สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# การศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่ายสีเขียว

# THE INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT OBTAINED FROM GREEN ALGAE

T117169

ระชา เมืองสุวรรณ์
สุขฤทัย ตรีมงคล
เสาวรัตน์ ทรัพย์เกิด

เลขหมู่.................
เลขทะเบียน 117169
วัน,เดือน,ปี 19 ก.ค. 2554

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

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

# THE INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT OBTAINED FROM GREEN ALGAE

RACHA MUENGSUWAN
SUKREUTHAI TREEMONGKOL
SAOWARAT SABKERD

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL MICOBIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2010

**หัวข้อโครงงานพิเศษ** การศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่ายสีเขียว

The investigation of antioxidant activity of crude extract obtained from green algae

**ชื่อนักศึกษา** นางสาวระชา เมืองสุวรรณ์ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 50050857

นางสาวสุขฤทัย ตรีมงคล นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 50050878

นางสาวเสาวรัตน์ ทรัพย์เกิด นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 50050882

**ปริญญา** วิทยาศาสตรบัณฑิต

**สาขาวิชา** จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

**อาจารย์ที่ปรึกษา** ผศ.วีนา ชูโชติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2553

| คณะกรรมการสอบ | ลายมือชื่อ |
|---|---|
| ประธานกรรมการ ผศ.ดร.จิตติ ท่าไว | |
| กรรมการ ผศ.ลินจง สุขลำภู | ลินจง สุขลำภู |
| กรรมการ ผศ.วีนา ชูโชติ | |

**ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์**

**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**

| | |
|---|---|
| **หัวข้อโครงงานพิเศษ** | การศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่ายสีเขียว |
| **นักศึกษา** | นางสาวระชา เมืองสุวรรณ์<br>นางสาวสุขฤทัย ตรีมงคล<br>นางสาวเสาวรัตน์ ทรัพย์เกิด |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต |
| **สาขาวิชา** | จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม |
| **ปีการศึกษา** | พ.ศ. 2553 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.วีนา ชูโชติ |

## บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้วิธีฟอลินซิโอแคลตู และการวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน โดยวิธีฟอสโฟโมลิปเดต วิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และตรวจสอบความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 25.056 ± 2.44 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุดซึ่งมีค่า IC$_{50}$ เท่ากับ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดสอบเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกสารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มีความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด และสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออนสูงที่สุดคือ 87.37 ± 4.01 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**Title** The investigation of antioxidant activity of crude extract obtained from green algae

**Students** Racha Muengsuwan
Sukreuthai Treemongkol
Saowarat Sabkerd

**Degree** Bachelor of Science

**Major** Industrial Microbiology

**Academic Year** 2010

**Advisor** Asst. Prof. Weena Choochote

## ABSTRACT

Three strains of green microalgae, *Chlorella* sp. W 54 *Monoraphidium* sp. W53 and *Ankistrodesmus* sp. W53 were studied for antioxidant activity. Hot water and ethanol crude extracts were examined for total phenolic content using Folin-Ciocalteu method and antioxidant properties, total antioxidant capacity using phosphomolybdate method, DPPH scavenging activity assay and ferrous ion chelating assay. Results showed the maximum total phenolic content of 25.056 ± 2.44 mg equivalent GA/g dry alga powder was observed in ethanol of extract from *Monoraphidium* sp. W53. The highest radical scavenging was observed in ethanol extract of *Monoraphidium* sp. W53 $IC_{50}$ 0.8 mg/ml. The highest total antioxidant capacity was observed in ethanol extract of *Chlorella* sp. W54. Hot water extract of *Ankistrodesmus* sp. W53 showed the best ferrous ion chelation activity of 87.37 ± 4.01 % at a concentration of 1 mg/ml.

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.วีนา ชูโชติ ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ผู้จัดทำ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ผศ.ลินจง สุขลำภูและผศ.วีนา ชูโชติ กรรมการสอบโครงงานพิเศษ รวมทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ ชี้แนะในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อน และพี่ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงงานพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้ หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงงานพิเศษนี้

ระชา เมืองสุวรรณ์
สุขฤทัย ตรีมงคล
เสาวรัตน์ ทรัพย์เกิด

# สารบัญ

หน้า

**บทคัดย่อภาษาไทย** I

**บทคัดย่อภาษาอังกฤษ** II

**กิตติกรรมประกาศ** III

**สารบัญ** IV

**สารบัญตาราง** IVV

**สารบัญรูป** VV

**บทที่ 1 บทนำ** 1

1.1 ที่มา และความสำคัญ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง 2

1.3 ขอบเขตของการทดลอง 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

**บทที่ 2 ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** 3

2.1 อนุมูลอิสระ 3

2.1.1 อนุมูลอิสระที่สำคัญทางชีววิทยา 3

2.1.2 บทบาทของอนุมูลอิสระต่อร่างกาย 4

2.1.3 กลไกการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระ 5

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ 6

2.2.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ 7

2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในสาหร่าย 12

2.2.3 การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ 14

2.3 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ 14

2.3.1 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) 14

2.3.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical) 15

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion-chelating ability assay) 16

2.4 สาหร่ายสีเขียว 17

2.4.1 *Chlorella* sp. 18

2.4.2 *Ankistrodesmus* sp. 19

2.4.3 *Monoraphidium* sp. 21

2.5 การเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ 22

2.5.1 รูปแบบของการเพาะเลี้ยง 22

2.5.2 อาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย 22

2.5.3 เทคนิคในการแยกเชื้อและการทำให้บริสุทธิ์ 23

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย 25

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 26

**บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย** 28

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ 28

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ 28

3.3 อุปกรณ์ 28

3.4 วิธีการทดลอง 29

3.4.1 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ 29

3.4.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวที่แยกได้จากธรรมชาติ 3 สายพันธุ์ 29

3.4.3 การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย 30

3.4.4 การสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 30

3.4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 31

3.4.6 การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ 31

3.4.6.1 การหาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย (Total antioxidant capacity) 31

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.6.2 วิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical) 32

3.4.6.3 การตรวจสอบความสามารถในการจับ Ferrous ion (Ferrous ion-chelating ability assay) 33

3.4.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 33

**บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล** 34

4.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 34

4.2 ผลได้และลักษณะของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ 35

4.3 ผลการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contant) 40

4.4 ผลการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ 42

4.4.1 ผลการวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity) 42

4.4.2 ผลวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical) 44

4.4.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการจับ Ferrous ion (Ferrous ion-chelating ability assay) 49

**บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ** 54

**เอกสารอ้างอิง** 56

**ภาคผนวก** 62

**ภาคผนวก ก. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ** 63

**ภาคผนวก ข. วิธีการคำนวณ** 64

**ภาคผนวก ค. ตารางและกราฟแสดงผลการวิจัย** 67

**ภาคผนวก ง. ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ** 120

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**

4.1 ผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) และลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล 37

4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล 41

4.3 ผลของค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล ที่ระดับความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร 43

4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้กับเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ (% Scavenging activity on DPPH radical) 47

4.5 ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ($EC_{50}$) 48

4.6 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการจับกับเฟอร์รัสไอออน ของสารสกัดจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ (% Inhibition) 51

4.7 ความสามารถในการยับยั้งการจับกับเฟอรัสไอออนของสารสกัดหยาบ ที่ทำให้ความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ 53

# สารบัญรูปภาพ

**รูปที่** **หน้า**

2.1 ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ 4

2.2 ผลของอนุมูลอิสระต่อร่างกาย 5

2.3 โครงสร้างทางเคมีของ อัลฟ่า-แคโรทีน (α-carotene) และเบต้า-แคโรทีน (β-carotene) 8

2.4 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ 10

2.5 โครงสร้างทางเคมีของโทรอก 11

2.6 โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก 11

2.7 โครงสร้างทางเคมีของอีดีทีเอ 12

2.8 ลักษณะเซลล์ของ *Spirulina* sp. 13

2.9 ลักษณะเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis* 13

2.10 ปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระ DPPH 15

2.11 ลักษณะเซลล์ของ *Chlorella* sp. 19

2.12 ลักษณะของสาหร่าย *Chlorella* ที่นำมาทำแห้งและอัดเม็ดจำหน่าย 20

2.13 ลักษณะเซลล์ของ *Ankistrodesmus* sp. 21

2.14 ลักษณะเซลล์ของ *Monoraphidium* sp. 21

4.1 แสดงลักษณะเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54, *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า 34

4.2.1 สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 35

4.2.2 สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 36

4.2.3 สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 36

4.3 กราฟผลได้รวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล 39

4.4 กราฟแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 40

4.5 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล ที่ระดับความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร 44

4.6 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ 45

4.7 กราฟแสดงค่า $EC_{50}$ ของสารมาตรฐาน BHT และสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 49

# สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

**รูปที่** **หน้า**

4.8 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ 52

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ในการศึกษางานวิจัยต่างๆ ชี้ให้เห็นว่า สารต้านอนุมูลอิสระจะส่งเสริมและป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระได้ โดยอนุมูลอิสระเป็นสารที่มีโมเลกุลของธาตุไม่เสถียร จึงทำให้ไปดึงอิเล็กตรอนจากเซลล์ที่อยู่บริเวณข้างเคียง ทำให้เซลล์นั้นเกิดความผิดปกติกลายเป็นสารอนุมูลชนิดใหม่ ซึ่งจะทำให้เกิดการทำลายเซลล์อื่นๆ ต่อไปได้เรื่อยๆ หากร่างกายไม่สามารถกำจัดให้หมดไปได้ อนุมูลอิสระเหล่านี้จะก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นภายในเซลล์ที่บริเวณดีเอ็นเอ (DNA) หรือเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ถูกทำลาย เป็นสาเหตุของโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่น โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน โรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ร่างกาย รวมถึงโรคมะเร็ง เป็นต้น (พิสมัย, 2550) ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงจัดเป็นสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต้านปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ มีบทบาทในการลดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกายและลดอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ ชะลอการเกิดความเสียหายของเซลล์ให้ช้าลงได้ มีงานวิจัยจำนวนมากระบุว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงจากโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง อัลไซเมอร์ อีกทั้งยังช่วยชะลอขบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความแก่ ดังนั้นร่างกายจึงควรได้รับสารต้านอนุมูลอิสระให้เพียงพอต่อความต้องการในแต่ละวัน เพื่อให้เกิดความสมดุลระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระ และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (วาริน, 2543) สารต้านอนุมูลอิสระสำคัญที่ควรรับประทานคือ วิตามินอี วิตามินซี และเบต้า-แคโรทีน เป็นต้น เนื่องจากวิตามินอีเป็นตัวสำคัญในการระงับการเกิดอนุมูลอิสระ วิตามินซีจะช่วยระงับการเกิดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ ส่วนเบต้า-แคโรทีนจะช่วยระงับการเกิดอนุมูลอิสระในภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ (จักรพงศ์, 2543)

ปัจจุบันคนส่วนใหญ่หันมาสนใจดูแลสุขภาพของตนเองโดยอาศัยวิธีทางธรรมชาติ ทั้งการออกกำลังกายและการเลือกรับประทานอาหาร ซึ่งจะช่วยให้ร่างกายถูกทำร้ายจากสารเคมีน้อยที่สุด และความผิดปกติต่างๆ ในร่างกาย รวมถึงโรคภัยไข้เจ็บลดลง โดยมีการศึกษาค้นคว้าสารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารเหล่านี้สามารถพบได้ในธรรมชาติ เช่น วิตามินหลายๆชนิดจากผักและผลไม้ แอสตาแซนธินจากปลาแซลมอนหรือเปลือกกุ้ง สารประกอบฟีนอลิกและสารสกัดจากชาเขียว (วาริน , 2546) เป็นต้น นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้จากธรรมชาติ โดยสาหร่ายสามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้เช่นเดียวกับผักและผลไม้ เช่น จากงานวิจัยของกมลพรรณในปี 2548 พบว่าในสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* มีสารแอสตาแซนธินที่ถือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตัวใหม่โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสาหร่ายชนิดนี้มีผลข้างเคียงน้อยกว่าการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ และยังลดการสะสมสารพิษภายในร่างกาย อีกทั้งสามารถพบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำ

ธรรมชาติ เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในพื้นที่ที่จำกัด โดยสามารถทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่กำหนดได้

โครงงานพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทดสอบเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) วิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical) และการวิเคราะห์หาความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion-chelating ability assay)

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 คัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ

1.2.2 ทดสอบเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกสารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1.2.3 ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) และการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ การวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total Antioxidant capacity) การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical) และการวิเคราะห์ความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion-chelating ability assay) จากสารสกัดที่ได้จากสาหร่ายสีเขียว

1.2.4 ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดต่อประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระ

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

เก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ได้แก่ *Chlorella* sp. W54 จากบริเวณวัดปลูกศรัทธา *Monoraohidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 จากห้องปฏิบัติการ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเพาะเลี้ยงจำนวน 3 สายพันธุ์ นำมาทำแห้งโดยวิธีอบลมร้อน จากนั้นสกัดด้วยน้ำร้อน เอทานอล และนำมาทดสอบเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกสารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) และการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total Antioxidant capacity) การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical) และการวิเคราะห์ความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion-chelating ability assay)

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถสกัดสารจากสาหร่ายสีเขียว เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอาจพัฒนาเพื่อผลิตสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมอื่นๆ ต่อไป

# บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (Outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (Unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุล ทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในทำปฏิกิริยาสูง โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ (Halliwell, 1991)

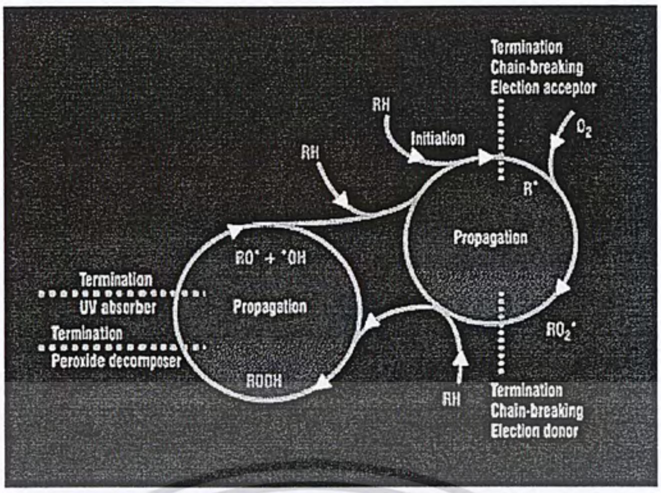
จากคุณสมบัติของอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ทำให้สามารถเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกายได้ เช่น ไขมัน โปรตีน เอนไซม์ ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ส่งผลให้การทำงานของสารชีวโมเลกุลเปลี่ยนแปลงไป ความไวของอนุมูลอิสระสามารถตรวจวัดด้วย Electron Spin Resonance (ESR) (โอภา และคณะ, 2550)

### 2.1.1 อนุมูลอิสระที่สำคัญทางชีววิทยา (พรทิพย์, 2550)

1. Reactive oxygen species หรือ ROS เป็นกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ อนุมูลอิสระที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ซุปเปอร์ออกไซด์ ซุปเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน ($O_2^{-\bullet}$) ไฮดรอกซิล ($^{\bullet}OH$) ไฮโดรเปอร์ออกซิล ($HO_2^{\bullet}$) เปอร์ออกซิล ($RO_2^{\bullet}$) อัลคอกซิล($RO^{\bullet}$) คาร์บอเนต ($CO_3^{-\bullet}$) และ คาร์บอนไดออกไซด์($CO_2^{-\bullet}$)

2. Reactive nitrogen species หรือ RNS เป็นกลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ อนุมูลอิสระที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ ($NO^{\bullet}$) และ ไนโตรเจนไดออกไซด์ ($NO_2^{\bullet}$ หรือ $NO^{\bullet -}$)

3. Reactive chlorine species หรือ RCS เป็นกลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ อนุมูลอิสระที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ อะตอมคลอรีน (Cl)


Termination
Chain-breaking
Election acceptor
RH
Initiation
O$_2$
RH
R•
Propagation
RO• + •OH
Termination
UV absorber
Propagation
Termination
Peroxide decomposer
ROOH
RH
RO$_2$•
Termination
Chain-breaking
Election donor

**รูปที่ 2.1** ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ

ที่มา : http://www.machinerylubrication.com/Read/999/lubricants-oxidation

### **2.1.2 บทบาทของอนุมูลอิสระต่อร่างกาย** (พรทิพย์, 2550)

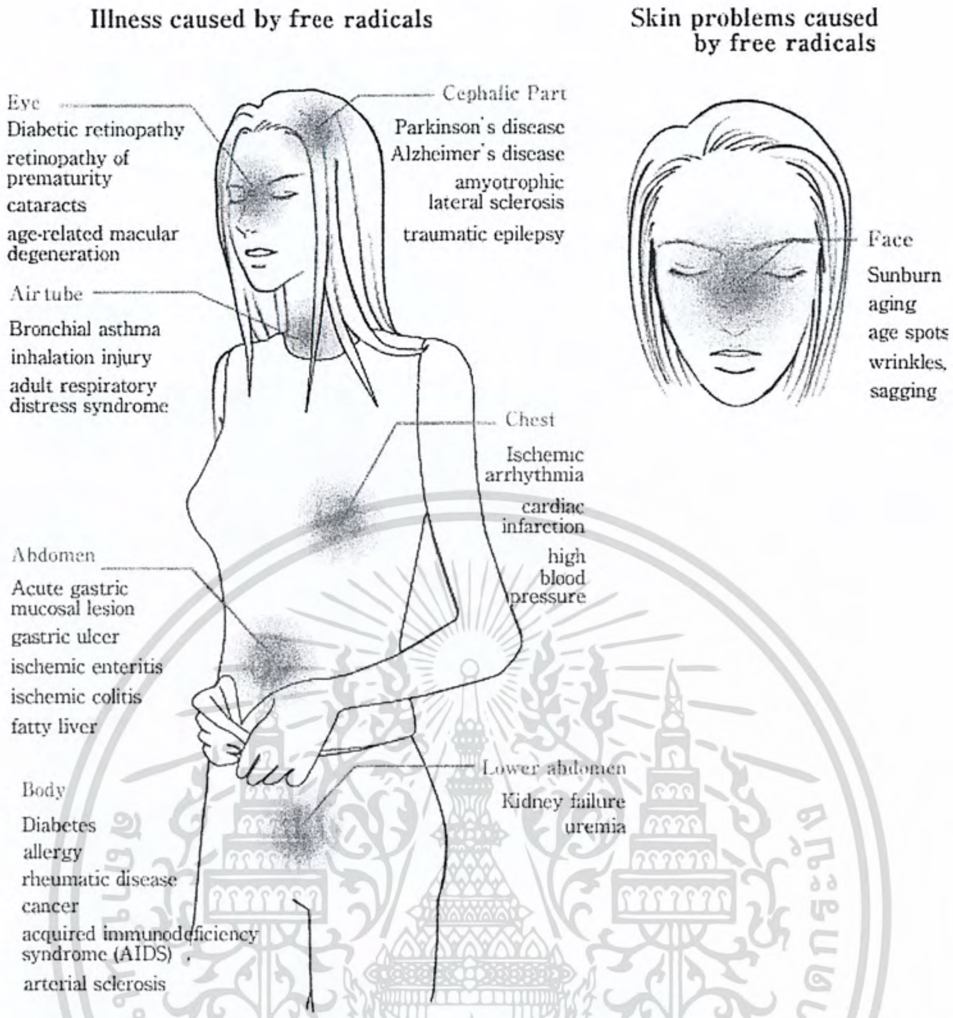
1. การควบคุมปริมาณไนตริกออกไซด์และการสร้างอินดิวซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเตส (Inducible nitric oxide synthase: iNOS) ในขั้นตอนการถอดรหัสพันธุกรรมของเซลล์

2. กระบวนการอักเสบและภูมิคุ้มกันโดยการกระตุ้นเอนไซม์ NAD(P)H ออกซิเดสในเซลล์กลืนกิน ซึ่งจะทำการปกป้องเซลล์ เมื่อมีสิ่งแปลกปลอม เชื้อโรค ทำให้เกิดการอักเสบกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน

3. การเกิดอนุมูลอิสระ โดยการกระตุ้นเอนไซม์ NAD(P)H ที่ไม่ใช่เซลล์กลืนกิน เช่น ที่พบในเซลล์สร้างเส้นใย เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เป็นต้น จะทำหน้าที่ในการสื่อสัญญาณในเส้นทางต่างๆ

4. ควบคุมการเกร็งและการคลายออกของหลอดเลือด ไนตริกออกไซด์มีฤทธิ์คลายการเกร็งตัวของเลือด และมีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ที่สำคัญในการควบคุมจังหวะของกล้ามเนื้อหัวใจ

5. รับรู้และปรับระดับออกซิเจน จะความคุมการหายใจและปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดแดง มีตัวรับรู้และปรับระดับออกซิเจนในหลอดเลือดแดง และยังเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณที่ควบคุมการสร้างฮอร์โมนและแฟกเตอร์ที่มีผลต่อระดับออกซิเจนในเลือด


Illness caused by free radicals
Skin problems caused by free radicals
Eye
Diabetic retinopathy
retinopathy of prematurity
cataracts
age-related macular degeneration
Air tube
Bronchial asthma
inhalation injury
adult respiratory distress syndrome
Abdomen
Acute gastric mucosal lesion
gastric ulcer
ischemic enteritis
ischemic colitis
fatty liver
Body
Diabetes
allergy
rheumatic disease
cancer
acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)
arterial sclerosis
Cephalic Part
Parkinson's disease
Alzheimer's disease
amyotrophic lateral sclerosis
traumatic epilepsy
Chest
Ischemic arrhythmia
cardiac infarction
high blood pressure
Lower abdomen
Kidney failure
uremia
Face
Sunburn
aging
age spots
wrinkles,
sagging

**รูปที่ 2.2** ผลของอนุมูลอิสระต่อร่างกาย

ที่มา: http://www.vc60.com/english/radicalcontrol/index.html

6. การเกาะติดกันของเซลล์ โดยกระตุ้นการเติมฟอสเฟตให้กับไทโรซีนไคเนสที่อยู่ในกระบวนการเกาะติดกันของเซลล์

7. ระบบภูมิคุ้มกัน สภาวะรีดอกซ์มีบทบาทสำคัญในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์

8. กระบวนการตายหรือทำลายตัวเองของเซลล์แบบอะพ็อบโตซิส (Apoptosis)

### 2.1.3 กลไกการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระ

กลไกที่สำคัญในการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้มีความสมดุล (พรทิพย์, 2550) ได้แก่

1. เอนไซม์ ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายโดยใช้เอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาดิสมิวเตสในการเปลี่ยนอนุมูล $O_2^{\cdot-}$ ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นเร่ง

ปฏิกิริยาให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เปลี่ยนเป็นโมเลกุลของน้ำและออกซิเจน ในกลไกนี้เอนไซม์จะปกป้องเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายหรือเสียหายเนื่องจากถูกออกซิไดส์หรือมีอนุมูลมากเกินไป

2. สารต้านอนุมูลอิสระ สารขจัดหรือกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical scavenger) ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้โดยตรง ทำให้อนุมูลอิสระถูกกำจัดหรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อไป สารขจัดอนุมูลมีทั้งจากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์

