาสต์ (chloroplast) โครงสร้างของคลอโรพลาสต์ส่วนใหญ่เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนจะมองเห็นลักษณะเป็นแบบกรานา (Grana chloroplast) กล่าวคือ ไทลาคอยด์จะเรียงกันเป็นชั้นๆ แบบพืชชั้นสูงทั่วไปและมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น โดยมีจำนวนไทลาคอยด์ตั้งแต่ 2-6 อัน (วันเพ็ญ, 2549) แต่ลักษณะของไทลาคอยด์ที่เรียงกันเป็นชั้นไม่สม่ำเสมอเหมือนพืชชั้นสูง

คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายสีเขียวมีรูปร่างแตกต่างกันดังนี้ (รูปที่ 2.13)

- ก. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นเกลียว (Helical or Spiral chloroplast) พบใน *Spirogyra*
- ข. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นรูปดาว (Stellate chloroplast) พบใน *Zygnema*
- ค. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นแผ่นแบน 1 แผ่น (Lamella or Flat plate chloroplast) เมื่อมองด้านตรงจะเห็นเป็นแผ่นเต็มเซลล์ แต่เมื่อมองด้านข้างจะเห็นเป็นแผ่นแบบบาง มีไพรีนอยด์อยู่เป็นระยะๆ พบใน *Mougeotia*
- ง. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นร่างแห (Reticular chloroplast) พบใน *Oedogonium*
- จ. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นกระบอกทวงหัวท้ายเปิด (Open cylinder chloroplast) หรือคล้ายกำไลข้อมือของชาวเขาที่ทำด้วยเงินเป็นแผ่นแบบกว้างรูปทรงกระบอกมีด้านเปิดอยู่ด้านหนึ่ง (snap on bracelet) พบใน *Ulothrix*
- ฉ. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นรูปถ้วย (Cupshaped chloroplast) พบใน *Chlamydomonas*



รูปที่ 2.13 คลอโรพลาสต์แบบต่างๆในสาหร่ายสีเขียว

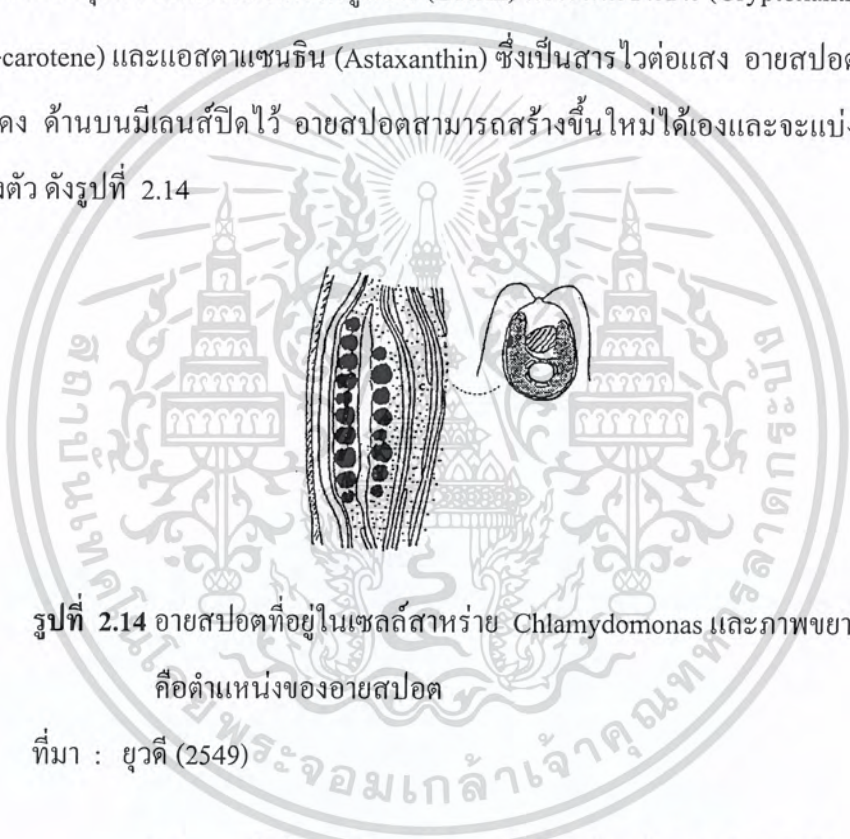
ที่มา : ยูวดี (2549)

- ก. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นเกลียวใน *Spirogyra*
- ข. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นรูปใน *Zygnema*
- ค. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นแผ่นแบน 1 แผ่น ใน *Mougeotia*
 - า. มองด้านตรง
 - บ. มองด้านข้าง
- ง. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นร่างแหใน *Oedogonium*
- จ. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นกระบอกดวงหัวท้ายใน *Ulothrix*
- ฉ. คลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นรูปถ้วยใน *Chlamydomonas*

2.2 ไพรินอยด์ (Pyrenoid) เป็นออร์แกเนลล์ที่อยู่ควบคู่กับคลอโรพลาสต์ มีลักษณะกลมใส ไม่มีสี ไพรินอยด์จะประกอบด้วยแกนกลาง ซึ่งเป็นโปรตีน (Protein core) มีชั้นของแป้ง (Starch sheath) เป็นเชื้อหุ้มอยู่และชั้นนอกสุดเป็นแผ่นแป้ง (Starch plate) หุ้มอีกชั้นหนึ่ง ไพรินอยด์ในสาหร่ายสีเขียวทำหน้าที่สร้างแป้ง โดยส่วนนอกของโปรตีนจะเปลี่ยนชั้นของแป้งหุ้มโปรตีน ต่อมาจะหลุดออกเป็นแผ่นเรียก แผ่นแป้ง ทำให้ขนาดของไพรินอยด์ใหญ่ขึ้นหรือหลุดออกมาเป็นเม็ดแป้ง (Starch grain) ซึ่งจะประกอบด้วยอะไมโลส (Amylose เป็น Unbranched chain ของ Glucose residue) และอะไมโลเพกติน (Amylopectin เป็น Branched chain) สาหร่ายบางชนิดที่ไม่มีไพรินอยด์จะสะสมอาหารไว้ในรูปน้ำมัน (Oil) (กาญจนกาชนัน, 2527) ไพรินอยด์สามารถ

แบ่งตัวได้ จึงพบว่าเซลล์สาหร่ายที่ยังอ่อนอยู่หรือมีคลอโรพลาสต์เล็กจะมีไพริโนยด์เพียง 1 อัน ส่วนเซลล์ที่มีอายุมากหรือคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่จะมีไพริโนยด์จำนวนมากหรือไพริโนยด์มีขนาดใหญ่

2.3 อยาสปอตหรือสติกมา (Eyespot or Stigma) เป็นออร์แกเนลล์ที่ทำหน้าที่รับแสงและนำไปสู่การเคลื่อนไหวของแฟลกเจลลัม สาหร่ายส่วนใหญ่จะมีอยาสปอตอยู่ตลอดวงจรชีวิต แต่บางชนิดจะมีเฉพาะบางช่วงชีวิต อยาสปอตนี้พบในเซลล์ที่เคลื่อนไหวได้ ไม่ว่าจะ เป็นเซลล์ปกติหรือเซลล์สืบพันธุ์ มีลักษณะเป็นกลมรี ยาว อาจอยู่เดี่ยวหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม มีสีแดง รงควัตถุในอยาสปอตเป็นพวกลูทีน (Lutein) คริปโตแซนทิน (Cryptoxanthin) เบตาแคโรทีน (β -carotene) และแอสตาแซนทิน (Astaxanthin) ซึ่งเป็นสารไวต่อแสง อยาสปอตมีรูปร่างคล้ายถ้วยสีแดง ด้านบนมีเลนส์ปิดไว้ อยาสปอตสามารถสร้างขึ้นใหม่ได้เองและจะแบ่งตัวเมื่อเซลล์มีการแบ่งตัว ดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 อยาสปอตที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย *Chlamydomonas* และภาพขยายจุดสีดำเข้ม คือตำแหน่งของอยาสปอต

ที่มา : ยุกติ (2549)

2.4 แวกิวโอล (Vacuole) สาหร่ายส่วนใหญ่จะมีแวกิวโอล ซึ่งมีขนาดต่าง ๆ กัน สาหร่ายสีเขียวใน Order Volvocales ซึ่งสามารถเคลื่อนที่ได้และพวกไดอะตอมจะมีคอนแทร็กไทล์แวกิวโอล (Contractile vacuole) ซึ่งมีจำนวน 1 หรือ 2 หรือมากกว่า สามารถยืดหดได้ ทำหน้าที่ขับน้ำและของเสียออกจากเซลล์คล้ายในโปรโตซัว

2.5 ออร์แกเนลล์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ ไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ไรโบโซม (Ribosome) เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (Endoplasmic reticulum) กอลจิแอปพาราตัส (Golgi apparatus) และอื่นๆ ออร์แกเนลล์เหล่านี้คล้ายในพืชชั้นสูงทั้งรูปร่างลักษณะและหน้าที่ทั่วไป

2.6 นิวเคลียส โครงสร้างของนิวเคลียสประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ

ก. เยื่อหุ้มนิวเคลียส (Nuclear membrane) มีสารประกอบพวกฟอสฟอลิปิด เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ

ข. นิวคลีโอลัส (Nucleolus) เป็นโครงสร้างที่ไม่มีเยื่อหุ้ม ประกอบด้วยเส้นใย (Fiber) เล็กๆ และโครงสร้างลักษณะเป็นเม็ด (Granule) นิวคลีโอลัสเป็นแหล่งสะสมสารประกอบอินทรีย์พวก RNA และเป็นแหล่งสังเคราะห์ไรโบโซม

ค. โครโมโซม (chromosome) ซึ่งมีโครมาติน (chromatin) หรือโมเลกุลของ DNA ที่มีโปรตีนหุ้มอยู่โดยรอบ โครโมโซมของสาหร่ายมีขนาดเล็กและมีจำนวนตั้งแต่ 5 – 48 แท่งหรือมากกว่า

นิวเคลียสของสาหร่ายมีการแบ่งแบบไมโทซิส (Mitosis) เช่นเดียวกับพืชชั้นสูง ส่วนการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซิส (Meiosis) จะเกิดขึ้นในกรณีที่สาหร่ายนั้นสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (Gemete) ในช่วงซึ่งมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเท่านั้น สาหร่ายส่วนมากในแต่ละเซลล์จะมีนิวเคลียส 1 อัน เรียกว่า Uninucleate cell สาหร่ายบางชนิดอาจมีการแบ่งนิวเคลียสเท่านั้นไม่มีการแบ่งไซโทพลาซึม ทำให้ใน 1 เซลล์มีหลายนิวเคลียส ซึ่งเรียกว่า Multinucleate cell หรือ Coenocytic cell ซึ่งจะพบในสาหร่ายสีเขียว Order Chlorococcales Family Protosiphonaceae และในพวก *Cladophora*

โดยทั่วไปรูปร่างของนิวเคลียสมักจะมีลักษณะกลมหรือรี ขนาดตั้งแต่ 1-80 ไมโครเมตร ซึ่งจะพบในสาหร่ายสีเขียวพวก *Acetabularia* นิวเคลียสในระยะสืบพันธุ์ หรือเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว จะมีขนาดใหญ่กว่านิวเคลียสของเซลล์ปกติ

3. แฟลกเจลลัม (Flagellum) เป็นโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนไหวยของเซลล์และเป็นลักษณะที่ใช้ในการจัดจำแนกสาหร่ายได้ด้วย แฟลกเจลลัมจะพบในเซลล์ปกติ (Vegetative cell) หรือเซลล์สืบพันธุ์ (Reproductive cell) ก็ได้ จำนวนแฟลกเจลลัมในแต่ละเซลล์จะมี 1-2-4 หรือมากกว่านี้ เซลล์ปกติส่วนใหญ่และเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือแกมีทาก็มีแฟลกเจลลัม 2 เส้น ซึ่งแฟลกเจลลัมทั้ง 2 เส้นนี้อาจมีขนาดเท่ากันหรือไม่เท่ากันก็ได้ อาจอยู่ด้านหน้า ด้านข้าง หรือด้านหลังของเซลล์ก็ได้ บางชนิดอาจมีแฟลกเจลลัมจำนวนมาก (ยูวดี, 2549)

4. รงควัตถุ (Pigment) รงควัตถุสังเคราะห์แสงอยู่ในคลอโรพลาสต์ ประกอบด้วย (กาญจนภานันท์, 2527)

ก. คลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บี (chlorophyll a, chlorophyll b)

ข. แอลฟา เบต้าและแกมมาแคโรทีน (α , β , γ - carotene)

ค. แซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) มีด้วยกันหลายชนิดโดยเฉพาะลูทีน ไวโอลาแซนทิน (Violaxanthin) และนีโอแซนทิน (Neoxanthin) มีมากกว่าแซนโทฟิลล์ชนิดอื่นๆ

5. รูปร่าง สาหร่ายสีเขียวเป็นดิวิชันที่มีครบทุกรูปร่างของสาหร่ายคือ มีทั้งเซลล์เดี่ยว โคลโคนี เส้นสาย หลอดหรือท่อติดต่อกันตลอดและแบบทาลัสที่เป็นเนื้อเยื่อพาราเรนาไคมา พวกที่เป็นเซลล์เดี่ยวและพวกที่เป็น โคลโคนีทั้งพวกที่เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ มักจะพบเป็นแพลงก์ตอนพืชในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ ส่วนพวกที่เป็นเส้นสายก็มักพบอยู่ในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่บ้างที่พบในน้ำทะเล ส่วนพวกที่เป็นหลอดหรือท่อติดต่อกันตลอดและพวกที่มีลักษณะเป็นทาลัสทั้งเล็กและใหญ่ มักจะพบในน้ำทะเลเป็นส่วนใหญ่ (ยูดี, 2549)

6. การสืบพันธุ์ สาหร่ายสีเขียวมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศแบบที่ง่ายที่สุด คือ การขาดเป็นท่อนๆ (Fragmentation) ของสายหรือกลุ่มเซลล์เป็นสองส่วนหรือมากกว่าหลายส่วน โดยแต่ละส่วนจะกลายเป็นสายใหม่หรือกลุ่มเซลล์ใหม่

6.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

การสืบพันธุ์แบบนี้ถือหลักว่า สาหร่ายมีการปล่อยโปรโตพลาซึมออกไปแล้ว โปรโตพลาซึมเหล่านี้สามารถเจริญให้สาหร่ายต้นใหม่ได้ วิธีการปล่อยโปรโตพลาซึมของสาหร่ายก็คือ การสร้างสปอร์ (Sporulation) ได้เป็น (วันเพ็ญ, 2549)

ก. ชูโอสปอร์ เกิดขึ้นโดยปกติทั่วไปจากการกระตุ้นด้วยการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมของสาหร่าย เซลล์ปกติของสาหร่ายสีเขียวมีการสร้างชูโอสปอร์ภายในอับสปอร์พิเศษ เช่น *Ulothrix* และ *Derbesia* ตามปกติแล้วมักเป็นสายที่อายุยังน้อย จำนวนชูโอสปอร์จะเพิ่มทวีคูณจาก 1 นิวเคลียส

ข. อะพลาโนสปอร์ (Aplanospores) เป็นสปอร์ที่เคลื่อนที่ไม่ได้ ไม่มีผนังเซลล์ ซึ่งแตกต่างจากผนังเซลล์ของพ่อแม่ เช่น *Trebouxia* มีการพิจารณาว่าอะพลาโนสปอร์เป็นชูโอสปอร์ที่เกิดก่อนและสามารถงอกได้

ค. ออโตสปอร์ (Autospores) เป็นอะพลาโนสปอร์ที่มีรูปร่างเหมือนพ่อแม่ พบได้ทั่วไปใน Order Chlorococcales เช่น *Oocystis* ออโตสปอร์ สร้างโดยการแบ่งตัวแบบทวีคูณในเซลล์พ่อแม่

ง. ซีโนเบีย (Coenobia) เป็นพวกกลุ่มเซลล์ที่มีจำนวนเซลล์แน่นอน เป็นพวกที่มีรูปแบบเฉพาะเจาะจง เช่น *Volvox* เป็นสกุลในกลุ่มเซลล์ จะมีการสร้างซีโนเบียจากกลุ่มเซลล์ลูกที่มีจำนวนเซลล์แน่นอน เมื่อกลุ่มเซลล์ลูกเจริญเต็มที่ ซีโนเบียลูกจะมีขนาดใหญ่ขึ้น แต่ไม่แบ่งแยกเป็นเซลล์ปกติที่ชัดเจน

6.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การสืบพันธุ์แบบนี้กระทำได้โดยการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เรียกว่า แกมีท โดยจะมีแกมีทเพศผู้ (Male gamete) และแกมีทเพศเมีย (Female gamete) การสร้างแกมีทคล้ายกับการสร้างซุโอสปอร์ รูปร่างก็คล้ายกัน แต่แกมีทมีขนาดเล็กกว่าซุโอสปอร์และมักมีแฟลกเจลลัม 2 อัน ส่วนซุโอสปอร์อาจมีมากกว่านี้และเซลล์แม่แต่ละเซลล์จะให้จำนวนแกมีทมากกว่าซุโอสปอร์ (ยิวดี, 2549)

การรวมกันของแกมีทแบบต่างๆแบ่งออกได้เป็น 2 วิธีการดังนี้คือ

ก. ไอโซแกมีท (Isogamy) หมายถึง การรวมกันของแกมีทเพศผู้และเพศเมีย ที่มีขนาดเท่ากันและเหมือนกัน ไม่สามารถบอกได้ว่าตัวใดเป็นแกมีทเพศผู้หรือแกมีทเพศเมีย แกมีทที่เหมือนกันนี้เรียกว่า ไอโซแกมีท

ข. เฮเทอโรแกมีท (Heterogamy) หมายถึง การรวมกันของแกมีทเพศผู้และเพศเมียที่มีลักษณะและขนาดต่างกัน แบ่งเป็น 2 แบบ

1. แอนไอโซแกมีท (Anisogamy) คือการรวมกันของแกมีทเพศผู้และเพศเมียที่มีขนาดไม่เท่ากันแต่รูปร่างเหมือนกัน แกมีทเพศเมียมักมีขนาดใหญ่ ส่วนแกมีทเพศผู้มักมีขนาดเล็ก

2. โอโอแกมีท (Oogamy) คือการรวมกันของแกมีทเพศผู้และเพศเมียที่มีขนาดไม่เท่ากันและรูปร่างต่างกัน แกมีทเพศเมียมักมีขนาดใหญ่กว่าและเคลื่อนที่ไม่ได้ (Non-flagellate gamete) เรียกว่า ไข่ (Egg) ส่วนแกมีทเพศผู้มักมีขนาดเล็กและเคลื่อนที่ได้ (Flagellate gamete) เรียกว่า แอนโทโรซอยด์ (Antherozoid)

การรวมกันของแกมีทเพศผู้และเพศเมียดังกล่าวนี้อาจจะเกิดจากแกมีทเพศผู้และแกมีทเพศเมียบนเส้นสายหรือทลัสต์เดียวกัน เรียกว่า โฮโมทัลลิก คอนจูเกชัน (Homothallic conjugation) ถ้าเกิดจากแกมีทต่างสายหรือต่างทลัสต์กัน เรียกว่า เฮเทอโรทัลลิก คอนจูเกชัน (Heterothallic conjugation)

เมื่อแกมีทเพศผู้และเพศเมียรวมกันแล้วจะได้ไซโกต (Zygote) ต่อมาไซโกตจะแบ่งตัวได้สปอร์หลายแบบด้วยกัน ถ้าเป็นสปอร์ที่เกิดจากการรวมของแกมีทที่มีแฟลกเจลลัมทั้งคู่เรียกว่าไซโกสปอร์ (Zygospore) ถ้าเป็นสปอร์ที่เกิดจากไซโกตที่เกิดจากการรวมกันแบบโอโอแกมีทเรียกว่า โอโอสปอร์ (Oospore) เมื่อสปอร์เหล่านี้ได้รับสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะงอกเป็นเส้นสายหรือทลัสส์ใหม่ต่อไป

2.6.3 ความสำคัญของสาหร่าย

สาหร่ายมีความสำคัญต่อมนุษยชาติในด้านต่างๆ ทั้งด้านสิ่งแวดล้อมและการนำมาใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ ดังนี้ (ยูวดี, 2548)

1. ด้านระบบนิเวศแหล่งน้ำ

เนื่องจากสาหร่ายดำรงชีวิตด้วยการสังเคราะห์แสงหรือสังเคราะห์อาหารด้วยตัวเอง ในกระบวนการดังกล่าวจะได้ออกซิเจน ซึ่งถือว่ามีผลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำมากที่สุด สาหร่ายจึงมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำอย่างสูงยิ่ง นอกจากนั้นยังเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นในแหล่งน้ำ จึงจัดเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในน้ำ ซึ่งเท่ากับเป็นสิ่งมีชีวิตในลำดับแรกของห่วงโซ่อาหารในน้ำโดยเป็นอาหารของแพลงก์ตอนสัตว์ ลูกกุ้ง ลูกปลา และสัตว์น้ำอื่นๆ

2. ด้านอาหาร

สาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ถูกใช้เป็นอาหารของสัตว์เลื้อยมานานแล้ว โดยเฉพาะแถบประเทศทางยุโรป อาจจะเป็นอาหารสดให้กับสัตว์ เช่น วัว ควาย หรือสุกร เพราะสัตว์เหล่านี้มีน้ำย่อยพิเศษที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของสาหร่ายซึ่งเป็นพวกเซลล์ลูโคสได้ รวมทั้งมนุษย์ก็บริโภคสาหร่ายทะเลมานานเช่นกัน ชาวจีนเป็นพวกแรกที่นำสาหร่ายมาทำเป็นอาหาร แต่ปัจจุบันนี้ชาวญี่ปุ่นเป็นชาติที่นิยมการบริโภคสาหร่ายทะเลกันมากที่สุด สาหร่ายทะเลที่นิยมนำมารับประทาน คือ สาหร่ายสีแดงพวก *Porphyra* spp. หรือที่เรียกว่าสาหร่ายสายใบหรืออนริในภาษาญี่ปุ่น หรือจี๋ฉ่ายในภาษาจีน สาหร่ายสีน้ำตาลพวก *Laminaria* ญี่ปุ่น เรียกคอมบุ นำมาปรุงอาหารประจำวัน ของว่างหรือของขบเคี้ยว (ยูวดี, 2549)

ประชากรแถบภาคเหนือและภาคอีสานของประเทศไทยนิยมบริโภคสาหร่ายสีเขียวพวก *Spyrogyra* spp. หรือ “เตา” หรือ “เทาน้ำ” มานาน โดยนำมาฆ่าใส่เครื่องปรุงต่างๆ เรียกว่า ยำเตา จัดเป็นอาหารพื้นบ้านที่ได้รับความนิยมมาก นอกจากนี้ยังมี “โก” หรือ *Cladophora* spp. และ *Microspora* spp. ซึ่งเป็นสาหร่ายกลุ่มแม่น้ำโขงและลุ่มน้ำ่าน ที่นำมาทำเป็นอาหารพื้นบ้านได้รับความนิยมมากเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายขนาดเล็ก เช่น *Chlorella* spp. และ *Spirulina* spp. มีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 60–70 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งยังไม่มีอาหารชนิดใดที่มีโปรตีนมากเท่าสาหร่ายดังกล่าว นอกจากนี้ยังมีวิตามิน เกลือแร่และกรดไขมันจำเป็นบางชนิดที่มีผลในการป้องกันการเกิดโรคหรือรักษาโรคบางอย่าง สาหร่ายดังกล่าวจึงกลายเป็นสาหร่ายเศรษฐกิจที่มีผู้นิยมรับประทานเป็นอาหารเสริมกันมาก โดยเฉพาะ *Spirulina* spp. สาหร่ายดังกล่าวถ้ามีคุณภาพรองลงมานำมาเลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจหลายชนิด มีผลให้สัตว์โตเร็ว นอกจากนี้ยังมีเบต้าแคโรทีน ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ให้สีส้มหรือสีแดง ซึ่งมีผลให้สัตว์เลี้ยงมีเนื้อแดง ไข่แดงมีสีแดง ปลาบางชนิดมีสีสดใสมากขึ้น

3. ด้านอุตสาหกรรม

สาหร่ายหลายชนิดมีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ มีรายละเอียดดังนี้

ก. วุ้น (Agar)