3. สารคีเลตโลหะ (Metal chelator) ใช้ขจัดโลหะทรานซิชัน โดยสารคีเลตในร่างกายส่วนใหญ่เป็นโปรตีน จะจับโลหะทรานซิชันที่ทำให้เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

## 2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (วิรัชญาและอรสา, 2551)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลไม่ให้ดำเนินต่อ ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชัน แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

1. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (SOD) คะตะเลส (CAT) กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (GPX) กลูตาไธโอนรีดักเตส (GR) และ กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอเรส (GST)

2. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายแต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ได้แก่ กลูตาไธโอน กรดลิโพอิก เซรูโลพลาสมิน อัลบูมิน ทรานส์เฟอร์ริน แฮปโตโกลบิน เฮโมแพ็คซิน กรดยูริก บิลิรูบิน และซิสเตอีน

3. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ วิตามินอี แคโรทีนอยด์ กรดแอสคอร์บิก สเตอรอยด์ ยูบิควิโนน ไธออล ทัวรีน ไพรูเวต กรดแกลลิก ฟลาโวนอยด์ โทรอกซ์ บิวทิเลเตตไฮดรอกซีโทลูอีน และบิวทิเลเตตไฮดรอกซีอะนิโซล นอกจากวิธีนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิก (Phenoliccompounds) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่น่าสนใจอีกด้วย

นอกจากนี้ยังมีเกณฑ์ที่สำคัญอื่นๆ ที่ใช้บ่งชี้ถึงความเป็นสารต้านอนุมูลที่ดีได้แก่ ความสามารถในการถูกดูดซึมหรือส่งผ่านเข้าสู่ทั้งภายในเซลล์ ภายนอกเซลล์ และที่เนื้อเยื่อต่างๆ โดยมีความเข้มข้นเพียงพอที่สามารถออกฤทธิ์ได้

### 2.2.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

#### 2.2.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ

สารต้านอนุมูลอิสระที่มีในธรรมชาติได้มาจากการบริโภคผัก ผลไม้ ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน แคโรทีนอยด์ สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ ฟีนิลโพรพานอยด์ เป็นต้น ปัจจุบันพบว่าสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่

(วาริน, 2543)

วิตามินเอ ในธรรมชาติจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ จัดเป็น Precursor ของวิตามินเอ เรียกว่าโปรวิตามินเอ มักพบในพืชผักใบเขียว ผักและผลไม้ที่มีสีเหลือง หรือสีส้มแดง (Packer และคณะ, 1999)

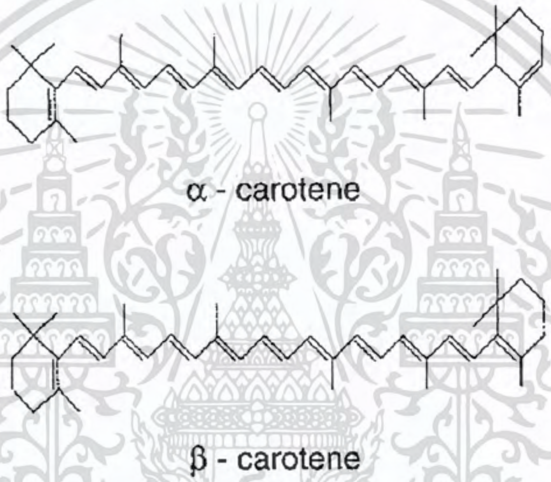
วิตามินซี มีชื่อทางเคมีว่า กรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ จะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูลไฮดรอกซิลและอนุมูลเปอร์-รอกซิล นอกจากวิตามินซีสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้ว ยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันของจากวิตามินอีอีกด้วย โดยทำให้อนุมูลแอลฟา โทโคฟีรอล (TO•) เปลี่ยนกลับไปเป็นแอลฟา โทโคฟีรอล ($\alpha$-tocopherol: TOH) ดังเดิม นอกจากประโยชน์ในการเสริมภูมิคุ้มกันร่างกาย ช่วยป้องกันโรคหวัด และบรรเทาอาการภูมิแพ้แล้ว วิตามินซียังช่วยสร้างเนื้อเยื่อคอลลาเจน เพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผิวพรรณ คลายความเครียด ความอ่อนเพลีย แก้สภาวะการเป็นหมันในผู้ชาย โดยช่วยเพิ่มความแข็งแรงและเพิ่มปริมาณของตัวอสุจิอีกด้วย (มลศิริ, 2540)

วิตามินอี เป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมันเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ โดยวิตามินอีทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชันตัวอื่นๆ เช่น วิตามินซีและซิลิเนียม เป็นต้น วิตามินอีช่วยปรับให้ร่างกายสามารถนำเอาวิตามินเอมาใช้ ซึ่งจะช่วยในการป้องกันสารที่เป็นพิษที่มีผลมาจากโลหะ เช่น ตะกั่ว ในธรรมชาติมีวิตามินอีอยู่หลายชนิด ปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ โทโคฟีรอล และ โทโคไทอินอล แต่ละกลุ่มยังแยกเป็นวิตามินย่อยๆ อีก 4 ชนิด ได้แก่ อัลฟ่า ($\alpha$-) เบต้า ($\beta$-) แกมม่า ($\gamma$-) และเดลต้า ($\delta$-) วิตามินอีทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลเปอร์รอกซิล อนุมูลแอลฟาโทโคฟีรอลที่เกิดขึ้น สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์รอกซิลตัวอื่นทำให้ได้สารที่มีความเสถียร (LOO-$\alpha$- tocopherol) เป็นผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหยุดลง จากงานวิจัย พบว่าวิตามินอีในรูป d-form ซึ่งได้จากธรรมชาติมีผลดีต่อร่างกายมนุษย์อย่างน้อยสองเท่าเมื่อเทียบกับวิตามินอีในรูป dl-form ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ วิตามินอีมีความสามารถในการจับอนุมูลออกซิเจน

อิสระ ซึ่งช่วยป้องกันเซลล์ถูกทำลาย เสริมสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย นอกจากนี้ยังนิยมนำวิตามินอีมาผสมอยู่ในเครื่องสำอางอีกด้วย (พิมพร, 2547)

แคโรทีนอยด์ เป็นรงควัตถุที่พบทั่วไปในธรรมชาติ จะถูกสังเคราะห์ขึ้นในคลอโรพลาสต์ของพืช และพบมากในผักและผลไม้สุก โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่า Tetraterpene skeleton ซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุล วงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้ (Packer และคณะ, 1999)

แคโรทีน (Carotene) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น เช่น เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) อัลฟ่า-แคโรทีน (α-carotene) แกมม่า-แคโรทีน (γ-carotene) ไลโคปีน (lycopene) เป็นต้น



**รูปที่ 2.3** โครงสร้างทางเคมีของ อัลฟ่า-แคโรทีน (α-carotene) และเบต้า-แคโรทีน (β-carotene)
ที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป ซึ่งในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น สามารถละลายน้ำได้ ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycosides) มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น โพลีฟีนอลิก ซึ่งได้แก่ พวกลิกนินและแทนนิน เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (Phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (Alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) เป็นต้น (นทพร และคณะ, 2551) นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และ แทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญ คือ อนุมูลเปอร์รอกซิลโดยมีกลไก 2 แบบคือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดส์ สารประกอบ

ฟีนอลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Packer และคณะ, 1999) นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร และสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลต ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซิทิน (Quercetin)

ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากชนิดหนึ่ง จะพบมากในพืชผักและผลไม้ มีหน้าที่สองอย่าง คือ เป็นรงควัตถุ ทำหน้าที่กรองแสงที่มีความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจงและทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยไปกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์พืชออกไป ความสามารถของการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยลดการอักเสบ ช่วยให้หลอดเลือดแข็งตัว ทำให้การไหลเวียนเลือดดีขึ้น ต่อต้านแบคทีเรียและไวรัส ลดโคเลสเตอรอล และช่วยเสริมการทำงานของวิตามินซี พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม พริกไทย และพวกเบอร์รี่ต่างๆ เป็นต้น ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ (Cotelle และคณะ, 1996) คือ

1. แอนโธไซยานิดิน (Anthocyanidin) แอนโธคลอร์ส (Anthochlors) และออโรนัส (Auronus) แอนโธไซยานิดิน เป็นรงควัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง (Red-blue) พบในบลูเบอร์รี่ เชอรี่ องุ่นแดง หัวหอม กะหล่ำปลี เป็นต้น แอนโธคลอร์ส เป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง พบมากในดอกไม้

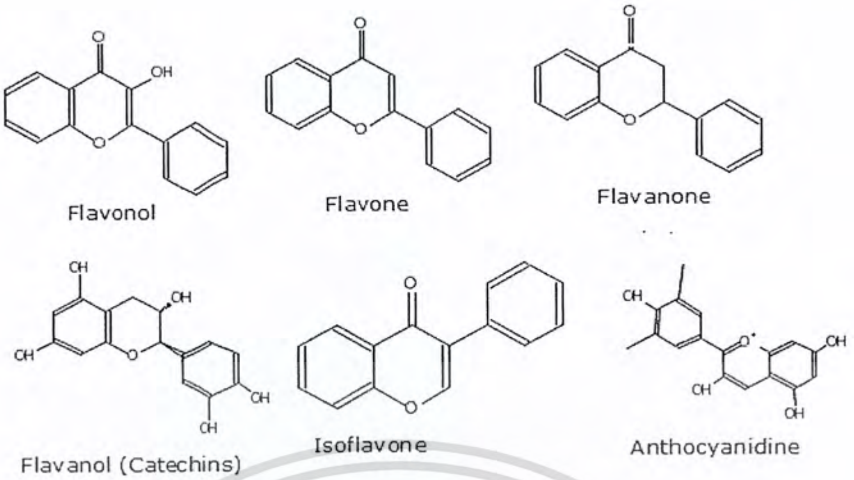
2. ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (Minor flavonoid) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ ได้แก่ ฟลาโวโนน (Flavonones) ฟลาวาน-3-ออล (Flava-3-ols) ไดไฮโดรฟลาโวน (Dihydroflavone) และไดไฮโดรชาล์โคน (Dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้ม แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ

3. ฟลาโวน (Flavone) และฟลาโวนอล (Flavonols) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดของฟลาโวนอยด์ พบใน บลูเบอร์รี่ เชอรี่หวาน บลอคคอลี่ หัวหอม ชาดำ ชาเขียว ไวน์แดง มันฝรั่ง มะเขือเทศ แครอท ผักขม ส้ม ลูกแพร แอปเปิ้ล องุ่น เป็นต้น

4.ไอโซฟลาโวนอยด์ (Isoflavonoid) พบมากในพืชตระกูลถั่ว (*Leguminosae*; Legume)

5. แทนนิน (Tannin) หรือโปรแอนโธไซยานิดิน เป็นสารประเภทโพลีฟีนอล (Polyphenols) แทนนินสามารถเพิ่มค่าการต้านออกซิเดชัน เนื่องจากจับกับโปรตีนได้

สารสกัดจากชาเขียว ชาเขียวเป็นชาที่พบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในชาเขียว มีชื่อว่า ECCG (Epigallocatechin gallate) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ พบว่าสารตัวนี้ช่วยป้องกันการทำลายของเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ซึ่งมีผลในการป้องกันโรคหัวใจ โรคฟันและเหงือก รวมถึงช่วยควบคุมการย่อยสลายกลูโคสให้เป็นไปตามปกติ (กัลย์กมล และคณะ, 2547)



**รูปที่ 2.4** โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ

ที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki

สารสกัดจากเมล็ดองุ่น สารสกัดองุ่นประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด สารที่สำคัญ คือ OPCs (Oligomeric procyanidins) และ เรสเวทเทอร์รอล (Resveterol) ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึงห้าสิบเท่า ดังนั้นสารสกัดองุ่นมีสรรพคุณที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย รักษาอาการต่างๆ ที่มีต้นเหตุมาจากอนุมูลอิสระ เช่น อาการปวด ลดอาการอักเสบ หลอดเลือดเปราะ นอกจากนี้ยังพบว่า OPCs ช่วยทำให้ผิวใส ระบบการหมุนเวียนเลือดเป็นปกติ ช่วยป้องกันคอลลาเจนถูกทำลายซึ่งเป็นสาเหตุของการเหี่ยวย่นเมื่ออายุมากขึ้น ดังนั้น สารสกัดองุ่นจึงถูกนำมาใช้ในเครื่องสำอาง ครีมบำรุงผิว (พิมพร, 2547)

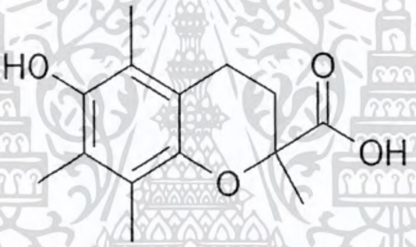
สารสกัดจากใบแปะก๊วย ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบแปะก๊วย เป็นผลมาจากสารในกลุ่มฟลาโวนไกลโคไซด์ ที่มีอยู่กว่า 20 ชนิดในใบแปะก๊วย ซึ่งช่วยต้านอนุมูลอิสระในร่างกายได้ ทั้งนี้นอกจากคุณสมบัติอันโดดเด่นในการป้องกันความเสื่อมของเซลล์สมองและช่วยบำรุงสุขภาพสมองอย่างมีประสิทธิภาพจนเป็นที่ยอมรับทั่วโลกแล้วนั้น คุณสมบัติในการเพิ่มการไหลเวียนของโลหิตทั่วร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่สมองยังช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดอุดตันได้อย่างตรงจุดเช่นกัน (รัตนา, 2547)

สารสกัดจากทับทิม ยังไม่มีใช้กันแพร่หลายนัก แต่ทับทิมเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลที่สำคัญ คือ กรดแอลลาจิก (Ellagic acid) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการจับอนุมูลอิสระสูง นอกจากนี้ สารสกัดจากทับทิมช่วยลดความเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจ และลดความดันโลหิต โดยยับยั้งการทำงานของ Serum angiotensin converting enzyme (ACE) ทำให้ตอนนี้นักวิจัยหันมาให้ความสนใจสารสกัดจากทับทิมเพิ่มมากขึ้น (รัตนา, 2547)

### 2.2.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์จะออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็ก และใช้โครงสร้างของสารต้านอนุมูลที่มีในธรรมชาติ มาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมี และมีฤทธิ์ดีขึ้น ตัวอย่างเช่นสารต้านอนุมูลอิสระที่พัฒนาจากสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ พัฒนาจากโครงสร้างวิตามินอี และโครงสร้างโพลีฟีนอล

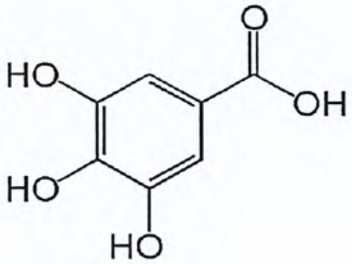
โทรอกซ์ (Trolox) หรือ 6-hydroxy-2 5 7 8- tetramethylchroman-2-carboxylic acid มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_{14}H_{18}O_4$ เป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ดัดแปลงโครงสร้างโดยการเปลี่ยนสายอัลเคนเป็นหมู่คาร์บอกซิลิกมีสูตรโครงสร้างทำให้มีความสามารถละลายได้ดีในน้ำ แต่เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำได้ดีจึงทำให้การออกฤทธิ์เร็วกว่าวิตามินอี โดยวิตามินต้องใช้เวลานานเป็นชั่วโมงหรือเป็นวัน ในขณะที่โทรอกออกฤทธิ์เกือบจะทันทีในวิธีการตรวจสอบหลายวิธี ในการวิจัยนิยมใช้โทรอกเป็นสารมาตรฐานในการตรวจสอบกิจกรรมต้านออกซิเดชัน (โอภา และคณะ, 2550)



**รูปที่ 2.5** โครงสร้างทางเคมีของโทรอก

ที่มา: http://www.rqflex.com/thailand/life-science-research/trolox/EMD_BIO-648471/thai/p_uuid

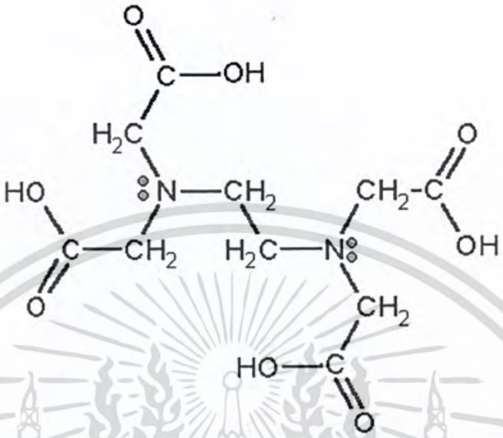
กรดแกลลิก (Gallic acid) หรือ 3, 4, 5-hydroxybenzoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_7H_6O_5$ เป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น ใบชา เปลือกไม้โอ๊ค และพืชอื่นๆ โดยทั่วไปจะใช้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของกรดแกลลิก คือ ยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี (Karpinska และคณะ, 2001)



**รูปที่ 2.6** โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก

ที่มา: http://www.sirinpharmacy.exteen.com/

อีดีทีเอ (EDTA) หรือ Ethylenediaminetetraacetic acid มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_{10}H_{16}N_2O_8$ มีคุณสมบัติเป็นสารคีเลต โดยการจับกับธาตุโลหะที่มีประจุ เช่น ตะกั่ว เหล็ก สังกะสี แคดเมียม แมงกานีส และทองแดง ซึ่งประโยชน์ทางการแพทย์สามารถนำมาใช้กำจัดไอออนของโลหะต่างๆได้



**รูปที่ 2.7** โครงสร้างทางเคมีของอีดีทีเอ

ที่มา: http://www.chemistry.sc.chula.ac.th

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำลายสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ และทำให้เกิดโรคต่างๆตามมา อนุมูลที่สำคัญ ได้แก่ ซุปเปอร์ออกไซด์ เรดิเคิล ไฮดรอกซิล เรดิเคิลและสารอัลดีไฮด์ต่างๆ ที่เกิดจากกระบวนการลิปิด เปอร์ออกซิเดชัน ฯลฯ จึงมีการคิดวิธีสังเคราะห์อนุมูลอิสระเหล่านี้ในหลอดทดลอง และทดสอบความสามารถของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (พรทิพย์, 2550)

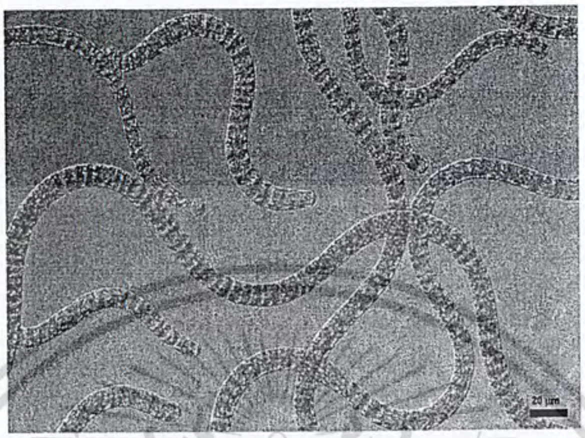
### 2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในสาหร่าย

ในปัจจุบันมีการค้นพบสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายหลายชนิด ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม โดยสาหร่ายที่พบสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

1. *Porphyra* sp. อยู่ในสาหร่ายสีแดง พบได้บริเวณน้ำขึ้น น้ำลงหรือเขตร้อนและหนาว นิยมนำมาทำสาหร่ายอัดแผ่นในประเทศญี่ปุ่น โดยใน *Porphyra* sp. จะพบสารอนุมูลอิสระ คือ วิตามินซี คล้ายคลึงกับที่พบอยู่ในส้ม วิตามินบี ที่อยู่ในข้าว นอกจากนี้ยังพบไอโอดีนและวิตามินอี (Honous, 1997)

2. *Spirulina* sp. เป็นสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีขนาดใหญ่ ลักษณะเป็นเกลียวและเป็นสิ่งมีชีวิตที่สมบูรณ์แบบในเซลล์เซลล์เดียว มีงานวิจัยพบว่า *Spirulina* sp. มีวิตามินบี 12 ที่เป็นผลดีต่อการสร้างเม็ดเลือด และเป็นระบบภูมิต้านทานที่ดีของร่างกาย นอกจากนี้ยังให้วิตามินเอในรูปของเบต้า-แคโรทีน ซึ่งให้ผลเป็นสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการ

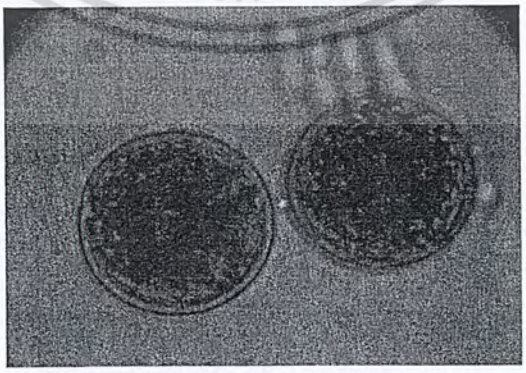
กำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย และมีวิตามินบี 1 ซึ่งเป็นโค-เอนไซม์ในขบวนการเผาผลาญสารอาหารและรักษาระดับกลูโคสในเลือด วิตามินอีที่ช่วยปกป้องระบบหัวใจและระบบเส้นเลือด ช่วยให้เซลล์ต่างๆ ในร่างกายสามารถนำเอาออกซิเจนไปใช้ได้เป็นอย่างดีและพบว่าให้ผลชะลอความแก่ได้อีกด้วย (Henrikson, 2009)



**รูปที่ 2.8** ลักษณะเซลล์ของ *Spirulina* sp.

ที่มา: http://holistikhealth.com/blog/

3. *Haematococcus pluvialis* เป็นสาหร่ายสีเขียวน้ำจืดขนาดเล็ก ได้มีการศึกษาค้นพบว่าในสาหร่ายชนิดนี้มีสารต้านอนุมูลอิสระที่ชื่อว่า แอสตาแซนธิน (Astaxanthin) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มแซนโทรฟิลล์ ตระกูลแคโรทีนอยด์ มีลักษณะเป็นสารสีแดงที่พบมากในปลาแซลมอนและเปลือกกุ้ง สารแอสตาแซนธิน ถือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เพิ่งค้นพบได้ไม่นาน โดยสารชนิดนี้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสารอนุมูลอิสระในไมโทคอนเดรียของตับได้มากกว่าวิตามินอี 1,000 เท่า และยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้มากกว่าวิตามินอี 100 เท่า มากกว่าเบต้า-แคโรทีน 40 เท่า นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันดวงตาจากรังสีอุลตร้าไวโอเลตและชะลอความเสื่อมของดวงตาได้ (กมลพรรณ, 2548)



**รูปที่ 2.9** ลักษณะเซลล์ของ *Haematococcus pluvialis*

ที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki

4. *Caulerpa racemosa* var. *corynephora* เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียวที่มีทัลลัสตั้งตรงจากพื้นคล้ายขนนก มีอีกชื่อว่า สาหร่ายขนนก พบในแถบประเทศที่เป็นหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิค เป็นสาหร่ายอุดมไปด้วยคุณค่าอาหารและสรรพคุณทางยา จากงานวิจัยพบว่ามีไขมันต่ำ 0.08 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีคลอเรสเตอรอล มีโปรตีน 1.42 เปอร์เซ็นต์ เกลือ 2.60 เปอร์เซ็นต์ กากใย 0.30 เปอร์เซ็นต์และฟอสฟอรัส 39.61 มิลลิกรัม นอกจากนี้มีสารต้านอนุมูลอิสระป้องกันมะเร็ง วิตามินที่ร่างกายต้องการ อีกทั้งยังประกอบด้วยไอโอดีน แมกนีเซียมช่วยให้ระบบประสาทและกล้ามเนื้อทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ แคลเซียมบำรุงกระดูก โปตัสเซียมควบคุมการทำงานของเซลล์และสมดุลน้ำในร่างกาย แร่เหล็กและทองแดงช่วยในการสร้างเม็ดเลือด สังกะสีช่วยเสริมภูมิคุ้มกัน กรดอะมิโนหลายชนิดที่พืชบกไม่มี มีฤทธิ์ในการรักษาโรคลำไส้อักเสบ รักษาโรคตับอักเสบเพราะช่วยในการสมานแผล เป็นอาหารที่เหมาะกับผู้ป่วยความดันโลหิตสูง เบาหวาน และหัวใจ นอกจากนี้ยังมีการนำสารต้านอนุมูลอิสระและวิตามินอีในสาหร่ายชนิดนี้มาผสมในเครื่องสำอางอีกด้วย (มัณฑนา, 2550)

**2.2.3 การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ** (จิรศักดิ์ และคณะ, 2552)

1. ดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ

2. การยับยั้งการทำงานของซิงเกลทออกซิเจน (Singlet oxygen quenching) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกลทออกซิเจน

3.จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal chelation) สารที่สามารถจับโลหะที่สำคัญเหล่านี้คือ $Fe^{2+}$ และ $Cu^{2+}$ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดฟอสโฟริก และกรดซิตริก เป็นต้น

4. หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain breaking)

5. เสริมฤทธิ์ (Synergism) เป็นตัวที่ช่วยสนับสนุนให้สารต้านอนุมูลอิสระทำงานได้ดียิ่งขึ้น

6. ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (Enzyme inhibition)

## 2.3 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

### 2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

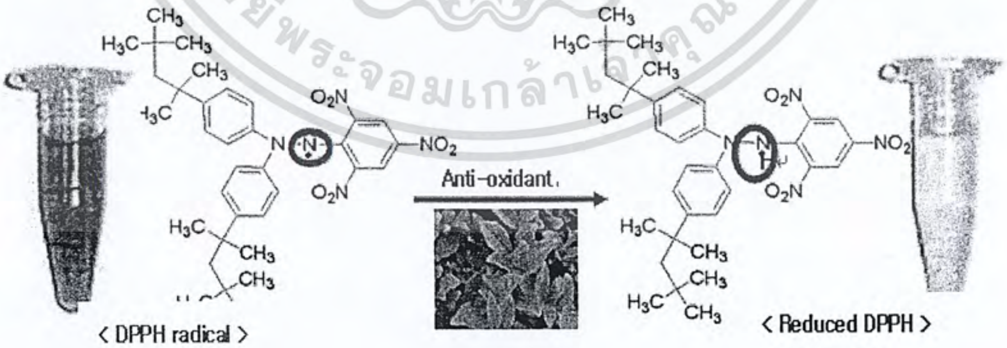
กลไกของสารจำพวกฟีนอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ เมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเล็กตรอนไป แต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (Delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระ โดยสารจำพวกฟีนอลให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ อนุมูลนั้นจะไม่เป็นอนุมูลอิสระอีกต่อไป ส่วนอนุมูลฟีนอกซีที่เกิดขึ้น

จะจับกัน ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระหมดไป และจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลรวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะแปรผันตรงต่อกัน (ระวิวรรณและทรงพร, 2549)

**2.3.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical)**

DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่น จะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยการวัดการลดลงของ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีความเสถียร สามารถใช้ในการวัดความสามารถของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอาศัยการจับกับอิเล็กตรอนให้แก่อนุมูลอิสระ DPPH จะเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของ DPPH ที่มีความคงตัว ทำให้ DPPH ซึ่งมีสีม่วงแดงเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 517 นาโนเมตร มีค่าลดลง หากสารตัวอย่างใดมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ หรือสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีจะทำให้สีม่วงแดงของ DPPH จางลงได้มากกว่าสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระได้น้อยและมักใช้เปรียบเทียบกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น บิวทิเลเตตไฮดรอกซีโทลูอีน บิวทิเลเตตไฮดรอกซีอะนีโซล หรือแอลฟา โทโคฟีรอล เป็นต้น โดยแสดงผลเป็นเปอร์เซ็นต์ของการต้านอนุมูลอิสระ

$$\underset{\text{สีม่วง}}{\text{DPPH}\bullet} + \underset{\text{ตัวอย่างทดสอบ}}{\text{RH}} \longrightarrow \underset{\text{สีเหลือง}}{\text{DPPH-H}} + \text{R}\bullet$$



**รูปที่ 2.10** ปฏิกิริยาระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระ DPPH

ที่มา : http://www.naturalsolution.co.kr/tech21e.html

ค่าการดูดกลืนแสงและนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging capacity) ดังสูตร

$$SC\% = [A_0-(A-A_b)/ A_0] \times 100\%$$

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

$A = A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดผสมกับ DPPH

$A_0 = A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดที่ไม่เติม DPPH

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

ข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH• มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ (วริศราและคณะ, 2553)

**2.3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion-chelating ability assay)** (Halliwell และคณะ, 1987)

ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน รีดักชันของสารที่ต้องการทดสอบ สามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย

สารที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์สามารถจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอะตอมหรือโมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น) เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริคไอออน ($Fe^{3+}$) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ในด้านชีวเคมี อนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด ROS เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ อนุมูลไฮดรอกซิลเป็นต้น

วิธีนี้จะใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์ริค $Fe^{3+}$-TPTZ (Ferric tripyridyl triazine) เป็นสารทดสอบซึ่งมีสีเหลือง จากกนั้นอะตอมของเหล็กเฟอร์ริคจะถูกรีดิวซ์ โดยสารต้านอนุมูลอิสระ ได้เป็นสารประกอบของเหล็กเฟอร์รัส $Fe^{2+}$-TPTZ (Ferro tripyridyl triazine) ซึ่งมีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เมื่อแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่สูงแสดงว่ามีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์สูงเช่นกัน ดังสมการ

$$Fe^{3+}\text{-TPTZ} + A \longrightarrow Fe^{2+}\text{-TPTZ} + A^{\bullet +}$$

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณความสามารถในการจับเฟอรัสไอออนโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน EDTA-$Na_2$

ความสามารถในการจับเฟอรัสไอออน (%) = $[A_0-(A_1-A_2)]/A_0 \times 100$

โดยที่ $A_0$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

$A_1$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน EDTA-$Na_2$

$A_2$ = ค่าการดูดกลืนแสงของ blank

## 2.4 สาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายสีเขียว (คลอโรไฟตา) จะมีลักษณะเป็นสีเขียวเนื่องจากภายในคลอโรพลาสต์มีสารสีพวกคลอโรฟิลล์เอและบีเป็นจำนวนมาก ทำให้บดบังสารสีอื่นๆ สีเขียวจึงเด่นชัดมากกว่าสารสีอื่น นอกจากคลอโรฟิลล์แล้ว ยังพบสารแคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์อีกหลายชนิด ซึ่งทั้งหมดจะอยู่ในคลอโรพลาสต์ นอกจากนี้ยังพบว่าในคลอโรพลาสต์มีการสะสมแป้งในรูปของไพรีนอยด์อยู่ด้วย โดยทั่วไปจะพบสาหร่ายสีเขียวได้ทั้งแหล่งน้ำจืดและน้ำเค็ม แต่ส่วนใหญ่จะพบสาหร่ายสีเขียวในแหล่งน้ำจืด สามารถเจริญได้ทั้งน้ำตื้นและน้ำลึกที่แสงแดดส่องถึง มีความหลากหลายมากที่สุดทั้งรูปร่าง แหล่งที่พบ และวัฏจักรชีวิต มีทั้งสาหร่ายสีเขียวที่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือรวมกันเป็นกลุ่ม เคลื่อนที่ได้และเคลื่อนที่ไม่ได้ อาจจะเป็นเส้นสายหรือเป็นเซลล์ที่เป็นแผ่น เป็นต้น (ยุวดี, 2530)

สาหร่ายสีเขียวที่พบส่วนใหญ่เป็นแพลงก์ตอน ในบางครั้งทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่สาหร่ายเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและลอยขึ้นอยู่บนผิวน้ำ ที่เรียกว่า วอเตอร์ บลูม (Water bloom) มักจะพบในตอนเช้าที่มีแสงแดดส่องถึง ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายสีเขียว จะพบสารสีที่มีลักษณะคล้ายกับพืชชั้นสูงซึ่งจะประกอบด้วย คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บีและแคโรทีนอยด์ ที่ประกอบด้วย แอลฟาเบต้า และแกมมา-แคโรทีน และแซนโทฟิลล์ มักจะพบลูเทอีน ซีแซนทิน ไวโอโลแซนทินและนีโอแซนทิน อยู่ในกลุ่มของแซนโทฟิลล์ นอกจากนี้ยังพบการสะสมของแคโรทีนอยด์ที่เกิดขึ้นข้างนอกคลอโรพลาสต์ เมื่อมีสภาวะการขาดไนโตรเจน ซึ่งจะทำให้สาหร่ายมีสีแดงหรือสีส้ม โครงสร้างของเซลล์ ผนังเซลล์จะแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่าย โดยทั่วไปจะมีเซลลูโลสเป็นโครงสร้างหลัก ประกอบด้วยเมทริกซ์ของเฮมิเซลลูโลสและสารแพกติน คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายสีเขียวจะมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น แต่ไม่พบคลอโรพลาสต์แบบร่างแหแอนโทพลาสซึม ภายในคลอโรพลาสต์จะมีไทลาคอยด์จัดกลุ่มเป็นแถบ 2-6 อัน ไม่มีกรานาและภายในคลอโรพลาสต์จะพบโครงสร้างพิเศษ คือ ไพรีนอยด์ ที่เป็นโครงสร้างโปรตีนอยู่ตรงกลางล้อมรอบด้วยเม็ดแป้งอยู่ภายในคลอโรพลาสต์ ไพรีนอยด์จะเป็นแหล่งสะสมอาหาร ประกอบด้วย อะไมโลสและอะไมโลแพกทิน ไพรีนอยด์ยังเป็นศูนย์กลาง

117169

ของการสร้างเอนไซม์อะไมเลส ซินทิเทส ที่ช่วยในการเร่งการรวมของกลูโคสเป็นแป้ง (รัตนภรณ์, 2550)

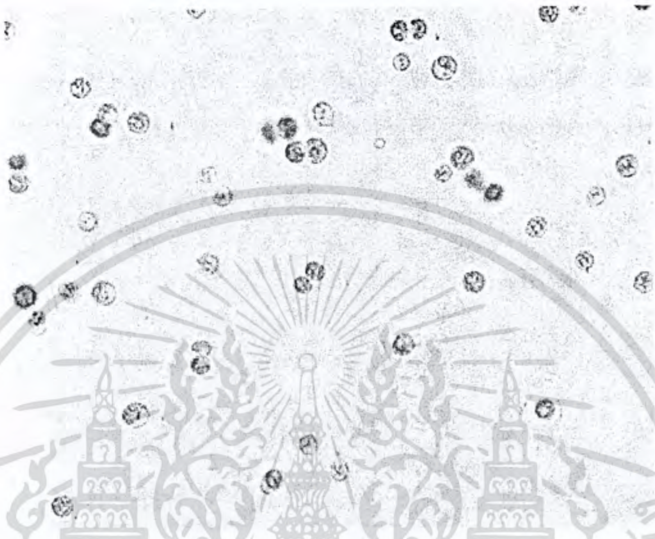
### 2.4.1 *Chlorella* sp.

เป็นสาหร่ายสีเขียว จัดอยู่ใน Family Chlorellaceae Genus *Chlorella* ส่วนใหญ่พบได้ในแหล่งน้ำจืดที่มีแหล่งฟอสเฟตและไนโตรเจนปริมาณสูง จัดเป็นแพลงก์ตอนพืชที่พบปริมาณมากในแหล่งน้ำจืด มีรูปร่างทรงกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเล็กประมาณ 2-12 ไมโครเมตร มีไพรีนอยด์ คลอโรพลาสต์รูปถ้วย ผนังเซลล์จะบาง มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างออโตสปอร์ หรือสร้างเซลล์ลูกที่มีจำนวน 4-8 เซลล์ *Chlorella* สามารถพบได้ทั่วไป โดยเฉพาะในดินหรือแม้กระทั่งขวดน้ำดื่มที่ไม่ค่อยมีการทำความสะอาด มักพบอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกับสัตว์จำพวกพารามีเซียม ไฮดรา เป็นต้น *Chlorella* มีส่วนประกอบของโปรตีนสูงถึง 50-60 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำโปรตีนเซลล์เดี่ยวซึ่งถูกใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับคนหรือใช้ผสมในอาหารสัตว์ และยังพบว่า *Chlorella* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่ชื่อว่า คลอเรลลิน ได้อีกด้วย (สิริรักษ์, 2525)

นอกจากการผลิตสารปฏิชีวนะแล้ว สาหร่าย *Chlorella* สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งสามารถเห็นได้ชัด คือ เป็นอาหารแก่สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก โดยเป็นฐานของพีระมิดอาหาร *Chlorella* ถูกนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโดยตรงของคนและสัตว์ เพราะมีโปรตีนสูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง และมีวิตามินต่างๆอีกมากมาย แต่เนื่องจาก *Chlorella* มีผนังเซลล์เป็นเซลลูโลส ไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ จึงต้องมีกระบวนการทำให้ผนังเซลล์แตกก่อน แล้วจึงนำมาอัดเม็ดและจำหน่ายในรูปของอาหารเสริมอัดเม็ดที่มีโปรตีนและวิตามินในปริมาณสูง นอกจากนี้ *Chlorella* ยังเป็นแหล่งของเบต้า-แคโรทีนและวิตามิน B-12 อีกทั้งเกลือแร่ต่างๆ มีงานวิจัยได้นำสาหร่าย *Chlorella* มาเป็นอาหารเสริมสุขภาพและใช้ในการต่อต้านมะเร็ง จึงถือได้ว่าสาหร่าย *Chlorella* เป็นแหล่งอาหารที่มีทั้งแหล่งของกรดอะมิโนและสารแอนตี้ออกซิแดนท์ (Antioxidant) (ยุวดี, 2530)

*Chlorella* sp. จัดเป็นแหล่งของโปรตีน วิตามิน และเกลือแร่ โดยมีโปรตีนที่อยู่ในรูปของกรดนิวคลีอิก คือ อาร์เอ็นเอสูงมาก ช่วยกระตุ้นให้เซลล์ร่างกายเกิดความกระปรี้กระเปร่า มีความอ่อนเยาว์และช่วยชะลอความแก่ได้ จากผลการวิจัยพบว่า อาร์เอ็นเอใน *Chlorella* ประกอบด้วย กรดอะมิโนจำเป็น ที่ร่างกายสร้างขึ้นมาใช้เองไม่ได้ ต้องได้รับจากการบริโภคของพืชหรือสัตว์ เท่านั้น ซึ่งกรดอะมิโนจำเป็นนี้มีอยู่ถึง 8 ชนิด โปรตีนจาก *Chlorella* จึงมีคุณภาพเทียบเท่ากับโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ นอกจากนี้ *Chlorella* ยังมีวิตามินหลากหลาย ซึ่งวิตามินที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella* มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินซี เบต้า-แคโรทีน วิตามินอี และโค-ลีน เป็นต้น มีงานวิจัยสนับสนุนสรรพคุณในด้านต่างๆ ของ *Chlorella* เช่น เป็นแหล่งโปรตีนชั้นยอด

สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต เสริมภูมิคุ้มกันร่างกาย ชะลอความแก่ ป้องกันอนุมูลอิสระและล้างพิษในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารอาหารที่มีประโยชน์สูง วงการธรรมชาติบำบัดจึงนิยมนำ *Chlorella* ไปใช้ในการเสริมภูมิคุ้มกัน สมานแผล ต้านสารพิษต่างๆ รอบตัว ปรับการทำงานของกระเพาะอาหารและลำไส้ ใช้กระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตและช่วยสร้างเนื้อเยื่อในร่างกาย ชะลอความชรา ตลอดจนป้องกันอันตรายจากกัมมันตภาพรังสี (Shibata และคณะ, 2003)



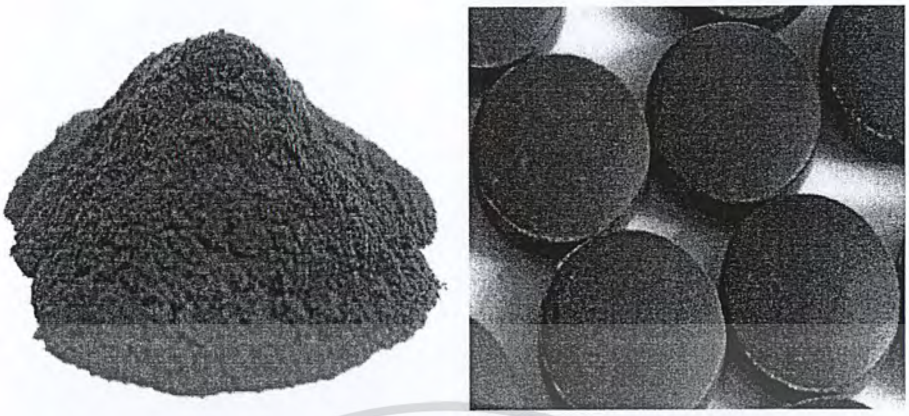
**รูปที่ 2.11** ลักษณะเซลล์ของ *Chlorella* sp.

ที่มา: http://scrink.com/blog/wellness/2007_12_01_archive.html

จากการศึกษาสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระและการต้านมะเร็ง พบว่าใช้เซลล์มะเร็งที่ตับและเซลล์ปกติทำการศึกษา โดยใช้สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อนความเข้มข้น 0 – 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจาก 24 ชั่วโมงจากการทดสอบด้วยวิธี TUNEL ซึ่งให้ผลที่ชี้ให้เห็นว่าสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ลดจำนวนของเซลล์ที่เป็นมะเร็งโดยให้ค่าการยับยั้ง 50 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงสรุปได้ว่าสารที่สกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันป้องกันการเกิดมะเร็ง หยุดปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันภายในเซลล์ที่เป็นมะเร็งตับ ชักจูงให้เซลล์ตายและเสื่อมไป (Yusof และคณะ, 2010)

### 2.4.2 *Ankistrodesmus* sp.

เป็นแพลงก์ตอนพืชน้ำจืดในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว อยู่ในวงศ์เดียวกับ *Chlorella* ลักษณะของเซลล์จะมีรูปร่างยาวเรียวแหลม แหลมตรงหัวและท้ายเซลล์ โค้งเล็กน้อยในลักษณะคล้ายพระจันทร์เสี้ยว มักอยู่รวมกลุ่มกันเป็นกลุ่มเล็กๆ โดยหันหน้าเข้าหากันหรือเซลล์หลายๆเซลล์พันเข้าหากันเป็นเกลียว มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลาง มีคลอโรพลาสต์อยู่ด้านข้าง ไม่มีไพรีนอยด์ สืบพันธุ์



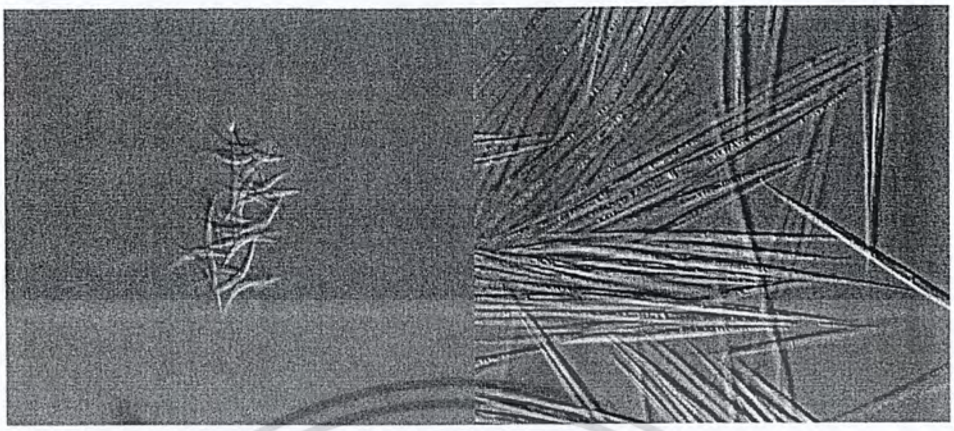
**รูปที่ 2.12** ลักษณะของสาหร่าย *Chlorella* ที่นำมาทำแห้งและอัดเม็ดจำหน่าย

ที่มา: http://chlorellalife.com/Howtotake.html และ http://www.made-in-china.com/showroom/

แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออโตสปอร์ 2-16 เซลล์ ซึ่งจะอยู่ในเซลล์แม่และจะหลุดออกมาภายหลัง จากการศึกษาของลัดดาในปี 2544 พบว่าเมื่อเลี้ยง *Ankistrodesmus* ในสภาพธรรมชาติจะทนทานต่อสภาพแวดล้อมและการเปลี่ยนแปลงได้ดีกว่าคลอเรลล่า สามารถใช้เลี้ยงไรแดงได้ แต่จะทำให้ไรแดงเพิ่มจำนวน ได้ช้ากว่าเมื่อเลี้ยงด้วยคลอเรลล่าน้ำจืด (ธิดา, 2542)

สาหร่าย *Ankistrodesmus* จะเข้าสู่ช่วงระยะการเจริญเติบโตที่คงที่ เมื่อสารอาหารลดลงและจะเกิดกระบวนการสร้างไขมัน ซึ่งสามารถพบได้ 18 ถึง 73 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง การสร้างจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และอายุของสาหร่าย สารที่พบในสาหร่ายสามารถแยกได้โดยการสกัดด้วยโครมาโตกราฟี ซึ่งพบว่ามีสารปาล์มมิติก โอเลอิกและลิกโนเลอิก เป็นส่วนประกอบหลัก นอกจากนี้ *Ankistrodesmus* ยังถูกนำไปใช้ในการเป็นอาหารเลี้ยงปลา เพื่อเพิ่มคุณค่าของผลิตภัณฑ์ ทำให้เนื้อปลามีคุณค่ามากขึ้นและเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี มีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นการนำไปใช้เป็นอาหารของปลา สาหร่าย *Ankistrodesmus* เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ และสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ เมื่อศึกษาส่วนประกอบจะพบว่าสาหร่าย *Ankistrodesmus* มีสารรงควัตถุ ไขมัน ไขมันไม่อิ่มตัว คาร์โบไฮเดรต แคโรทีนอยด์ สเตอรอลและวิตามิน การเลือกใช้สาหร่าย *Ankistrodesmus* จะคำนึงราคาถูกและให้ผลผลิตที่สูง โดยการทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการ ใช้อาหารสูตร NPK ที่อุณหภูมิ 22 ± 2 องศาเซลเซียสและให้แสง 21.48 $\mu$Einst. Cm$^{2/s}$ จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ตลอด 24 ชั่วโมง มีการให้อากาศ การเพาะเลี้ยงจะใช้เชื้อเริ่มต้น 2 ลิตร เติมลงในอาหาร 11,250 และ 850 ลิตร สาหร่ายจะเข้าสู่ช่วงระยะการเจริญเติบโตในวันที่ 8 ของการเลี้ยง ใช้ช่วงพีเอชที่ 6.7- 7.4 สามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ได้ทุกๆ 5 - 6 วัน โดยนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสาหร่ายออกมา 10-20 เปอร์เซ็นต์ ในการศึกษาสารประกอบภายในเซลล์ของสาหร่าย