ได้มาจากสาหร่ายสีน้ำตาล เช่น *Gelidium* spp. *Gracilaria* spp. วุ้นใช้ประกอบอาหารจำพวกขนมหวานหรือใช้ทำอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ ใช้เป็นสารที่ทำให้เกิดความนุ่มและความข้นในพวกแยม ลูกอม ไอศกรีม เนย มาของเนส กั้นสนิมในอาหารกระป๋องผสมเบียร์และไวน์ให้มีสีสดใสใช้ในอุตสาหกรรมเวชภัณฑ์ เช่น ยาระบาย แคปซูลยา ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ครีม โลชั่น น้ำมันใส่ผม ใช้ย้อมเส้นด้ายให้ทอง่ายขึ้น เคลือบกระดาษ เคลือบฟิล์ม ทำกาว หมึกพิมพ์ เป็นต้น

ข. คาร์ราจีแนน

ได้มาจากสาหร่ายสีน้ำตาลเช่นเดียวกัน มีคุณสมบัติคล้ายวุ้น แต่มีปริมาณต่ำกว่าและต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่าจึงจะแข็งตัวได้ เป็นสารที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้มาจากผนังเซลล์ ใช้เป็นสารคงรูปและทำให้เกิดอิมัลชัน (Emulsifying agent) ในการทำอาหาร เช่น ไอศกรีมและผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น และเป็นสารทำให้ข้น (Thickening agent) ในครีมโกนหนวด สบู่และโลชั่นต่างๆ และยังใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ ยา เครื่องหนังและอุตสาหกรรมเครื่องคัมประเภทแอลกอฮอล์ (ยูวดี, 2549)

ค. อัลจินหรืออัลจิเนต (Algin หรือ Alginate)

ได้มาจากสาหร่ายสีน้ำตาลบางชนิด เช่น *Laminaria* spp., *Macrocystis* spp., *Ascophylum* spp. และ *Fucus* spp. เป็นต้น สารชนิดนี้อยู่ในผนังเซลล์และมิดเดิลลามেলা

อัลจินเป็นชื่อรวมของสาร 2 ตัวคือ กรดอัลจินิก ซึ่งไม่ละลายน้ำและเกลืออัลจิเนตซึ่งสามารถแยกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายน้ำได้ สารดังกล่าวเป็นสารที่ทำให้เกิดความเหนียวใช้ในอุตสาหกรรมที่ต้องการให้เกิดความเหนียว เช่น ใส่ในอาหาร เครื่องสำอาง เวชภัณฑ์ สีทาบ้านอื่นๆ (ยูวดี, 2549)

ง. ไดอะตอมไมท์ หรือ ไดอะตอมมาเซียสเอิร์ท (Diatomite หรือ Diatomaceous earth) ได้มาจากไดอะตอมที่ตายแล้วมาทับถมกัน กลายเป็นซากเหลือของผนังเซลล์ซึ่งเป็นซิลิกาที่ไม่ละลาย เกิดในสมัยเทอร์เชียรี (Tertiary) และควอเทอนารี (Quaternary) นำมาใช้เป็นเครื่องกรองในโรงงานอุตสาหกรรม ฉนวนกันความร้อนในอุปกรณ์ใช้ไฟฟ้า ใช้เป็นผงขัดเงาโลหะต่างๆ หรือ ส่วนประกอบของยาสีฟัน ในภาคเหนือมีมากที่อำเภอเกาะคา จังหวัดลำปาง

4. ด้านเกษตรกรรม

มีการนำเอาสาหร่ายมาใช้ด้านการเกษตรหลายด้านด้วยกัน ที่ชัดเจนคือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศแล้วเปลี่ยนมาเป็นแอมโมเนีย ซึ่งเป็นปุ๋ยในนาข้าวหรือแหล่งเกษตรกรรมอื่นๆ ได้ ทำให้ได้ปุ๋ยชีวภาพซึ่งช่วยให้ผลผลิตดีขึ้น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเช่น *Anabaena azollae* อาศัยอยู่ในใบของแห่นางแว่น จึงใช้แห่นางแว่นเป็นปุ๋ยพืชสดในนาข้าวได้เช่นกัน

5. ด้านการแพทย์

สาหร่ายหลายชนิดสามารถใช้เป็นยารักษาโรคได้ ดังมีรายละเอียดดังนี้

ก. ยาสมนไพร

ในประเทศจีนตอนใต้ใช้สาหร่ายสีแดง *Digenia simplex* เป็นยาถ่ายพยาธิและรักษาโรคตาขโมย ใช้โซเดียมลามินารินซัลเฟตและฟิวคอยดิน ซึ่งสกัดมาจากสาหร่ายสีน้ำตาลเป็นยาให้เลือดแข็งตัว ใช้สาหร่ายสีน้ำตาลพวก *Sargassum* spp. รักษาโรคคอกพอก ใช้สาหร่ายสีแดง *Chondrus crispus* (Iris moss) รักษาโรคท้องร่วง โรคทางเดินปัสสาวะและถ้าใส่อีกเสบ ในประเทศญี่ปุ่นมีการสกัดสารจากสาหร่าย *Spirulina* sp. นำมารักษาโรคมะเร็งบางชนิด ประชาชนแถวลุ่มน้ำนานใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Nostochopsis* sp. หรือเรียกว่า “ลอน” หรือ “ไต้หิน” แก้โรคร้อนใน

ข. ยาปฏิชีวนะ

สาหร่ายบางชนิดสามารถสร้างสารต่อต้านการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น สาร Chlorellin จากสาหร่าย *Chlorella* spp. นอกจากนี้ยังมีสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาลและไดอะตอมบางชนิด

ปัจจุบันมีการพบสารเพิ่มภูมิคุ้มกันในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิด เช่น *Nostoc* spp. ซึ่งสามารถสร้างสารเพิ่มภูมิคุ้มกันในโรคเอดส์ นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดยังสร้างสารเพิ่มภูมิคุ้มกันในโรคมะเร็งด้วย

6. ด้านบำบัดน้ำเสีย

ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียนั้น สารอินทรีย์ซึ่งมากับน้ำเสียจะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายเป็นสารอนินทรีย์ เช่น ฟอสเฟต ไนเตรท แอมโมเนียและอื่นๆ สาหร่ายสามารถใช้สารอนินทรีย์เหล่านี้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม ทำให้น้ำเสียมีปริมาณสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ลดลง พร้อมกันนั้นแหล่งน้ำจะมีออกซิเจนเพิ่มขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย มีผลให้คุณภาพน้ำดีขึ้น

ก. ด้านการใช้เป็นสิ่งมีชีวิตติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำ

สาหร่ายหลายชนิดสามารถเจริญในแหล่งน้ำที่มีคุณภาพต่างกัน เช่น *Euglena* spp. และ *Oscillatoria* spp. สามารถเจริญในน้ำที่มีสารอินทรีย์สูงหรือน้ำที่มีคุณภาพไม่ดี ในขณะที่สาหร่ายสีเขียวกลุ่มเดสมิดส์ เช่น *Clostridium* spp. หรือ *Staurastrum* spp. เจริญในน้ำที่มีสารอาหารน้อยหรือน้ำที่มีคุณภาพดี ซึ่งจะนำไปสู่การใช้สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้ติดตามตรวจสอบสภาวะแวดล้อมทางน้ำได้อีกทางหนึ่ง นอกจากการตรวจสอบคุณภาพของน้ำทางกายภาพหรือทางเคมี ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดี

ข. ด้านการผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อวงการอุตสาหกรรมหลายชนิด

ปัจจุบันได้มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายมากขึ้น เช่น เอนไซม์หลายชนิดและบางชนิดมีความเป็นไปได้สูงในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรม สารโพลีเมอร์และรงควัตถุจากสาหร่ายหลายชนิดสามารถนำไปใช้ในวงการอุตสาหกรรมด้านอาหาร เครื่องสำอาง และเวชภัณฑ์

2.6.4 *Chlamydomonas* sp.

Chlamydomonas spp. เป็นสาหร่ายสีเขียวที่พบได้ในบริเวณทั่วไป เช่น ดิน แหล่งน้ำและหิมะที่อยู่บนภูเขาสูง เป็นต้น สาหร่ายชนิดนี้มีการจัดลำดับ ดังนี้

Kingdom : Protista

Division : Chlorophyta

Class : Chlorophyceae

Order : Volvocales

Family : Chlamydomonadaceae

Genus : *Chlamydomonas*

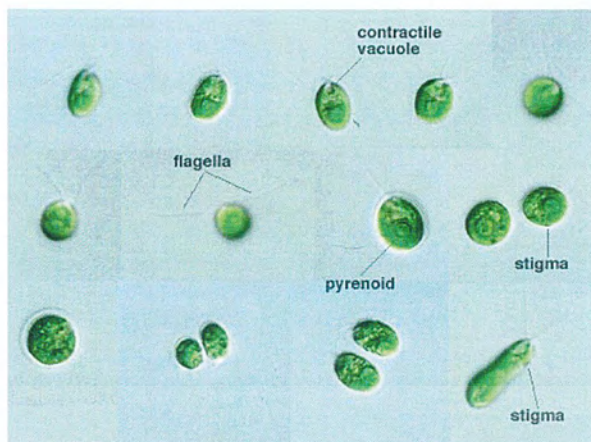


รูปที่ 2.15 สาหร่าย *Chlamydomonas* sp.

ที่มา : <http://www.arcus.org/TREC/VBC/index.php?showtopic=1148>

จีโนส *Chlamydomonas* spp. ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวที่เคลื่อนไหวได้ รูปร่างกลมรี หรือทรงกระบอก ขนาดยาว 16 – 25 ไมโครเมตร กว้าง 12 – 17 ไมโครเมตร (รูปที่ 2.15) ผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลล์ลูโลส มีเมือกหรือวุ้นหุ้มด้านบนมีแฟลกเจลลา 2 เส้น มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย หรือ รูปตัว H หรือแฉก บนคลอโรพลาสต์ มีไพรีนอยด์ 1 อันหรือมากกว่า นอกจากนี้ยังมีสติมาบนคลอโรพลาสต์ทำหน้าที่รับแสง มีตำแหน่งอยู่ด้านบนของเซลล์ใกล้แฟลกเจลลา บริเวณใต้แฟลกเจลลาด้านบนลงมามีคอนแทรกไทล์เวคคิวโอลซึ่งจะทำหน้าที่ขับของเสีย มีนิวเคลียส 1 อันอยู่ตรงกลางเซลล์แต่สังเกตเห็นได้ไม่ชัดเพราะมีคลอโรพลาสต์บังอยู่ (เบ็ญจา, 2526) (ดังรูปที่ 2.16)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.16 ลักษณะของสาหร่าย *Chlamydomonas* spp.

ที่มา : <http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB2/PCD3515/htmls/97.html>

สาหร่ายจีนส์นี้มีจำนวนมากหลายร้อยชนิด เมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมบางชนิดอาจจะสร้างแคโรทีนอยด์ชั้นที่สอง ทำให้มีสีส้มหรือแดงและผนังเซลล์หนาขึ้นกลายเป็นอะคินีทได้ (ยูวดี, 2549)

2.6.5 *Chlorella* sp.

สาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถจัดลำดับตามอนุกรมวิธานได้ดังนี้ (ลัดดา, 2542)

Division : Chlorophyta

Class : Chlorophyceae

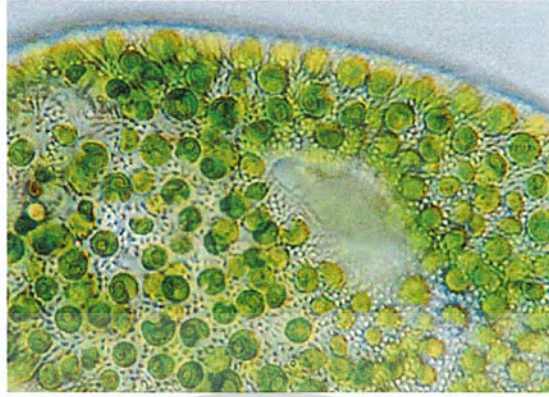
Order : Chlorellales

Family : Chlorellaceae

Genus : *Chlorella*

Chlorella spp. เป็นพวกเซลล์เดี่ยวและไม่เคลื่อนที่ มีขนาดเล็กประมาณ 2 – 12 ไมโครเมตร รูปร่างทรงกลมหรือเป็นรูปไข่ (รูปที่ 2.17) ผนังเซลล์ค่อนข้างบาง คลอโรพลาสต์มักอยู่ด้านข้างหรือเป็นรูปถ้วย (ยูวดี, 2549) มีไพรินอยด์ 1 อันบนคลอโรพลาสต์ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเพียงอย่างเดียว โดยการสร้างอโตสปอร์ซึ่งมีจำนวน 4 8 และ 16 สปอร์ (กาญจนภาชน์, 2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.17 สาหร่าย *Chlorella* sp.

ที่มา : http://www.jashbotanicals.com/articles/chlorella_mercury_detox.html

Chlorella spp. เป็นสาหร่ายที่พบได้ทั่วไป โดยเฉพาะในดิน แม้กระทั่งในขดน้ำดื่มหรือถังบรรจุน้ำที่ไม่ค่อยได้ล้างก็จะพบเสมอและมักจะพบอาศัยอยู่ร่วมกันแบบซิมไบโอซิส (symbiosis) กับสัตว์ เช่น พารามีเซียม ไฮดรา ฟองน้ำ เป็นต้น เป็นสาหร่ายที่ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์มาก เนื่องจากมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 50 – 60 ของน้ำหนักแห้ง (กาญจนภานันท์, 2527) จึงถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพของคนถ้ามีคุณภาพสูง แต่ถ้ามีคุณภาพรองลงไปก็จะนำไปใช้ในอาหารเสริมของสัตว์ นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถสร้างปฏิชีวนะสารชื่อ คลอเรลลิน (chlorellin) อีกด้วย (ยุวดี, 2549)

2.6.6 *Scenedesmus* sp.

สาหร่าย *Scenedesmus* sp. สามารถจัดลำดับได้ดังนี้

Kingdom : Protista

Division : Chlorophyta

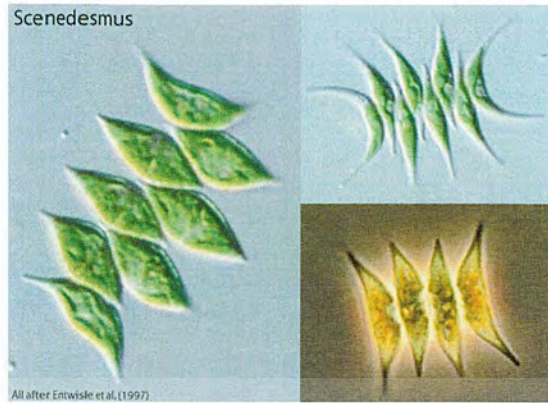
Class : Chlorophyceae

Order : Chlorococcales

Family : Scenedesmaceae

Genus : *Scenedesmus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.18 สาหร่าย *Scenedesmus* sp.

ที่มา : <http://vijversenkoi.be/detail.php?instance=1&id=190>

เป็นโคโลนีที่ประกอบด้วยเซลล์จำนวน 2, 4, 8 หรือ 16 เซลล์ มาเรียงต่อกันด้านข้างตามความยาวของเซลล์ (ดังรูปที่ 2.19) แต่ละเซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่ ทรงกระบอกหรือพระจันทร์ครึ่งเสี้ยว เซลล์ที่อยู่ด้านริมสุดทั้งสองด้านอาจมีหนาม (spine) ยื่นออกมา (รูปที่ 2.20) บางชนิดก็ไม่มี คลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์มีไฟรีนอยด์และนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อันเท่ากับจำนวนเซลล์ปกติของ *Scenedesmus* ชนิดนั้น เมื่อแก่ก็จะหลุดออกมาจากผนังเซลล์ของมาจับกันเป็น โคโลนีใหม่ ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยการสร้างแกมีทที่มีแฟลกเจลลัม 2 เส้น แล้วมีการรวมกันแบบไอโซแกมีท เป็นสาหร่ายที่มีชีวิตแบบแพลงก์ตอนพืช ในน้ำจืดหรืออาจพบในดินบ้าง ถ้านำมาเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงสาหร่ายมักจะ ไม่จับกันเป็นโคโลนี แต่มักจะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว (ยูวดี, 2549)



รูปที่ 2.19 ลักษณะของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.

ที่มา : http://www.biologie.uni-ulm.de/lehre/botanik/systematik/pdf/chlorophyta_web.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย มีงานวิจัยสนับสนุนคุณประโยชน์ในด้านต่างๆ ของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก เช่น สาหร่าย *Chlorella* spp. เป็นสาหร่ายที่มีปริมาณโปรตีนสูงมาก กระตุ้นการเจริญเติบโต เสริมภูมิคุ้มกันร่างกาย ป้องกันอนุมูลอิสระเนื่องจากอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ เบต้าแคโรทีนและวิตามินบีคอมเพล็กซ์ มีปริมาณคลอโรฟิลสูง ช่วยในกระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดง ช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานดีขึ้นและเป็นแหล่งวิตามิน เกลือแร่ สามารถล้างพิษในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารอาหารที่มีประโยชน์สูง ดังนั้นศาสตร์เกี่ยวกับธรรมชาติบำบัดจึงนิยมนำไปใช้ในการเสริมภูมิคุ้มกัน สมานแผล ด้านสารพิษต่างๆ ช่วยย่อย ปรับการทำงานของกระเพาะอาหารและลำไส้ ใช้กระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตและช่วยสร้างเนื้อเยื่อในร่างกาย ชะลอความชรา ตลอดจนป้องกันอันตรายจากกัมมันตภาพรังสี ([http:// www.tistr.or.th](http://www.tistr.or.th))

จิติกานต์ (2551) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ *Spirogyra* spp. หรือสาหร่ายเตา โดยเก็บรวบรวมจากบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายเตา บ้านคูหา ต.สวนเขื่อน อ.เมือง จ.แพร่ เป็นตัวอย่างที่นำมาศึกษา วัตถุประสงค์สาหร่ายจนแห้งแล้วนำสกัดด้วยน้ำ นำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 7 วิธี ได้แก่ Scavenging activity of ABTS+ radical cation, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, Hydroxyl (OH) radical scavenging activity, Lipid peroxidation, Metal chelating activity Reducing power และ Superoxide radical-scavenging activity พบว่าวิธีทดสอบสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด คือ วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity รองลงมาคือ Metal chelating activity, Superoxide radical-scavenging activity, Scavenging activity of ABTS+ radical cation Hydroxyl (OH) radical scavenging activity และ Lipid peroxidation ตามลำดับ โดยมีความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้นลงได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) เป็น 0.05 0.24 0.88 1.58 1.97 และ 7.61 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระจากวิธี reducing power มีค่า 1.73 จากตัวอย่าง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบเท่ากับกรดแกลลิก 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Chewa และคณะ (2008) ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลกินได้ 3 สายพันธุ์ จากสองพื้นที่ในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total

phenolic content , TPC) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity , AOA) ของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลชนิดนี้ เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนักวิทยาศาสตร์หรือนักวิจัยสนใจเอกสารฉบับนี้ กรุณาติดต่อขอเอกสารฉบับเต็มได้ที่ library@kmutt.ac.th หรือ www.kmutt.ac.th ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดจากสาหร่ายทะเลจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Padina antillarum*, *Caulerpa racemosa* และ *Kappaphycus alvarezzi* โดยใช้เมทานอลในน้ำความเข้มข้นร้อยละ 50 การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใช้วิธีการ Folin–Ciocalteu การศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระใช้วิธีการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging) การทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์เหล็ก (ferric reducing antioxidant power, FRAP) การทดสอบความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน (ferrous ion chelating, FIC) และการทดสอบการฟอกจางสีของเบต้าแคโรทีน (beta carotene bleaching, BCB) จากการศึกษาพบว่า *P. antillarum* มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดและมีค่า ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) มากที่สุด มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์สูงสุด มีค่าความสามารถในการรวมตัวสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับ *C. racemosa* และ *K. alvarezzi* อย่างไรก็ตามค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทดสอบการฟอกจางสีของเบต้าแคโรทีนมีค่าใกล้เคียงกัน

Herrero และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการที่เหมาะสมในการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายแบบเร่ง เพื่อสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Spirulina platensis* จากการศึกษา การสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เฮกเซน ปีโตรเลียม อีเทอร์ เอทานอลและน้ำ โดยกระบวนการสกัดจะใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์และวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายแบบเร่ง ซึ่งจากแบบจำลองพบว่า การสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายเป็นวิธีที่เหมาะสมในการสกัด ซึ่งโดยทั่วไปให้การยอมรับว่าปลอดภัยและให้ปริมาณผลได้สูง รวมทั้งมีความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระสูง

Hu และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย *Dunaliella salina* ที่เพาะเลี้ยงในไต้หวันและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้ โดยวิเคราะห์ด้วย HPLC ในการจำแนกชนิดของแคโรทีนอยด์ โดยการวิเคราะห์ใช้คอลัมน์ C30 และระบบของเฟสเคลื่อนที่เป็นตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เมทานอล-อะซิโตไนล์-น้ำ (84/14/2, v/v/v) และเมททีลินคอลลีไรต์, (75/25, v/v) ควบคุมอัตราการไหลที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาทีและจะทำการวัดแคโรทีนอยด์ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรและทำการตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย โดยเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับ Trolox (Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay) ความสามารถในการรีดิวซ์

(Reducing power) และความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้ไปเผยแพร่บนช่องทางใดก็ตามไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.1.1 สารเคมี

1. Absolute ethanol ยี่ห้อ Lab-Scan (Analytical reagent)
2. Ammonium molybdate powder ยี่ห้อ Ajax Finechem # AF705163
3. Ammonium thiocyanate ยี่ห้อ Merck # 101213
4. BHT (Butylated hydroxy toluene) ยี่ห้อ Aldrich # B1378
5. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ยี่ห้อ Sigma # D9132
6. EDTA disodium salt ยี่ห้อ Merck # 108418
7. Ferrozine ยี่ห้อ Fluka # 82950
8. Folin-Ciocalteu phenol reagent ยี่ห้อ Merck # 109001
9. Gallic acid monohydrate ยี่ห้อ Aldrich # 27645
10. Iron (II) chloride tetrahydrate ยี่ห้อ Merck # 103861
11. Sodium dihydrogen phosphate monohydrate ยี่ห้อ Merck # 6346
12. Tween 20 ยี่ห้อ Merck # 822184
13. BG-11 (ภาคผนวก ก)
14. N-8 (ภาคผนวก ก)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. โกร่งบด (Mortar)
2. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) ยี่ห้อ Contherm รุ่น Thermotech 2000 OVEN
3. เครื่องชั่งน้ำหนักที่ตำแหน่ง ยี่ห้อ Ohaus รุ่น AR 2140
4. เครื่องเขย่า (Shaker) ยี่ห้อ Jeio Tech รุ่น SK-71
5. เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น DC1/IHO
6. ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (Laminar air flow) ยี่ห้อ Maxel Technology รุ่น LA-CLEANLINE BS-120
7. เครื่องเติมอากาศ (Pump) ยี่ห้อ LifeTech รุ่น Aquarium air pump 9830
8. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Sanyo รุ่น FALCON 6/300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. ตู้แช่แข็ง (Freezer) ยี่ห้อ Sanyo รุ่น MDF-U4086S
10. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker incubator) ยี่ห้อ Lab companion รุ่น BS-21
11. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo รุ่น Helios α
12. เครื่องทำแห้งเยือกแข็งภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Lyophilize) ยี่ห้อ Heto รุ่น Lyolab

3000

13. ตู้เย็นเก็บตัวอย่างสาหร่าย ยี่ห้อ Sanyo รุ่น SR-F616NC MS
14. หม้อนึ่งออคโอ (Autoclave) ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HA-300 M IV
15. สไลด์นับเซลล์ Haemocytometer ยี่ห้อ Boeco
16. กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus รุ่น CH30
17. อ่างเมทานอลอุณหภูมิต่ำ ยี่ห้อ Heto รุ่น CBN 18-50
18. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ PolyScience รุ่น 20L-M

3.1.3 ตัวอย่างสาหร่าย

ตัวอย่างสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่นำมาศึกษาเป็นสาหร่ายที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กที่คัดแยกได้จากธรรมชาติ 3 สายพันธุ์

นำตัวอย่างสาหร่ายที่คัดแยกได้มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งโดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร N-8 ส่วนสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 เพาะเลี้ยงบนอาหาร BG-11 เพื่อให้ได้สาหร่ายที่บริสุทธิ์ (Pure culture) ก่อนที่จะนำไปเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อเตรียมเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (Large scale) โดยมีวิธีการดังนี้