*Ankistrodesmus* พบว่ามีส่วนประกอบของโปรตีน 50 เปอร์เซ็นต์ และมีไขมัน และเส้นใยอาหาร ประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์แห้ง (Virginia and Rosamond, 1961)

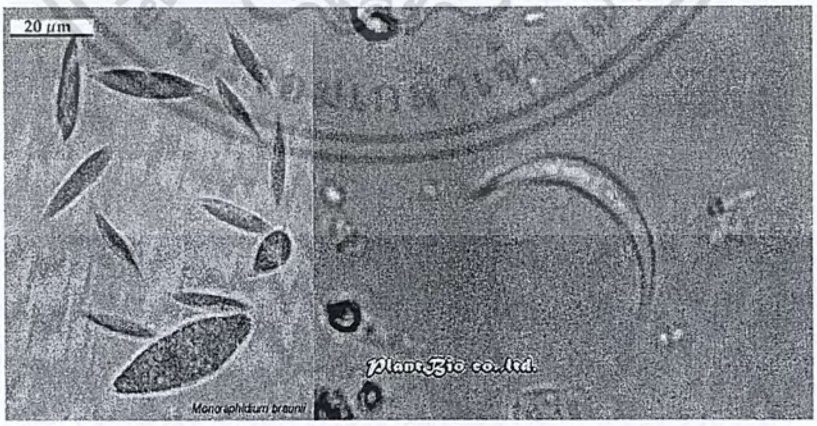


**รูปที่ 2.13** ลักษณะเซลล์ของ *Ankistrodesmus* sp.

ที่มา: http://silicasecchidisk.conncoll.edu/LucidKeys/Carolina_Key/html/ Ankistrodesmus_Ecology.html

### 2.4.3 *Monoraphidium* sp.

เป็นสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก จัดอยู่ใน Family Scarabaeoidea Genus *Monoraphidium* มีลักษณะเซลล์ยาวเรียว ตรงหัวและท้ายมีลักษณะปลายแหลมโค้งงอคล้ายรูปเคียว หรือพระจันทร์เสี้ยว หรือโค้งงอคล้ายจะเป็นเกลียว เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว และถูกเรียกว่า สาหร่ายคิ้วนางหรือสาหร่ายพระจันทร์เสี้ยว มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ คลอโรพลาสต์อยู่ด้านข้างของเซลล์ และไม่มี ไพรีนอยด์มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออโตสปอร์ 2-16 เซลล์ซึ่งอยู่ในเซลล์แม่และหลุดออกมาภายหลัง (ยุวดี, 2530)



**รูปที่ 2.14** ลักษณะเซลล์ของ *Monoraphidium* sp.

ที่มา: http://www.ibvf.cartuja.csic.es/Cultivos/micro-d-m.htm และ http://blog-imgs-27.fc2.com/b/i/o/biodic07/20090311155445.jpg

## 2.5 การเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ

การเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ มีระยะเวลาในการเลี้ยงแบ่งเป็น การเลี้ยงระยะยาวและการเลี้ยงระยะสั้น ได้แก่

การเลี้ยงระยะยาว มีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรักษาเชื้อสาหร่ายสำหรับเลี้ยงในครั้งต่อไป โดยอาหารที่เลี้ยงจะต้องมีคุณภาพดีสามารถใช้เลี้ยงโดยไม่ต้องถ่ายเชื้อใหม่เป็นเวลานาน เช่น อาหารวุ้น การเลี้ยงต้องเป็นเป็นการเลี้ยงแบบปลอดเชื้อและควรเลี้ยงควรลดอุณหภูมิจากปกติลง 5-8 องศาเซลเซียสและลดความเข้มแสงลงครึ่งหนึ่งเพื่อลดการเจริญเติบโต ทำให้สามารถเก็บเชื้อสาหร่ายไว้ได้นาน และอีกวัตถุประสงค์หนึ่ง คือ การเลี้ยงแบบอุตสาหกรรม สามารถแบ่งการเลี้ยงระยะยาวได้อีกเป็น 2 ประเภทคือ การเลี้ยงประเภทเก็บเกี่ยวครั้งเดียวและการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยการเลี้ยงแบบเก็บเกี่ยวครั้งเดียวจะเป็นการเลี้ยงสาหร่ายสำหรับเป็นอาหารของมนุษย์ จำเป็นจะต้องมีกระบวนการเลี้ยงที่สะอาด โดยการเริ่มเลี้ยงจากจำนวนน้อยในห้องปฏิบัติการก่อน แล้วจึงทำการถ่ายเชื่อลงในถังใหญ่และทำการขยายพันธุ์ลงในบ่อต่อไป ส่วนการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง จะเป็นการเลี้ยงเพื่อเก็บผลผลิตบางส่วน และส่วนที่เหลือก็ปล่อยให้เจริญเติบโตต่อไป ซึ่งค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงจะมีราคาต่ำกว่าแบบเก็บเกี่ยวครั้งเดียว และมีความสะอาดน้อยกว่า (จงกล, 2552)

การเลี้ยงระยะสั้นเหมาะสำหรับการศึกษาในห้องเรียนเป็นครั้งคราว หรือทำอุตสาหกรรมระยะสั้นนิยมใช้อาหารที่มีความเหมาะสมแก่สาหร่ายแต่ละชนิด

### 2.5.1 รูปแบบของการเพาะเลี้ยง (ลัดดา, 2544)

1. Unialgal culture เป็นการเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียวไม่มีสาหร่ายอื่นปนแต่อาจจะมีสิ่งมีชีวิตอื่นปนได้ เช่น แบคทีเรีย หรือโปรโตซัว

2. Axenic culture เป็นการเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดก็ได้ แต่ต้องไม่มีแบคทีเรียชนิดอื่นปน

3. Pure culture เป็นการเลี้ยงสาหร่ายเพียงชนิดเดียวเท่านั้น โดยไม่มีสิ่งมีชีวิตอื่นปน

### 2.5.2 อาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย

แบ่งได้ 2 รูปแบบ คือ อาหารเหลวและอาหารแข็ง ได้แก่ (ลัดดา, 2544)

1. อาหารเหลว จะมีส่วนประกอบของน้ำจืด น้ำจืดควรเป็นน้ำธรรมชาติที่เก็บในที่มืดอุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส นาน 6 เดือน หรือน้ำที่ผ่านการกรองด้วยผงถ่าน สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายจะประกอบด้วยธาตุอาหารแบ่งได้ 2 ประเภท คือ ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง โดยธาตุอาหารหลักสาหร่ายจะใช้ในปริมาณมากเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ได้แก่ คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เป็นต้น ส่วนธาตุอาหารรองสาหร่ายจะใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยเพื่อทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ได้แก่ สังกะสี ทองแดง แมงกานีส เป็นต้น

2. อาหารแข็งหรืออาหารวุ้น สามารถเตรียมได้จากนำอาหารเหลวมาเติมวุ้นลงไป 1.5 เปอร์เซ็นต์ วุ้นที่ควรใช้ก็ควรเป็นวุ้นที่บริสุทธิ์ที่ เรียกว่า Bacto-agar ถ้าต้องการเตรียมอาหารวุ้นสำหรับทำอาหารเลี้ยงสาหร่ายแบบเอียง ควรใส่วุ้น 1-1.5 เปอร์เซ็นต์ ถ้าต้องการเตรียมวุ้นลงจานเพาะเชื้อควรใช้วุ้น 1.5-2 เปอร์เซ็นต์

อาหารที่เตรียมจะมีปริมาตรประมาณครึ่งหนึ่งของภาชนะที่ใส่อาหาร ถ้ายังไม่ใช้ควรห่อด้วยภาชนะด้วยกระดาษหรือกระดาษตะกั่ว และเก็บไว้ในตู้เย็น เมื่อนำมาใช้ควรทำให้ละลายในหม้อนึ่งอัดไอ เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และการเทอาหารควรรอให้อาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส โดยหลักเกณฑ์ในการเลือกใช้อาหาร ต้องคำนึงถึงลักษณะของสาหร่าย ได้แก่ ถ้าสาหร่ายมีแฟลกเจลลาควรใช้อาหารเหลวและทำการถ่ายเชื้อทุก 3-4 เดือน ถ้าสาหร่ายที่เป็นเส้นสายก็ควรเลี้ยงในอาหารเหลว และต้องทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 6 เดือน ถึง 1 ปี สำหรับอาหารแข็งจะนิยมใช้ในการเก็บรักษาเชื้อหรือใช้เมื่อต้องการแยกเชื้อของสาหร่าย ทั้งนี้เพราะสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีน้ำอิสระสูง โดยน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย คือ น้ำจืดและน้ำเค็ม ในการเลือกใช้ก็ขึ้นอยู่กับความชอบของสาหร่ายในการเจริญเติบโต

### 2.5.3 เทคนิคการแยกเชื้อและการทำให้บริสุทธิ์

การแยกเชื้อบริสุทธิ์จะเริ่มจากการแยกเชื้อจากแหล่งน้ำต่างๆ ถ้าเป็นพวกแพลงก์ตอนจะใช้การเก็บ โดยใช้ถุงแพลงก์ตอนเน็ต (Planton-net) ถ้าสาหร่ายประเภทเส้นสายจะสามารถทำการเก็บได้จากการขูดสาหร่ายจากก้อนหินหรือพื้นน้ำ และเมื่อเก็บตัวอย่างสาหร่ายมาแล้วควรทำการศึกษารูปร่างลักษณะของสาหร่ายทันที เพราะสาหร่ายบางชนิดอาจเน่าเสียได้รวดเร็ว หรืออาจทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากดินซึ่งสามารถเก็บได้จากบริเวณชายน้ำ เมื่อเก็บดินตัวอย่างมาแล้ว ต้องทำการผึ่งให้แห้งสนิท แล้วจึงนำตัวอย่างดินใส่ในจานเพาะเชื้อ หยดน้ำลงบนดินเล็กน้อยนำไปวางไว้ในที่ที่มีแสงสว่าง วิธีนี้จะสามารถเก็บสปอร์ของตัวอ่อนสาหร่ายได้นาน โดยเก็บตัวอย่างดินที่ได้ใส่ถุงหรือใส่ขวดที่ปิดสนิท ในการแยกเชื้อและการทำให้บริสุทธิ์และทำด้วยวิธีที่ถูกต้องเหมาะสม เพราะสาหร่ายแต่ละชนิดต้องการสภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน เทคนิคการแยกเชื้อสาหร่ายมีทั้งหมด 3 วิธีดังนี้ (นงลักษณ์และปรีชา, 2547)

1. การล้างเซลล์ด้วยไมโครปิเปต ซึ่งจะเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด เหมาะกับการแยกเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กซึ่งต้องอาศัยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้ไมโครปิเปตดูดเซลล์สาหร่ายขึ้นมาพอประมาณ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆครั้ง โดยเตรียมหลอดแก้วขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรทำอุปกรณ์สำหรับดูดสาหร่าย และจีบปลายด้านหนึ่งของหลอดแก้วแล้วนำไปเผาที่

ตะเกียงบุนเส็น จนแก้วอ่อนตัวและทำการยืดออก ให้ได้ความยาวที่ต้องการแล้วตัดส่วนที่เหลือออก นำน้ำตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการหยดลงจานแก้ว แล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เมื่อพบสาหร่ายที่ต้องการแล้ว จุ่มไมโครปิเปตและดูดตัวเซลล์ออกมา ทำเช่นนี้หลายๆ ครั้งจนกว่าจะได้จำนวนที่ต้องการ นำเซลล์ที่ได้มาล้างสิ่งสกปรกออก 6-12 ครั้ง จากนั้นนำตัวเซลล์ 1 เซลล์ใส่ในหลอดแก้วสำหรับเลี้ยงสาหร่ายจำนวน 1 เซลล์ต่อ 1 หลอด วางไว้ในที่ที่มีแสงสว่างเพื่อให้สาหร่ายได้เจริญเติบโต ในการแยกเชื้อสาหร่ายที่เป็นเส้นสายก็ทำได้เช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนการดึงแก้วให้โค้งงอเป็นตะขอขนาดเล็กเพื่อใช้ในการเกี่ยวสาหร่ายมาเลี้ยง ล้างฆ่าเชื้อหลายๆ ครั้ง แล้วจึงนำสาหร่ายที่ได้ไปจุ่มบนอาหารในจานเพาะเชื้อหลายๆ ครั้งเพื่อเป็นการกำจัดสาหร่ายขนาดเล็กที่ติดมาด้วยออก

2. เทคนิคอะตอไมเซอร์ สามารถทำการแยกเชื้อและทำให้บริสุทธิ์ได้โดยล้างสาหร่ายจำนวน 8-9 มิลลิลิตรด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน และนำไมโครปิเปตแตะที่ก้นของหลอดปั่น ใช้จุกสำลีอุดโดยให้หลอดแก้วตรึงอยู่ตรงกลาง จากนั้นพ่นอากาศโดยผ่านปิเปต อากาศที่ผ่านปิเปตจะพาสาหร่ายออกมาด้วยและตกลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ในฝั่งตรงข้ามของการเป่า นำไปเลี้ยงในที่ที่มีแสงสว่าง สาหร่ายจะมีการเจริญเติบโตต่อไป

3. การเลือกใช้สูตรอาหาร เหมาะแก่การแยกเชื้อขนาดใหญ่ ทำได้โดยการเกี่ยวสาหร่ายด้วยขอเกี่ยวขนาดเล็ก นำเซลล์ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารจะที่ผสมด้วยเจอมาเนียมไดออกไซด์เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของไดอะตอม

นอกจากที่กล่าวมาแล้วในข้างต้น เช่น การเพาะบนอาหารวุ้น โดยนำตัวอย่างสาหร่ายใส่ขณะที่วุ้นยังไม่แข็งตัวมากนัก เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตและวุ้นมีลักษณะที่แข็งแล้วจึงทำการตัดวุ้นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปเลี้ยงในหลอดแก้วที่มีอาหารเหลวอยู่ จะใช้การแยกเชื้อจากปฏิกิริยาการหนีเข้าหาแสงของสาหร่ายที่มีแฟลกเจลลา เมื่อทำการแยกหลายๆ ครั้ง จะสามารถแยกเชื้อสาหร่ายได้หรืออีกวิธีหนึ่ง คือ การดุลยภาพทางออสโมติก โดยอาศัยความแตกต่างของการดุลยภาพออสโมติกที่แตกต่างกันในการแยกเชื้อสาหร่าย

การทำให้เชื้อบริสุทธิ์ ทำได้โดยการปั่นเหวี่ยง การใช้แสงอุลตราไวโอเลต เทคนิคการกรองและการตรวจสอบความบริสุทธิ์ โดยการนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารของแบคทีเรีย เช่น อาหาร Nutrient broth เป็นต้น

การเก็บรักษาเชื้อ ก่อนเริ่มการเก็บรักษาจะต้องเตรียมอาหารเพื่อเตรียมย้ายสาหร่ายก่อน จะต้องเปลี่ยนอาหารใหม่ในระยะที่สาหร่ายเจริญเติบโตเต็มที่ หรืออยู่ในช่วงสเตชั่นนารีเฟส และควรเปลี่ยนใหม่ทุกๆ 2 สัปดาห์ สามารถเก็บสาหร่ายได้นานโดยการชะลอการเจริญเติบโต เช่น

การเก็บที่อุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มแสงที่น้อยลงประมาณ 200-500 ลักซ์ หรือการเลี้ยงในอาหารที่เจือจางจากเดิม และการเลี้ยงในอาหารวุ้นจะสามารถเก็บไว้ได้เป็นระยะเวลานาน

## 2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย (วันเพ็ญ, 2549)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตจะแบ่งเป็น 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยทางกายภาพและปัจจัยทางเคมี ได้แก่

ปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ แสงสว่าง ควรใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์ในการให้แสงแก่สาหร่ายเพราะมีอุณหภูมิในการให้แสงน้อยกว่าหลอดไฟประเภทอื่นๆ นอกจากแสงแล้วยังมี อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนที่ละลาย และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น

ปัจจัยทางเคมีจะขึ้นอยู่กับสารอาหารที่เลี้ยงสาหร่ายซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่ายแต่ละชนิด ธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายแบ่งออกเป็น ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ซึ่งธาตุอาหารหลักจะเป็นสารเคมีที่สาหร่ายต้องการเป็นปริมาณมาก เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต อย่างเช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ แคลเซียม โซเดียม โปแตสเซียม คลอรีน และแมกนีเซียม เป็นต้น ส่วนธาตุอาหารรอง จะเป็นสารอาหารที่สาหร่ายต้องการในปริมาณที่น้อยซึ่งสามารถแบ่งได้ 2 ประเภท สารอนินทรีย์และอินทรีย์ สารอนินทรีย์จะได้แก่ เหล็ก โบรอน แมงกานีส ทองแดง สังกะสี โมลิบดินัม ซิลิกา เป็นต้น และสารอินทรีย์ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต เกลืออินทรีย์หรือสารประกอบอินทรีย์ และกลุ่มอาหารเสริม

ลักษณะของสาหร่ายที่ขาดธาตุอาหาร

1. ปริมาณสารสีที่ใช้สำหรับสังเคราะห์แสงลดลง ทำให้เซลล์มีสีที่จางลง
2. เซลล์มีการสะสมอาหารเพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ เช่น การสะสมแป้งและน้ำมัน
3. เซลล์มีการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและโปรตีนลดลง เนื่องจากเซลล์มีการสะสมแป้งและไขมันเพิ่มขึ้น

วิธีวัดการเจริญเติบโตและชีวมวลของสาหร่าย มีหลายวิธีดังนี้ (อักษร, 2531)

1. การนับเซลล์ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันมาก โดยใช้อุปกรณ์เป็นกล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ ก่อนที่จะทำการนับเซลล์ควรทำการล้างสไลด์ให้สะอาด เช็ดให้แห้ง ตัวอย่างที่จะนับควรทำการดองด้วยน้ำยาฟอร์มาลีน 4 เปอร์เซ็นต์ หยดตัวอย่างลงบนสไลด์และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ รอให้เซลล์ตกตะกอนก่อนแล้วจึงทำการนับเซลล์ ก่อนการนับควรดูด้วยกำลังขยายต่ำๆ เพื่อทำการสำรวจว่าเซลล์กระจายตัวสม่ำเสมอหรือไม่ และความหนาแน่นของเซลล์ไม่ควรมากเกินไปจนทำการนับเป็นไปได้ยาก ถ้าหนาเกินไป ก็ควรเตรียมสไลด์ใหม่ หรือการนับเซลล์อาจจะใช้

อุปกรณ์ที่เรียกว่า โคลเตอร์ ซึ่งเป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิคนิยมใช้นับเซลล์ที่ไม่เป็นเส้นสาย และเซลล์ที่มีลักษณะกลม เป็นอุปกรณ์ที่สามารถนับเซลล์ได้อย่างรวดเร็วแต่มีราคาที่แพงมาก ผู้ใช้ต้องดูแลและทำความสะอาดเป็นอย่างดี เครื่องมือถึงจะมีความถูกต้องแม่นยำในการวัด

2. การวัดความขุ่นหรือการกระจายตัวของแสง เป็นการวัดที่นิยมในการวัดสาหร่ายที่มีความบริสุทธิ์ สามารถวัดได้ง่ายและข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลของชีวมวลที่เพิ่มขึ้น โดยการวัดจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง อุปกรณ์ที่ใช้เรียกว่า Colorimeter หรือเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ความเข้มแสงจะลดลงเมื่อจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น

3. การวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง เหมาะสำหรับการวัดเซลล์ที่เป็นเส้นสายไม่สามารถนับจำนวนได้จากวิธีอื่นๆ วิธีการวัดจะทำการวัดทุกวันแล้วนำมาพล๊อตกราฟ โดยเก็บตัวอย่างที่จะทำการวัดโดยการกรองแบบปั่นเหวี่ยง และนำตัวอย่างไปอบแห้ง ที่อุณหภูมิประมาณ 70-110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักเซลล์คงที่ และนำแผ่นกรองออกจากตู้อบและนำไปใส่ในโถดูดความชื้นประมาณ 15-30 นาที รายงานผลเป็นน้ำแห้งต่อปริมาตร การวัดคลอโรฟิลล์ เป็นวิธีที่วัดได้อย่างรวดเร็ว โดยทำการเก็บตัวอย่าง และทำการกรองเซลล์ออก โดยการปั่นเหวี่ยง ต่อจากนั้นจึงสกัดสารสีโดยการเติมสารละลายเคมี ที่นิยมคือ อะซิโตน เมทานอลหรืออีเทอร์ เมื่อสกัดสารสีออกมาแล้วจึงนำเซลล์ไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งหนึ่ง เพื่อแยกตะกอนหรือสารปนเปื้อนออก นำส่วนใสที่ได้ไปวัดค่าคลอโรฟิลล์ และเซลล์สาหร่ายแต่ละชนิดจะมีปริมาณสารคลอโรฟิลล์แตกต่างกันตามชนิดของสาหร่าย ทั้งนี้ผู้ที่ทำการวัดจะต้องเลือกใช้ความยาวคลื่นแสงให้เหมาะสมกับแต่ละชนิดของสาหร่ายที่จะวัด

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จิตราพรรณ และคณะ (2552) ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่าย *Ulva intestinalis* โดยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดคือ น้ำ เอทานอล เฮกเซน และไดคลอโรมีเทน พบว่าสารสกัดในชั้นน้ำให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 65.18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Hu และคณะ (2008) ศึกษาฤทธิ์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดคาโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีเขียว *Dunaliella salina* โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อะซิโตน และเอทานอล ด้วยอัตราส่วน 2:1:1 โดยปริมาตร พบว่าสารสกัดที่ได้ให้ค่า $IC_{50}$ สำหรับการวิเคราะห์โดยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 8.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่อัลฟาโทโคฟีรอลให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 2.88 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Song และคณะ (2010) ศึกษาฤทธิ์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายสีเขียว *Bryopsis plumose* โดยทำการสกัดด้วยน้ำ กรดซัลฟิวริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าการหาฤทธิ์

ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแบบ superoxide radical assay ของสารสกัดจากสาหร่ายให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.011 0.12 และ 0.0092 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ให้ค่าการรีดิวซ์เท่ากับ 54 55 และ 28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Li และคณะ (2007) ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสาหร่าย 23 สายพันธุ์ พบว่าสาหร่ายสีเขียว *Chlorella pyrenoidosa* ที่ทำการสกัดด้วยน้ำ ให้ค่าในการต้านออกซิเดชันรวม 7.49 ไมโครโมล โทรอกต่อกรัม แต่ปริมาณฟีนอลเพียง 1.16 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม

Abdalbasit และคณะ (2009) ศึกษาฤทธิ์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ *Nigella sativa* พบว่าในการสกัดด้วยน้ำ มีปริมาณฟีนอลิก 32.1 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีค่า $IC_{50}$ สำหรับการวิเคราะห์โดยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 2.17 ± 0.41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Shruti และคณะ (2009) ศึกษาฤทธิ์ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของยอดหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana*) ที่ทำการสกัดด้วยเอทานอล พบว่าในการทดสอบปริมาณฟีนอลิกให้ค่า 61.50 มิลลิกรัมสมมูลย์ของแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และที่ความเข้มข้นของสารสกัด 20 40 50 100 และ 200ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในช่วง 36.93 – 68.76 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้นเดียวกันให้ค่าในช่วง 64.26 – 82.58 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดที่ได้ให้ค่า $IC_{50}$ สำหรับการวิเคราะห์โดยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 93.46 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่กรดแอสคอร์บิกให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 26.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

# บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

## 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. W54

3.1.2 สาหร่ายสายพันธุ์ *Monoraphidium* sp. W53

3.1.3 สาหร่ายสายพันธุ์ *Ankistrodesmus* sp. W53

## 3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร N-8 (ภาคผนวก ก)

3.2.2 เอทานอล (Ethanol; analytical grade Lab-Scan)

3.2.3 ฟอลิน-ซิโอแคลตู (Folin-ciocalteu reagent; Merck #109001)

3.2.4 โซเดียมคาร์บอเนต

3.2.5 กรดซัลฟิวริก

3.2.6 โซเดียมฟอสเฟต (Di-Sodium hydrogen phosphate 7- Hydrate) ยี่ห้อ Panreac

3.2.7 แอมโมเนียมโมลิปเดต (Ammonium molybdate powder; Ajax Finechem # AF705163)

3.2.8 สารกันหืนสังเคราะห์ BHT (Aldrich #B1378)

3.2.9 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH; Sigma #D9132)

3.2.10 สารละลายเฟอรัสคลอไรด์ ($FeCl_2$; Merck #103861)

3.2.11 สารละลายเฟอโรซีน (Ferrozine; Fluka #82950)

3.2.12 EDTA (EDTA disodium salt; AR grade Merck # 108418)

3.2.13 สารละลายฟอสเฟต

3.2.14 กรดแกลลิก (Gallic acid monohydrate; HPLC grade Aldridh #27645)

3.2.15 สารละลายแอมโมเนียม ไทโอไซยาเนต (Merck #101213)

3.2.16 Iron (II) chloride tetrahydrate (Merck # 103861)

3.2.17 Sodium dihydrogen phosphate dehydrate (Fluka Chemika # 71500)

3.2.18 Sodium dihydrogen phosphate monohydrate (Merck # 6346)

3.2.19 Tween 20 ยี่ห้อ Merck # 822184

## 3.3 อุปกรณ์

3.3.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น thermotec2000 บริษัท Contherm

3.3.2 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow) รุ่น LA-CLEANLINE BS-120 บริษัท M-tech maxel Technology

3.3.3 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) รุ่น Lyolab บริษัท Heto

3.3.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น Z36HK บริษัท HERMLE และรุ่น Falcon 6/30 บริษัท MSE

3.3.5 เครื่องชั่งน้ำหนักสี่ตำแหน่ง (Balance) รุ่น AR2140 บริษัท OHAUS

3.3.6 เครื่องเขย่า (Shaker) รุ่น innova2000 บริษัท New Brunswick scientific

3.3.7 เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) รุ่น Laborota บริษัท Heidolph และรุ่น Hei-VAP Adventage บริษัท Heidolph

3.3.8 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 20-200 ไมโครลิตร

3.3.9 หม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave) รุ่น HA-300MIV บริษัท Hirayama

3.3.10 เครื่องยูวี วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) รุ่น Helios Alpha บริษัท BEC thai

3.3.11 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter) รุ่น UB10 บริษัท Denver Instrument

3.3.12 ปิเปตอัตโนมัติ (Autopipette) รุ่น Fastpettle V-2 บริษัท Labnet

3.3.13 เครื่องให้อากาศ รุ่น 9830 บริษัท Lifetech

3.3.14 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ PolyScience รุ่น 20L-M

3.3.15 ตู้แช่แข็ง (Freezer) บริษัท Sanyo

3.3.16 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker incubator) ยี่ห้อ Lab companion รุ่นBS -21

## 3.4 วิธีการทดลอง

### 3.4.1 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ

เก็บตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดย *Chlorella* sp. W54 แยกได้จากแหล่งน้ำบริเวณวัดปลูกศรัทธา *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 จากห้องปฏิบัติการ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในฟลาสก์โดยใช้อาหาร N-8 ทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีและให้แสงสว่าง เพื่อให้สาหร่ายเกิดการเจริญ จากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Cross streak plate โดยใช้อาหารแข็งสูตร N-8 เมื่อได้สาหร่ายสีเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ จะนำไปทำในขั้นตอนถัดไป

### 3.4.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวที่แยกได้จากธรรมชาติ 3 สายพันธุ์

นำสาหร่ายสีเขียวที่แยกได้จากธรรมชาติแล้ว 3 สายพันธุ์ มาทำการเพาะเลี้ยงเป็นหัวเชื้อ (Stater) เพื่อขยายพันธุ์ โดยเตรียมอาหาร N-8 (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายเชื้อลงในฟลาสก์ แล้วนำไปบ่มในสภาวะเขย่า ความเร็วรอบ

180 รอบต่อนาที พร้อมทั้งเปิดไฟให้แสงสว่างแก่สาหร่ายด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ตลอด 24 ชั่วโมง โดยควบคุมแสงให้ได้ 3000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง เพาะเลี้ยงสาหร่ายจนกระทั่งมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.7 ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (มีปริมาณเซลล์ $10^6$-$10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) จึงนำไปเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณที่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยเตรียมอาหาร N-8 ปริมาตร 8 ลิตร ใส่ลงในถังเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาด 10 ลิตร แล้วถ่ายเชื้อจากหัวเชื้อลงในถังเพาะเลี้ยง 20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง จากนั้นต่อสายยางจากเครื่องเติมอากาศ (Pump) ลงในแต่ละถังที่ใช้เพาะเลี้ยงให้มีความแรงของอากาศพอเหมาะและให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง โดยควบคุมแสงให้ได้ 3000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง

### 3.4.3 การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย

เมื่อสาหร่ายมีการเจริญอยู่ในระยะคงที่ (Stationary phase) แล้ว ให้ทำการเก็บเกี่ยวสาหร่ายออกจากถังเพาะเลี้ยง โดยตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำส่วนที่เป็นตะกอนมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนตะกอน (Pellet) มาทำให้แห้งโดยวิธีอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างสาหร่ายแห้งที่ได้มาบดด้วยครก เพื่อทำให้ผนังเซลล์แตก แล้วเก็บตัวอย่างสาหร่ายที่บดได้ลงในภาชนะบรรจุที่สะอาด นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปทำการสกัดในขั้นตอนต่อไป

### 3.4.4 การสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่าย (ดัดแปลงจาก Jaime และคณะ, 2010)

#### 3.4.4.1 การสกัดด้วยน้ำร้อน

นำตัวอย่างสาหร่ายที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 สายพันธุ์ มาสกัดด้วยน้ำร้อนในอัตราส่วนสาหร่ายต่อน้ำ 10 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าความเร็ว 130 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสด้านบนออกและนำส่วนเซลล์ (Pellet) ไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยวิธีเดิม จากนั้นนำส่วนใสที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้ง ไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง โดยแยกสกัดทีละส่วน เก็บสารสกัดหยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปทำการศึกษาต่อไป

#### 3.4.3.2 การสกัดด้วยเอทานอล

นำตัวอย่างสาหร่ายที่ผ่านการทำแห้งมาเติมเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วนสารสกัด 10 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปสกัดในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสด้านบนออกและนำส่วนเซลล์ ไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งด้วยวิธีเดิม จากนั้นนำส่วนใสที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้งไประเหยภายใต้สุญญากาศ โดยแยกสกัดทีละส่วน

### 3.4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) (ดัดแปลงจาก Kumer และคณะ, 2008)

นำตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์มาทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีฟอลิน-ซิโอแคลตู มีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

1. นำสารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่ายมาละลายในเอทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติมสารฟอลิน-ซิโอแคลตูปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน

2. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน

3. ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นแล้วเขย่าส่วนผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยเก็บให้พ้นจากแสงเป็นเวลา 30 นาที

4. นำส่วนผสมที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเฉลี่ยทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง

### 3.4.6 การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์

#### 3.4.6.1 การหาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย (Total antioxidant capacity) (ดัดแปลงจาก Pan และคณะ, 2007, Prieto และคณะ, 1999)

โดยนำสารสกัดหยาบของสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็กทั้ง 3 สายพันธุ์มาตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม (Total antioxidant capacity) ที่ดัดแปลงมาจาก Pan และคณะ (2007); Prieto และคณะ (1999) มีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

1. นำสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบที่ใส่สารละลายผสม (เตรียมได้จากกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ โซเดียมฟอตเฟต ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ และแอมโมเนียมโมลิปเดต ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์) ทั้งหมด 3 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดเขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน

2. นำส่วนผสมของสารละลายที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 60 90 120 และ 150 นาที และเมื่อครบเวลาที่บ่ม นำส่วนผสมมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

3. นำส่วนผสมที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร ทำการเทียบกับ Blank ซึ่งค่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมของตัวอย่างพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้โดยทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ BHT ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**หมายเหตุ** Blank ได้แก่สารละลายผสมของกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ โซเดียมฟอตเฟต ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ และแอมโมเนียมโมลิปเดต ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และผสมด้วยตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสกัดหยาบปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร โดยสารละลายจะต้องนำไปบ่มในสภาวะเดียวกับการทดสอบตัวอย่าง

#### 3.4.6.2 วิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) (ดัดแปลงมาจาก Kumer และคณะ, 2008)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอลบริสุทธิ์ (Absolute ethanol)
2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT (ใช้เป็นสารมาตรฐานที่แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ) ความเข้มข้น 0.025 – 0.200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเอทานอลบริสุทธิ์
3. เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่มีความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 1.4 และ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเอทานอลบริสุทธิ์และน้ำ (ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด)
4. เติมสารละลายของสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดสอบที่มีสารละลาย DPPH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมทันทีหลังจากเติม DPPH
5. เก็บส่วนผสมไว้ให้พ้นแสงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
6. นำส่วนผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องยูวี/วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
7. บันทึกค่าดูดกลืนแสงและนำค่าดูดกลืนแสง ที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging capacity) โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 0.01 – 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

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

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

$A$ = $A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดผสมกับ DPPH

$A_b$ = $A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดที่ไม่เติม DPPH

9. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง ที่สามารถกำจัดสารอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ($EC_{50}$) จากกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่ายหรือสารมาตรฐาน

**3.4.6.3 การตรวจสอบความสามารถในการจับ Ferrous ion (Ferrous ion-chelating ability assay)** (ดัดแปลงจาก Wang และคณะ, 2009)

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

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

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

4. นำส่วนผสมของสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณความสามารถในการจับเฟอรัสไอออนโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน $EDTA\text{-}Na_2$ ที่ความเข้มข้น 0.00005 0.0001 0.0005 0.001 0.005 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

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

โดยที่ $A_0$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

$A_1$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน $EDTA\text{-}Na_2$

$A_2$ = ค่าการดูดกลืนแสงของ blank

**หมายเหตุ** 1. ปฏิกิริยาควบคุม (Control) ให้ใช้ตัวทำละลาย 2 มิลลิลิตรแทนสารสกัด

2. Blank ให้ใช้น้ำกลั่นปริมาตร 0.2 มิลลิลิตรแทนสารละลายเฟอโรซีน

### 3.4.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

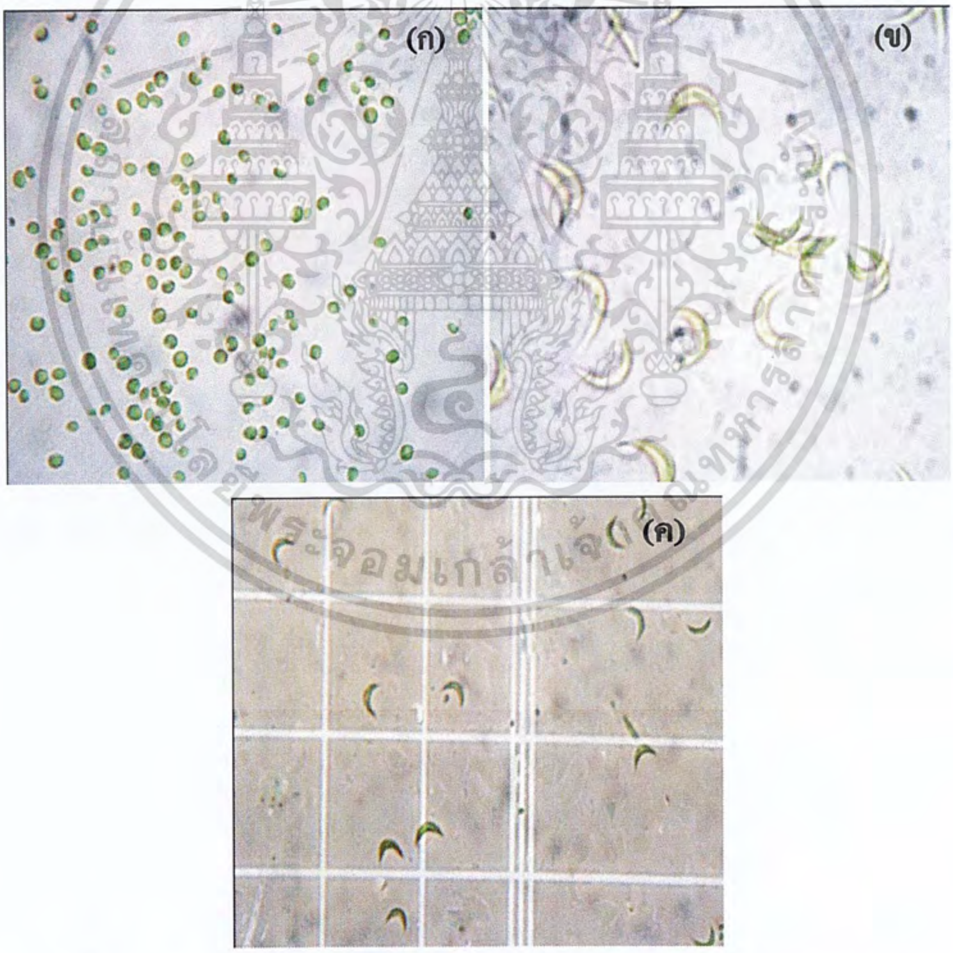
นำไปวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยใช้ Duncan's multiple range test program และค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยข้อมูล โดยใช้ Statistical analysis system software version 11.5

# บทที่ 4

# ผลการวิจัยและอภิปรายผล

## 4.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

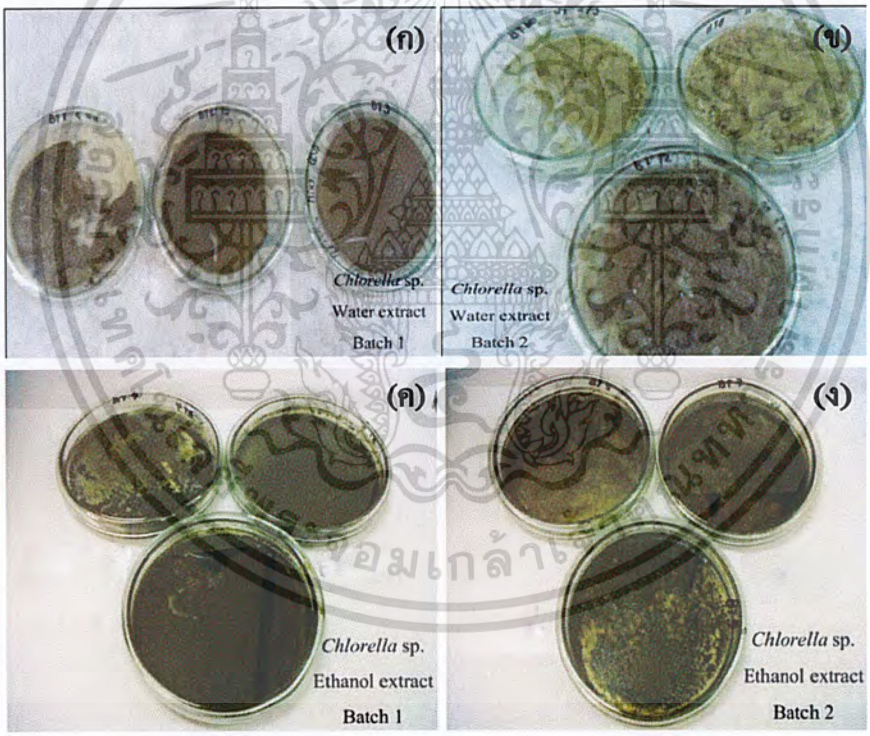
นำสาหร่ายน้ำจืดขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 มาเพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ในอาหารสูตร N-8 โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่พบจะมีลักษณะทรงกลม ขนาดเล็ก มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วย สำหรับ *Monoraphidium* sp. W53 มีลักษณะยาวเรียว หัวและท้ายเป็นปลายแหลมโค้งงอคล้ายรูปเคียว ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว และ *Ankistrodesmus* sp. W53 มีลักษณะเรียวแหลม ตรงส่วนหัวและท้ายของเซลล์ หรืออาจมีรูปร่างโค้งเล็กน้อยคล้ายพระจันทร์เสี้ยว มักอยู่รวมกลุ่มกันเป็นกลุ่มขนาดเล็ก หันหน้าเข้าหากันหรือเซลล์หลายๆเซลล์พันเข้าหากันเป็นเกลียว ดังรูปที่ 4.1



**รูปที่ 4.1** แสดงลักษณะ (ก) *Chlorella* sp. W54 (ข) *Monoraphidium* sp. W53 (ค) *Ankistrodesmus* sp. W53 (กำลังขยาย 400 เท่า)

## 4.2 ผลได้และลักษณะของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์

สกัดสารจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 3 ครั้ง ด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อน พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 มีลักษณะหนืด สีเขียวเข้ม ส่วนการสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่า สารสกัดหยาบทั้ง 3 ส่วนมีลักษณะเหลว แต่ในส่วนที่ 1 มีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนที่ 2 มีสีน้ำตาลอมเหลืองและส่วนที่ 3 มีสีเขียวอมเหลือง ดังรูปที่ 4.2.1 สำหรับสารสกัดด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 มีลักษณะหนืด สีเขียวเข้ม ส่วนการสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่าสารสกัดในส่วนที่ 1 มีลักษณะเหนียวข้น แต่ในส่วนที่ 2 และ 3 มีลักษณะเหลว โดยที่สีของสารสกัดในส่วนที่ 1 เป็นสีเขียวอมเหลือง ส่วนที่ 2 มีสีน้ำตาลอมเหลืองและส่วนที่ 3 มีเป็นสีเขียวอ่อน ดังรูปที่ 4.2.2 ส่วนสารสกัดจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดได้จากเอทานอล พบว่ามีลักษณะหนืด สีเขียวเข้ม แต่ในการสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่าสารสกัดมีลักษณะเหลว โดยที่ในส่วนที่ 1 มีสีเขียวอมเหลือง ส่วนที่ 2 มีสีน้ำตาลเข้มและส่วนที่ 3 มีสีน้ำตาลอมเขียว ดังรูปที่ 4.2.3

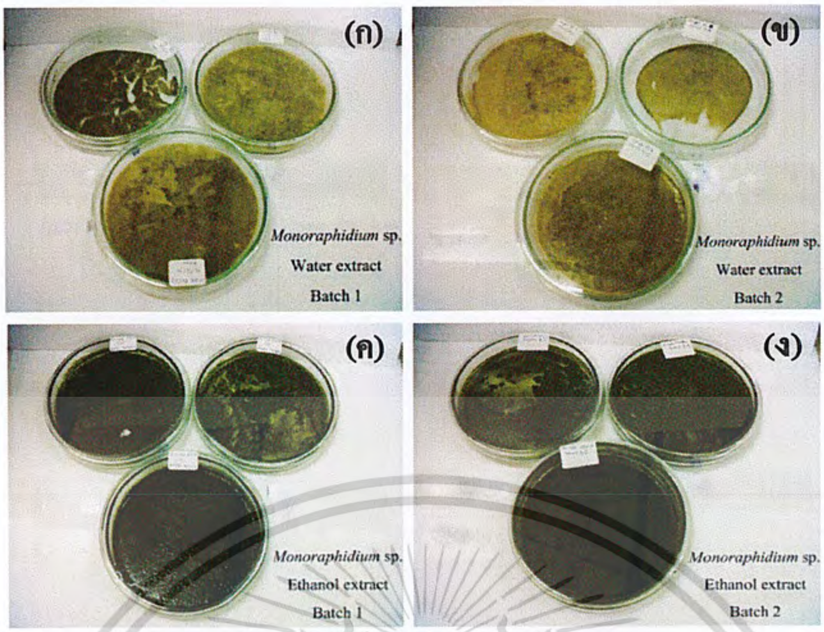

(ก)
*Chlorella* sp.
Water extract
Batch 1
(ข)
*Chlorella* sp.
Water extract
Batch 2
(ค)
*Chlorella* sp.
Ethanol extract
Batch 1
(ง)
*Chlorella* sp.
Ethanol extract
Batch 2

**รูปที่ 4.2.1 สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54**

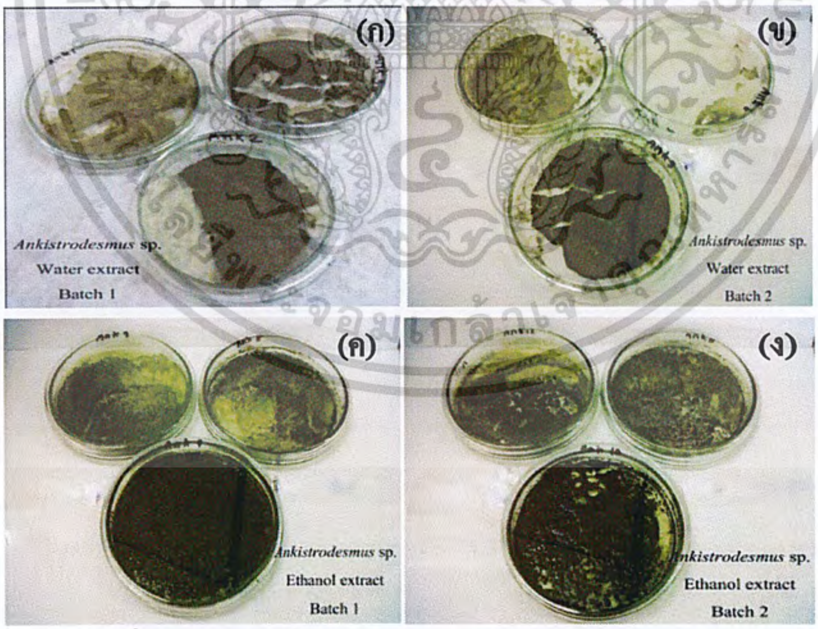
(ก) สกัดด้วยน้ำร้อนครั้งที่ 1 (ข) สกัดด้วยน้ำร้อนครั้งที่ 2

(ค) สกัดด้วยเอทานอลครั้งที่ 1

(ง) สกัดด้วยเอทานอลครั้งที่ 2


(ก)
*Monoraphidium* sp.
Water extract
Batch 1
(ข)
*Monoraphidium* sp.
Water extract
Batch 2
(ค)
*Monoraphidium* sp.
Ethanol extract
Batch 1
(ง)
*Monoraphidium* sp.
Ethanol extract
Batch 2