3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

1. เตรียมอาหารแข็ง สูตร BG-11 และ N-8 ในจานเพาะเลี้ยง
2. เลือกจานเพาะเลี้ยงที่ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นปนเปื้อนมาทำการคัดแยกสาหร่ายที่เก็บไว้ในหลอดอาหารผิวแข็ง ด้วยเทคนิค Cross Streak เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์

3. นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน โดยมีการให้แสงสว่างตลอดเวลา ด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์)

4. เลือกโคโลนีเดี่ยวที่เจริญบนอาหารมาส่งดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยดูลักษณะของ

เซลล์และองค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อยืนยันผลว่าเป็นสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนักผู้ใดเห็นชอบให้เผยแพร่ขึ้นต้นการดำเนินงานไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ที่ต้องการและเก็บโคโลนีของสาหร่ายบริสุทธิ์แต่ละสายพันธุ์ลงในหลอดอาหาร เพื่อเก็บเป็นหัวเชื้อสำหรับนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.1.2 การเตรียมหัวเชื้อของสาหร่าย

1. เตรียมอาหารเหลวสูตร BG-11 และสูตร N-8 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรขวดละ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำอาหารที่เตรียมได้ไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
2. ถ่ายตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บเป็นหัวเชื้อไว้บนอาหารผิวเอียงลงในอาหารเหลวที่เตรียมไว้ ขวดละ 3 ลูป (Loop) ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
3. นำขวดอาหารที่ลงเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยง โดยเฉพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ควบคุมอัตราการเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เพื่อเป็นการให้อากาศและมีการให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์อย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.7 ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (มีปริมาณเซลล์ 10^6 - 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) จึงนำไปเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณที่มีขนาดใหญ่ต่อไป

3.2.1.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย เพื่อเพิ่มปริมาณที่มีขนาดใหญ่ (Large scale)

1. นำถังน้ำพลาสติกขนาด 6 ลิตร ไปฆ่าเชื้อโดยการลวกน้ำร้อน
2. เตรียมอาหารเหลว ปริมาตร 4 ลิตร ลงในถังน้ำพลาสติกขนาด 6 ลิตร
3. เติมหัวเชื้อสาหร่ายที่เตรียมไว้ (จากข้อ 3.2.1.2) ลงไปร้อยละ 20 ของปริมาตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง(4 ลิตร)
4. ต่อสายยางจากเครื่องเติมอากาศ (Pump) ลงในแต่ละถังเพาะเลี้ยงให้มีความแรงของอากาศพอเหมาะและมีการให้แสงตลอดเวลา ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งเซลล์ของสาหร่ายอยู่ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) จึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์

3.2.1.4 การเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย

1. ปิดเครื่องเติมอากาศ เอาสายยางที่ให้อากาศออก จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เซลล์สาหร่ายตกตะกอนลงมาที่ก้นถังเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 1 – 2 วัน สังเกตสารละลายส่วนบนของอาหารหากมีความขุ่นหรือเขียวอยู่ ให้ตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งสารละลายส่วนบนใส
2. เทสารละลายใสส่วนบนออก นำส่วนตะกอนของสาหร่ายบริเวณก้นถังไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
3. เทสารละลายใสส่วนบนทิ้งไปและนำตะกอนเซลล์ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย เพื่อใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ

3.2.2.1 นำตัวอย่างสาหร่ายแห้งที่ได้มาบด เพื่อให้ผนังเซลล์ของสาหร่ายแตก ด้วยวิธีทางกลโดยใช้โกร่งบดเป็นเวลา 15 นาที ด้วยแรงที่คงที่

3.2.2.2 เก็บตัวอย่างสาหร่ายที่บดแล้วในภาชนะบรรจุที่สะอาดและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปทำการศึกษาต่อไป

3.2.3 การสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

นำสาหร่ายที่เตรียมไว้มาทำการทดลองสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล และน้ำร้อน ซึ่งมีวิธีการสกัด โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Jaime และคณะ (2010) ดังนี้

3.2.3.1 การสกัดด้วยน้ำ

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

2. นำส่วนผสมที่ได้จากการสกัดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส

3. แยกส่วนใสด้านบนออกและนำส่วนเซลล์ (Pellet) ไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยวิธีเดิม จากนั้นนำส่วนใสที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้งไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง เก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปทำการศึกษาต่อไป

3.2.3.2 การสกัดด้วยเอทานอล

1. นำตัวอย่างสาหร่าย 10 กรัม มาสกัดด้วยเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำส่วนผสมมาเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

2. นำส่วนผสมที่ได้จากการสกัดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส

3. แยกส่วนใสด้านบนออกและนำส่วนเซลล์ (Pellet) ไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยวิธีเดิม นำส่วนใสที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้งไประเหยเอาเอทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง เก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปทำการศึกษาต่อไป

3.2.4 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

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

1. นำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ละลายในเอทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตรในหลอดทดสอบ
2. เติม Folin-Ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้ส่วนผสมเข้ากัน
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน
4. ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นแล้วเขย่าส่วนผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
5. นำส่วนผสมไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
6. นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าดูดกลืนแสง

3.2.5 การประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

3.2.5.1 ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม (Total antioxidant capacity) ดัดแปลงมาจาก Pan และคณะ (2007); Prieto และคณะ (1999) มีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

1. นำสารสกัดหยาบความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดสอบที่มีสารละลายผสม (เตรียมจากกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์และแอมโมเนียมโมลิบเดต ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอด เขย่าให้ส่วนผสมเข้ากัน
2. นำส่วนผสมของสารละลายที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 60 90 120 และ 150 นาที เมื่อครบเวลาที่บ่ม นำส่วนผสมมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง
3. นำส่วนผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร เทียบกับ blank ซึ่งค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของตัวอย่างพิจารณาจากค่าดูดกลืนแสงที่ได้ โดยทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ blank ได้แก่สารละลายผสม (กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ และแอมโมเนียมโมลิบเดต ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 3 มิลลิลิตรและผสมด้วยตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสกัดหยาบ 0.3 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้จะต้องบ่มในสภาวะเดียวกับการทดสอบตัวอย่าง

3.2.5.2 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical) ดัดแปลงจากวิธีการของ Kumar และคณะ (2008) มีวิธีการดังนี้

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ใน Absolute ethanol
2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT (ใช้เป็นสารมาตรฐานที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) ความเข้มข้น 0.025 – 0.200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรใน Absolute ethanol
3. เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.4 - 2.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน Absolute ethanol และน้ำ (ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด)
4. เติมสารละลายของสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดสอบที่มีสารละลาย DPPH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมทันทีหลังจากเติม DPPH
5. เก็บส่วนผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
6. นำส่วนผสมไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องยูวี/วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
7. บันทึกค่าดูดกลืนแสงและนำค่าดูดกลืนแสง ที่ได้ไปคำนวณหาร้อยละความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging capacity) โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT

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

กำหนดให้ $A_0 = A_{517}$ ของ DPPH ที่ไม่เติมตัวอย่างสารสกัด

$A = A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดผสมกับ DPPH

$A_b = A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดที่ไม่เติม DPPH

8. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง ที่สามารถกำจัดสารอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่ายหรือสารมาตรฐาน BHT

3.2.5.3 การตรวจสอบความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion - chelating ability assay) คัดแปลงจากวิธีการของ 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. เติมสารละลายเฟอร์รัสคลอไรด์เตตระไฮเดรท ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน

3. เติมสารละลาย Ferrozine ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากันเพื่อเริ่มปฏิกิริยา จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

4. นำส่วนผสมของสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

5. นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน 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

- หมายเหตุ 1. ปฏิกิริยาควบคุม (Control) ให้ใช้ตัวทำละลาย 2 มิลลิลิตรแทนสารสกัด
2. blank ให้ใช้น้ำกลั่นปริมาตร 0.2 มิลลิลิตรแทนสารละลาย ferrozine
3. blank ของ A_0 A_1 A_2 เมื่อวัดสารสกัดด้วยเอทานอลใช้เอทานอลต่อน้ำ 2:3 มิลลิลิตร เมื่อวัดสารสกัดด้วยน้ำร้อนให้ใช้น้ำกลั่น

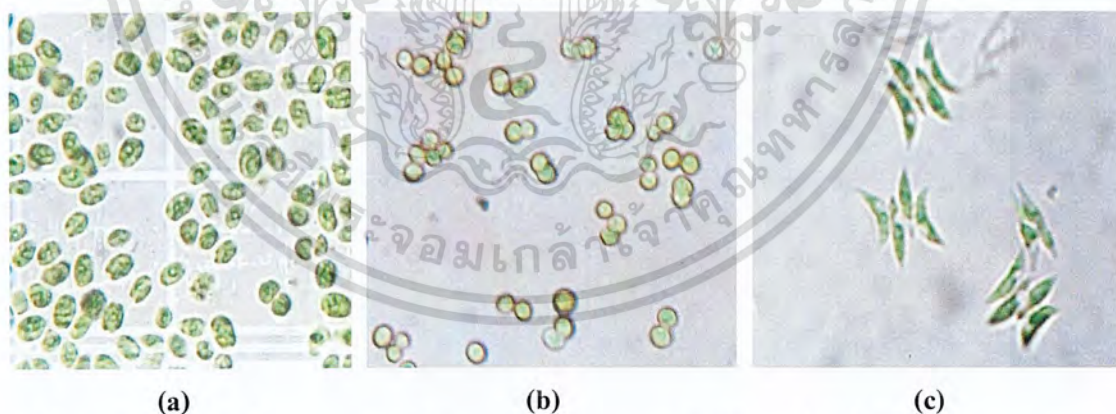
3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ โดยใช้แผนการทดลองแบบ complete randomized design วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ที่คัดแยกได้จากธรรมชาติ 3 สายพันธุ์

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlamydomonas* sp.W53 *Chlorella* sp. W53 และ *Scenedesmus* sp. W53 โดยเพาะเลี้ยง *Chlamydomonas* sp. W53 ในอาหารสูตร BG-11 ส่วน *Chlorella* sp. W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 ในอาหารสูตร N-8 ซึ่งลักษณะเซลล์ของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทำการเพาะเลี้ยงแสดงในรูปที่ 4.1 โดยที่ *Chlamydomonas* sp. W53 มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างกลมรีขนาดใหญ่ คลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย มีสีเขียวของคลอโรพิลล์ มีแฟลกเจลลาและเมือกหรือวุ้นหุ้ม ส่วน *Chlorella* sp.W53 พบว่ามีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างกลม คลอโรพลาสต์อยู่ด้านข้างเป็นรูปถ้วย มีสีเขียวของคลอโรพิลล์ สาหร่าย *Scenedesmus* sp.W53 มีลักษณะเป็นโคโคนีประกอบด้วยเซลล์จำนวน 2-4 เซลล์มาเรียงต่อกันด้านข้างตามความยาวของเซลล์ แต่ละเซลล์มีลักษณะเป็นรูปพระจันทร์ครึ่งเสี้ยวและมีสีเขียวของคลอโรพิลล์เช่นเดียวกัน



รูปที่ 4.1 ลักษณะเซลล์ของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ 3 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงที่กำลังขยาย 400 เท่า

(a) *Chlamydomonas* sp.W53 (b) *Chlorella* sp.W53 (c) *Scenedesmus* sp.W53

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่มีค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์สาหร่ายเป็น 0.7 ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร มีจำนวนเซลล์ประมาณ 10^6 ถึง 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 20 โดยปริมาตรและใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาติให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 เท่ากับ 15 13 และ 10 วัน ตามลำดับ ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เซลล์สาหร่ายอยู่ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายโดยการตกตะกอนและปั่นเหวี่ยง จากนั้นนำเซลล์ของสาหร่ายที่ได้ไปทำแห้ง จากการทดลองพบว่าการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในถังเพาะเลี้ยงขนาด 6 ลิตร ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงปริมาตร 4 ลิตรจะได้น้ำหนักของเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 คิดเป็น 0.89 1.17 และ 1.46 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่าผลได้ของเซลล์สาหร่ายแห้งที่ทำการเพาะเลี้ยงในถังน้ำขนาด 4 ลิตรเมื่อทำแห้ง

ชนิดสาหร่าย	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
<i>Chlamydomonas</i> sp.W53	0.89
<i>Chlorella</i> sp.W53	1.17
<i>Scenedesmus</i> sp.W53	1.46

4.2 ผลได้และคุณลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์

จากการสกัดสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 โดยนำเซลล์สาหร่ายแห้งที่ผ่านการบดเป็นผงมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอลร้อยละ 95 และน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ทำการสกัด 3 ครั้ง ผลการสกัดพบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด การสกัดครั้งที่ 1 จะได้สารสกัดมากที่สุดและปริมาณของสารสกัดจะลดลงในการสกัดครั้งต่อไปตามลำดับ

สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 ที่ได้มีลักษณะเหนียวหนืด ละลายได้ดีในเอทานอล สารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 มีสีเขียวเข้มอมดำ สารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella* sp.W53 มีสีเขียวเข้มและสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.W53 มีสีเขียวมืดเหลือง ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 ทั้งนี้สีของสารสกัดหยาบของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์อาจเกิดจากสารสีที่มีอยู่ในเซลล์ของสาหร่ายนั้น ได้แก่ สารสีเขียวเกิดจากคลอโรฟิลล์ชนิดเอ และบี ซึ่งพบในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กทั้ง 3 สายพันธุ์ซึ่งเห็นเป็นสีเขียว นอกจากนี้ยังมีสารสีเหลืองที่เกิดจากแคโรทีนอยด์ซึ่งในเซลล์สาหร่ายจะพบบริเวณด้านนอกของคลอโรพลาสต์ จะทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้สาหร่ายมีสีเหลืองหรือสีส้มแดง แคลโรทีนอยด์ของสาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่เป็นชนิดบีตา-แคลโรทีน (วันเพ็ญ, 2549) และเมื่อคำนวณปริมาณผลได้ของสารสกัดหยาบ พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 มีร้อยละของผลได้มากที่สุดเท่ากับ 14.23 ± 4.05 รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 มีร้อยละของผลได้เท่ากับ 13.59 ± 2.25 และ 12.02 ± 2.82 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ผลได้ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) และคุณลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสกัดด้วยเอทานอล

สาหร่าย	ค่าเฉลี่ยผลได้ ¹ (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)	ผลได้รวม ^{2 ns} (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)	ลักษณะของสารสกัดหยาบ
<i>Chlamydomonas</i> sp.W53			
E1 ³	9.26 ± 1.55		มีลักษณะเหนียวหนืด
E2	3.50 ± 0.93	14.23 ± 4.05	มีสีเขียวเข้มอมดำ
E3	1.46 ± 0.16		ละลายได้ดีในเอทานอล
<i>Chlorella</i> sp.W53			
E1	7.04 ± 3.18		มีลักษณะเหนียวหนืด
E2	3.86 ± 0.91	13.59 ± 2.25	มีสีเขียวเข้ม
E3	2.69 ± 0.91		ละลายได้ดีในเอทานอล
<i>Scenedesmus</i> sp.W53			
E1	7.18 ± 0.71		มีลักษณะเหนียวหนืด
E2	3.05 ± 0.22	12.02 ± 2.82	มีสีเขียวอมเหลือง
E3	1.79 ± 1.20		ละลายได้ดีในเอทานอล

หมายเหตุ

- ¹ ผลได้เป็นร้อยละน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้ในการสกัดครั้งที่ 1, 2 และ 3 โดยแต่ละค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=2)
- ² ผลได้เป็นร้อยละน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้ในการสกัดรวมทั้ง 3 ครั้ง โดยแต่ละค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=2)
- ^{ns} หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
- ³ E1, E2 และ E3 หมายถึง การสกัดด้วยเอทานอลครั้งที่ 1, 2 และ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

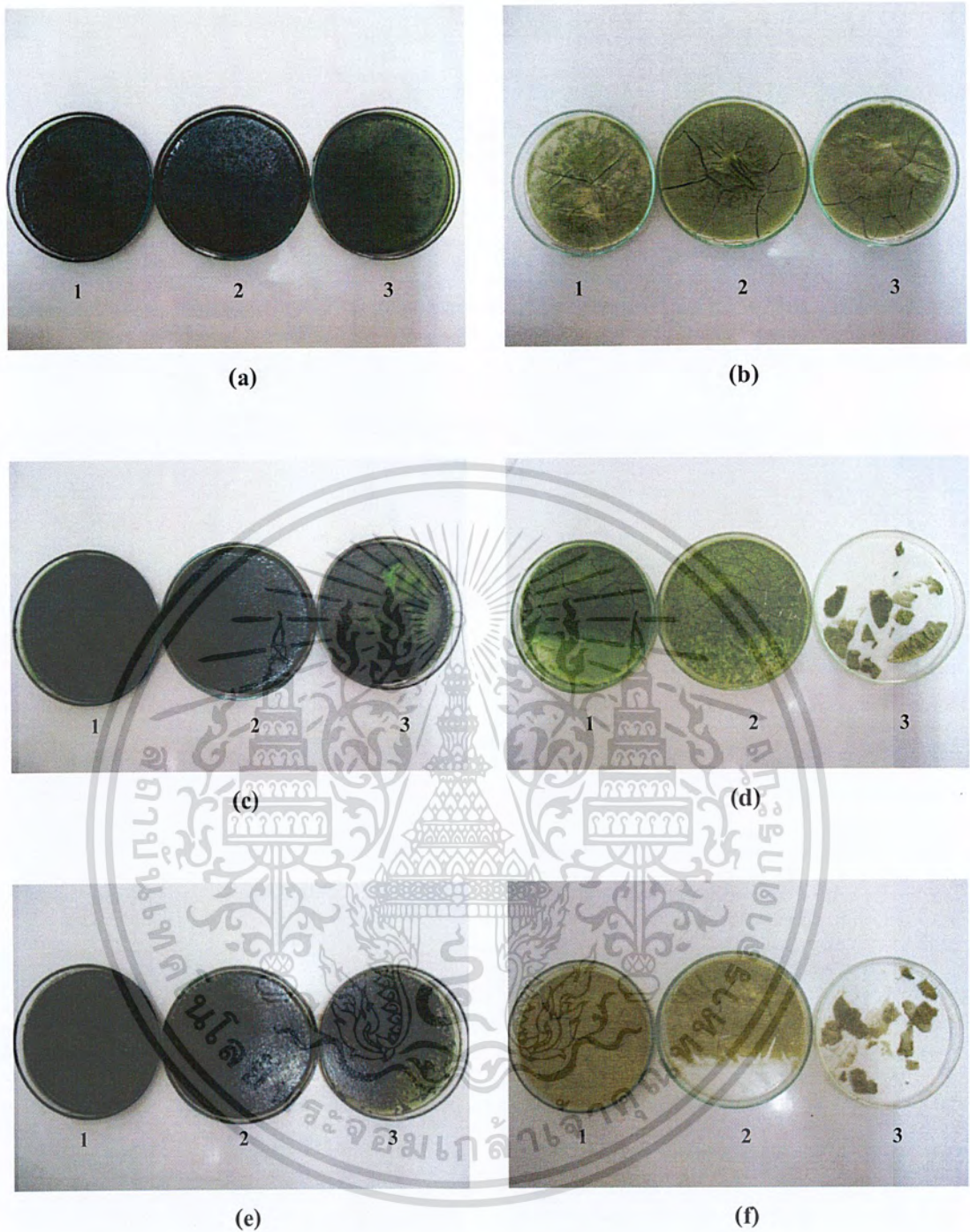
ส่วนสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ได้มีลักษณะคล้ายกันคือ มีลักษณะเป็นผงแห้ง ละลายได้ดีในน้ำ แต่สารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 มีสีเขียวอ่อน ส่วนสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella* sp.W53 มีสีเขียวเข้มและสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.W53 มีสีเขียวอมเหลือง ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.2 สารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 มีร้อยละของผลได้มากที่สุดเท่ากับ 26.99 ± 1.86 รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 มีร้อยละของผลได้เท่ากับ 19.15 ± 4.88 และ 16.99 ± 4.00 ตามลำดับ จากการศึกษพบว่าร้อยละของผลได้ของสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำร้อนจะมากกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ธนิษฐา (2550) ที่ทำการสกัดสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยน้ำและเอทานอล โดยร้อยละของผลได้ของสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลของสาหร่ายดังกล่าวเท่ากับร้อยละ 12.61 และ 4.44 ตามลำดับ เนื่องจากน้ำมีความเป็นขั้วสูงกว่าเอทานอล ดังนั้นจึงสามารถละลายสารประกอบต่างๆที่มีอยู่ในสาหร่ายได้มากกว่าเอทานอล

ตารางที่ 4.3 ผลได้ (ร้อยละของน้ำหนักรวบรวม) และคุณลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย สกัดด้วยน้ำร้อน

สาหร่าย	ค่าเฉลี่ยผลได้ ¹ (ร้อยละน้ำหนักรวบรวม)	ผลได้รวม ² (ร้อยละน้ำหนักรวบรวม)	ลักษณะของสารสกัดหยาบ
<i>Chlamydomonas</i> sp.W53.			
W1 ⁴	11.08 ± 3.76		มีลักษณะเป็นผงแห้ง
W2	8.43 ± 3.95	26.99 ± 1.86 ^{a3}	มีสีเขียวอ่อน
W3	7.49 ± 1.24		ละลายได้ดีในน้ำ
<i>Chlorella</i> sp.W53			
W1	11.69 ± 2.23		มีลักษณะเป็นผงแห้ง
W2	5.23 ± 1.95	19.15 ± 4.88 ^b	มีสีเขียวเข้ม
W3	2.23 ± 1.13		ละลายได้ดีในน้ำ
<i>Scenedesmus</i> sp.W53			
W1	9.70 ± 0.81		มีลักษณะเป็นผงแห้ง
W2	5.59 ± 0.95	16.99 ± 4.00 ^b	มีสีเขียวอมเหลือง
W3	1.70 ± 1.20		ละลายได้ดีในน้ำ

หมายเหตุ

- 1 ผลได้เป็นร้อยละน้ำหนักรวบรวมของสารสกัดที่ได้ในการสกัดครั้งที่ 1, 2 และ 3 โดยแต่ละค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=2)
- 2 ผลได้เป็นร้อยละน้ำหนักรวบรวมของสารสกัดที่ได้ในการสกัดรวมทั้ง 3 ครั้ง โดยแต่ละค่าแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=2)
- 3 a, b ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05)
- 4 W1, W2 และ W3 หมายถึง การสกัดด้วยน้ำร้อนครั้งที่ 1, 2 และ 3

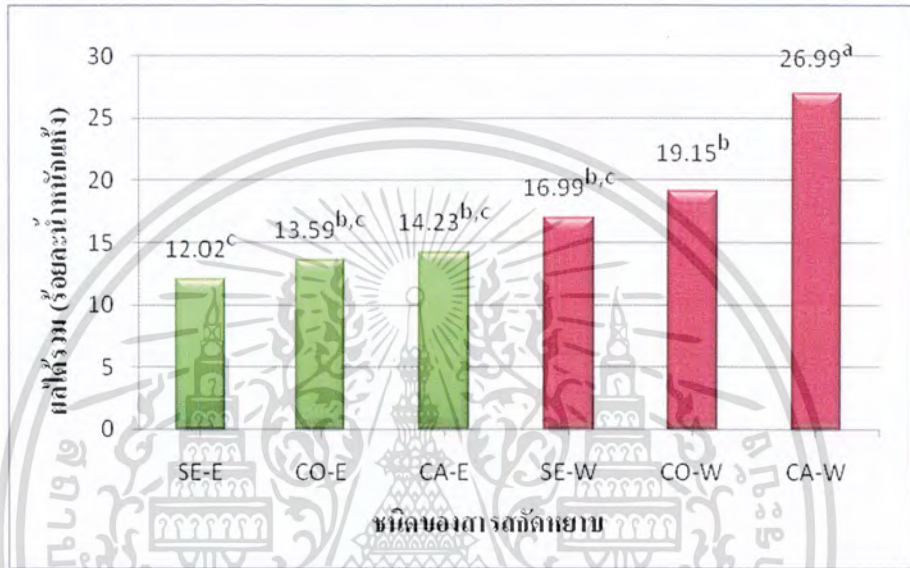


รูปที่ 4.2 ลักษณะสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์

- | | |
|---|---------------------------------------|
| (a) <i>Chlamydomonas</i> sp.W53-Ethanol | (b) <i>Chlamydomonas</i> sp.W53-Water |
| (c) <i>Chlorella</i> sp.W53-Ethanol | (d) <i>Chlorella</i> sp.W53-Water |
| (e) <i>Scenedesmus</i> sp.W53-Ethanol | (f) <i>Scenedesmus</i> sp.W53-Water |
- 1 2 และ 3 หมายถึง การสกัดครั้งที่ 1 2 และ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำผลได้ของสารสกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อนมาเปรียบเทียบกันพบว่า สารสกัดด้วยน้ำร้อนจาก *Scenedesmus* sp.W53 และ *Chlorella* sp.W53 และสารสกัดด้วยเอทานอลของ *Chlorella* sp.W53 และ *Chlamydomonas* sp.W53 มีร้อยละของผลได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) กับผลได้สารสกัดด้วยเอทานอลของ *Scenedesmus* sp.W53 และสารสกัดด้วยน้ำร้อนของ *Chlamydomonas* sp.W53



รูปที่ 4.3 กราฟผลได้รวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำ

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water

CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water

SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water

4.3 ผลการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compounds) สามารถหาโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu เป็นการศึกษาการเกิดสีโดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยสารประกอบฟีนอลิกในสารละลายในสถานะเป็นด่างหรือในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (pH 10) และสาร Folin-Ciocalteu reagent ประกอบด้วยกรดฟอสฟอโมลิบดิก ($H_3PMo_{12}O_{40}$) และกรดฟอสฟอทังสเตน ($H_3PW_{12}O_{40}$) จะถูกรีดิวซ์โดย phenolic hydroxyl groups ในสารละลาย Na_2CO_3 (ด่าง) เกิดเป็น tungsten และ molybdenum blue ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อน Mo-W มีสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดนี้จะใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานและรายงานผลในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAL/g dry weight) การวิเคราะห์โดยวิธี นี้ไม่เฉพาะเจาะจงต่อสารจำพวกโพลีฟีนอลเท่านั้นแต่สารละลาย Folin-ciocalteu phenol สามารถ ทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่สามารถออกซิไดซ์(oxidize)ตัวมันได้ ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับ จำนวนหมู่ฟีนอลที่มีอยู่ในโมเลกุลของสารประกอบนั้นๆ (Moktan และคณะ, 2008)

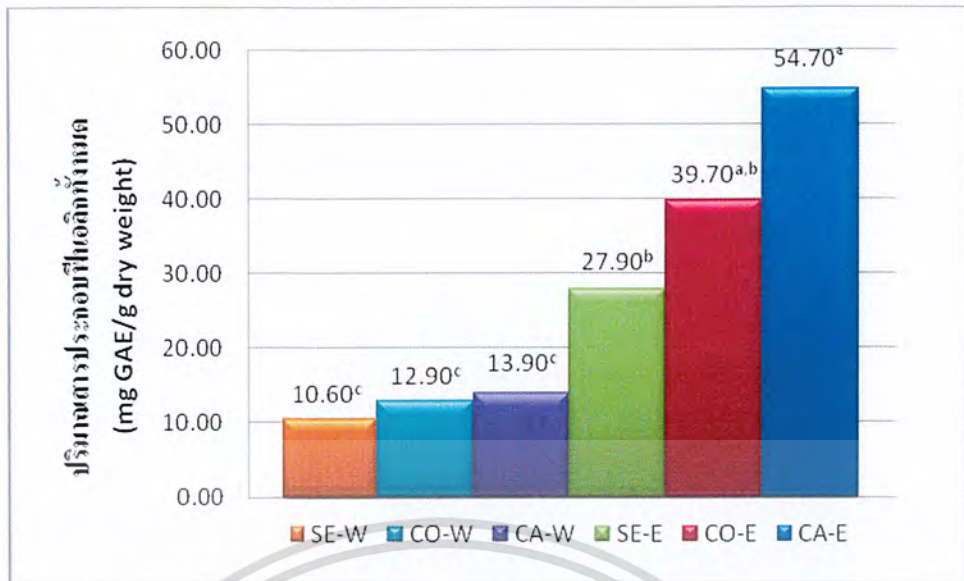
จากการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กรวม 3 สายพันธุ์โดยสกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อนโดยใช้วิธี Folin-ciocalteu พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้น ของสารสกัดที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดด้วยน้ำร้อน โดยผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กรวม 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อน

ตัวทำละลาย ที่ใช้สกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ¹ (มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		
	<i>Chlamydomonas</i> sp.W53	<i>Chlorella</i> sp.W53	<i>Scenedesmus</i> sp.W53
เอทานอล	54.70±2.97 ^{a2}	39.70±10.32 ^b	27.90±2.69 ^b
น้ำร้อน ^{ms3}	13.90±4.38	12.90±0.42	10.60±0.28

หมายเหตุ

- ¹ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้เทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างน้ำหนักแห้ง โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=2)
- ² a, b ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05)
- ³ ms หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water

CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water

SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water

จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่า สารสกัดจาก *Chlamydomonas* sp.W53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 54.70 ± 2.97 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจาก *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 39.70 ± 10.32 และ 27.90 ± 2.69 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แต่ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจาก *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนสารสกัดด้วยน้ำร้อนของ *Chlamydomonas* sp.W53 , *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 13.90 ± 4.38 12.90 ± 0.42 และ 10.60 ± 0.28 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งการที่สารสกัดหยาบที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าสารสกัดหยาบที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายอาจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นเป็นสารประกอบที่มีวงแหวนเบนซีนเป็นองค์ประกอบ โครงสร้างของสารประเภทฟีนอลมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ต่ออยู่กับหมู่แอริล (Ar) ทำให้มีสูตรทั่วไปคือ ArOH และสารประกอบอินทรีย์กลุ่มนี้มีสูตรโมเลกุลเป็น C_6H_5OH ทำให้มีความเป็นขั้วสูงจึงสามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้ว โดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วสูงและละลายได้เล็กน้อยในน้ำแต่จะละลายได้ดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งจากการทดลองจึงพบว่าการสกัดด้วยเอทานอลให้ค่าร้อยละของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อน ถึงแม้ว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ร้อยละของผลได้สูงกว่า แต่เนื่องจากตัวทำละลายที่เป็นน้ำร้อนนั้นละลายสารอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ เป็นต้น (Macheix และคณะ, 1990) ออกมาได้มากกว่าตัวทำละลายอินทรีย์ ทำให้ละลายสารประกอบฟีนอลิกออกมาได้ไม่ดีเท่าที่ควร ทำให้ร้อยละของผลได้ของการสกัดด้วยน้ำร้อนสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอล (ตารางที่ 4.1 และ 4.2)

4.4 การประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

4.4.1 การวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity)

ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันเป็นการวิเคราะห์เพื่อดูการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของโมลิบเดต (Mo) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจะรีดิวซ์ MO^{+6} เป็น Mo^{+5} เกิดเป็นสีเขียวของ phosphomolybdate complex ในสถานะเป็นกรด ค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดหยาบจะพิจารณาจากค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ค่าการดูดกลืนแสงยังมีค่ามากประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจะสูงด้วย (Pan และคณะ, 2007) ซึ่งผลการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืด 3 สายพันธุ์ โดยใช้เอทานอลและน้ำร้อนเป็นตัวทำละลาย ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.5

ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนและความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น โดยที่เวลา 150 นาที เมื่อพิจารณาการสกัดด้วยเอทานอล พบว่า สารสกัดจาก *Chlamydomonas* sp.W53 มีความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันสูงสุดโดยมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.333 ± 0.07 รองลงมาได้แก่ สารสกัดจาก

Chlorella sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 โดยมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.324 ± 0.00 และ

0.307 ± 0.12 ตามลำดับ แต่ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของ *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนการสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่า สารสกัดจาก *Scenedesmus* sp.W53 มีความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันสูงสุด โดยมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.141 ± 0.07 รองลงมาได้แก่ สารสกัดจาก *Chlorella* sp.W53 และสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงเป็น 0.090 ± 0.07 และ 0.046 ± 0.01 ตามลำดับ แต่เมื่อนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันรวมของสารสกัดจาก *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 ที่ใช้น้ำร้อนเป็นตัวทำละลายไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีค่าเท่ากับ 1.136 ดังนั้นจากผลการทดลองจึงพบว่า สารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันรวมต่ำกว่าสารละลายมาตรฐาน BHT ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์

เวลา (นาที)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร					
	CA-E ¹	CO-E	SE-E	CA-W	CO-W	SE-W
0	0.049±0.01 ^{a,2}	0.041±0.01 ^{ab}	0.033±0.00 ^{ab,c}	0.011±0.01 ^d	0.023±0.00 ^{c,d}	0.017±0.01 ^{b,c,d}
30	0.128±0.01 ^a	0.096±0.02 ^a	0.113±0.03 ^a	0.022±0.01 ^b	0.026±0.01 ^b	0.047±0.03 ^b
60	0.178±0.02 ^a	0.160±0.04 ^a	0.168±0.05 ^a	0.038±0.01 ^b	0.039±0.00 ^b	0.042±0.50 ^b
90	0.257±0.30 ^a	0.193±0.30 ^a	0.233±0.11 ^a	0.044±0.01 ^b	0.060±0.10 ^{cb}	0.043±0.60 ^b
120	0.355±0.07 ^a	0.277±0.01 ^{ab}	0.315±0.20 ^a	0.051±0.01 ^c	0.075±0.02 ^{bc}	0.063±0.08 ^{bc}
150	0.331±0.07 ^a	0.324±0.00 ^a	0.307±0.12 ^a	0.046±0.01 ^b	0.090±0.00 ^b	0.141±0.07 ^b

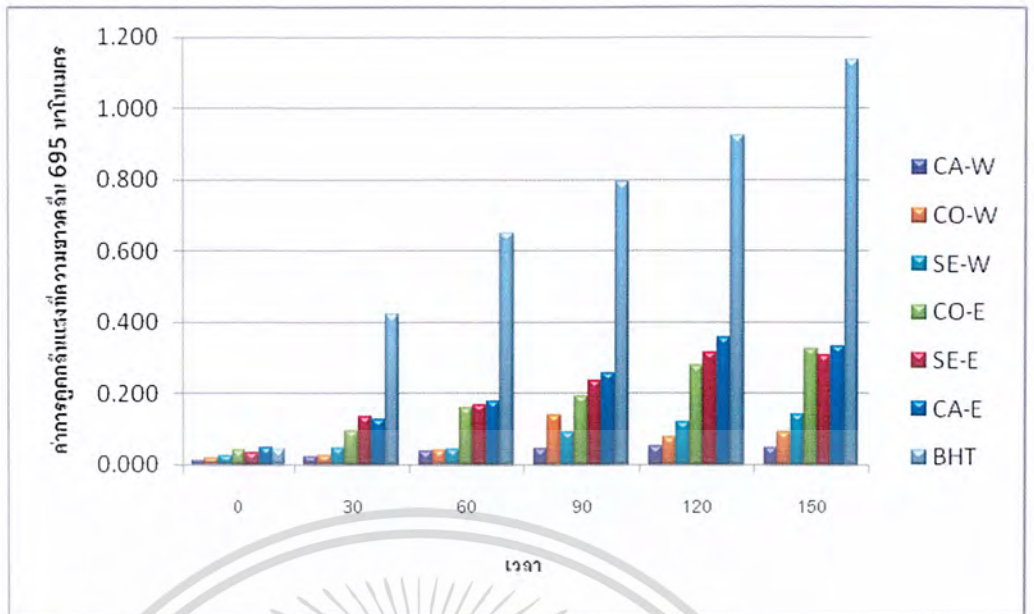
หมายเหตุ

¹ ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol, CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol, SE-E : *Scenedesmus* sp.W53- Ethanol

CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water, CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water, SE-W : *Scenedesmus* sp.W53- Water

² a, b, c, d ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05)



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ และสารมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water

CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water

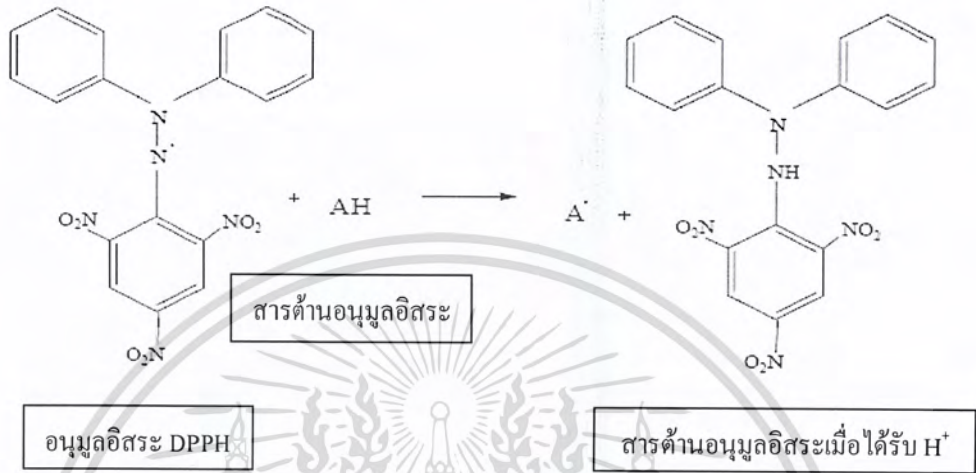
SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water

4.4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical)

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรที่มีธาตุไนโตรเจน (N) เป็นอะตอมกลาง ชอบละลายในไขมัน (Lipophilic) ซึ่งสารนี้ถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางในการประเมินค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและเมื่อเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction) สีของสารละลาย DPPH จะเปลี่ยนจากสีม่วงไปเป็นสีเหลือง ซึ่งสามารถทราบถึงปฏิกิริยาได้ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมต่อการทดสอบนั้นคือ 517 นาโนเมตร (Moktan และคณะ, 2008)

ในการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอลของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยผลการทดลองพบว่าสารละลายสีม่วงของอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อทำปฏิกิริยากับสารสกัดหยาบจากสาหร่าย สีของสารละลายผสมเปลี่ยนไปเป็นสีเขียวอมเหลืองมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มมากขึ้น หรือมีค่าการดูดกลืนแสงที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับว่าเหมาะสำหรับใช้ในชีวิตประจำวันไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

517 นาโนเมตรลดลงและเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเป็นร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ นั้นแสดงว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ ซึ่งแสดงคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ดังสมการ



ผลการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อน (ตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.6) พบว่าสารสกัดเอทานอลของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดหยาบที่ใช้น้ำร้อนเป็นตัวทำละลาย ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเท่ากับ 0.4 - 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกับสารสกัดที่ใช้น้ำร้อนของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

ตารางที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้กับร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

(% Scavenging activity on DPPH radical)

ตัวอย่าง ¹	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	2.4
CA - E	34.43±2.80 ^{a2}	46.21±3.17 ^a	58.87±4.80 ^a	67.90±4.62 ^{a,b}	78.51±4.60 ^{a,b}	87.40±2.42 ^{a,b}
CA - W	21.79±6.38 ^b	26.86±7.54 ^b	34.21±7.07 ^b	42.33±0.97 ^{c,d}	47.49±0.39 ^{c,d}	52.37±0.51 ^c
CO - E	31.36±1.34 ^a	39.83±4.04 ^a	49.07±4.67 ^a	54.82±5.63 ^{b,c}	65.58±8.02 ^{b,c}	73.54±9.49 ^b
CO - W	22.64±0.70 ^b	26.63±0.81 ^b	31.21±1.62 ^b	36.04±0.85 ^d	40.28±0.58 ^d	46.86±0.85 ^c
SE - E	34.76±0.04 ^a	46.77±5.51 ^a	61.78±7.47 ^a	73.98±11.56 ^a	90.13±16.58 ^a	103.17±17.87 ^a
SE - W	21.32±0.76 ^b	24.59±0.71 ^b	28.08±0.42 ^b	33.93±2.13 ^d	39.47±0.61 ^d	43.49±1.89 ^c

หมายเหตุ

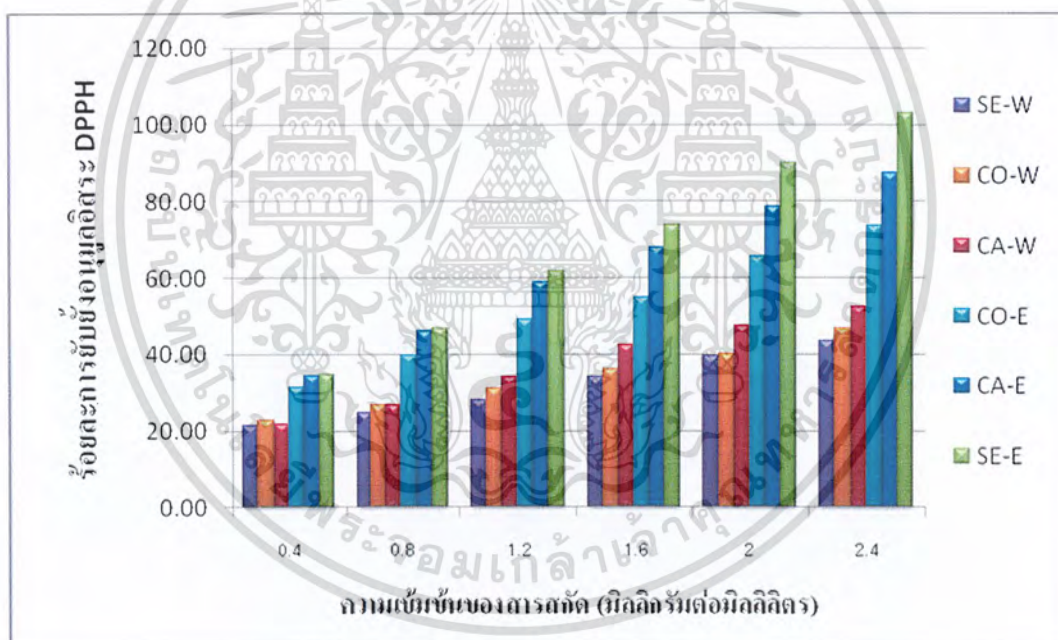
¹ ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol, CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol, SE-E : *Scenedesmus* sp.W53- Ethanol

CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water, CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water, SE-W : *Scenedesmus* sp.W53- Water

² a, b, c, d ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05)

สารสกัดด้วยเอทานอลจาก *Clamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 มีร้อยละความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ตั้งแต่ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 1.2 1.6 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH คิดเป็นร้อยละ 58.87 ± 4.80 54.82 ± 5.63 และ 61.78 ± 7.47 ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดที่ด้วยน้ำร้อนของ *Clamydomonas* sp.W53 สายพันธุ์เดียวที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ตั้งแต่ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 2.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดของการทดสอบ โดยมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH คิดเป็นร้อยละ 52.37 ± 0.51 ส่วนสารสกัดของ *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ ร้อยละ 46.86 ± 0.85 และ 43.49 ± 1.89 ตามลำดับ



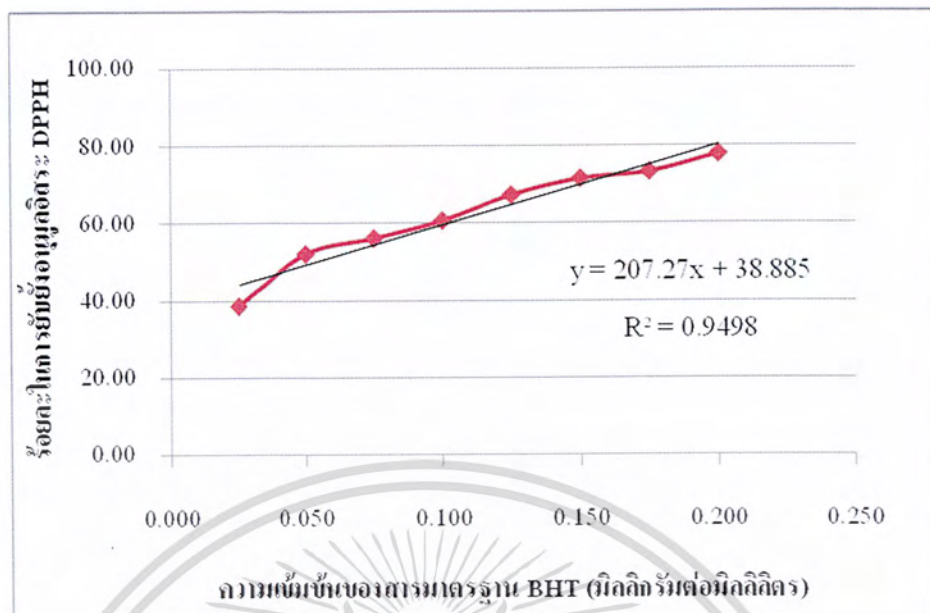
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดทั้ง 3 สายพันธุ์

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water

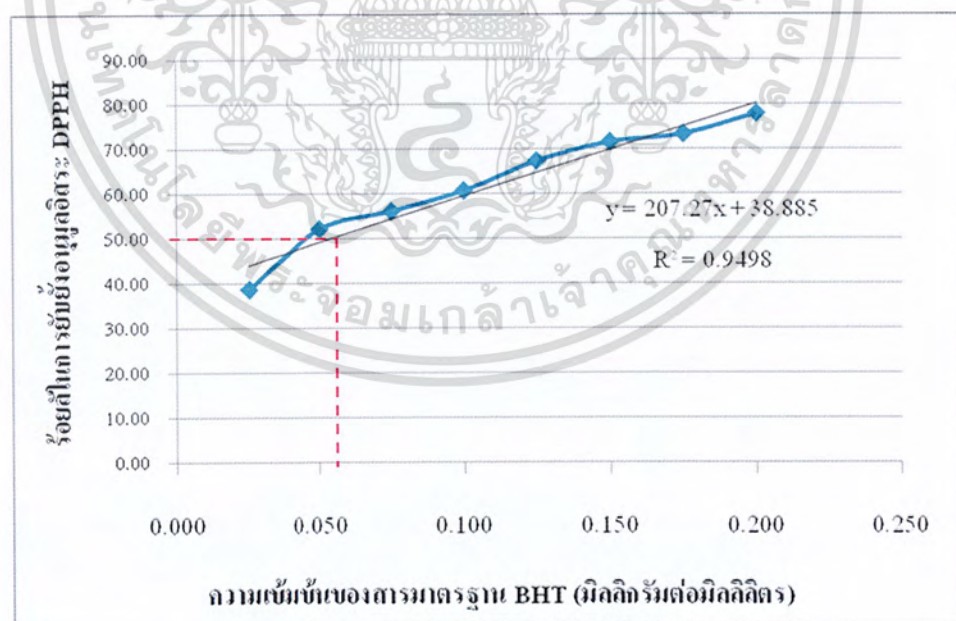
CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water

SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 กราฟความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน BHT ในช่วงความเข้มข้น 0.025 – 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 4.8 กราฟการหาค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยสารมาตรฐาน BHT ในช่วงความเข้มข้น 0.025 – 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยแสดงในค่า EC_{50} ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 ค่า EC_{50} ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่ได้และค่า EC_{50} ของสารมาตรฐาน BHT แสดงในตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.9 สารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ มีค่า EC_{50} สูงกว่าค่า EC_{50} ของสารมาตรฐาน BHT ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.0536 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลของ *Scenedesmus* sp.W53 มีค่า EC_{50} ต่ำสุดเท่ากับ 0.8672 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นสารสกัดด้วยเอทานอลของ *Chlamydomonas* sp.W53 มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.9386 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดด้วยน้ำร้อนจาก *Scenedesmus* sp.W53 พบว่า มีค่า EC_{50} สูงสุดคือมีค่าเท่ากับ 2.9778 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นสารสกัดของ *Chlorella* sp.W53 มีค่า EC_{50} เท่ากับ 2.7465 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบค่า EC_{50} ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดทั้ง 3 สายพันธุ์กับสารมาตรฐาน BHT จะเห็นว่าสารมาตรฐาน BHT มีค่า EC_{50} ต่ำกว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53, *Scenedesmus* sp.W53 และ *Chlorella* sp.W53 ถึง 17.5 16.2 และ 24.0 เท่า ตามลำดับและมีค่า EC_{50} ต่ำกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53, *Scenedesmus* sp.W53 และ *Chlorella* sp.W53 ถึง 40.7 55.5 และ 51.2 เท่า ตามลำดับ

มีงานวิจัยที่ศึกษาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ใช้ น้ำและอะซิโตน ร้อยละ 70 เป็นตัวทำละลายของสาหร่ายที่พบในประเทศไอซ์แลนด์ พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยอะซิโตนร้อยละ 70 ของ *Fucus vesiculosus* Linnaeus และ *Fucus serratus* Linnaeus มีร้อยละในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ 93.9 และ 90.8 มีค่า EC_{50} เท่ากับ 10.7×10^{-3} และ 11.0×10^{-3} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำของ *Fucus vesiculosus* Linnaeus และ *Fucus serratus* Linnaeus มีร้อยละในการกำจัดอนุมูลอิสระประมาณ 60 และ 50 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำมีร้อยละในการกำจัดอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยอะซิโตน ร้อยละ 70 (Wang และคณะ, 2009)