**รูปที่ 4.2.2 สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53**
(ก) สกัดด้วยน้ำร้อนครั้งที่ 1 (ข) สกัดด้วยน้ำร้อนครั้งที่ 2
(ค) สกัดด้วยเอทานอลครั้งที่ 1
(ง) สกัดด้วยเอทานอลครั้งที่ 2


(ก)
*Ankistrodesmus* sp.
Water extract
Batch 1
(ข)
*Ankistrodesmus* sp.
Water extract
Batch 2
(ค)
*nkistrodesmus* sp.
Ethanol extract
Batch 1
(ง)
*nkistrodesmus* sp.
Ethanol extract
Batch 2

**รูปที่ 4.2.3 สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53**
(ก) สกัดด้วยน้ำร้อนครั้งที่ 1 (ข) สกัดด้วยน้ำร้อนครั้งที่ 2
(ค) สกัดด้วยเอทานอลครั้งที่ 1
(ง) สกัดด้วยเอทานอลครั้งที่ 2

**ตารางที่ 4.1** ผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) และลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล

| **สาหร่าย** | **น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)** | **สารสกัดหยาบ[1] (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)** | **ลักษณะของสารสกัดหยาบ** |
|---|---|---|---|
| ***Chlorella* sp. W54** | | | |
| **น้ำร้อน** | 0.31 | $8.32 \pm 7.14^{b}$ | สารสกัดทั้ง 3 ส่วน มีลักษณะเหลวส่วนที่ 1 มีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนที่ 2 มีสีน้ำตาลอมเหลือง ส่วนที่ 3 มีสีเขียวอมเหลือง |
| **เอทานอล** | | $7.18 \pm 8.27^{b}$ | มีสีเขียวเข้ม หนืดและเหนียว |
| ***Monoraphidium* sp. W53** | | | |
| **น้ำร้อน** | 0.44 | $22.18 \pm 10.39^{a}$ | ส่วนที่ 1 มีลักษณะเหนียวข้น ส่วนที่ 2 และ 3 มีลักษณะเหลว โดยสีในส่วนที่ 1 เป็นสีเขียวอมเหลือง ส่วนที่ 2 มีสีน้ำตาลอมเหลือง และส่วนที่ 3 มีสีเขียวอ่อน |
| **เอทานอล** | | $6.52 \pm 5.26^{b}$ | มีสีเขียวเข้ม หนืดและเหนียว |

**ตารางที่ 4.1 (ต่อ)** ผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) และลักษณะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล

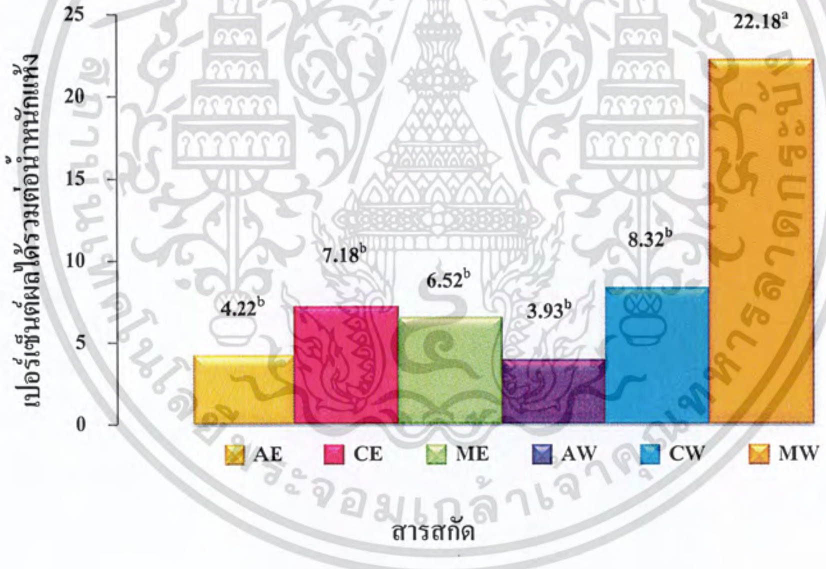
| **สาหร่าย** | **น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)** | **สารสกัดหยาบ[1] (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)** | **ลักษณะของสารสกัดหยาบ** |
|---|---|---|---|
| ***Ankistrodesmus* sp. W53** | | | |
| **น้ำร้อน** | 0.37 | $3.93 \pm 2.78^{b}$ | สารสกัดมีลักษณะเหลว ส่วนที่ 1 มีสีเขียวอมเหลือง ส่วนที่ 2 มีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนที่ 3 น้ำตาลอมเขียว |
| **เอทานอล** | | $4.22 \pm 2.94^{b}$ | มีสีเขียวเข้ม หนืดและเหนียว |

**หมายเหตุ**

[1] ผลได้เป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบที่ได้ในการสกัดรวมทั้ง 3 ครั้ง โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (n=2)

a, b ในแนวตั้งอักษรต่างกันแสดงว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.1 พบว่าสารสกัดจาก *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีปริมาณผลได้มากที่สุด คือ 22.18 ± 10.39 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ให้เปอร์เซ็นต์ผลได้สูงที่สุดคือ 7.18 ± 8.27 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่ 6.52 ± 5.26 และ 4.22 ± 2.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการสกัดด้วยน้ำร้อนพบว่า *Monoraphidium* sp. W53 ได้เปอร์เซ็นต์ผลได้สูงที่สุด คือ 22.18 ± 10.39 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Chlorella* sp. W54 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 คือ 8.32 ± 7.14 และ 3.93 ± 2.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า การสกัดด้วยน้ำและเอทานอลให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยน้ำร้อนจะให้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ที่สูงกว่าเอทานอล และพบว่า *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อนให้ผลได้มากกว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lopez และคณะ (2011) พบว่าสาหร่าย *Stypocaulon scoparium* ที่สกัดด้วยน้ำให้เปอร์เซ็นต์ผลได้มากกว่าที่สกัดด้วยเอทานอล คือ 16.6 และ 2.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



**รูปที่ 4.3** กราฟผลได้รวมของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

AE: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล

CE: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยเอทานอล

ME: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล

AW: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน

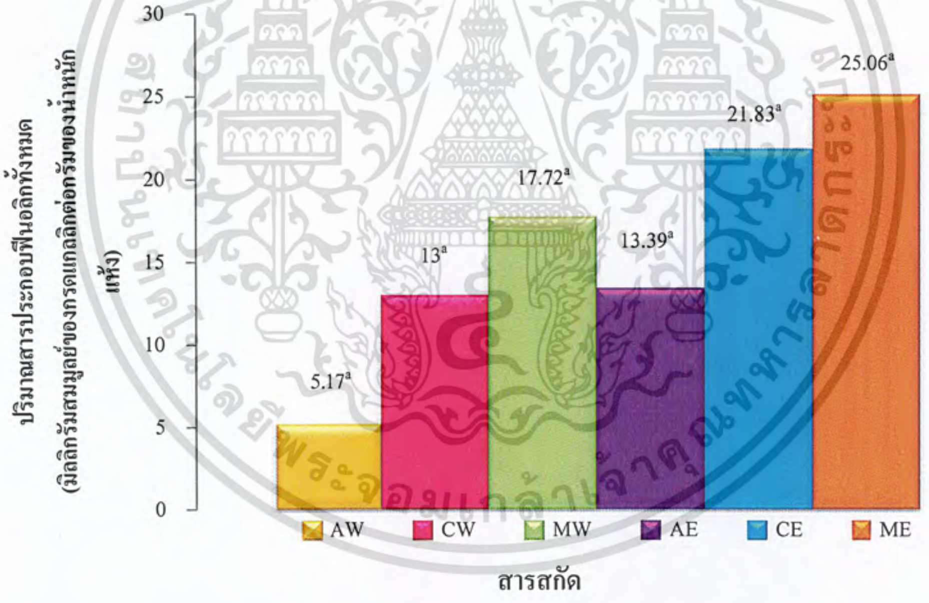
CW: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยน้ำร้อน

MW: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน

## 4.3 ผลการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชโดยทั่วไปมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนโดยมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ มีความสามารถในการละลายน้ำได้ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชมักจะอยู่รวมกับโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycosides) โดยพบว่ามีหลายชนิด และมีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) (อัญชนา, 2544)

การทดสอบสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อน โดยเทียบกับมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสาหร่ายที่ได้จากการสกัดด้วยตัวน้ำร้อน จากรูปที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถทำละลายได้ดีในเอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วต่ำ



**รูปที่ 4.4** กราฟแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

| | |
|---|---|
| AE: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล | AW: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน |
| CE: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยเอทานอล | CW: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยน้ำร้อน |
| ME: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล | MW: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน |

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (ME) ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ให้ค่าสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดคือ 25.06 ± 2.44

มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดจากสาหร่าย สำหรับสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 (CE) และ *Ankistrodesmus* sp. W53 (AE) ที่ได้จากตัวทำละลายเอทานอลให้ค่ารองลงมา มีค่าเท่ากับ 21.83 ± 2.12 และ 13.39 ±1.02 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดจากสาหร่าย ตามลำดับ เมื่อนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า สารสกัดจากตัวทำละลายเอทานอลของสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (ME) และ *Chlorella* sp. W54 (CE) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) สำหรับสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (MW) *Chlorella* sp. W54 (CW) และ *Ankistrodesmus* sp. W53 (AW) ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อน พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 13.00 ± 9.43 17.72 ± 17.52 และ 5.17 ± 1.49 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) จากการทดลองของ Li และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* ที่สกัดด้วยน้ำ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.87 ± 0.03 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 และ *Monoraphidium* sp. W53 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า *Chlorella pyrenoidosa* ในขณะที่สาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำกว่า *Chlorella pyrenoidosa*

**ตารางที่ 4.2** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล

| **สารสกัด** | **ปริมาณฟีนอลิก[1] (มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม)** | | |
|---|---|---|---|
| | *Chlorella* sp. W54 | *Monoraphidium* sp. W53 | *Ankistrodesmus* sp. W53 |
| **เอทานอล** | 21.83 ± 2.12[a] | 25.06 ± 2.44[a] | 13.39 ±1.02[b] |
| **น้ำร้อน** | 13.00 ± 9.43[a] | 17.72 ± 17.52[a] | 5.17 ± 1.49[a] |

**หมายเหตุ**

[1] ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้เทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างน้ำหนักแห้ง โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (n=2)

a, b ในแนวนอนอักษรต่างกันแสดงว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P≤0.05)

## 4.4 ผลการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

### 4.4.1 ผลการวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity)

ผลการหาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย ซึ่งวิเคราะห์ได้จากวิธี Phosphomolybdate จากปฏิกิริยารีดักชันของ Molybdenum (VI) โดยสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายจะรีดิวซ์ Molybdenum (VI) ให้เป็น Molybdenum (V) และการเปลี่ยนเป็นสีเขียวของ Phosphomolybdenum (V) complex ในสภาวะที่เป็นกรด (Jayaprakasha และ Patil, 2007)

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity) ของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistodesmus* sp. W53 พบว่าสารสกัดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลให้ประสิทธิภาพรวมในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดในตัวทำละลายน้ำร้อน ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.5 พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากสาหร่ายมีประสิทธิภาพรวมในการต้านออกซิเดชันสูงขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันดีที่สุด ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.290 ± 0.15 รองลงมาคือ *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ให้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.219 ± 0.05 และ 0.218 ± 0.06 ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 150 นาที ส่วนสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อนพบว่ามีประสิทธิภาพรวมในการต้านออกซิเดชันดีที่สุด ซึ่งให้ค่าการดูดกลื่นแสงเท่ากับ 0.148 ± 0.02 รองลงมาคือ *Chlorella* sp. W54 และ *Monoraphidium* sp. W53 ให้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.129 ± 0.01 และ 0.124 ± 0.03 ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 150 นาที เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อนมีประสิทธิภาพรวมในการต้านออกซิเดชันมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

**ตารางที่ 4.3** ผลของค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล ที่ระดับความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร

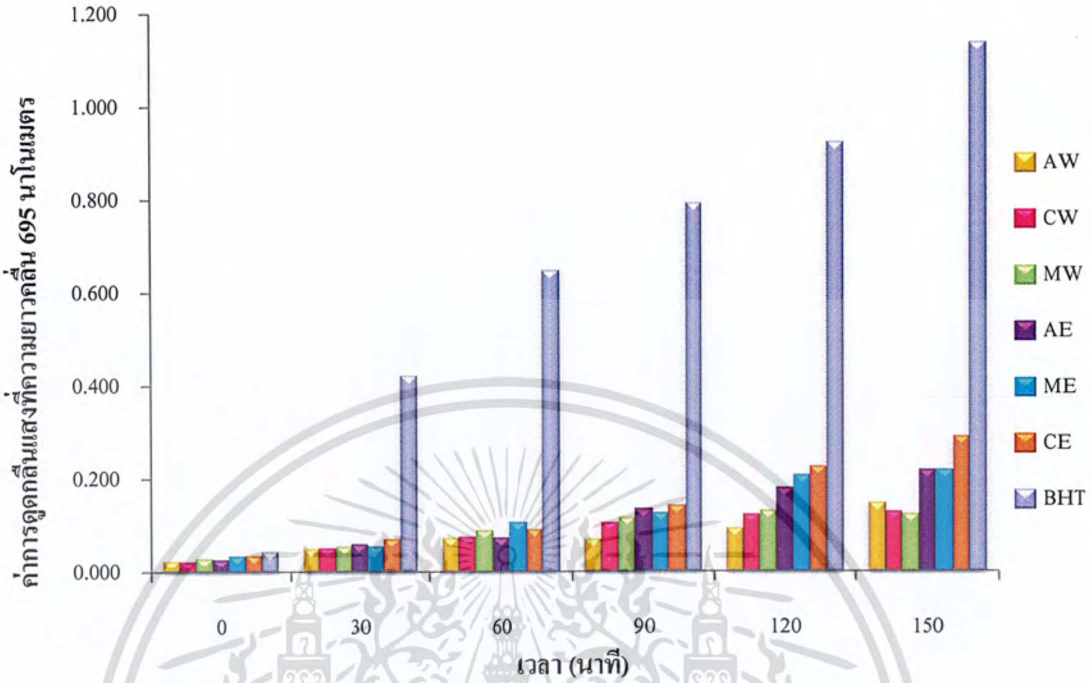
| เวลา (นาที) | สารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว[1] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | AE | CE | ME | AW | CW | MW |
| $0^{ns}$ | 0.049 ± 0.00 | 0.036 ± 0.00 | 0.037 ± 0.00 | 0.024 ± 0.00 | 0.022 ± 0.00 | 0.029 ± 0.02 |
| $30^{ns}$ | 0.060 ± 0.01 | 0.071 ± 0.02 | 0.056 ± 0.00 | 0.050 ± 0.01 | 0.051 ± 0.01 | 0.057 ± 0.02 |
| $60^{ns}$ | 0.074 ± 0.00 | 0.097 ± 0.00 | 0.108 ± 0.04 | 0.073 ± 0.00 | 0.075 ± 0.00 | 0.089 ± 0.04 |
| $90^{ns}$ | 0.136 ± 0.05 | 0.143 ± 0.04 | 0.126 ± 0.07 | 0.070 ± 0.02 | 0.106 ± 0.02 | 0.118 ± 0.06 |
| 120 | $0.181 \pm 0.06^{a,b}$ | $0.226 \pm 0.07^{a,b}$ | $0.208 \pm 0.05^{a}$ | $0.093 \pm 0.01^{b}$ | $0.123 \pm 0.02^{a}$ | $0.132 \pm 0.05^{a,b}$ |
| $150^{ns}$ | 0.218 ± 0.06 | 0.290 ± 0.15 | 0.219 ± 0.05 | 0.148 ± 0.02 | 0.129 ± 0.01 | 0.124 ± 0.03 |

**หมายเหตุ**

| | |
|---|---|
| AE: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล | AW: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน |
| CE: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยเอทานอล | CW: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยน้ำร้อน |
| ME: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล | MW: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน |

[1] ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (n=2)

a, b ในแนวนอนอักษรต่างกันแสดงว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$)



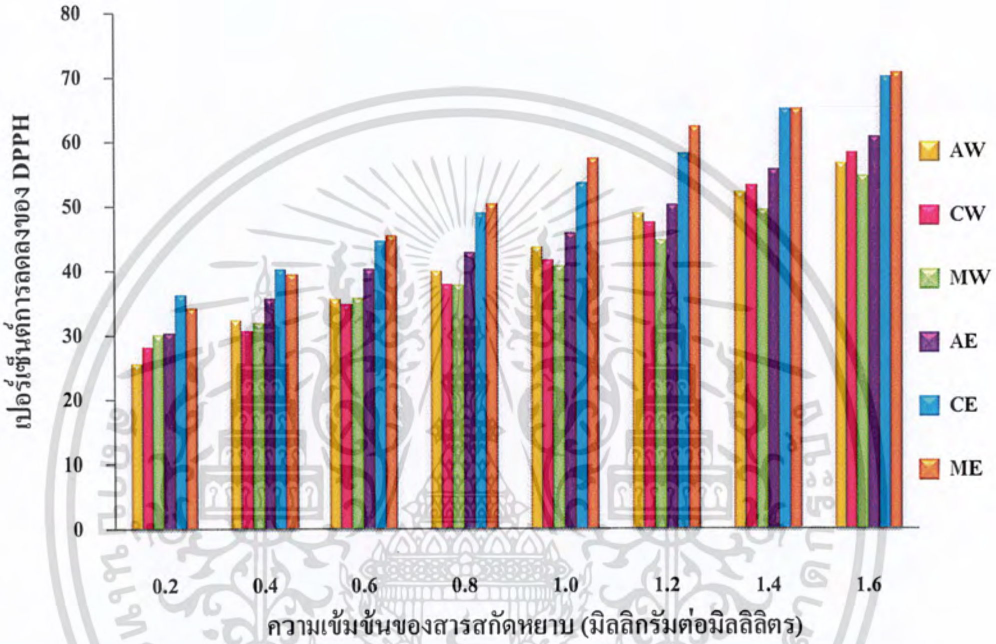
**รูปที่ 4.5** กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตัวทำละลายเอทานอล ที่ระดับความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร

AE: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล
AW: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน
CE: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยเอทานอล
CW: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยน้ำร้อน
ME: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล
MW: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน

### 4.4.2 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical)

การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งอนุภาคของสาร DPPH เป็นอนุภาคที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Hou และคณะ, 2005) โดยใช้สารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ สารละลายของ DPPH จะมีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายจะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ซึ่งวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ DPPH สามารถทำได้ง่ายและนิยมนำไปใช้ทดสอบเบื้องต้นกับสารสกัดจากธรรมชาติ (Blois, 1958)

ผลของการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้สารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อนที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 1.4 และ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเมื่อสารสกัดมีความเข้มข้นสูงขึ้นจะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มมากขึ้น แสดงดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.6



**รูปที่ 4.6** กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์

| | |
|---|---|
| AE: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล | AW: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน |
| CE: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยเอทานอล | CW: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยน้ำร้อน |
| ME: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล | MW: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน |

จากตารางที่ 4.4 พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน โดยความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่ทำการศึกษา คือ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (ME), *Chlorella* sp. W54 (CE) และ *Ankistrodesmus* sp. W53 (AE) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 70.60 ± 5.31 70.05 ± 2.13 และ 60.69 ± 1.14 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ โดยที่สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (ME) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 (CE) และ *Monoraphidium* sp. W53 (ME) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 (AE) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สำหรับสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 (CW) *Ankistrodesmus* sp. W53 (AW) และ *Monoraphidium* sp. W53 (MW) ที่สกัดด้วยน้ำร้อนให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 58.22 ± 2.79 56.60 ± 2.07 และ 54.66 ± 6.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสาหร่ายตัวอย่าง 3 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จากการทดลองของ Song และคณะ (2010) พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Bryopsis plumosa* ที่สกัดด้วยน้ำให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 55.73 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจะเห็นได้ว่าสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 สายพันธุ์ ให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Bryopsis plumosa* จากการศึกษาของ Ganesan และคณะ (2011) พบว่าคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ คือ *Enteromorpha compressa, Enteromorpha linza* และ *Enteromorpha tubulosa* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *E. compressa* ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 67.8 เปอร์เซ็นต์ *E. tubulosa* และ *E. linza* ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 52.5 และ 45.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 สายพันธุ์ ให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Enteromorpha compressa, Enteromorpha linza* และ *Enteromorpha tubulosa*

**ตารางที่ 4.4** ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้กับเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ (% Scavenging activity on DPPH radical)

| สาหร่าย | สารสกัด | ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 | 1.2 | 1.4 | 1.6 |
| *Chlorella* sp. W54 | เอทานอล | 36.38 ± 0.73$^{a}$ | 40.30 ± 0.50$^{a}$ | 44.701 ± 1.20$^{a}$ | 49.02 ± 0.27$^{a}$ | 53.66 ± 0.13$^{a}$ | 58.16 ± 1.03$^{a}$ | 65.02 ± 3.21$^{a}$ | 70.05 ± 2.13$^{a}$ |
| | น้ำร้อน | 28.26 ± 0.72$^{b,c}$ | 30.72 ± 1.29$^{c}$ | 34.88 ± 3.77$^{b}$ | 37.92 ± 3.58$^{b}$ | 41.66 ± 1.34$^{b}$ | 47.47 ± 1.72$^{b}$ | 53.17 ± 3.64$^{a,b}$ | 58.22 ± 2.79$^{b}$ |
| *Monoraphidium* sp. W53 | เอทานอล | 34.27 ± 0.41$^{a}$ | 39.52 ± 0.02$^{a}$ | 45.49 ± 0.85$^{a}$ | 50.42 ± 2.00$^{a}$ | 57.45 ± 2.73$^{a}$ | 57.46 ± 2.73$^{a}$ | 65.02 ± 8.58$^{a,b}$ | 70.60 ± 5.31$^{a}$ |
| | น้ำร้อน | 30.20 ± 0.50$^{b}$ | 32.00 ± 1.91$^{c}$ | 34.48 ± 3.36$^{b}$ | 37.87 ± 4.32$^{b}$ | 40.80 ± 5.17$^{b}$ | 40.80 ± 5.17$^{c}$ | 49.41 ± 8.66$^{b}$ | 54.66 ± 6.43$^{b}$ |
| *Ankistrodesmus* sp. W53 | เอทานอล | 30.43 ± 0.81$^{b}$ | 35.75 ± 0.20$^{b}$ | 40.36 ± 1.18$^{a,b}$ | 42.86 ± 0.74$^{b}$ | 45.89 ± 0.15$^{b}$ | 50.21 ± 1.39$^{b}$ | 55.66 ± 1.69$^{a,b}$ | 60.69 ± 1.14$^{b}$ |
| | น้ำร้อน | 25.66 ± 2.28$^{c}$ | 32.38 ± 2.19$^{c}$ | 35.70 ± 1.55$^{b}$ | 40.00 ± 0.75$^{b}$ | 43.65 ± 0.56$^{b}$ | 48.86 ± 2.11$^{b}$ | 52.13 ± 2.16$^{a,b}$ | 56.60 ± 2.07$^{b}$ |

**หมายเหตุ**

[1] ค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (n=2)