การที่สารสกัดจากสาหร่ายมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระอาจเนื่องจากสารสกัดจากสาหร่ายมีสารต้านออกซิเดชัน เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารจำพวก โพลีแซคาไรด์ รังควัตถุต่างๆ โปรตีนหรือเปปไทด์ (Kumar และคณะ, 2008) นอกจากนี้มีรายงานการวิจัยการตรวจหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Dunaliella salina* และทำการวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายชนิดนี้ซึ่งแยกโดยเทคนิค HPLC ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ร้อยละความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัด

แคโรทีนอยด์รวมของสาหร่าย, *trans-form* ทั้งหมดของ Zeaxanthin , Lutein , β -carotene , α -carotene และ α -tocopherol มีค่าเป็น 64.14 26.23 25.75 24.38 24.01 และ 82.41 ตามลำดับ และมีค่า EC_{50} เป็น 8.36 22.82 23.04 24.17 24.54 และ 2.88 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นของสารสกัดแคโรทีนอยด์เป็น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีแนวโน้มในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้น (Hu และคณะ, 2008)

ตารางที่ 4.7 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (EC_{50})

ตัวอย่างสารสกัด ¹	สมการเส้นตรง	EC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
CA - E	$y = 26.485x + 25.142$ ($R^2 = 0.996$)	0.9386
CA - W	$y = 15.924x + 15.215$ ($R^2 = 0.993$)	2.1844
CO - E	$y = 20.993x + 22.978$ ($R^2 = 0.997$)	1.2872
CO - W	$y = 11.923x + 17.253$ ($R^2 = 0.994$)	2.7465
SE - E	$y = 34.599x + 19.997$ ($R^2 = 0.998$)	0.8672
SE - W	$y = 11.526x + 15.678$ ($R^2 = 0.989$)	2.9778
BHT	$y = 207.27x + 38.885$ ($R^2 = 0.949$)	0.0536

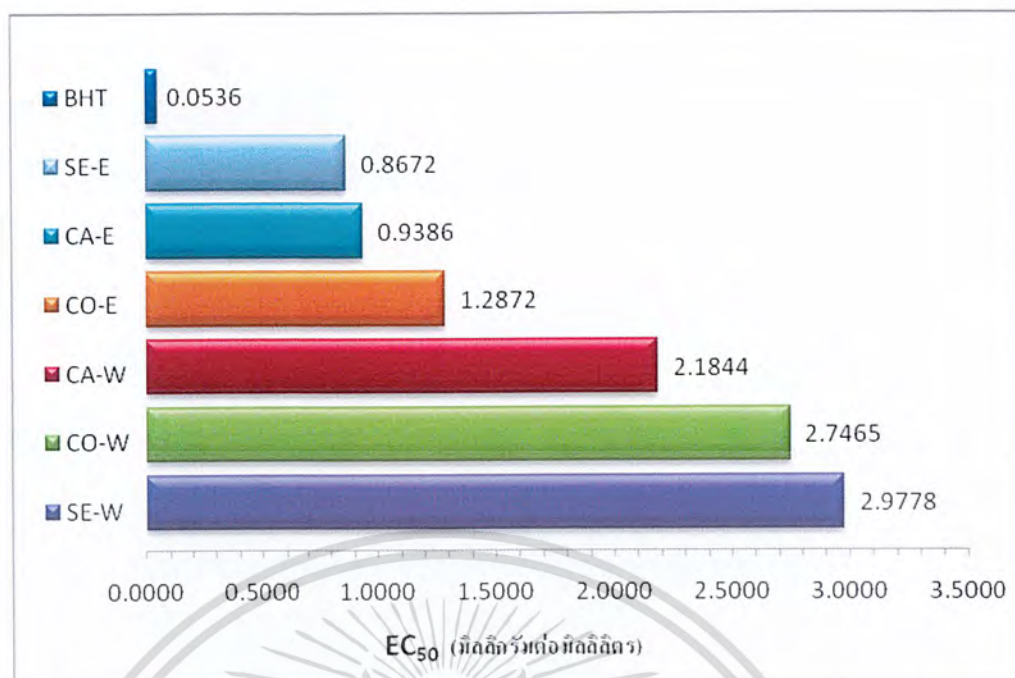
หมายเหตุ

¹ ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water

CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water

SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงค่า EC₅₀ ของสารมาตรฐาน BHT และสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water

CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water

SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water

4.4.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion-chelating ability assay)

การวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนเป็นการทดสอบหาสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม chelating agent ในสารสกัด ซึ่งจะไปแย่งจับกับไอออนของโลหะ การวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะเป็นวิธีหนึ่งที่ยอมรับใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน เพราะโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระหลายชนิด โดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส หรือ Fe²⁺ จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็นสารอนุมูล Superoxide anion radical (O₂⁻) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวต่อไป ดังนั้นวิธีการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะ Fe²⁺ ของสารที่ต้องการทดสอบนั้น อาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร ที่มีค่าลดลง โดยเมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไป สารนี้จะไปจับกับ Fe²⁺ แล้วอยู่ในรูป Ferrozine - Fe²⁺ complex ซึ่งจะให้สีม่วงแดงและถ้าสารสกัดมีความสามารถในการแย่งจับกับ Fe²⁺ จะอยู่ในรูป Antioxidant - Fe²⁺ complex แล้วจะทำให้สีม่วงแดงของ Ferrozine - Fe²⁺ complex จางลงได้ (จิตติกันต์, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดจากสาหร่าย ผลการทดลองพบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยสารสกัดด้วยเอทานอลมีค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนยกเว้น *Scenedesmus* sp.W53 และที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp.W53 ที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อนมีค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนสูงกว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 และ *Chlorella* sp.W53 โดยมีค่าเท่ากับ 50.42 ± 3.69 และ 41.55 ± 1.20 ตามลำดับ ในขณะที่ร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดจาก *Chlamydomonas* sp.W53 และ *Chlorella* sp.W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 33.14 ± 3.31 และ 37.32 ± 3.31 ตามลำดับ เช่นเดียวกับสารสกัดจาก *Chlamydomonas* sp.W53 และ *Chlorella* sp.W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน ซึ่งพบว่าค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 25.79 ± 10.28 และ 14.18 ± 4.06 ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่าถ้าสารสกัดมีความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น เมื่อคำนวณค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chewa, Y.L และคณะ(2008) ซึ่งศึกษาความสามารถในการรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *P. antillarum*, *C. racemosa* และ *K. alvarezzi* โดยค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดสาหร่ายดังกล่าวจะเริ่มปรากฏขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 1 – 2.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่าสารสกัดจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอลของ *Chlamydomonas* sp.W53, *Scenedesmus* sp.W53 และ *Chlorella* sp.W53 ที่ทำการศึกษามีความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนสูงกว่า สาหร่าย *P. antillarum*, *C. racemosa* และ *K. alvarezzi* เนื่องจากค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดสาหร่ายดังกล่าวปรากฏขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงค่าความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบ
(% Inhibition)

ตัวอย่าง ¹	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
CA - E	2.00±0.53 ^b	7.92±2.89 ^{c,d}	16.48±0.44 ^{b,c}	24.67±2.23 ^{b,c}	33.14±3.31 ^{b,c}
CO - E	4.96±1.15 ^{a,b}	14.26±1.76 ^{a,b,c}	21.94±1.66 ^{a,b}	25.36±0.13 ^{b,c}	37.32±3.31 ^{b,c}
SE - E	6.30±2.27 ^{a,b}	17.04±0.81 ^{a,b}	29.04±2.49 ^a	35.86±3.17 ^a	50.42±3.69 ^a
CA - W	1.71±0.42 ^b	3.86±1.10 ^d	7.42±2.58 ^c	10.79±0.78 ^d	14.18±4.06 ^d
CO - W	5.58±4.51 ^{a,b}	11.34±6.77 ^{b,c,d}	16.53±9.57 ^{b,c}	19.45±11.81 ^{c,d}	25.79±10.28 ^{c,d}
SE - W	10.61±1.58 ^a	20.75±2.75 ^a	28.71±2.47 ^a	35.94±2.12 ^{a,b}	41.55±1.20 ^{a,b}

หมายเหตุ

¹ ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

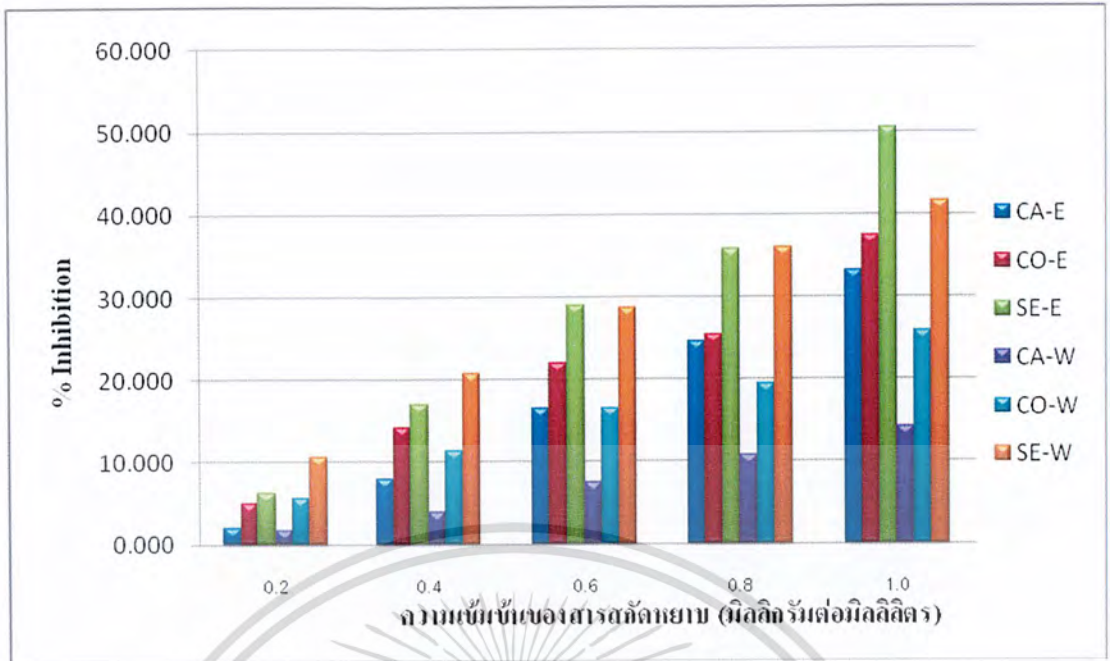
CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water

CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water

SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water

² a, b, c, d ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
(P ≤ 0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสาหร่ายคัตหยาบ (% Inhibition)

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water
 CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water
 SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water

เมื่อนำค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน (% Inhibition) มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่างๆที่ทำปฏิกิริยากับสาหร่ายคัตหยาบ จากนั้นนำสมการที่ได้จากกราฟนำมาคำนวณหาความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.9 ซึ่งถ้าค่า IC₅₀ ที่ได้มีค่าน้อย แสดงถึงประสิทธิภาพในการจับกับเฟอร์รัสไอออนก็ยิ่งมีมาก ซึ่งจากการทดลองพบว่า สาหร่ายคัตหยาบทั้ง 3 สายพันธุ์ มีค่า IC₅₀ สูงกว่าค่า IC₅₀ ของสารมาตรฐาน EDTA- Na₂ ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0024 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบสาหร่ายคัตหยาบทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่า สาหร่ายคัตด้วยเอทานอลของ *Scenedesmus* sp.W53 มีค่า IC₅₀ ต่ำสุดเท่ากับ 1.0159 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่ามีความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนดีที่สุด รองลงมาเป็นสาหร่ายคัตด้วยน้ำร้อนของ *Scenedesmus* sp.W53 มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.1836 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสาหร่ายคัตด้วยน้ำร้อนของ *Chlamydomonas* sp.W53 พบว่ามีค่า IC₅₀ สูงสุดมีค่าเท่ากับ 3.2604 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบค่า IC₅₀ ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดทั้ง 3 สายพันธุ์กับสารมาตรฐาน EDTA- Na₂ จะเห็นว่าสารมาตรฐาน EDTA- Na₂ มีค่า IC₅₀ ต่ำกว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53, *Scenedesmus* sp.W53 และ *Chlorella* sp.W53 มาก แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการจับกับเฟอร์รัสไอออนดีกว่า EDTA- Na₂ มาก

ตารางที่ 4.9 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่จับกับเฟอร์รัสไอออนได้ร้อยละ 50 (IC₅₀)

ตัวอย่างสารสกัด ¹	สมการเส้นตรง	IC ₅₀ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
CA - E	$y = 39.521x - 6.8705$ ($R^2 = 0.9963$)	1.4390
CA - W	$y = 15.941x - 1.9734$ ($R^2 = 0.9940$)	3.2604
CO - E	$y = 37.913x - 1.9817$ ($R^2 = 0.9766$)	1.3711
CO - W	$y = 24.267x + 1.1789$ ($R^2 = 0.9896$)	2.0118
SE - E	$y = 53.538x - 4.3915$ ($R^2 = 0.9914$)	1.0159
SE - W	$y = 38.532x + 4.3911$ ($R^2 = 0.9884$)	1.1836
EDTA- Na ₂	-	0.0024

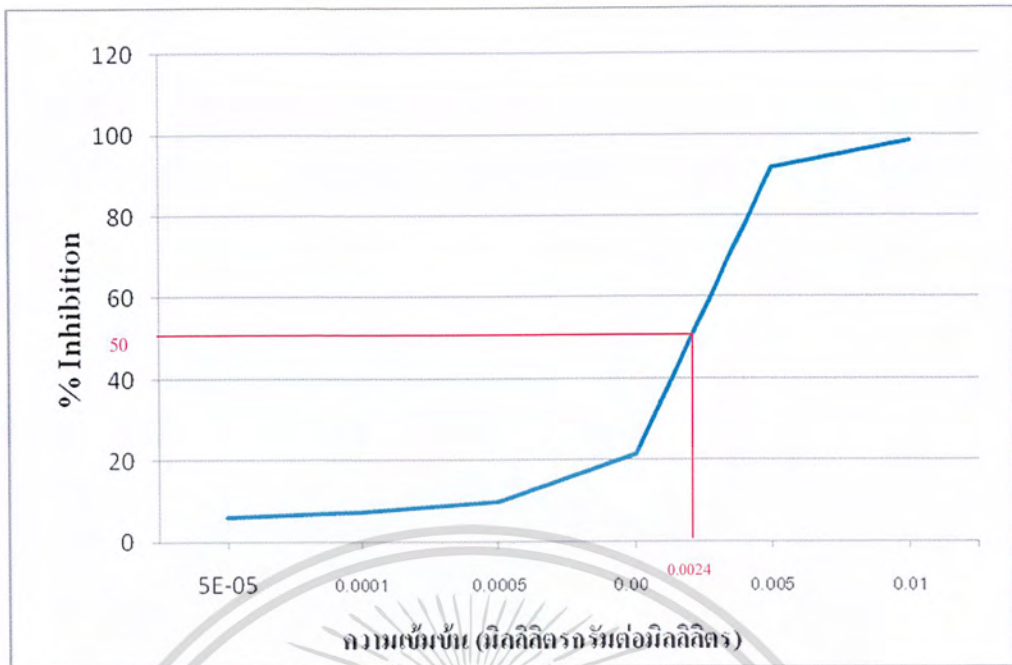
หมายเหตุ

¹ ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

CA-E : *Chlamydomonas* sp.W53-Ethanol CA-W : *Chlamydomonas* sp.W53-Water

CO-E : *Chlorella* sp.W53-Ethanol CO-W : *Chlorella* sp.W53-Water

SE-E : *Scenedesmus* sp.W53-Ethanol SE-W : *Scenedesmus* sp.W53-Water



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของ EDTA- Na₂

จากการศึกษาของ วุฒิกานต์ (2551) ในการหาค่าการจับเฟอร์รัสไอออนร้อยละ 50 (IC₅₀) ของสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kutzing หรือสาหร่ายเตาซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดใหญ่พบว่า มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.818 ± 0.030 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่า IC₅₀ ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดทั้ง 3 สายพันธุ์ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 1.0159 - 3.2604 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่มีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดด้วยเอทานอลของ *Scenedesmus* sp.W53 แสดงว่ามีความสามารถในการรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออนใกล้เคียงกัน

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlamydomonas* sp.W53 *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 เพื่อสกัดสารสกัดหยาบโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 และน้ำร้อน พบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนมีร้อยละของผลได้เป็น 26.99 ± 1.86 19.15 ± 4.88 และ 16.99 ± 4.06 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลโดยมีร้อยละของผลได้เป็น 14.23 ± 4.05 13.59 ± 2.25 และ 12.02 ± 2.82 ตามลำดับ และจากการศึกษาพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลมีลักษณะเหนียวหนืด สีเขียวเข้ม ส่วนสารสกัดด้วยน้ำร้อนมีลักษณะเป็นผงแห้ง สีเขียวอ่อน

เมื่อนำสารสกัดหยาบที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อน โดยสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 54.70 ± 2.97 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัมและสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp.W53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำสุดเท่ากับ 10.60 ± 0.28 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม

จากการประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลมีค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อน สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 ที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันสูงสุดคือมีค่าการดูดกลืนแสง 0.333 ± 0.10 ในขณะที่สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนมีค่าต่ำสุดคือ 0.046 ± 0.01 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุด สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp.W53 มีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดเท่ากับ 103.17 ± 17.87 และสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนจาก *Scenedesmus* sp.W53 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 43.49 ± 1.89 และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (EC_{50}) พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.9386 1.2872 และ 0.8672 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53, *Chlorella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 มีค่า EC_{50} เท่ากับ 2.1844 2.7465 และ 2.9778 ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดที่ได้มีค่า EC_{50} มากกว่าสารมาตรฐาน BHT ที่มีค่า 0.0536 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอรัรัสไอออน พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดด้วยเอทานอลจาก *Scenedesmus* sp.W53 มีค่าความสามารถในการจับกับเฟอรัรัสไอออนสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 50.42 ± 3.69 โดยค่า IC_{50} ของสารสกัดดังกล่าวมีค่าเป็น 1.0159 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน EDTA- Na_2 มีค่าเป็น 0.0024 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กาญจนภาชน์ ลีम्मโนมนต์. 2527. สาหร่าย. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จิติกานต์ ปัญญาใหม่. 2551. กิจกรรมด้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา *Spirogyra negluta*. (Hassall) Kutzing วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ. 2551.
- ชนะพันธุ์ พิริยานาสิน ธาดา พีรพันธ์วิรุสและรัชวัฒน์ ตั้งตระกูลพิพัฒน์. 2552. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก โครงการพิเศษ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2552.
- เบ็ญจา ถาวรอนุกุลกิจ. 2526. อิทธิพลของความเข้มแสงและระยะเวลาในการรับแสงที่มีต่อการเจริญของ *Chlamydomonas nasuta* Korsh. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒบางแสน พ.ศ. 2526
- บังอร วงศ์ลักษณ์และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. วิทยานิพนธ์ เกษศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ. 2549.
- ปราณี นิมิบุตร. 2549. ปฏิบัติการการเพาะเลี้ยงสาหร่าย. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเกษตร บางพระ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก.
- ปรียนันท์ บัวสด. 2549. การตรวจสอบความสามารถในการเป็นสารแอนติออกซิเดนท์ของเครื่องดื่มชาโดยใช้วิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2549.
- ปวิชนันท์ รักษ์สัง. 2546. การสกัดสารแอนติออกซิเดนท์จากเปลือกกล้วยเขียว. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2546.
- พีรชา จารุพรชัย และ วรนิษฐา หุ่นทอง. 2549. ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว. โครงการพิเศษ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2549.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2548. สาหร่ายน้ำจืดในภาคเหนือของประเทศไทย. กรุงเทพฯ : โครงการพัฒนาองค์ความรู้ฯ.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ถัดดา วงศ์รัตน์. 2546. แพลงก์ตอนพืช. ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร.
- วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. วิทยาศาสตร์ (Phycology). กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- วิทยา ทรัพย์เย็น. 2551. ผลของการบริบูรณ์ต่อปริมาณฟลาโวนอยด์บางชนิดและคุณสมบัติต้านออกซิเดชันในผลหว่า (Syzygium cumini). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2551.
- สุภากร ศรีเนาวรัตน์กุล. 2552. ประสิทธิภาพของฟิล์มต้านจุลินทรีย์และปฏิกริยาออกซิเดชันซึ่งมีสารสกัดจากธรรมชาติพืชสำหรับบรรจุอาหาร. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2552.
- โอภา วัชรรูปต์และคณะ. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : พี.เอส.พรีนท.
- Atthasampunna, P. 1995. TISTR Culture Collectionlist of culture. 5th ed. Bankkok : Thailand Institute of Scientific and Tecnological Reseach.
- Chewa, Y.L., Lima, Y.Y., Omara, M. and Khoob, K.S. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT.41 , 1067–1072.
- Herrero, M., Martin-Alvarez, P. J., Senorans, F. J., Cifuentes, A. and Ibanez, E. 2004. Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga. Food Chemistry. 93 , 417–423.
- Hu, C. C., Lin, J. T., Lu, F. J., Chou, F.P. and Yang D.J. 2007. Determination of carotenoids in *Dunaliella salina* cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract. Food Chemistry. 109 , 439 – 446.
- Jaime, L., Rodriguez-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. LWT - Food Science and Technology. 43 , 105 –112.
- Kumar, S. R., Ganesan, R., Rao, S. P.V. 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty – An edible seaweed. Food chemistry. 107, 289-295.

- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F. and Jiang, Y. 2006. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. 102 , 771–776.
- Macheix, J-J., Fleuriet, A. and Billot, J. 1990. *Fruit Phenolic*. CRC Press. Inc., Florida.
- Moktan, B., Saha, J. and Sarkar, K. P. 2008. Antioxidant activities of soybean as affected by *Bacillus*-fermentation to kinema. *Food Research International* 41 , 586–593
- 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. 1998. Spectrophotometric Quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdunum complex specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*. 269 , 337-341.
- Rodriguez – Garcia, I. and Guil – Gueirero, J.L. 2008. Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. *Food Chemistry*. 108 , 1023–1026.
- Sheih, I. C., Wu, T. K. and Fang, T. J. 2008. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems. *Bioresource Technology*. 100 , 3419–3425
- Wang, T., Jonsdottir, R. and Olafsdottir, G. 2009. Total phenolic compounds, redical scavenging and metal chelating of extracts from Icelandic seaweeds. *Food chemistry*. 116, 240-248.
- [Online].Available : <http://pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.html> สืบค้นวันที่ 4 มิถุนายน 2553
- [Online].Available : <http://guru.google.co.th/guru/thread?tid=605dcb0540b3abe1>
สืบค้นวันที่ 4 มิถุนายน 2553
- [Online].Available : <http://www.tistr.or.th> สืบค้นวันที่ 7 มิถุนายน 2553
- [Online].Available : <http://www.thailantern.com/main/boards/index.php>
สืบค้นวันที่ 26 กรกฎาคม 2553
- [Online].Available : <http://medicarezine.com/blog/2009/09/10/antioxidant>
สืบค้นวันที่ 13 สิงหาคม 2553
- [Online].Available : <http://botany.natur.cuni.cz/algo/determin.html> สืบค้นวันที่ 20 สิงหาคม 2553

[Online].Available : http://www.tistr.or.th/t/publication/page_area_show_bc.asp?i1=81&i2=6)

สืบค้นวันที่ 20 สิงหาคม 2553

[Online].Available : <http://www.arcus.org/TREC/VBC/index.php?showtopic=1148>

สืบค้นวันที่ 26 สิงหาคม 2553

[Online].Available : <http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB2/PCD3515/htmls/97.html>

สืบค้นวันที่ 26 สิงหาคม 2553

[Online].Available : www.kasettrang.ac.th/km/micro4-9.doc) สืบค้นวันที่ 1 กันยายน 2553

[Online].Available : <http://vijversenkoi.be/detail.php?instance=1&id=190>

สืบค้นวันที่ 10 กันยายน 2553

[Online].Available : <http://www.biologie.uni-ulm.de/lehre/botanik/systematik/pdf/chlorophyta>

สืบค้นวันที่ 13 กันยายน 2553

[Online].Available : http://www.jashbotanicals.com/articles/chlorella_mercury_detox.html

สืบค้นวันที่ 18 กันยายน 2553

[Online].Available : <http://www.eng.chula.ac.th/newsletter/index.php?q=node/118>)

สืบค้นวันที่ 18 กันยายน 2553

[Online].Available : <http://www.nstda.or.th/index.php/news/1298-2010-05-26-09-45-24>

สืบค้นวันที่ 24 กันยายน 2553

[Online].Available : http://www.namjai.com/info_2.html สืบค้นวันที่ 15 ตุลาคม 2553

[Online].Available : <http://www.lib.ubu.ac.th/jdb/jubon/pdfjubon/jubon-2006-08-02.76-88.pdf>

สืบค้นวันที่ 15 ตุลาคม 2553

[Online].Available : <http://www.stkc.go.th> สืบค้นวันที่ 18 พฤศจิกายน 2553

[Online].Available : <http://www.knowabouthealth.com> สืบค้นวันที่ 18 พฤศจิกายน 2553

ภาคผนวก ก.

อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย

อาหารสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินควรใช้อาหารสูตร BG-11 และถ้าเป็นสาหร่ายสีเขียวควรใช้อาหารสูตร N-8 โดยมีองค์ประกอบของสารเคมีต่างๆดังนี้

อาหารสูตร BG-11 (ขณะพันธุ์และคณะ, 2552)

NaNO ₃	0.75	มิลลิกรัม
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	40.0	มิลลิกรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	75.0	มิลลิกรัม
CaCl ₂ ·2H ₂ O	36.0	มิลลิกรัม
Citric acid	6.0	มิลลิกรัม
Ferric ammonium Citrate	6.0	มิลลิกรัม
EDTA(Disodium magnesium)	1.0	มิลลิกรัม
Na ₂ CO ₃	20.0	มิลลิกรัม
Trace metal mix A5 + Co*	1.0	มิลลิลิตร
ใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น	1.0	ลิตร

หลังจากกระบวนการนี้ฆ่าเชื้อและทำให้เย็นลง ปรับพีเอชให้มีค่าเป็น 7.4

* Trace metal mix A5 + Co สำหรับอาหารเพาะเลี้ยงชนิด ASN-III และ BG-11

H ₃ BO ₄	2.86	กรัม
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81	กรัม
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	220.0	มิลลิกรัม
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	390.0	มิลลิกรัม
CuSO ₄ ·5H ₂ O	79.0	มิลลิกรัม
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	49.0	มิลลิกรัม
ใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น	1.0	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารสูตร N-8 (Atthasampunna, 1995)

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	260.0	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	740.0	มิลลิกรัม
CaCl_2	10.0	มิลลิกรัม
Fe EDTA	10.0	มิลลิกรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	50.0	มิลลิกรัม
KNO_3	1000.0	มิลลิกรัม
Trace element mixture**	1.0	มิลลิลิตร
ใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น	1.0	ลิตร

หลังจากกระบวนการนี้จึงมาเชื้อและทำให้เย็นลง ปรับพีเอชให้มีค่าเป็น 6.8

** Trace element mixture สำหรับอาหารเพาะเลี้ยงชนิด N-8

$\text{Al}(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	3.58	กรัม
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	12.98	กรัม
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.83	กรัม
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.20	กรัม
ใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น	1.0	ลิตร

วิธีการเตรียมอาหาร

ซึ่งสารเคมีตามอัตราส่วนที่กำหนด ละลายด้วยน้ำกลั่นสะอาดปรับปริมาตรให้ได้ตามความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่สภาวะอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสารละลาย

การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

1. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 20

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

การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (Total antioxidant capacity)

1. สารละลายผสม (Mix solution)

ต้องการเตรียมสารละลายผสมปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขวดเดียวกัน เนื่องจากเป็นสารละลายผสม) สามารถทำได้โดย

1.1 สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.06 โมลาร์ จากกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 96 ทราบ H_2SO_4 มีมวลโมเลกุล 98 กรัมต่อโมลและความหนาแน่น 1.84 กรัมต่อมิลลิลิตร จากสูตร เปลี่ยนความเข้มข้นจากร้อยละโดยมวลเป็น โมลาร์ ได้ว่า

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

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

ดังนั้น กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 96 มีความเข้มข้นเป็น 18.0245 โมลาร์

ต้องการเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.06 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

คำนวณได้จาก

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

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

$$\text{ดังนั้น } V = 1.665 \text{ มิลลิลิตร}$$

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

1.2 สารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮดรตเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ จากผงแห้ง

ทราบ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ มีมวลโมเลกุล 138 กรัมต่อโมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ผงแห้ง 138 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

ถ้าต้องการสารเข้มข้น 26 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $26 \times 10^{-3} \times 138$ กรัม

$$= 3.864 \text{ กรัม}$$

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮดรตเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮดรตจำนวน 3.864 กรัม ละลายน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

1.3 สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ จากผงแห้ง

ทราบ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ มีมวลโมเลกุล 1,235.86 กรัมต่อโมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ผงแห้ง 1,235.86 กรัม ละลายน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

ถ้าต้องการสารเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $4 \times 10^{-3} \times 1,235.86$ กรัม

$$= 4.9434 \text{ กรัม}$$

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของแอมโมเนียมโมลิบเดตจำนวน 4.9434 กรัม ละลายน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีสารที่ต้องใช้ทำปฏิกิริยาดังนี้

1. สารละลาย DPPH ในเอทานอล ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์

ทราบ $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ (DPPH) มีมวลโมเลกุล 395 กรัมต่อโมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ ผงแห้ง 395 กรัม ละลายในเอทานอล 1,000 มิลลิลิตร

ถ้าต้องการสารเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $0.5 \times 10^{-3} \times 395$ กรัม

$$= 0.1975 \text{ กรัม}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

หลังจากละลาย DPPH ด้วยเอทานอล ให้นำสารละลายไปกวนโดยใช้ Magnetic stirrer เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองโดยใช้ตัวกรองมิลลิปอร์ (Millipore) และใช้เมมเบรนที่มีขนาดของรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

การวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน

การวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนมีสารที่ต้องใช้ทำปฏิกิริยาดังนี้

1. สารละลายเฟอร์รัสคลอไรด์เตตระไฮเดรท ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์

ทราบ $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ มีมวลโมเลกุล 199 กรัมต่อ โมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ผงแห้ง 199 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

ถ้าต้องการสารเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $2 \times 10^{-3} \times 199$ กรัม
 $= 0.398$ กรัม

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายเฟอร์รัสคลอไรด์เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของเฟอร์รัสคลอไรด์จำนวน 0.398 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

2. สารละลายเฟอร์โรซีน (Ferrozine) เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

ทราบ เฟอร์โรซีน มีมวลโมเลกุล 492.46 กรัมต่อ โมล

สาร 1 โมลาร์ จะต้องใช้ เฟอร์โรซีนผงแห้ง 492.46 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

ถ้าต้องการสารเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ จะต้องใช้สาร $5 \times 10^{-3} \times 492.46$ กรัม
 $= 2.465$ กรัม

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายเฟอร์โรซีนเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์จะต้องใช้ผงแห้งของเฟอร์โรซีนจำนวน 2.465 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ก.

ผลการศึกษาระยะการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในรูปของสารละลายเซลล์แขวนลอย เพื่อศึกษาช่วงระยะการเจริญเติบโตระยะคงที่ (Stationary phase) ของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ สามารถทำได้ดังนี้

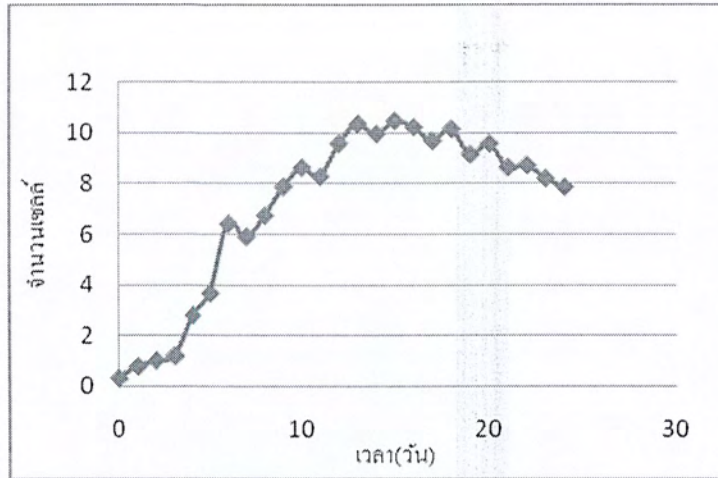
1. เตรียมอาหารเหลวสูตร BG-11 และสูตร N-8 ตวงใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรขวดละ 100 มิลลิลิตร ปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยจุกสำลี เขียนระบุด้านข้างของขวดว่าเป็นอาหารสูตรใด
2. นำอาหารที่เตรียมได้ไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
3. ทิ้งให้อุณหภูมิของอาหารลดลงให้เท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการลงหัวเชื้อสาหร่ายในสารละลายอาหารที่เตรียมไว้ โดยที่สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp.W53 และ *Scenedesmus* sp.W53 จะใช้อาหารสูตร N-8 ส่วนสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlamydomonas* sp.W53 จะใช้อาหารสูตร BG-11 โดยใช้สาหร่ายบริสุทธิ์ที่ทราบปริมาณความเข้มข้นของเซลล์คิดเป็นร้อยละ 20 ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
4. นำขวดอาหารที่ลงเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง อัตราการเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เพื่อเป็นการให้อากาศและมีการให้แสงตลอดเวลา ด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ (ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์)
5. ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายทุกๆ 1 วัน โดยนำมานับจำนวนเซลล์ด้วย Haemocytometer เพื่อศึกษาระยะการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายแต่ละสายพันธุ์
6. วาดกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (แกน Y) กับระยะเวลา (วัน) (แกน X) เพื่อดูระยะการเจริญเติบโตคงที่

จากการศึกษาระยะการเจริญเติบโตคงที่ของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ เพื่อคาดการณ์ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ได้ผลดังตารางที่ ก - 1

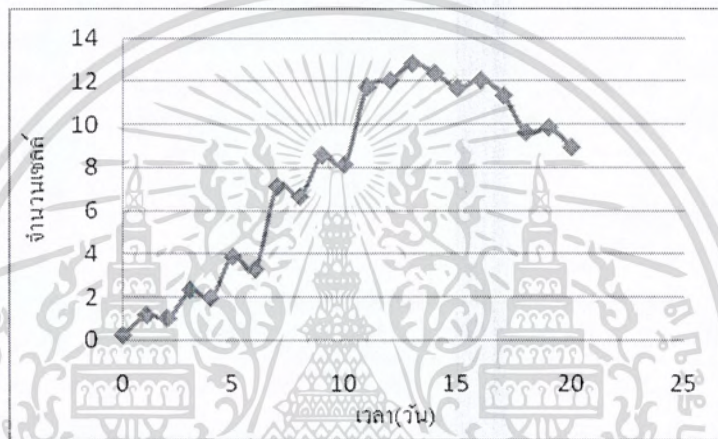
ตารางที่ ค-1 จำนวนเซลล์สาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กลง 3 สายพันธุ์ในระหว่างการเจริญเติบโต

เวลา (วัน)	จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)		
	<i>Chlamydomonas</i> sp.W53	<i>Chlorella</i> sp.W53	<i>Scenedesmus</i> sp.W53
0	0.32×10^7	0.26×10^7	0.57×10^7
1	0.79×10^7	1.175×10^7	2.33×10^7
2	1.02×10^7	1.04×10^7	4.86×10^7
3	1.21×10^7	2.36×10^7	6.89×10^7
4	2.79×10^7	1.99×10^7	6.22×10^7
5	3.66×10^7	3.92×10^7	9.17×10^7
6	6.42×10^7	3.31×10^7	10.56×10^7
7	5.89×10^7	7.155×10^7	13.09×10^7
8	6.71×10^7	6.67×10^7	14.98×10^7
9	7.86×10^7	8.60×10^7	14.65×10^7
10	8.62×10^7	8.18×10^7	15.01×10^7
11	8.28×10^7	11.76×10^7	14.12×10^7
12	9.56×10^7	12.07×10^7	14.73×10^7
13	10.34×10^7	12.84×10^7	13.92×10^7
14	9.93×10^7	12.41×10^7	11.92×10^7
15	10.46×10^7	11.70×10^7	10.14×10^7
16	10.21×10^7	12.09×10^7	
17	9.68×10^7	11.37×10^7	
18	10.13×10^7	9.6×10^7	
19	9.14×10^7	9.87×10^7	
20	9.56×10^7	8.97×10^7	
21	8.61×10^7		
22	8.72×10^7		
23	8.18×10^7		
24	7.86×10^7		

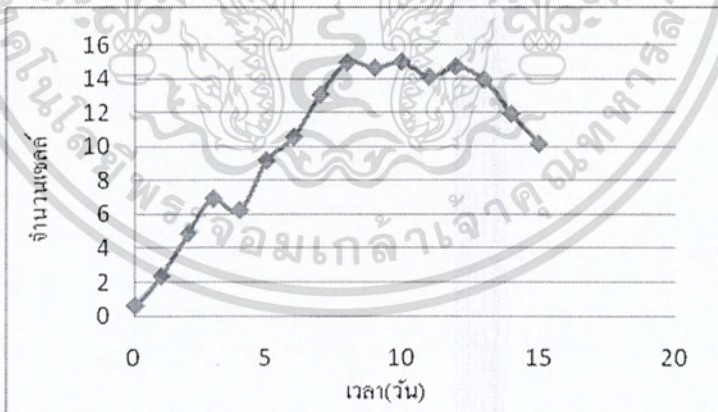
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a)



(b)



(c)

รูปที่ ค-1 กราฟการเจริญของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ที่ทำกรเพาะเลี้ยง

(a) *Chlamydomonas* sp.W53 (b) *Chlorella* sp.W53 (c) *Scenedesmus* sp.W53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

ข้อมูลการทดลอง

1. น้ำหนักและร้อยละของผลได้ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

ตารางที่ ง-1 น้ำหนักและร้อยละของผลได้ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

สาหร่าย	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)		ผลได้ (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)	
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2
<i>Chlamydomonas</i> sp.W53				
E1	0.817	1.036	8.170	10.355
E2	0.284	0.416	2.842	4.163
E3	0.135	0.158	1.352	1.576
W1	1.374	0.841	13.736	8.414
W2	0.564	1.123	5.641	11.228
W3	0.836	0.661	8.358	6.612
<i>Chlorella</i> sp.W53				
E1	0.930	0.479	9.297	4.788
E2	0.450	0.322	4.499	3.219
E3	0.283	0.254	2.834	2.542
W1	1.011	1.327	10.111	13.271
W2	0.661	0.385	6.607	3.853
W3	0.303	0.143	3.033	1.428

ตารางที่ ง-1 น้ำหนักและร้อยละของผลได้ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ (ต่อ)

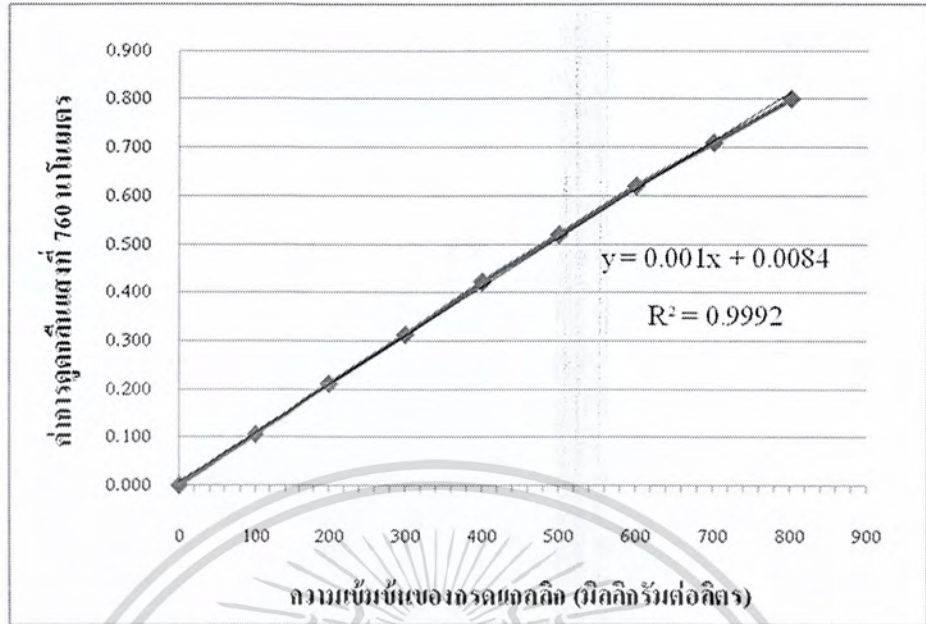
สาหร่าย	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)		ผลได้ (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)	
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2
<i>Scenedesmus</i> sp.W53				
E1	0.769	0.668	7.685	6.678
E2	0.321	0.290	3.212	2.897
E3	0.204	0.154	2.039	1.535
W1	0.913	1.027	9.127	10.270
W2	0.626	0.492	6.260	4.919
W3	0.254	0.086	2.540	0.857

2. การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ตารางที่ ง-2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสารมาตรฐาน กรดแกลลิก

ความเข้มข้นของ กรดแกลลิก (mg/l)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
100	0.1110	0.1070	0.0995	0.1058
200	0.2135	0.2125	0.2052	0.2104
300	0.3260	0.3145	0.2982	0.3129
400	0.4450	0.4185	0.4020	0.4218
500	0.5310	0.5080	0.5212	0.5201
600	0.6455	0.5985	0.6189	0.6210
700	0.7175	0.7015	0.7122	0.7104
800	0.7738	0.8170	0.8127	0.8012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดแกแลลิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร

ตารางที่ ง-3 แสดงข้อมูลดิบการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กรวมทั้ง 3 สายพันธุ์โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

ตัวอย่างที่ ความ เข้มข้น 1 mg/ml	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร					ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกแลลิก)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
CA-B1	0.059	0.062	0.060	0.061	0.063	50.60	53.60	51.60	52.60	54.60
CA-B2	0.063	0.066	0.065	0.064	0.068	54.60	57.60	56.60	55.60	59.60
CO-B1	0.054	0.057	0.055	0.056	0.055	45.60	48.60	46.60	47.60	46.60
CO-B2	0.041	0.041	0.042	0.040	0.040	32.60	32.60	33.60	31.60	31.60
SE-B1	0.035	0.033	0.036	0.034	0.034	26.60	24.60	27.60	25.60	25.60
SE-B2	0.038	0.038	0.038	0.039	0.038	29.60	29.60	29.60	30.60	29.60

หมายเหตุ

B1 : สารสกัด Batch ที่ 1 , B2 : สารสกัด Batch ที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4 แสดงข้อมูลดิบการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจาก
สำหรับน้ำจืดขนาดเด็กทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

ตัวอย่างที่ ความ เข้มข้น mg/ml	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร					ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิก)				
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
CA-B1	0.019	0.019	0.019	0.020	0.019	10.60	10.60	10.60	11.60	10.60
CA-B2	0.025	0.025	0.026	0.026	0.025	16.60	16.60	17.60	17.60	16.60
CO-B1	0.021	0.020	0.018	0.019	0.021	12.60	11.60	9.60	10.60	12.60
CO-B2	0.021	0.022	0.022	0.022	0.021	12.60	13.60	13.60	13.60	12.60
SE-B1	0.020	0.019	0.017	0.018	0.020	11.60	10.60	8.60	9.60	11.60
SE-B2	0.018	0.018	0.022	0.019	0.019	9.60	9.60	13.60	10.60	10.60

หมายเหตุ

B1 : สารสกัด Batch ที่ 1 , B2 : สารสกัด Batch ที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

3.1 การวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน

ตารางที่ ง-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlamydomonas sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 1)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.066	0.064	0.054	0.054	0.060
30	0.123	0.111	0.132	0.123	0.122
60	0.160	0.157	0.160	0.172	0.162
90	0.225	0.241	0.261	0.220	0.237
120	0.28	0.322	0.324	0.288	0.304
150	0.278	0.294	0.282	0.277	0.283

ตารางที่ ง-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlorella sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 1)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.048	0.043	0.044	0.049	0.046
30	0.088	0.084	0.084	0.130	0.097
60	0.195	0.186	0.188	0.192	0.190
90	0.207	0.218	0.227	0.206	0.215
120	0.268	0.268	0.301	0.301	0.285
150	0.322	0.316	0.347	0.312	0.324

ตารางที่ ง-7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Scenedesmus sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 1)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.034	0.034	0.034	0.033	0.034
30	0.078	0.092	0.088	0.079	0.084
60	0.113	0.137	0.136	0.110	0.124
90	0.173	0.178	0.148	0.141	0.160
120	0.193	0.181	0.176	0.157	0.177
150	0.241	0.228	0.211	0.213	0.223

ตารางที่ ง-8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlamydomonas sp.W53. สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 2)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.035	0.038	0.035	0.045	0.038
30	0.153	0.126	0.130	0.139	0.137
60	0.185	0.184	0.195	0.193	0.189
90	0.250	0.319	0.230	0.331	0.283
120	0.326	0.475	0.412	0.407	0.405
150	0.381	0.381	0.362	0.395	0.380

ตารางที่ ง-9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlorella sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 2)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.035	0.038	0.037	0.036	0.037
30	0.093	0.103	0.095	0.090	0.095
60	0.149	0.148	0.113	0.137	0.137
90	0.152	0.191	0.195	0.146	0.171
120	0.237	0.257	0.256	0.328	0.270
150	0.381	0.381	0.278	0.309	0.337

ตารางที่ ง- 10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Scenedesmus sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 2)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.028	0.034	0.035	0.035	0.033
30	0.083	0.151	0.154	0.165	0.138
60	0.203	0.225	0.212	0.198	0.210
90	0.281	0.273	0.319	0.373	0.312
120	0.490	0.443	0.443	0.438	0.454
150	0.375	0.350	0.419	0.418	0.391

ตารางที่ ง- 11 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlamydomonas sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 1)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.004	0.004	0.003	0.005	0.004
30	0.019	0.015	0.015	0.016	0.013
60	0.035	0.035	0.035	0.033	0.035
90	0.039	0.029	0.033	0.041	0.036
120	0.045	0.046	0.047	0.053	0.048
150	0.038	0.038	0.037	0.046	0.040

ตารางที่ ง- 12 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlorella sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 1)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.015	0.016	0.015	0.016	0.016
30	0.022	0.022	0.022	0.024	0.023
60	0.026	0.027	0.029	0.046	0.032
90	0.051	0.050	0.053	0.052	0.052
120	0.065	0.063	0.061	0.066	0.064
150	0.086	0.095	0.098	0.079	0.090

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง- 13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Scenedesmus sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 1)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.008	0.008	0.009	0.009	0.009
30	0.025	0.025	0.022	0.022	0.024
60	0.037	0.051	0.049	0.059	0.049
90	0.042	0.033	0.041	0.042	0.040
120	0.061	0.061	0.064	0.065	0.063
150	0.065	0.089	0.055	0.072	0.070

ตารางที่ ง- 14 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlamydomonas sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 2)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.015	0.016	0.015	0.021	0.017
30	0.024	0.027	0.029	0.027	0.027
60	0.033	0.040	0.049	0.048	0.043
90	0.061	0.057	0.050	0.045	0.053
120	0.053	0.065	0.068	0.045	0.058
150	0.066	0.043	0.049	0.064	0.056

ตารางที่ ง-15 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlorella sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 2)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.019	0.019	0.018	0.018	0.019
30	0.037	0.027	0.035	0.024	0.031
60	0.049	0.049	0.044	0.047	0.047
90	0.090	0.072	0.069	0.064	0.074
120	0.081	0.083	0.086	0.099	0.087
150	0.093	0.094	0.095	0.097	0.095

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง- 16 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

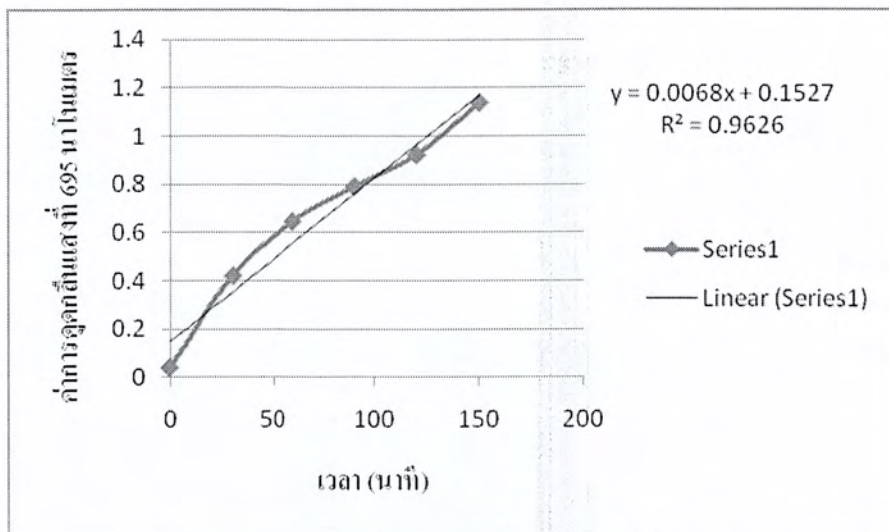
Scenedesmus sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 2)