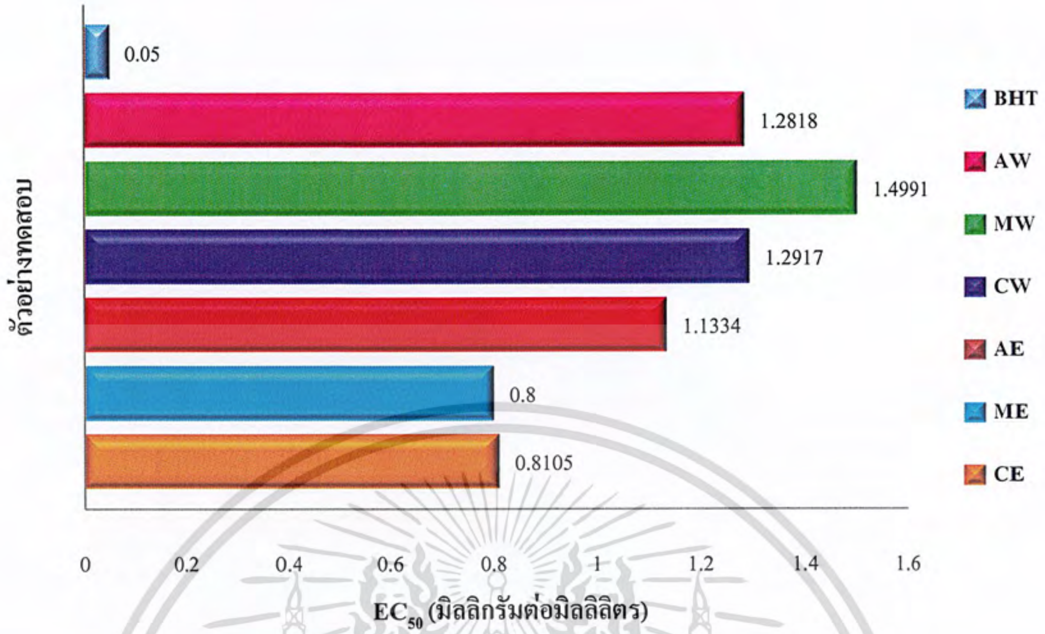
a, b, c ในแนวตั้งอักษรต่างกันแสดงว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลง 50 เปอร์เซ็นต์ หรือค่า $EC_{50}$ คือค่าของสารสกัดด้วยเอทานอลจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (ME) มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอนุมูลอิสระสูงสุดโดยให้ค่า $EC_{50}$ เท่ากับ 0.8002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (MW) ที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอนุมูลอิสระน้อยที่สุด โดยให้ค่า $EC_{50}$ เท่ากับ 1.4991 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ที่ให้ค่า $EC_{50}$ เท่ากับ 0.0536 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**ตารางที่ 4.5** ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ($EC_{50}$)

| สาหร่าย | สารสกัด | สมการเส้นตรงที่ได้ | $EC_{50}$ (มก./มล.) |
|---|---|---|---|
| *Chlorella* sp. W54 | เอทานอล | $y = 4.813x + 30.50$ ($R^2$=0.994) | 0.8105 |
| | น้ำร้อน | $y = 4.795x + 20.72$ ($R^2$=0.954) | 1.2917 |
| *Monoraphidium* sp. W53 | เอทานอล | $y = 5.230x + 29.59$ ($R^2$=0.993) | 0.8002 |
| | น้ำร้อน | $y = 3.869x + 24.39$ ($R^2$=0.981) | 1.4991 |
| *Ankistrodesmus* sp. W53 | เอทานอล | $y = 4.094x + 26.80$ ($R^2$=0.990) | 1.1334 |
| | น้ำร้อน | $y = 4.266x + 22.67$ ($R^2$=0.995) | 1.2818 |
| สารมาตรฐาน BHT | | $y = 207.27x +38.885$ ($R^2$=0.949) | 0.0536 |

เมื่อนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อน เพื่อหาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในรูปของค่า $EC_{50}$ ซึ่งเป็นค่าแสดงถึงความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่ใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ลง 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังตารางที่ 4.5 ซึ่งหากค่า $EC_{50}$ มีค่าน้อยแสดงว่าสารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง



**รูปที่ 4.7** กราฟแสดงค่า EC$_{50}$ ของสารมาตรฐาน BHT และสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

AE: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล
AW: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน
CE: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยเอทานอล
CW: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยน้ำร้อน
ME: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล
MW: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน

### 4.4.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion - chelating ability assay)

วิธีการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะ Fe $^{2+}$ ของสารที่ต้องการทดสอบนั้น อาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตรที่มีค่าลดลง โดยเมื่อเติมสารเฟอร์โรซีนลงไปสารนี้จะไปจับกับ Fe $^{2+}$ แล้วอยู่ในรูปเฟอร์โรซีนคอมเพล็กซ์ (Ferozine complex) ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับ Fe $^{2+}$ จะอยู่ในรูปสารต้านอนุมูลอิสระเฟอร์โรซีน คอมเพล็กซ์ แล้วจะทำให้สีแดงของ เฟอร์โรซีน คอมเพล็กซ์ จางลงได้ ซึ่งสารสกัดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากจะทำให้สีของเฟอร์โรซีน คอมเพล็กซ์ จางลงจะแสดงว่าสารที่สกัดได้มีความสามารถในการแย่งจับโลหะ (Dinis และคณะ, 1994)

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนให้ค่าความสามารถในการรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออนได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 (AW) และ *Monoraphidium* sp. W53 (MW) ที่สกัดด้วยน้ำร้อนให้ค่าความสามารถในการรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออนสูงที่สุดและมีค่าใกล้เคียงกัน คือ 87.37 ± 4.01 และ 83.96 ± 0.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสารสกัดจากสาหร่ายทั้งสองชนิดให้ค่าความสามารถในการรวมตัวกับเฟอรัสไอออนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ให้ค่าความสามารถในการรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออนใกล้เคียงกันในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 69.59 ± 18.70 และ 68.32 ± 6.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และค่าความสามารถในการรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Ankistodesmus* sp. W53 (AE) และ *Monoraphidium* sp. W53 (ME) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีค่าเท่ากับ 77.08 ± 14.15 และ 65.67 ± 1.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าความสามารถในการรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลและน้ำร้อนของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แสดงดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.8 ซึ่งจากการทดลองของ Ganesan และคณะ (2011) ซึ่งได้ทำการหาประสิทธิภาพของการรวมตัวกับเฟอร์รัสไออนของสาหร่ายสีเขียว *Enteromorpha compressa* ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออน 21.76 เปอร์เซ็นต์ *Enteromorpha linza* ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออน 23.87 เปอร์เซ็นต์ และ *Enteromorpha tubulosa* ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออน 28.56 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน EDTA ซึ่งให้ค่าเปอร์เซ็นต์การรวมตัวกับเฟอร์รัสไอออน 58.38 เปอร์เซ็นต์

**ตารางที่ 4.6** แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ (% Inhibition)

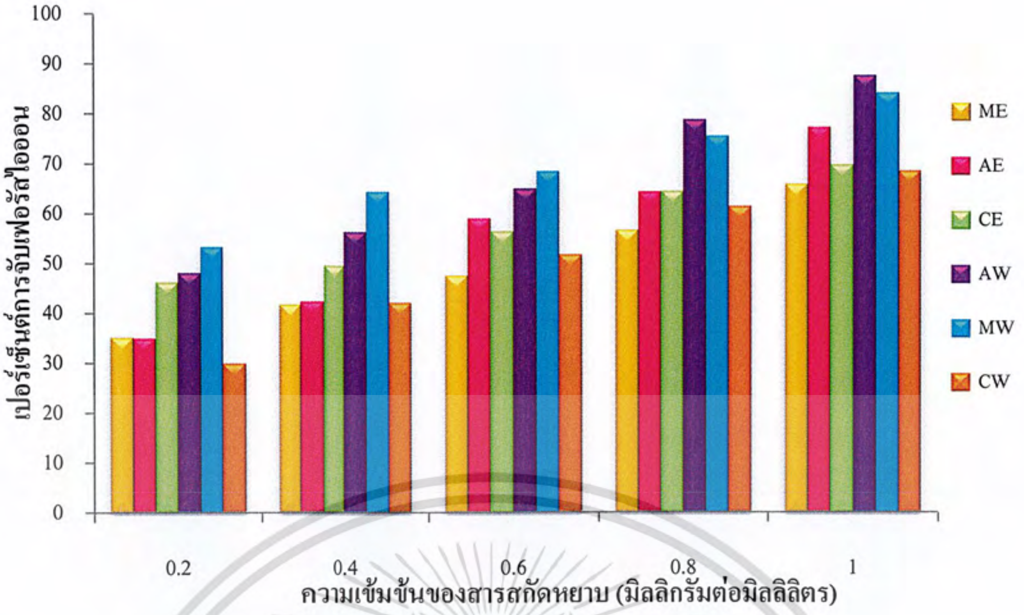
| สาหร่าย | สารสกัด | ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 |
| *Chlorella* sp. W54 | เอทานอล | $46.19 \pm 6.47^{a,b}$ | $49.47 \pm 8.53^{b,c}$ | $56.42 \pm 12.89^{a}$ | $64.34 \pm 16.18^{a}$ | $69.59 \pm 18.70^{a}$ |
| | น้ำร้อน | $29.87 \pm 3.56^{c}$ | $42.00 \pm 3.50^{c}$ | $51.66 \pm 6.32^{a}$ | $61.24 \pm 11.01^{a}$ | $68.32 \pm 6.89^{a}$ |
| *Monoraphidium* sp. W53 | เอทานอล | $35.10 \pm 0.26^{b,c}$ | $41.68 \pm 0.06^{c}$ | $47.50 \pm 0.69^{a}$ | $56.52 \pm 1.80^{a}$ | $65.67 \pm 1.16^{a}$ |
| | น้ำร้อน | $53.26 \pm 2.85^{a}$ | $64.31 \pm 0.82^{a}$ | $68.38 \pm 3.17^{a}$ | $75.36 \pm 2.26^{a}$ | $83.96 \pm 0.67^{a}$ |
| *Ankistrodesmus* sp. W53 | เอทานอล | $34.90 \pm 7.13^{b,c}$ | $42.30 \pm 4.56^{c}$ | $58.97 \pm 17.32^{a}$ | $64.18 \pm 18.41^{a}$ | $77.08 \pm 14.15^{a}$ |
| | น้ำร้อน | $48.06 \pm 3.53^{a}$ | $56.27 \pm 6.67^{a,b}$ | $64.92 \pm 6.99^{a}$ | $78.62 \pm 5.82^{a}$ | $87.37 \pm 4.01^{a}$ |

**หมายเหตุ**

[1] ผลได้เป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้ในการสกัดครั้งที่ 1, 2 และ 3 โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (n=2)

[2] ผลได้เป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้ในการสกัดรวมทั้ง 3 ครั้ง โดยแต่ละค่าจะแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (n=2)

a, b, c ในแนวตั้งอักษรต่างกันแสดงว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$)



**รูปที่ 4.8** กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์

| | |
|---|---|
| AE: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล | AW: *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน |
| CE: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยเอทานอล | CW: *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยน้ำร้อน |
| ME: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล | MW: *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน |

จากตารางที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่า ความสามารถในการยับยั้งการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบที่ทำให้ความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ($IC_{50}$) คือค่าของสารสกัดด้วยน้ำร้อนจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (MW) มีประสิทธิภาพความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออนสูงสุดโดยให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.0743 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 (ME) ที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการยับยั้งการแย่งจับเฟอร์รัสไอออนน้อยที่สุด โดยให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.6188 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน EDTA-$Na_2$ ที่ให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.0028 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**ตารางที่ 4.7** ความสามารถในการยับยั้งการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารสกัดหยาบที่ทำให้ความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ($IC_{50}$)

| สาหร่าย | สารสกัด | สมการเส้นตรงที่ได้ | $IC_{50}$ (มก./มล.) |
|---|---|---|---|
| *Chlorella* sp. W54 | เอทานอล | $y = 30.83x + 38.70$ ($R^2$=0.985) | 0.3665 |
| | น้ำร้อน | $y = 48.06x + 21.77$ ($R^2$=0.991) | 0.5874 |
| *Monoraphidium* sp. W53 | เอทานอล | $y = 37.98x + 26.50$ ($R^2$=0.990) | 0.6188 |
| | น้ำร้อน | $y = 36.22x + 47.31$ ($R^2$=0.982) | 0.0743 |
| *Ankistrodesmus* sp. W53 | เอทานอล | $y = 53.12x + 23.60$ ($R^2$=0.980) | 0.4970 |
| | น้ำร้อน | $y = 50.48x + 36.75$ ($R^2$=0.991) | 0.2625 |
| | สารมาตรฐานEDTA-$Na_2$ | | 0.0028 |

# บทที่ 5

# สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบของสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อนได้แก่ *Chlorella* sp. W54, *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 โดยวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 4 วิธี คือ การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด การทดสอบวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และการวิเคราะห์ความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ค่าผลได้สูงสุด คือ 7.18 ± 8.27 เปอร์เซ็นต์ และสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อนให้ค่าผลได้ต่ำสุดคือ 3.93 ± 2.78 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาและวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำร้อน โดยสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดคือ 25.056 ± 2.44 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำที่สุดคือ 5.17 ± 1.49 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

การวิเคราะห์ความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลให้ค่าการต้านออกซิเดชันรวมสูงกว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อน โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมสูงที่สุดซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสง 0.290 ± 0.15

การวิเคราะห์หาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน โดยสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด และให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การวิเคราะห์ความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน พบว่าสารสกัดหยาบ ที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อนให้ค่าเปอร์เซ็นต์การจับเฟอร์รัสไอออนได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีการจับเฟอร์รัสไอออนสูงที่สุดคือ 87.37 ± 4.01 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการศึกษาและวิเคราะห์ประสิทธิภาพฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดสาหร่ายสีเขียวทั้ง 3 สายพันธุ์ ดังที่กล่าวมาเบื้องต้นนั้นพบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำร้อนมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในแต่ละวิธีที่ทำการวิเคราะห์แตกต่างกัน อาจกล่าวได้ว่าสารที่มีอยู่ในสาหร่ายแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ส่งผลให้ค่าที่ได้ของแต่ละวิธีไม่มีความเกี่ยวข้องกัน โดยจากการวิจัยในครั้งนี้พบว่า *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอลให้ประสิทธิภาพความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

**ข้อเสนอแนะ**

1. ควรทำการทดลองและศึกษาวิธีการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อยืนยันผลการทดลองที่ได้ ว่ามีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกันหรือไม่
2. ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระบางวิธีให้ผลที่ค่อนข้างคลาดเคลื่อนมาก จำเป็นจะต้องทำการทดสอบหลายๆซ้ำ จึงควรศึกษาหาวิธีเพิ่มเติมเพื่อลดผลการคลาดเคลื่อนนั้นๆ

# เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา แจ่มทิม จีรนัน สุขมีทรัพย์และจุฑารัตน์ ตันชุณห์. 2552. ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีเขียว. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กมลพรรณ แก้วปิ่นทอง. 2548. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบอากาศยก. วิทยานิพนธ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กัลย์กมล แก้วกัน พรธนา ชนะปราชญ์ และสุปริญญา เกตุฉันท์. 2547. คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของชาสมุนไพร. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จงกล พรมยะ. 2552. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย. [Online]. http://www.fishtech.mju.ac.th/e-learning/FA422/. 29/4/2011

จักรพงศ์ ไพบูลย์. 2543. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant). [Online]. Available: http://www.thaiclinic.com/antioxidants.html. 27/6/2010

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร วาธินี ดอกสาคู พิมพาพร ธนจิรัชยา และพรรณี รัตนชัยสิทธิ์. 2552. การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกข้าวในระหว่างการเก็บ. สาขาวิทยาศาสตร์ การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48: 276-283.

จิตราพรรณ กิ๊ฟเว่น. 2552. การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่าย *Ulva intestinalis* และ *Ulva pertusa.* โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ธิดา เพชรมณี. 2542. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จ. สงขลา. 49 หน้า.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจและปรีชา สุวรรณพินิจ. 2547. จุลชีววิทยาทั่วไป. คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

นทพร วิจิตร สุนันทา วังกานต์และมงคล ราชะนาคร. 2551. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างสาหร่ายโดยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร. 39(3): 355-358.

มัณฑนา นวลเจริญ. 2550. สาหร่ายขนนกต้านอนุมูลอิสระ. [Online]. Available: http://www.vcharkarn.com/varticle/41218. 27/4/2011

มลศิริ วีโรทัย. 2540. ส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 13(2): 69-75.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2550. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. [Online]. Available: http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html. 30/6/2010

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2547. เครื่องสำอางธรรมชาติผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 353 หน้า

พิสมัย เหล่าภัทรเกษม. 2550. บทบาทของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการป้องกันและรักษามะเร็ง. ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์และศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. [Online]. http://www.smj.ejnal.com/ejournal/showdetail/? show _detail=T&art_id=281. 3/07/2010

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2530. สาหร่าย. ภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่. 487 หน้า.

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์และทรงพร จันมั่นคง. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 8(2):76-88.

รัตนภรณ์ ลีสิงห์. 2550. ไบโอดีเซลจากน้ำมันสาหร่ายขนาดเล็ก. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 35(3): 135-143

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 215 หน้า.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544. แพลงก์ตอนพืช. ภาควิชาชีววิทยาการประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน. 851 หน้า.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. วิทยาสาหร่าย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 517 หน้า.

วริศรา ชื่นอารมณ์ อรพิน เกิดชูชื่นและณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2553. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากชะคราม (*Suaeda maritima*). วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร. 41(3/1): 621-624. [Online]. Available: www.crdc.kmutt.ac.th/Data%202010/J.% 20CRDC4/.../PDF/621-624.pdf. 25/4/2011

วาริน แสงกิตติโกมล. 2543. ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในผัก ผลไม้และสมุนไพร. วารสารสหเวชศาสตร์ 1: 11-18.

วาริน แสงกิตติโกมล. 2546. การเปรียบเทียบปริมาณสารโพลีฟีโนลิกส์และปริมาณรวมการต้านสารอนุมูลอิสระในผักและสมุนไพร. วารสารสหเวชศาสตร์ 3: 91-99.

วิรัชญา จันพายเพ็ชรและอรสา สุริยาพันธ์. 2551. การประเมินสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเม็ดทานตะวัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สิริรักษ์ วงศ์ไพโรจน์พานิช. 2525. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลล่าน้ำจืด. ซีเนียร์โปรเจค แผนกวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

อักษร ศรีเปล่ง. 2531. สาหร่าย พืชในทศวรรษหน้า. ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย 7: 69-81.

อัญชนา เจนวิถีสุข. 2544. การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โอภา วัชระคุปต์ ปรีชา บุญจูง จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระ. พี.เอส.พริ้นท์. กรุงเทพฯ. 280 หน้า.

Atthasampunna, P. 1995. List of culture. TISTR culture collection 5th ed. Thailand Institute of Scientific and Technological Research. 173 pp.

Abdalbasit, A. M., Ramlah, M. I., Maznah, I. and Norsharina, I., 2009. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. Food Chemistry., 116: 306 – 312.

Blois, M. S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature., 181: 1199-1200.

Cotelle, N., Bemier, J-L., Catteau, J-P., Pommery, J., Wallet, J-C. and Gaydou, E-M., 1996. Antioxidant properties of hydroxyl flavones. Free Radical Biology Medicine., 20: 35–43.

Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. and Almeida, L. M., 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salycilate, and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxylradical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics., 315: 161–169.

Ganesan, K., Suresh, K. and Subba Rao, P. V., 2011. Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. Innovative Food Science and Emerging Technologies., 12: 73-78

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

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. and Aruoma, O.I., 1987. The deoxyribose method: A simple "Test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals . Analytical Biochemistry., 165(1): 215–219.

Henrikson, R., 2009. Earth Food *Spirulina*. Food Chemistry. Health Chanel No.4 [online]. http://www.thaispirulina.com/index. 26/4/2011

Honous, N. P., 1997. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุล *Porphyra* sp. (*Porphyra* sp. and its cultivation). สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่ง. [Online]. www.coastalaqua.com/files/Porphyra.doc. 25/4/2011

Hou, W. C., Chen, Y. C., Lin, Y. H., Yang, L. L. and Lee, M. H., 2005. Antioxidant activities of trypsin inhibitor a 33 kDa root storage protein of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.)). Plant Science., 168: 449-456

Hu, C-C., Lin, J-T., Lu, F-J., Chou, F-P. and Yang, D-J., 2008. 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, J., Cifuentes, A., Santoyo, S., Suarez, S.,Ibanez, E. and Francisco, F.J., 2010. Pressurized liquids as an alternative process to antioxidant carotenoid'extraction from *Haematococcus pluvialis* microalgae. LWT-Food Science and Technology., 43: 105-112.

Jayaprakasha, G. K. and Patil, B. S., 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. Food Chemistry., 101: 410-418.

Karpinska, M., Borowski, J., Danowska-Oziewicz, M., 2001. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. Food Chemistry., 72: 519-524.

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

Li, H.-B., Ka-Wing, C., Chi-Chun, W., King-Wai, F., Feng, C. and Yue, J., 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae., Food Chemistry., 102: 771 – 776.

Lopez, A., Rico, M., Rivero, A. and Tangil, M. S., 2011. The effects of solvent on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extract. Food Chemistry., 125: 1104-1109.

Pan, Y., Zhu, J., Wang, H., Zhang, X and Zhang, Y., 2007. Antioxidant activity of ethanolic extract of *Cortex fraxini* and use in peanut oil. Food Chemistry., 103: 913-918.

Packer, L., Baolu, Z. and Qiong, G., 1999. Electron spin resonance study of free radicals formed from a procyanidin-rich pine (*Pinus maritima*) bark extract, pycnogenol. Free Radical Biology and Medicine., 27(11/12): 1308–1312.

Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry., 269: 337–341.

Shibata, S., Natori, Y., Nishihara, T., Tomisaka, K., Matsumoto, K., Sansawa, H. and Nguyen, VC., 2003. Antioxidant and anti-cataract effects of *Chlorella* on rats with streptozotocin-induced diabetes. Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)., 49(5): 334-339. [online]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14703308. 1/5/2011

Shruti, S., Archana, M., Vivek, K. B., Savita, S., 2009. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. Food and Chemical Toxicology., 47: 2338–2343.

Song, H., Zhang, Q., Zhang, Z and Wang, J., 2010. In vitro antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Bryopsis plumose*. Carbohydate Polymers., 80: 1057-1061.

Virginia, R. W. and Rosamond, M. M., 1961. Lipids of *Ankistrodesmus braunii*. 133 (3451): 459-460.

Wang, T., Jonsdottir, R. and Olafsdottir, G., 2009. Total phenolic compound, redical scavenging and metal chealting of extracts from Ioelandic seaweeds. Food Chemistry., 116: 240-28.