เวลา (นาที)	1	2	3	4	เฉลี่ย
0	0.019	0.018	0.019	0.020	0.019
30	0.024	0.024	0.025	0.024	0.024
60	0.033	0.040	0.034	0.035	0.036
90	0.052	0.045	0.044	0.049	0.048
120	0.065	0.055	0.073	0.060	0.063
150	0.089	0.089	0.111	0.083	0.093

ตารางที่ ง- 17 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารมาตรฐาน BHT

เวลา (นาที)	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.047	0.036	0.045	0.043
30	0.398	0.423	0.446	0.422
60	0.667	0.617	0.660	0.648
90	0.801	0.804	0.770	0.792
120	0.850	1.051	0.867	0.923
150	1.117	1.285	1.006	1.136

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



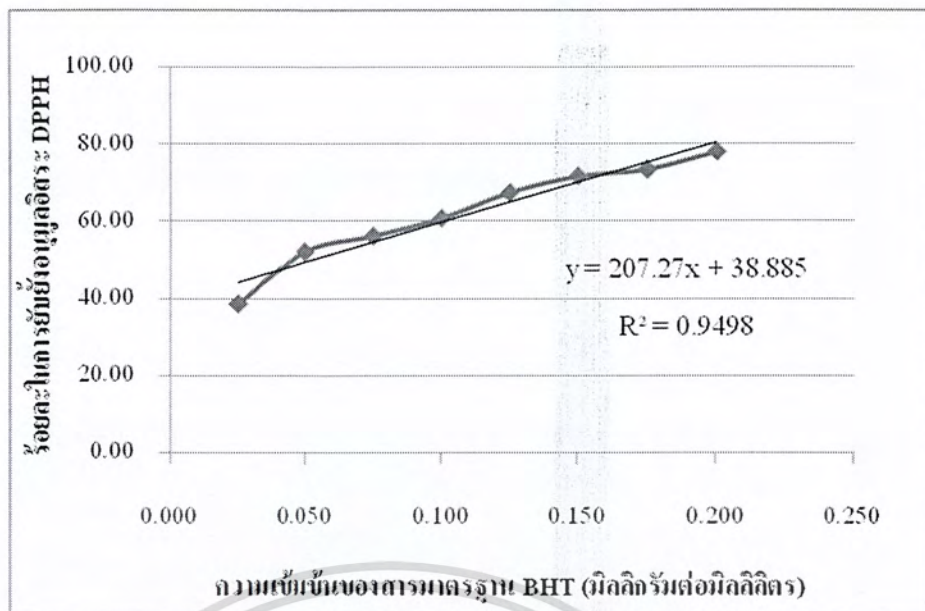
รูปที่ ๒-2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรของสารมาตรฐาน BHT ที่เวลาต่างๆ

2.2 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical)

ตารางที่ ๒-18 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น ของ BHT (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				Sample blank	ร้อยละใน การกำจัด
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย		
0.010	2.299	2.319	2.289	2.3023	0.006	25.78
0.025	1.888	1.871	1.953	1.9040	0.004	38.59
0.050	1.516	1.437	1.510	1.4877	0.004	52.05
0.075	1.365	1.342	1.378	1.3617	0.003	56.09
0.100	1.244	1.212	1.204	1.2200	0.003	60.67
0.125	0.996	1.039	1.010	1.0150	0.004	67.32
0.150	0.906	0.839	0.904	0.8830	0.004	71.59
0.175	0.789	0.806	0.889	0.8280	0.004	73.37
0.200	0.682	0.718	0.659	0.6863	0.004	77.95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3-3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 3-19 ผลการทดลองของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน

ความเข้มข้นของสาหร่าย (mg/ml)	ค่าเฉลี่ย Batch 1	ค่าเฉลี่ย Batch 2	Sample blank	%SC	SD
0.4	2.7710	2.7533	0.1680	21.79	6.38
0.8	2.7427	2.7300	0.3115	26.85	7.54
1.2	2.7867	2.7810	0.4970	34.21	7.07
1.6	2.6850	2.7290	0.8600	42.34	0.97
2.0	2.7360	2.7180	1.0450	47.49	0.39
2.4	2.7550	2.7320	1.2180	52.37	0.51

ตารางที่ ง-20 ผลการทดลองของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน

ความเข้มข้นของ สาหร่าย (mg/ml)	ค่าเฉลี่ย Batch 1	ค่าเฉลี่ย Batch 2	Sample blank	%SC	SD
0.4	2.6050	2.5740	0.1580	22.64	0.70
0.8	2.6100	2.5740	0.2860	26.63	0.80
1.2	2.6270	2.5550	0.4290	31.21	1.62
1.6	2.5890	2.5510	0.5600	36.05	0.85
2.0	2.6010	2.5750	0.7110	40.28	0.58
2.4	2.4740	2.5120	0.8230	46.87	0.85

ตารางที่ ง-21 ผลการทดลองของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp.W53
สกัดด้วยน้ำร้อน

ความเข้มข้นของ สาหร่าย (mg/ml)	ค่าเฉลี่ย Batch 1	ค่าเฉลี่ย Batch 2	Sample blank	%SC	SD
0.4	2.5840	2.6180	0.1280	21.32	0.76
0.8	2.5980	2.5660	0.2120	24.59	0.71
1.2	2.5890	2.6080	0.3380	28.08	0.42
1.6	2.5750	2.4800	0.4510	33.93	2.13
2.0	2.4820	2.4550	0.5660	39.47	0.60
2.4	2.4010	2.4850	0.6670	43.49	1.88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-22 ผลการทดลองของสารสกัดหยาบจาก *Chlamydomonas* sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล

ความเข้มข้นของ สารร้าย (mg/ml)	ค่าเฉลี่ย Batch 1	ค่าเฉลี่ย Batch 2	Sample blank	%SC	SD
0.4	2.7060	2.6590	0.4235	34.43	2.80
0.8	2.6303	2.6347	0.7795	46.21	3.17
1.2	2.6733	2.6190	1.2300	58.87	4.80
1.6	2.7020	2.6885	1.6670	67.90	4.62
2.0	2.7390	2.7095	2.0360	78.51	4.60
2.4	2.7850	2.7720	2.3750	87.40	2.42

ตารางที่ ง-23 ผลการทดลองของสารสกัดหยาบจาก *Chlorella* sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล

ความเข้มข้นของ สารร้าย (mg/ml)	ค่าเฉลี่ย Batch 1	ค่าเฉลี่ย Batch 2	Sample blank	%SC	SD
0.4	2.6190	2.6743	0.2805	31.36	1.34
0.8	2.5890	2.6917	0.5655	39.83	4.04
1.2	2.5440	2.6540	0.8425	49.07	4.67
1.6	2.5790	2.5970	1.1410	54.82	5.63
2.0	2.5095	2.5225	1.4135	65.58	8.01
2.4	2.5545	2.5215	1.6905	73.54	9.49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-24 ผลการทดลองของสารสกัดหยาบจาก *Scenedesmus* sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล

ความเข้มข้นของ สาหร่าย (mg/ml)	ค่าเฉลี่ย Batch 1	ค่าเฉลี่ย Batch 2	Sample blank	%SC	SD
0.4	2.6047	2.6317	0.3695	34.76	0.04
0.8	2.4273	2.6397	0.6975	46.77	5.50
1.2	2.2503	2.5490	1.0805	61.78	7.47
1.6	2.2810	2.2295	1.4220	73.99	11.56
2.0	2.1165	2.0815	1.7830	90.13	16.58
2.4	2.0085	1.9790	2.0955	103.18	17.86

2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน

ตารางที่ ง-25 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย
Chlamydomonas sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 1)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A ₁				A ₂	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.279	1.207	1.207	1.231	0.148	1.109
0.4	1.333	1.361	1.254	1.316	0.272	
0.6	1.388	1.380	1.231	1.333	0.410	
0.8	1.374	1.396	1.244	1.338	0.484	
1.0	1.321	1.341	1.297	1.320	0.604	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง- 26 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlorella sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 1)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A ₁				A ₂	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.119	1.197	1.240	1.185	0.122	1.109
0.4	1.122	1.181	1.225	1.176	0.211	
0.6	1.138	1.147	1.210	1.165	0.286	
0.8	1.112	1.122	1.177	1.137	0.308	
1.0	1.071	1.117	1.170	1.119	0.450	

ตารางที่ ง- 27 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Scenedesmus sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 1)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A ₁				A ₂	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	0.572	0.572	0.572	0.572	0.572	1.109
0.4	0.572	0.572	0.572	0.572	0.572	
0.6	0.572	0.572	0.572	0.572	0.572	
0.8	0.572	0.572	0.572	0.572	0.572	
1.0	0.572	0.572	0.572	0.572	0.572	

ตารางที่ ง- 28 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlamydomonas sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 2)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A ₁				A ₂	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.179	1.185	1.198	1.187	0.096	1.109
0.4	1.126	1.156	1.177	1.153	0.154	
0.6	1.158	1.159	1.199	1.172	0.242	
0.8	1.189	1.171	1.163	1.174	0.357	
1.0	1.175	1.186	1.178	1.180	0.412	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง- 29 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย
Chlorella sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 2)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A1				A2	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.185	1.191	1.183	1.186	0.141	1.109
0.4	1.192	1.181	1.189	1.187	0.25	
0.6	1.199	1.226	1.199	1.208	0.355	
0.8	1.26	1.264	1.286	1.270	0.443	
1.0	1.228	1.259	1.243	1.243	0.522	

ตารางที่ ง- 30 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย
Scenedesmus sp.W53 สกัดด้วยเอทานอล (ชุดที่ 2)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A1				A2	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.106	1.156	1.031	1.098	0.076	1.109
0.4	1.161	1.119	1.071	1.117	0.203	
0.6	1.173	1.136	1.062	1.124	0.356	
0.8	1.178	1.138	1.109	1.142	0.455	
1.0	1.169	1.129	1.227	1.175	0.654	

ตารางที่ ง- 31 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย
Chlamydomonas sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 1)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A1				A2	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.126	1.114	1.104	1.115	0.023	1.114
0.4	1.120	1.143	1.114	1.126	0.046	
0.6	1.135	1.118	1.124	1.126	0.074	
0.8	1.123	1.098	1.096	1.106	0.103	
1.0	1.063	1.120	1.123	1.102	0.114	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-32 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย
Chlorella sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 1)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A1				A2	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.108	1.061	1.054	1.074	0.058	1.114
0.4	1.019	1.026	1.016	1.020	0.086	
0.6	0.971	0.968	1.003	0.981	0.126	
0.8	0.964	0.955	0.956	0.958	0.154	
1.0	0.941	0.936	0.978	0.952	0.206	

ตารางที่ ง-33 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย
Scenedesmus sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 1)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A1				A2	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.023	1.039	1.041	1.034	0.026	1.114
0.4	0.931	0.943	0.962	0.945	0.050	
0.6	0.889	0.875	0.881	0.882	0.068	
0.8	0.798	0.817	0.819	0.811	0.081	
1.0	0.761	0.755	0.763	0.760	0.099	

ตารางที่ ง-34 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย
Chlamydomonas sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 2)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A1				A2	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.116	1.172	1.136	1.141	0.043	1.114
0.4	1.126	1.155	1.134	1.138	0.076	
0.6	1.116	1.141	1.103	1.120	0.109	
0.8	1.106	1.152	1.141	1.133	0.148	
1.0	1.080	1.134	1.119	1.111	0.187	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง- 35 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

Chlorella sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 2)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A1				A2	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.086	1.148	1.124	1.119	0.032	1.114
0.4	1.059	1.158	1.092	1.103	0.062	
0.6	1.034	1.198	1.056	1.096	0.091	
0.8	1.092	1.210	1.032	1.111	0.121	
1.0	1.001	1.169	1.000	1.057	0.149	

ตารางที่ ง- 36 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

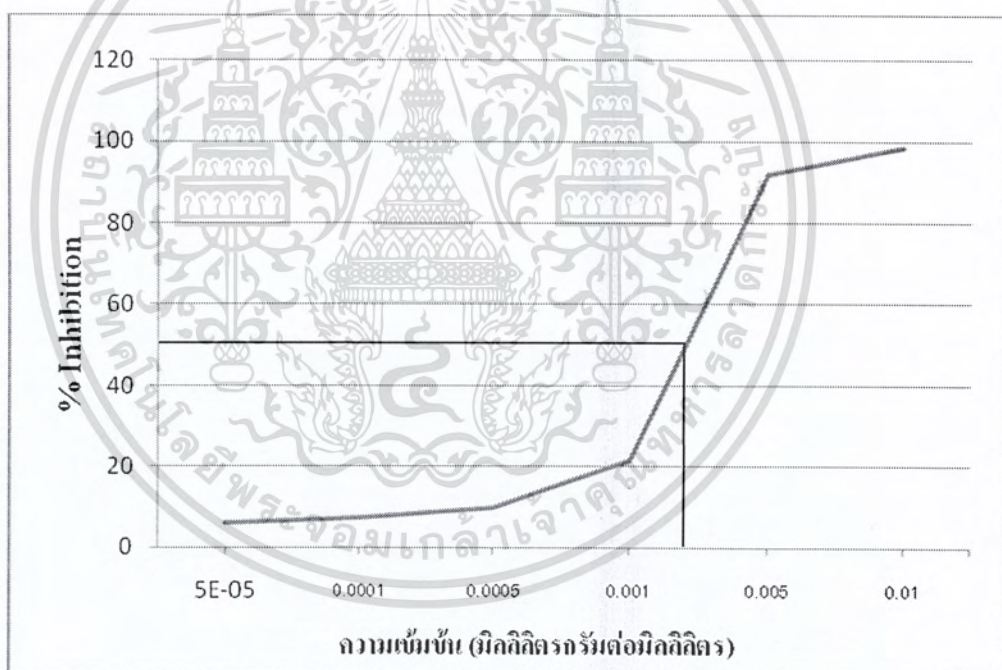
Scenedesmus sp.W53 สกัดด้วยน้ำร้อน (ชุดที่ 2)

ความเข้มข้น (mg/ml)	A1				A2	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.2	1.008	1.016	1.004	1.009	0.026	1.114
0.4	0.919	0.931	0.884	0.911	0.041	
0.6	0.850	0.868	0.798	0.839	0.064	
0.8	0.781	0.809	0.735	0.775	0.078	
1.0	0.738	0.758	0.690	0.729	0.087	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

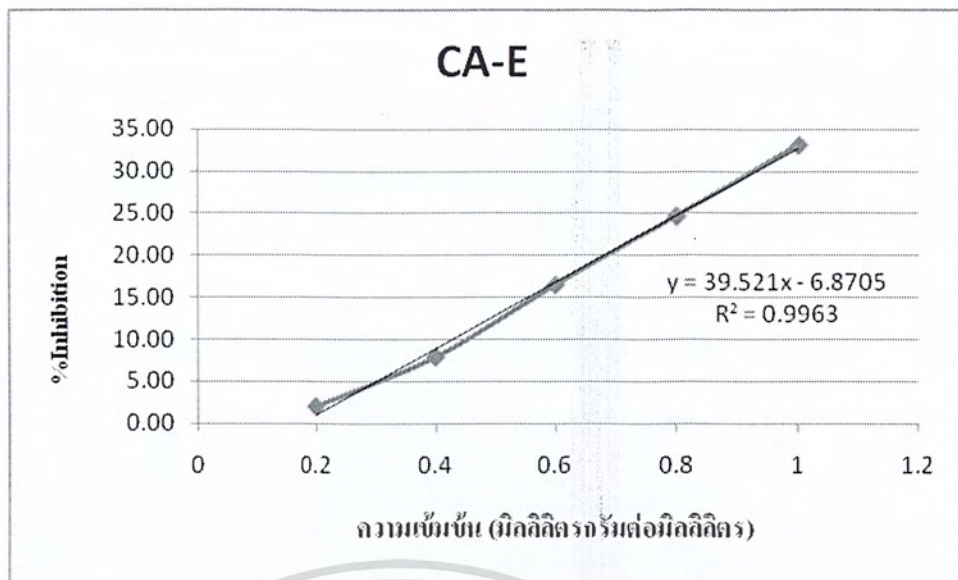
ตารางที่ ง- 37 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรของสารมาตรฐาน EDTA-Na₂

ความเข้มข้น (mg/ml)	A ₁				A ₂	A ₀
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
0.00005	1.022	1.008	1.058	1.029	0.004	1.091
0.0001	1.057	1.056	0.943	1.019	0.009	
0.0005	0.977	1.006	0.985	0.989	0.007	
0.001	0.859	0.864	0.877	0.867	0.010	
0.005	0.146	0.074	0.070	0.097	0.006	
0.01	0.014	0.038	0.008	0.020	0.004	



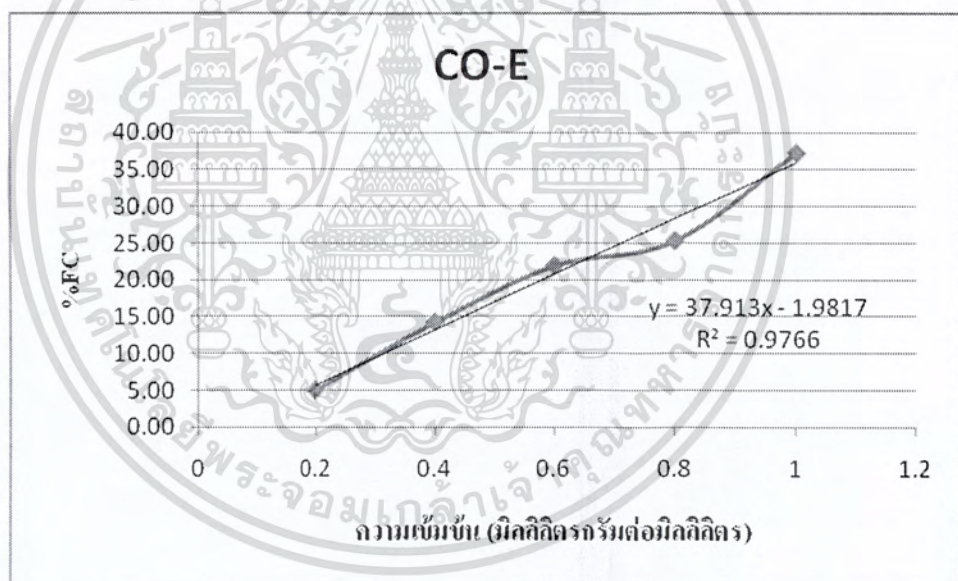
รูปที่ ง-4 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของ EDTA-Na₂

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-5 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบสกัด

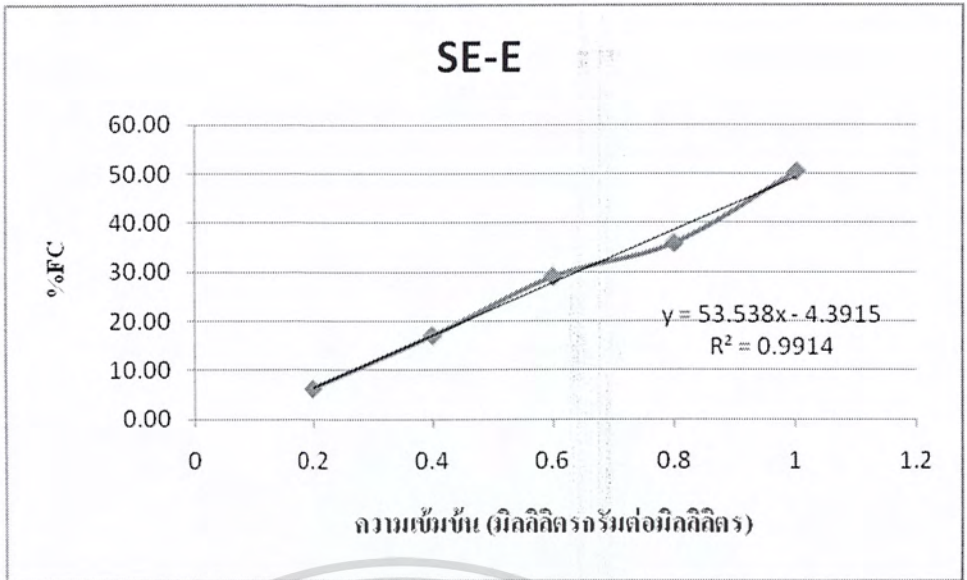
ด้วยเอทานอลของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53



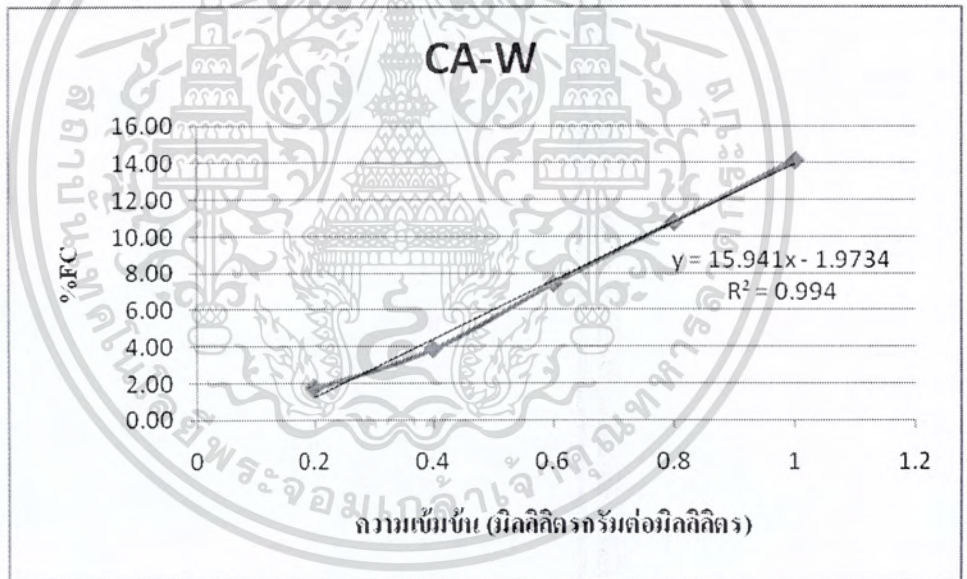
รูปที่ ง-6 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบสกัด

ด้วยเอทานอลของสาหร่าย *Chlorella* sp.W53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

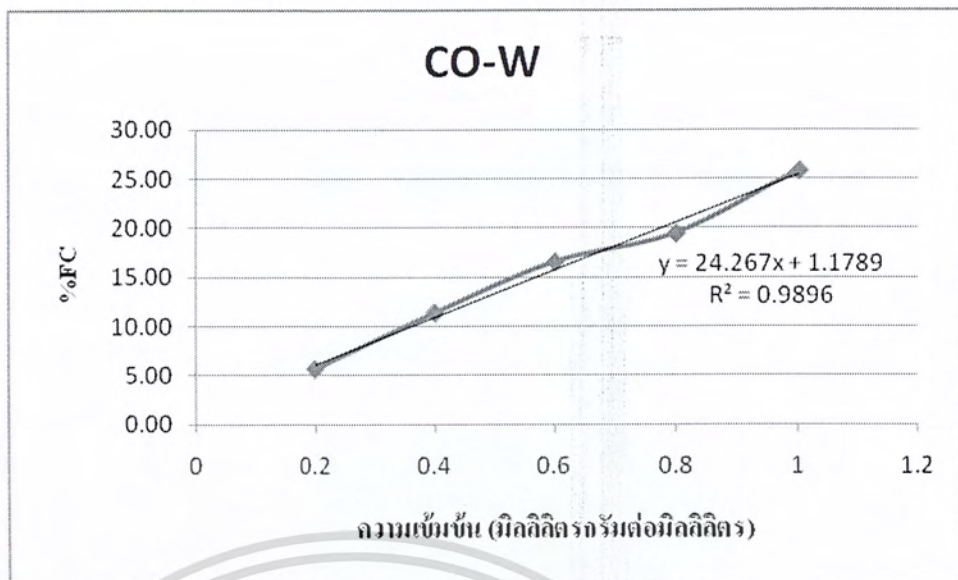


รูปที่ ง-7 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบสกัดด้วยเอทานอลของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.W53

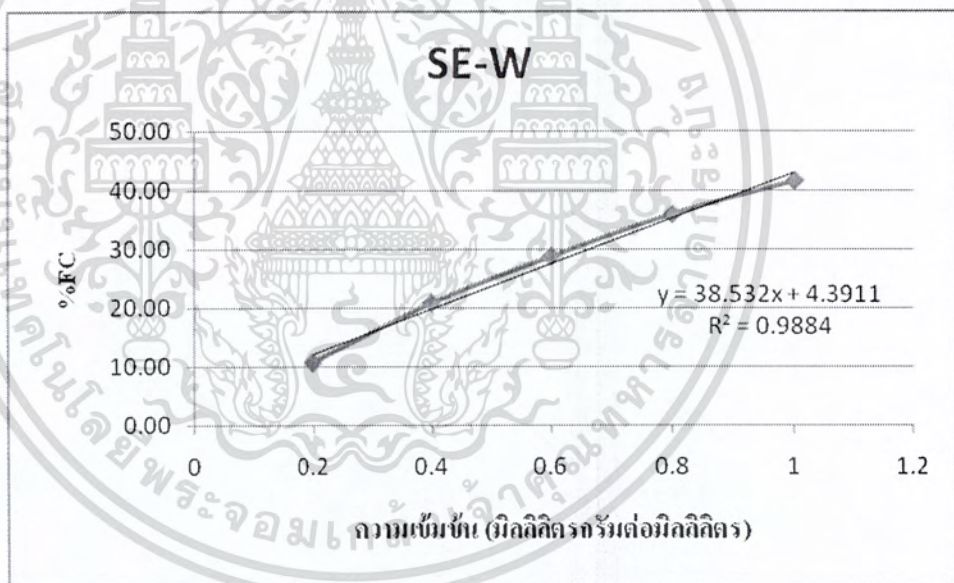


รูปที่ ง-8 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบสกัดด้วยน้ำร้อนของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp.W53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง-9 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบสกัด
ด้วยน้ำร้อนของสาหร่าย *Chlorella* sp.W53



รูปที่ ง-10 กราฟแสดงค่าร้อยละความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบสกัด
ด้วยน้ำร้อนของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.W53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ศูนย์เทคโนโลยี
สารสนเทศ จ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ตารางที่ จ-1 แสดงค่าทางสถิติในการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบ

Descriptives									
Phenolic content									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-W	2	13.9000	4.38406	3.10000	-25.4892	53.2892	10.80	17.00	
CO-W	2	12.9000	.42426	.30000	9.0881	16.7119	12.60	13.20	
SE-W	2	10.6000	.28284	.20000	8.0588	13.1412	10.40	10.80	
CA-E	2	54.7000	2.96985	2.10000	28.0170	81.3830	52.60	56.80	
CO-E	2	39.7000	10.32376	7.30000	-53.0553	132.4553	32.40	47.00	
SE-E	2	27.9000	2.68701	1.90000	3.7582	52.0418	26.00	29.80	
Total	12	26.6167	17.26235	4.98321	15.6487	37.5846	10.40	56.80	
Model									
Fixed Effects			4.86655	1.40485	23.1791	30.0542			
Random Effects				7.22931	8.0331	45.2002			301.73600

ANOVA

Phenoliccontent

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3135.777	5	627.155	26.481	.001
Within Groups	142.100	6	23.683		
Total	3277.877	11			

Phenoliccontent

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SE-W	2	10.6000		
CO-W	2	12.9000		
CA-W	2	13.9000		
SE-E	2		27.9000	
CO-E	2		39.7000	
CA-E	2			54.7000
Sig.		.535	.052	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

2.1 การวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน

ตารางที่ จ-2 แสดงค่าทางสถิติในการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบที่เวลา 0 นาที

Descriptives

OD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	.0490	.01273	.00900	-.0654	.1634	.04	.06	
CO-E	2	.0410	.00707	.00500	-.0225	.1045	.04	.05	
SE-E	2	.0332	.00170	.00120	.0180	.0484	.03	.03	
CA-W	2	.0110	.00990	.00700	-.0779	.0999	.00	.02	
CO-W	2	.0169	.00156	.00110	.0029	.0309	.02	.02	
SE-W	2	.0255	.00919	.00650	-.0571	.1081	.02	.03	
Total	12	.0294	.01503	.00434	.0199	.0390	.00	.06	
Model									
Fixed Effects			.00816	.00236	.0237	.0352			
Random Effects				.00590	.0143	.0446			.00018

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.002	5	.000	6.262	.023
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.002	11			

OD

Duncan^a

Algae	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
CA-W	2	.0110			
CO-W	2	.0169	.0169		
SE-W	2	.0255	.0255	.0255	
SE-E	2		.0332	.0332	.0332
CO-E	2			.0410	.0410
CA-E	2				.0490
Sig.		.137	.102	.116	.111

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-3 แสดงค่าทางสถิติในการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบที่เวลา 30 นาที

Descriptives									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	.1280	.01273	.00900	.0136	.2424	.12	.14	
CO-E	2	.0960	.00141	.00100	.0833	.1087	.10	.10	
SE-E	2	.1130	.03536	.02500	-.2047	.4307	.09	.14	
CA-W	2	.0215	.00778	.00550	-.0484	.0914	.02	.03	
CO-W	2	.0255	.00495	.00350	-.0190	.0700	.02	.03	
SE-W	2	.0465	.03041	.02150	-.2267	.3197	.03	.07	
Total	12	.0718	.04665	.01347	.0421	.1014	.02	.14	
Model									
Fixed Effects			.02010	.00580	.0576	.0859			
Random Effects				.01893	.0231	.1204			.00195

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.022	5	.004	10.651	.006
Within Groups	.002	6	.000		
Total	.024	11			

OD

Duncan^a

Algae	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
CA-W	2	.0215	
CO-W	2	.0255	
SE-W	2	.0465	
CO-E	2		.0960
SE-E	2		.1130
CA-E	2		.1280
Sig.		.274	.175

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-4 แสดงค่าทางสถิติในการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบที่เวลา 60 นาที

Descriptives									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	.1755	.01909	.01350	-.0040	.3470	.16	.19	
CO-E	2	.1595	.03889	.02750	-.1899	.5089	.13	.19	
SE-E	2	.1680	.05233	.03700	-.3021	.6381	.13	.21	
CA-W	2	.0380	.00424	.00300	-.0001	.0761	.04	.04	
CO-W	2	.0390	.00990	.00700	-.0499	.1279	.03	.05	
SE-W	2	.0420	.00990	.00700	-.0469	.1309	.04	.05	
Total	12	.1037	.07023	.02027	.0590	.1483	.03	.21	
Model									
Fixed Effects			.02837	.00819	.0836	.1237			
Random Effects				.02870	.0299	.1774			.00454

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.049	5	.010	12.282	.004
Within Groups	.005	6	.001		
Total	.054	11			

OD

Duncan^a

	Subset for alpha = 0.05		
	N	1	2
Algae			
CA-W	2	.0380	
CO-W	2	.0390	
SE-W	2	.0420	
CO-E	2		.1595
SE-E	2		.1680
CA-E	2		.1755
Sig.		.896	.604

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑-5 แสดงค่าทางสถิติในการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบที่เวลา 90 นาที

Descriptives

OD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	.2600	.03253	.02300	-.0322	.5522	.24	.28	
CO-E	2	.1930	.03111	.02200	-.0865	.4725	.17	.22	
SE-E	2	.2330	.11172	.07900	-.7708	1.2368	.15	.31	
CA-W	2	.0440	.01131	.00800	-.0576	.1456	.04	.05	
CO-W	2	.0605	.01202	.00850	-.0475	.1685	.05	.07	
SE-W	2	.0435	.00495	.00350	-.0010	.0880	.04	.05	
Total	12	.1390	.10278	.02967	.0737	.2043	.04	.31	
Model									
Fixed Effects			.04967	.01434	.1039	.1741			
Random Effects				.04111	.0333	.2447			.00891

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.101	5	.020	8.219	.012
Within Groups	.015	6	.002		
Total	.116	11			

OD

Duncan^a

Algae	N	Subset for alpha = 0.05		Sig.
		1	2	
SE-W	2	.0435		
CA-W	2	.0440		
CO-W	2	.0605		
CO-E	2			.1930
SE-E	2			.2330
CA-E	2			.2600
Sig.		.751		.240

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ- 6 แสดงค่าทางสถิติในการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการด้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบที่เวลา 120 นาที

Descriptives									
OD									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	.3545	.07142	.05050	-.2872	.9962	.30	.41	
CO-E	2	.2775	.01061	.00750	.1822	.3728	.27	.29	
SE-E	2	.3155	.19587	.13850	-1.4443	2.0753	.18	.45	
CA-W	2	.0515	.00495	.00350	.0070	.0960	.05	.06	
CO-W	2	.0755	.01626	.01150	-.0706	.2216	.06	.09	
SE-W	2	.0630	.00000	.00000	.0630	.0630	.06	.06	
Total	12	.1896	.14821	.04279	.0954	.2838	.05	.45	
Model	Fixed Effects		.08550	.02468	.1292	.2500			
	Random Effects			.05741	.0420	.3372			.01612

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.198	5	.040	5.410	.032
Within Groups	.044	6	.007		
Total	.242	11			

OD

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Algae				
CA-W	2	.0515		
SE-W	2	.0630	.0630	
CO-W	2	.0755	.0755	
CO-E	2		.2775	.2775
SE-E	2			.3155
CA-E	2			.3545
Sig.		.795	.052	.417

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-7 แสดงค่าทางสถิติในการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบที่เวลา 150 นาที

Descriptives

OD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	.3327	.06689	.04730	-.2683	.9337	.29	.38	
CO-E	2	.3241	.00018	.00012	.3225	.3257	.32	.32	
SE-E	2	.3071	.11862	.08388	-.7586	1.3729	.22	.39	
CA-W	2	.0464	.00937	.00662	-.0378	.1306	.04	.05	
CO-W	2	.0896	.00481	.00340	.0464	.1328	.09	.09	
SE-W	2	.1410	.07212	.05100	-.5070	.7890	.09	.19	
Total	12	.2068	.13171	.03802	.1231	.2905	.04	.39	
Model									
Fixed Effects			.06306	.01820	.1623	.2514			
Random Effects				.05275	.0712	.3424			.01471

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.167	5	.033	8.398	.011
Within Groups	.024	6	.004		
Total	.191	11			

OD

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Algae			
CA-W	2	.0464	
CO-W	2	.0896	
SE-W	2	.1410	
SE-E	2		.3071
CO-E	2		.3241
CA-E	2		.3327
Sig.		.197	.708

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมลพิษระ DPPH

ตารางที่ จ-8 แสดงผลทางสถิติ ความสามารถในการกำจัดอนุมลพิษระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

DPPH									
Descriptives									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-W	2	21.7900	6.37810	4.51000	-35.5150	79.0950	17.28	26.30	
CO-W	2	22.6350	.70004	.49500	16.3454	28.9246	22.14	23.13	
SE-W	2	21.3200	.76368	.54000	14.4586	28.1814	20.78	21.86	
CA-E	2	34.4300	2.80014	1.98000	9.2717	59.5883	32.45	36.41	
CO-E	2	31.3600	1.34350	.95000	19.2891	43.4309	30.41	32.31	
SE-E	2	34.7550	.03536	.02500	34.4373	35.0727	34.73	34.78	
Total	12	27.7150	6.54283	1.88875	23.5579	31.8721	17.28	36.41	
Model									
Fixed Effects			2.92690	.84492	25.6475	29.7825			
Random Effects				2.64416	20.9180	34.5120			37.66600

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	419.494	5	83.899	9.794	.008
Within Groups	51.400	6	8.567		
Total	470.894	11			

DPPH

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
SE-W	2	21.3200	
CA-W	2	21.7900	
CO-W	2	22.6350	
CO-E	2		31.3600
CA-E	2		34.4300
SE-E	2		34.7550
Sig.		.678	.305

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑-๑ แสดงผลทางสถิติความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives									
DPPH									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-W	2	26.8550	7.54483	5.33500	-40.9326	94.6426	21.52	32.19	
CO-W	2	26.6300	.80610	.57000	19.3875	33.8725	26.06	27.20	
SE-W	2	24.5950	.71418	.50500	18.1784	31.0116	24.09	25.10	
CA-E	2	46.2100	3.16784	2.24000	17.7481	74.6719	43.97	48.45	
CO-E	2	39.8300	4.04465	2.86000	3.4903	76.1697	36.97	42.69	
SE-E	2	46.7750	5.50836	3.89500	-2.7157	96.2657	42.88	50.67	
Total	12	35.1492	10.35359	2.98882	28.5708	41.7275	21.52	50.67	
Model									
Fixed Effects			4.37456	1.26283	32.0591	38.2392			
Random Effects				4.21178	24.3224	45.9759			96.86602

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1064.344	5	212.869	11.124	.005
Within Groups	114.821	6	19.137		
Total	1179.165	11			

DPPH

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
SE-W	2	24.5950	
CO-W	2	26.6300	
CA-W	2	26.8550	
CO-E	2		39.8300
CA-E	2		46.2100
SE-E	2		46.7750
Sig.		.634	.176

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-10 แสดงผลทางสถิติ ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

DPPH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-W	2	34.2100	7.07107	5.00000	-29.3210	97.7410	29.21	39.21	
CO-W	2	31.2150	1.61927	1.14500	16.6664	45.7636	30.07	32.36	
SE-W	2	28.0800	.42426	.30000	24.2681	31.8919	27.78	28.38	
CA-E	2	58.8750	4.80126	3.39500	15.7374	102.0126	55.48	62.27	
CO-E	2	49.0750	4.67398	3.30500	7.0810	91.0690	45.77	52.38	
SE-E	2	61.7850	7.47412	5.28500	-5.3673	128.9373	56.50	67.07	
Total	12	43.8733	14.47731	4.17924	34.6749	53.0718	27.78	67.07	
Model									
Fixed Effects			5.05903	1.46042	40.2998	47.4468			
Random Effects				5.98882	28.4786	59.2681			202.39870

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2151.956	5	430.391	16.816	.002
Within Groups	153.563	6	25.594		
Total	2305.518	11			

DPPH

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
SE-W	2	28.0800	
CO-W	2	31.2150	
CA-W	2	34.2100	
CO-E	2		49.0750
CA-E	2		58.8750
SE-E	2		61.7850
Sig.		.285	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-11 แสดงผลทางสถิติ ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives									
DPPH									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-W	2	42.3350	.96874	.68500	33.6312	51.0388	41.65	43.02	
CO-W	2	36.0450	.85560	.60500	28.3577	43.7323	35.44	36.65	
SE-W	2	33.9300	2.13546	1.51000	14.7436	53.1164	32.42	35.44	
CA-E	2	67.9000	4.62448	3.27000	26.3507	109.4493	64.63	71.17	
CO-E	2	54.8200	5.62857	3.98000	4.2493	105.3907	50.84	58.80	
SE-E	2	73.9850	11.56120	8.17500	-29.8882	177.8582	65.81	82.16	
Total	12	51.5025	16.58913	4.78887	40.9623	62.0427	32.42	82.16	
Model									
Fixed Effects			5.67096	1.63706	47.4967	55.5083			
Random Effects				6.87293	33.8351	69.1699			267.34347

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2834.233	5	566.847	17.626	.002
Within Groups	192.959	6	32.160		
Total	3027.192	11			

DPPH

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
SE-W	2	33.9300			
CO-W	2	36.0450			
CA-W	2	42.3350	42.3350		
CO-E	2		54.8200	54.8200	
CA-E	2			67.9000	67.9000
SE-E	2				73.9850
Sig.		.202	.070	.061	.325

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-12 แสดงผลทางสถิติ ความสามารถในการกำจัดอนุโมลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives									
DPPH									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-W	2	47.4900	.39598	.28000	43.9323	51.0477	47.21	47.77	
CO-W	2	40.2800	.57983	.41000	35.0705	45.4895	39.87	40.69	
SE-W	2	39.4700	.60811	.43000	34.0063	44.9337	39.04	39.90	
CA-E	2	78.5150	4.60327	3.25500	37.1563	119.8737	75.26	81.77	
CO-E	2	65.5800	8.01859	5.67000	-6.4642	137.6242	59.91	71.25	
SE-E	2	90.1350	16.58165	11.72500	-58.8453	239.1153	78.41	101.86	
Total	12	60.2450	21.01605	6.06681	46.8920	73.5980	39.04	101.86	
Model									
Fixed Effects			7.75996	2.24011	54.7637	65.7263			
Random Effects				8.65748	37.9902	82.4998			419.60333

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4497.118	5	899.424	14.936	.002
Within Groups	361.302	6	60.217		
Total	4858.420	11			

DPPH

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
SE-W	2	39.4700			
CO-W	2	40.2800			
CA-W	2	47.4900	47.4900		
CO-E	2		65.5800	65.5800	
CA-E	2			78.5150	78.5150
SE-E	2				90.1350
Sig.		.356	.059	.147	.185

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-13 แสดงผลทางสถิติ ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาดจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 2.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives									
DPPH									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-W	2	52.3700	.50912	.36000	47.7958	56.9442	52.01	52.73	
CO-W	2	46.8650	.85560	.60500	39.1777	54.5523	46.26	47.47	
SE-W	2	43.4950	1.88798	1.33500	26.5322	60.4578	42.16	44.83	
CA-E	2	87.4050	2.42538	1.71500	65.6139	109.1961	85.69	89.12	
CO-E	2	73.5400	9.48937	6.71000	-11.7186	158.7986	66.83	80.25	
SE-E	2	103.1750	17.86859	12.63500	-57.3679	263.7179	90.54	115.81	
Total	12	67.8083	23.91528	6.90375	52.6133	83.0034	42.16	115.81	
Model									
Fixed Effects			8.36434	2.41458	61.9001	73.7166			
Random Effects				9.89240	42.3791	93.2376			552.17613

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5871.572	5	1174.314	16.785	.002
Within Groups	419.773	6	69.962		
Total	6291.345	11			

DPPH

Duncan^a

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SE-W	2	43.4950		
CO-W	2	46.8650		
CA-W	2	52.3700		
CO-E	2		73.5400	
CA-E	2		87.4050	87.4050
SE-E	2			103.1750
Sig.		.344	.148	.108

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออน

ตารางที่ จ -14 แสดงผลทางสถิติความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาดจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

FC

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	1.9985	.53104	.37550	-2.7727	6.7697	1.62	2.37	
CO-E	2	4.9580	1.14693	.81100	-5.3467	15.2627	4.15	5.77	
SE-E	2	6.2955	2.27335	1.60750	-14.1297	26.7207	4.69	7.90	
CA-W	2	1.7055	.42356	.29950	-2.1000	5.5110	1.41	2.01	
CO-W	2	5.5805	4.50639	3.18650	-34.9078	46.0688	2.39	8.77	
SE-W	2	10.6075	1.58745	1.12250	-3.6552	24.8702	9.49	11.73	
Total	12	5.1909	3.51597	1.01497	2.9570	7.4249	1.41	11.73	
Model									
Fixed Effects			2.22757	.64305	3.6174	6.7644			
Random Effects				1.33048	1.7708	8.6110			8.13999

ANOVA

FC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	106.210	5	21.242	4.281	.053
Within Groups	29.773	6	4.962		
Total	135.983	11			

FC

Duncan^a

Algae	N	Subset for alpha = 0.05	
		I	
CA-W	2	1.7055	
CA-E	2	1.9985	
CO-E	2	4.9580	4.9580
CO-W	2	5.5805	5.5805
SE-E	2	6.2955	6.2955
SE-W	2		10.6075
Sig.		.099	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ -15 แสดงผลทางสถิติความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives									
FC	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	7.9175	2.86873	2.02850	-17.8570	33.6920	5.89	9.95	
CO-E	2	14.2580	1.76352	1.24700	-1.5866	30.1026	13.01	15.51	
SE-E	2	17.0370	.80752	.57100	9.7818	24.2922	16.47	17.61	
CA-W	2	3.8600	1.10026	.77800	-6.0254	13.7454	3.08	4.64	
CO-W	2	11.3405	6.77055	4.78750	-49.4905	72.1715	6.55	16.13	
SE-W	2	20.7510	1.58675	1.12200	6.4946	35.0074	19.63	21.87	
Total	12	12.5273	6.31769	1.82376	8.5133	16.5414	3.08	21.87	
Model									
Fixed Effects			3.20313	.92466	10.2648	14.7899			
Random Effects				2.50827	6.0796	18.9751			32.61853

ANOVA

FC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	377.486	5	75.497	7.358	.015
Within Groups	61.560	6	10.260		
Total	439.046	11			

FC

Duncan^a

Algae	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
CA-W	2	3.8600			
CA-E	2	7.9175	7.9175		
CO-W	2	11.3405	11.3405	11.3405	
CO-E	2		14.2580	14.2580	14.2580
SE-E	2			17.0370	17.0370
SE-W	2				20.7510
Sig.		.065	.104	.137	.098

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ -16 แสดงผลทางสถิติความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives									
FC									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	16.4815	.44618	.31550	12.4727	20.4903	16.17	16.80	
CO-E	2	21.9350	1.65746	1.17200	7.0433	36.8267	20.76	23.11	
SE-E	2	29.0415	2.48548	1.75750	6.7103	51.3727	27.28	30.80	
CA-W	2	7.4205	2.58165	1.82550	-15.7747	30.6157	5.60	9.25	
CO-W	2	16.5320	9.54170	6.74700	-69.1968	102.2608	9.79	23.28	
SE-W	2	28.7105	2.47558	1.75050	6.4683	50.9527	26.96	30.46	
Total	12	20.0202	8.53330	2.46335	14.5984	25.4420	5.60	30.80	
Model									
Fixed Effects			4.33900	1.25256	16.9553	23.0851			
Random Effects				3.38632	11.3154	28.7250			59.38936

ANOVA

FC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	688.028	5	137.606	7.309	.016
Within Groups	112.961	6	18.827		
Total	800.989	11			

FC

Duncan^a

Algae	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
CA-W	2	7.4205		
CA-E	2	16.4815	16.4815	
CO-W	2	16.5320	16.5320	
CO-E	2		21.9350	21.9350
SE-W	2			28.7105
SE-E	2			29.0415
Sig.		.089	.270	.165

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-17 แสดงผลทางสถิติความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

FC

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	24.6695	2.33699	1.65250	3.6725	45.6665	23.02	26.32	
CO-E	2	25.3605	.12799	.09050	24.2106	26.5104	25.27	25.45	
SE-E	2	35.8625	3.16572	2.23850	7.4197	64.3053	33.62	38.10	
CA-W	2	10.7870	1.12147	.79300	.7110	20.8630	9.99	11.58	
CO-W	2	19.4495	11.80656	8.34850	-86.6283	125.5273	11.10	27.80	
SE-W	2	35.9365	2.11637	1.49650	16.9217	54.9513	34.44	37.43	
Total	12	25.3443	10.00238	2.88744	18.9890	31.6995	9.99	38.10	
Model									
Fixed Effects			5.17416	1.49365	21.6894	28.9991			
Random Effects				3.95789	15.1702	35.5183			80.60336

ANOVA

FC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	939.893	5	187.979	7.021	.017
Within Groups	160.631	6	26.772		
Total	1100.524	11			

FC

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Algae				
CA-W	2	10.7870		
CO-W	2	19.4495	19.4495	
CA-E	2		24.6695	24.6695
CO-E	2		25.3605	25.3605
SE-E	2			35.8625
SE-W	2			35.9365
Sig.		.145	.311	.084

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ -18 แสดงผลทางสถิติความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives									
yeild									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
CA-E	2	33.1430	3.31492	2.34400	3.3597	62.9263	30.80	35.49	
CO-E	2	37.3195	3.31421	2.34350	7.5425	67.0965	34.98	39.66	
SE-E	2	50.4205	3.69746	2.61450	17.2001	83.6409	47.81	53.04	
CA-W	2	14.1835	4.06233	2.87250	-22.3151	50.6821	11.31	17.06	
CO-W	2	25.7930	10.28275	7.27100	-66.5938	118.1798	18.52	33.06	
SE-W	2	41.5470	1.20632	.85300	30.7086	52.3854	40.69	42.40	
Total	12	33.7344	12.63212	3.64658	25.7084	41.7605	11.31	53.04	
Model									
Fixed Effects			5.15326	1.48762	30.0943	37.3745			
Random Effects				5.15742	20.4769	46.9920			146.31573

ANOVA

FC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1595.938	5	319.188	12.019	.004
Within Groups	159.336	6	26.556		
Total	1755.274	11			

FC

Duncan^a

Algae	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
CA-W	2	14.1835			
CO-W	2	25.7930	25.7930		
CA-E	2		33.1430	33.1430	
CO-E	2		37.3195	37.3195	
SE-W	2			41.5470	41.5470
SE-E	2				50.4205
Sig.		.065	.074	.166	.136

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้