Yusof, Y. A., Saad, S. M., Makpol, S., Shamaan, N. A. and Ngah, W. Z., 2010. Hot water extract of *Chlorella vulgaris* induced DNA damage and apoptosis. Clinics (Sao Paulo)., 65(12):1371-7. [online]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21340229. 30/4/2011

http://blog-imgs-27.fc2.com/b/i/o/biodic07/20090311155445.jpg 18/12/2010

http://www.chemistry.sc.hula.ac.th 11/1/2011

http://chlorellalife.com/Howtotake.html 17/12/2010

http://www.ibvf.cartuja.csic.es/Cultivos/micro-d-m.htm 18/12/2010

http://holistikhealth.com/blog/ 20/4/2011

http://www.machinerylubrication.com/Read/999/lubricants-oxidation 20/12/2010

http://www.made-in-china.com/showroom 18/12/2010

http://www.naturalsolution.co.kr.tech21e.html 14/2/2011

http://www.rqflex.com/thailand/life-science-research/trolox/EMD_BIO-648471/thai/p_uuid 16/1/2011 http://scrink.com/blog/wellness/2007_12_01_archive.html 5/4/2011

http://silicasecchidisk.conncoll.edu/LucidKeys/Carolina_Key/html/Ankistrodesmus_Ecology.html 9/1/2010

http://www.sirinpharmacy.exteen.com 7/1/2011

http://www.vc60.com/english/radicalcontrol/index.html 23/1/2011

http://th.wikipedia.org/wiki 12/2/2011

# ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก

# สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

**สูตรอาหาร N-8** (Atthasampunna, 1995)

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| ไดโซเดียมฟอสเฟตไดไฮเดรต ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) | 260 | มิลลิกรัม |
| โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) | 72 | มิลลิกรัม |
| แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) | 10 | มิลลิกรัม |
| เฟอริกเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Fe EDTA) | 10 | มิลลิกรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) | 50 | มิลลิกรัม |
| โพแทสเซียมไนเตรต ($KNO_3$) | 1,000 | มิลลิกรัม |
| ธาตุอาหารรอง (Trace Element Mixture)* | 1 | มิลลิลิตร |
| น้ำกลั่น (Distilled water) | 1,000 | มิลลิลิตร |

ปรับพีเอชให้ได้ 6.8

ธาตุอาหารรอง (Trace Element Mixture)

| | | |
|---|---|---|
| อลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$) | 3.58 | กรัม |
| แมงกานีสไดคลอไรด์ ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) | 12.98 | กรัม |
| คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) | 1.83 | กรัม |
| ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) | 3.20 | กรัม |
| น้ำกลั่น (Distilled water) | 1,000 | ลิตร |

# ภาคผนวก ข

# วิธีการคำนวณ

**การคำนวณหาจำนวนเซลล์ (Haemacytometer)** (กฤษฎาและคณะ, 2552)

นับจำนวนเซลล์โดยการนับเซลล์ 5 ช่องใหญ่จากจำนวนช่องทั้งหมด 25 ช่อง

1 ช่อง = ความกว้าง × ความยาว × ความลึก

= 0.2 มิลลิเมตร × 0.2 มิลลิเมตร × 0.1 มิลลิเมตร

= 0.02 เซนติเมตร × 0.02 เซนติเมตร × 0.01 เซนติเมตร

= 0.000004 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ 0.000004 มิลลิลิตร

= $4 \times 10^{-6}$

ดังนั้น จำนวนเซลล์ = ค่าเฉลี่ย 5 ช่อง × $\frac{1}{4}$ × $10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

**การเตรียมสารละลาย**

**เตรียมกรดซัลฟูริค ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ จากกรดซัลฟูริคความเข้มข้น 96 เปอร์เซ็นต์**

มวลโมเลกุลของ $H_2SO_4$ = 98.07848 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น 1.84 กรัมต่อมิลลิลิตร

จากสูตร เปลี่ยนความเข้มข้นจากร้อยละโดยมวลเป็นโมลาร์

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

$$\text{mol/dm}^3 = \frac{96 \times 10 \times 1.84}{98.07848} = 18.01 \text{ โมลาร์}$$

ต้องการตรียมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 0.06 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากกรดซัลฟูริคความเข้มข้น 96 เปอร์เซ็นต์

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(18.01)\ V_1 = (0.06)\ (1{,}000)$$

$$V_1 = 3.33 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้น เตรียมกรดซัลฟูริคความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ เติมกรดซัลฟูริค 3.33 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร

**เตรียมโซเดียมฟอตเฟต ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์**

มวลโมเลกุลของ $NaH_2PO\cdot4H_2O$ = 137.992291 หรือ 138 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลายเข้มข้น 1 โมล เติม $NaH_2PO\cdot4H_2O$ ปริมาตร 138 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายเข้มข้น $28\times10^{-3}$ โมล เติม $NaH_2PO\cdot4H_2O$ ปริมาตร 3.864 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมโซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ เติมโซเดียมฟอสเฟต 3.864 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร

**เตรียมแอมโมเนียมโมลิปเดต ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์**

มวลโมเลกุลของ $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot4H_2O$ = 1235.86 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลายเข้มข้น 1 โมล เติม $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot4H_2O$ ปริมาตร 1235.86 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายเข้มข้น $4\times10^{-3}$ โมล เติม $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot4H_2O$ ปริมาตร 4.94 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมแอมโมเนียมโมลิปเดต ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ เติมแอมโมเนียมโมลิปเดต 4.94 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร

**เตรียมเฟอร์รัสคลอไรด์ ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์**

มวลโมเลกุลของ $FeCl_2$ = 198.83 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลายเข้มข้น 1 โมล เติม $FeCl_2$ ปริมาตร 198.83 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายเข้มข้น $2\times10^{-3}$ โมล เติม $FeCl_2$ ปริมาตร 0.39766 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมเฟอร์รัสคลอไรด์ ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ เติมเฟอร์รัสคลอไรด์ 0.39766 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร

**เตรียมเฟอโรซีน ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์**

มวลโมเลกุลเฟอโรซีน = 492.42 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลายเข้มข้น 1 โมล เติมเฟอโรซีน ปริมาตร 492.42 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายเข้มข้น $5\times10^{-3}$ โมล เติมเฟอโรซีน ปริมาตร 2.4621 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียมเฟอโรซีน ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ เติมเฟอโรซีน 2.4621 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร

**เตรียม DPPH ในเอทานอล ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์**

มวลโมเลกุล $C_{18}H_{12}N_5O_6$ = 394.31778 หรือ 394 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลายเข้มข้น 1 โมล เติม DPPH ปริมาตร 394 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายเข้มข้น $0.5\times10^{-3}$ โมล เติม DPPH ปริมาตร 0.197 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น เตรียม DPPH ในเอทานอล ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ เติม DPPH 0.197 กรัม ในเอทานอลปริมาตร 1 ลิตร

**หมายเหตุ**

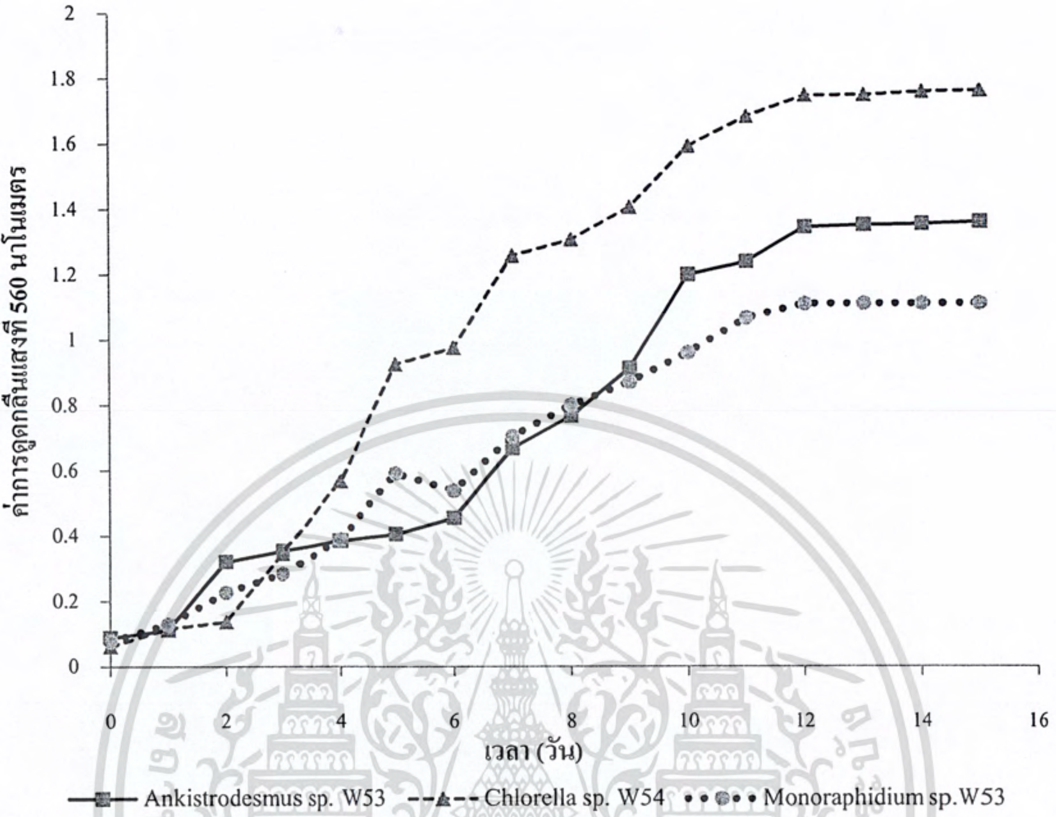
หลังจากละลาย DPPH ด้วยเอทานอล ให้นำสารละลายไปกวนโดยใช้ Magnetic Stirrer เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองโดยใช้แผ่นกรองที่มีขนาดของรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

# ภาคผนวก ค

# ตารางและกราฟแสดงผลการวิจัย

**ตาราง ค-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Growth curve)**

| **วันที่ทำการเพาะเลี้ยง** | ***Ansitrodesmus* sp. W53** | ***Chlorella* sp. W54** | ***Monoraohidium* sp. W53** |
|---|---|---|---|
| | **OD.** | **OD.** | **OD.** |
| **0** | 0.089 | 0.062 | 0.078 |
| **1** | 0.112 | 0.116 | 0.129 |
| **2** | 0.321 | 0.137 | 0.226 |
| **3** | 0.354 | 0.346 | 0.2835 |
| **4** | 0.385 | 0.5665 | 0.388 |
| **5** | 0.406 | 0.925 | 0.5915 |
| **6** | 0.455 | 0.975 | 0.539 |
| **7** | 0.668 | 1.256 | 0.7045 |
| **8** | 0.767 | 1.305 | 0.799 |
| **9** | 0.912 | 1.4035 | 0.869 |
| **10** | 1.1975 | 1.5895 | 0.959 |
| **11** | 1.237 | 1.6805 | 1.0645 |
| **12** | 1.342 | 1.7449 | 1.1075 |
| **13** | 1.348 | 1.7455 | 1.1079 |
| **14** | 1.351 | 1.755 | 1.1081 |
| **15** | 1.358 | 1.759 | 1.1089 |



**รูปที่ ค-1** กราฟแสดงการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว 3 สายพันธุ์

ตาราง ค-2 ผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| สาหร่าย | สารสกัดหยาบก่อนทำแห้ง Batch 1 (กรัม) | สารสกัดหยาบก่อนทำแห้ง Batch 2 (กรัม) | สารสกัดหยาบที่ได้ (กรัม) | (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) | ผลได้รวม (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Chlorella* sp. W54** | | | | | |
| **น้ำร้อน 1** | 1.5103 | 1.7419 | 1.626 | 16.26 ± 1.64 | $8.32 \pm 7.14^{b}$ |
| **น้ำร้อน 2** | 0.5296 | 0.7235 | 0.627 | 6.23 ± 1.37 | |
| **น้ำร้อน 3** | 0.2352 | 0.2516 | 0.243 | 2.43 ± 0.12 | |
| ***Monoraphidium* sp. W53** | | | | | |
| **น้ำร้อน 1** | 1.1318 | 4.746 | 2.939 | 29.39 ± 25.56 | $22.18 \pm 10.39^{a}$ |
| **น้ำร้อน 2** | 4.2697 | 1.1071 | 2.688 | 26.88 ± 22.35 | |
| **น้ำร้อน 3** | 1.4278 | 0.6274 | 1.028 | 10.28 ± 5.66 | |
| ***Ankistrodesmus* sp. W53** | | | | | |
| **น้ำร้อน 1** | 0.6773 | 0.6658 | 0.673 | 6.73 ± 0.08 | $3.93 \pm 2.78^{b}$ |
| **น้ำร้อน 2** | 0.4119 | 0.3929 | 0.402 | 4.02 ± 0.13 | |
| **น้ำร้อน 3** | 0.2007 | 0.0319 | 0.116 | 1.16 ± 1.12 | |

**ตาราง ค-3** ผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล

| สาหร่าย | สารสกัดหยาบก่อนทำแห้ง Batch 1 (กรัม) | สารสกัดหยาบก่อนทำแห้ง Batch 2 (กรัม) | สารสกัดหยาบที่ได้ (กรัม) | ผลได้ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) | ผลได้รวม (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง) |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Chlorella*** **sp. W54** | | | | | |
| **เอทานอล 1** | 1.1646 | 2.1752 | 1.670 | 16.70 ± 7.15 | |
| **เอทานอล 2** | 0.3210 | 0.2990 | 0.310 | 3.10 ± 0.16 | 7.18 ± 8.27$^{b}$ |
| **เอทานอล 3** | 0.1999 | 0.1477 | 0.174 | 1.74 ± 0.37 | |
| ***Monoraphidium*** **sp. W53** | | | | | |
| **เอทานอล 1** | 0.9875 | 1.5287 | 1.258 | 12.58 ± 3.83 | |
| **เอทานอล 2** | 0.3394 | 0.421 | 0.380 | 3.80 ± 0.58 | 6.52 ± 5.26$^{b}$ |
| **เอทานอล 3** | 0.1001 | 0.1768 | 0.319 | 3.19 ± 0.54 | |
| ***Ankistrodesmus*** **sp. W53** | | | | | |
| **เอทานอล 1** | 0.7777 | 0.7353 | 0.757 | 7.57 ± 0.30 | |
| **เอทานอล 2** | 0.2957 | 0.3222 | 0.309 | 3.09 ± 0.19 | 4.22 ± 2.94$^{b}$ |
| **เอทานอล 3** | 0.1773 | 0.2255 | 0.201 | 2.01 ± 0.34 | |

ตาราง ค-4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (ซ้ำที่ 1)

| ความเข้มข้น (มก./มล.) | ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร | | |
|---|---|---|---|
| | หลอดที่ 1 | หลอดที่ 2 | ค่าเฉลี่ย |
| **0** | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| **100** | 0.1150 | 0.1070 | 0.1110 |
| **200** | 0.2120 | 0.2150 | 0.2135 |
| **300** | 0.3250 | 0.3270 | 0.3260 |
| **400** | 0.4620 | 0.4280 | 0.4450 |
| **500** | 0.5290 | 0.5330 | 0.5310 |
| **600** | 0.6340 | 0.6570 | 0.6455 |
| **700** | 0.7130 | 0.7220 | 0.7175 |
| **800** | 0.7796 | 0.7680 | 0.7738 |

ตาราง ค-4 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (ซ้ำที่ 2)

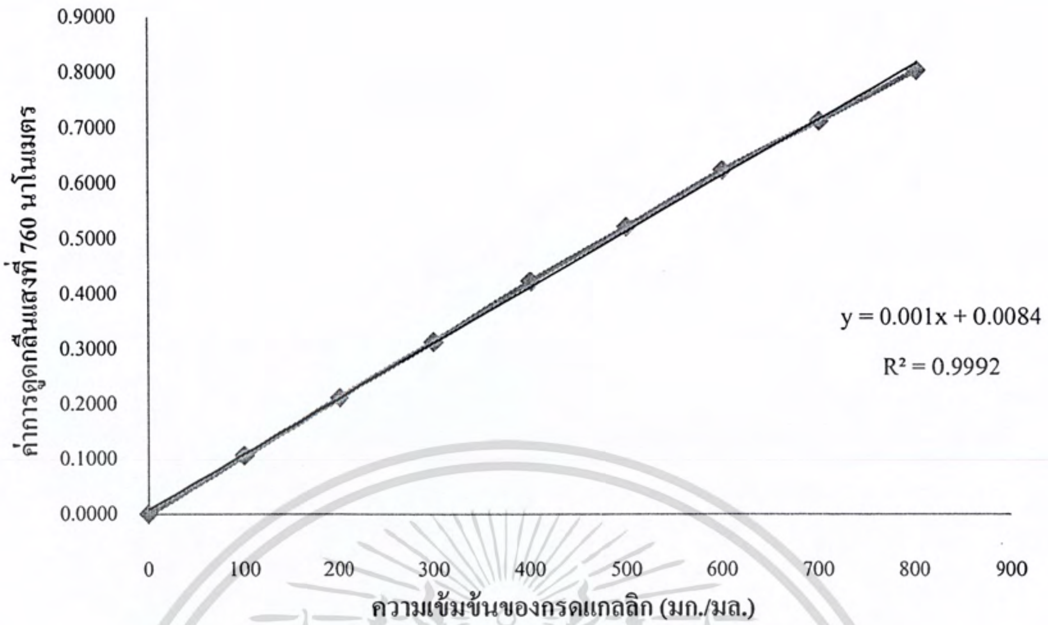
| ความเข้มข้น (มก./มล.) | ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร | | |
|---|---|---|---|
| | หลอดที่ 1 | หลอดที่ 2 | ค่าเฉลี่ย |
| **0** | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| **100** | 0.1140 | 0.1000 | 0.1070 |
| **200** | 0.2150 | 0.2100 | 0.2125 |
| **300** | 0.3080 | 0.3210 | 0.3145 |
| **400** | 0.4230 | 0.4140 | 0.4185 |
| **500** | 0.5070 | 0.5090 | 0.5080 |
| **600** | 0.5950 | 0.6020 | 0.5985 |
| **700** | 0.7050 | 0.6980 | 0.7015 |
| **800** | 0.8010 | 0.8330 | 0.8170 |

ตาราง ค-4 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (ซ้ำที่ 3)

| ความเข้มข้น (มก./มล.) | ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร | | |
|---|---|---|---|
| | หลอดที่ 1 | หลอดที่ 2 | ค่าเฉลี่ย |
| 0 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| 100 | 0.0977 | 0.1013 | 0.0995 |
| 200 | 0.2003 | 0.2100 | 0.2052 |
| 300 | 0.2967 | 0.2997 | 0.2982 |
| 400 | 0.3947 | 0.4093 | 0.4020 |
| 500 | 0.5037 | 0.5387 | 0.5212 |
| 600 | 0.6070 | 0.6307 | 0.6189 |
| 700 | 0.7120 | 0.7123 | 0.7122 |
| 800 | 0.8127 | 0.8127 | 0.8127 |

ตาราง ค-5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ)

| ความเข้มข้น (มก./มล.) | ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร |
|---|---|
| 0 | 0.0000 |
| 100 | 0.1058 |
| 200 | 0.2104 |
| 300 | 0.3129 |
| 400 | 0.4218 |
| 500 | 0.5201 |
| 600 | 0.6210 |
| 700 | 0.7104 |
| 800 | 0.8012 |



**รูปที่ ค-2 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก**

**ตาราง ค-6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำร้อน**

| **สาหร่าย** | **ปริมาณฟีนอลิก** | | **ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด** |
|---|---|---|---|
| | **Batch 1** | **Batch 2** | **(มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม)** |
| ***Chlorella* sp. W54** | | | |
| **ซ้ำ 1** | 18 | 6.67 | |
| **ซ้ำ 2** | 21.67 | 6.33 | 13.00 ± 9.43 $^{a}$ |
| **ซ้ำ 3** | 17.67 | 7.67 | |
| ***Monoraphidium* sp. W53** | | | |
| **ซ้ำ 1** | 5.33 | 30.33 | |
| **ซ้ำ 2** | 4.33 | 30 | 17.72 ± 17.52 $^{a}$ |
| **ซ้ำ 3** | 6.33 | 30 | |
| ***Ankistrodesmus* sp. W53** | | | |
| **ซ้ำ 1** | 3.33 | 7.67 | |
| **ซ้ำ 2** | 5.67 | 6.67 | 5.17 ± 1.49 $^{a}$ |
| **ซ้ำ 3** | 3.33 | 4.33 | |

**ตาราง ค-7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยเอทานอล**

| สาหร่าย | ปริมาณฟีนอลิก | | ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด |
|---|---|---|---|
| | Batch 1 | Batch 2 | (มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม) |
| *Chlorella* sp. W54 | | | |
| ซ้ำ 1 | 20 | 23.33 | |
| ซ้ำ 2 | 20 | 23.67 | 21.83 ± 2.12$^{a}$ |
| ซ้ำ 3 | 21 | 23 | |
| *Monoraphidium* sp. W53 | | | |
| ซ้ำ 1 | 23 | 28 | |
| ซ้ำ 2 | 24.33 | 25 | 25.06 ± 2.44$^{a}$ |
| ซ้ำ 3 | 22.67 | 27.33 | |
| *Ankistrodesmus* sp. W53 | | | |
| ซ้ำ 1 | 13 | 12.67 | |
| ซ้ำ 2 | 15 | 13 | 13.39 ±1.02$^{b}$ |
| ซ้ำ 3 | 13.33 | 12.33 | |

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

**ตาราง ค-8** ค่าการดูดกลืนแสงที่ 695 นาโนเมตรของงสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ*Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน Batch 1

| **เวลา (นาที)** | **ครั้งที่** | **ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **0** | **1** | 0.006 | 0.008 | 0.010 |
| | **2** | 0.008 | 0.013 | 0.009 |
| | **3** | 0.010 | 0.010 | 0.008 |
| | **4** | 0.020 | 0.012 | 0.014 |
| | **5** | 0.021 | 0.019 | 0.008 |
| | **6** | 0.022 | 0.021 | 0.011 |
| | **7** | 0.02 | 0.021 | 0.019 |
| | **8** | 0.023 | 0.018 | 0.018 |
| | **9** | 0.027 | 0.006 | 0.016 |
| **30** | **1** | 0.012 | 0.005 | - 0.015 |
| | **2** | - 0.001 | 0.007 | 0.008 |
| | **3** | 0.019 | - 0.004 | 0.003 |
| | **4** | 0.040 | 0.033 | 0.018 |
| | **5** | 0.043 | 0.017 | - 0.012 |
| | **6** | 0.040 | 0.025 | 0.001 |
| | **7** | 0.051 | 0.059 | 0.037 |
| | **8** | 0.048 | 0.048 | 0.053 |
| | **9** | 0.129 | 0.048 | 0.045 |
| **60** | **1** | 0.053 | 0.042 | 0.011 |
| | **2** | 0.049 | 0.060 | 0.025 |
| | **3** | 0.038 | 0.051 | 0.040 |
| | **4** | 0.056 | 0.042 | 0.024 |
| | **5** | 0.075 | 0.067 | 0.011 |
| | **6** | 0.079 | 0.076 | 0.038 |
| | **7** | 0.107 | 0.080 | 0.077 |

**ตาราง ค-8 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน Batch 1**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **60** | **8** | 0.069 | 0.066 | 0.064 |
| | **9** | 0.082 | 0.056 | 0.056 |
| **90** | **1** | - 0.062 | - 0.053 | - 0.091 |
| | **2** | - 0.033 | - 0.041 | - 0.059 |
| | **3** | - 0.066 | - 0.058 | - 0.077 |
| | **4** | 0.027 | 0.069 | 0.033 |
| | **5** | 0.069 | 0.042 | 0.049 |
| | **6** | 0.070 | 0.089 | 0.057 |
| | **7** | 0.090 | 0.103 | 0.070 |
| | **8** | 0.100 | 0.092 | 0.084 |
| | **9** | 0.118 | 0.088 | 0.095 |
| | **10** | 0.026 | - | - |
| | **11** | 0.022 | - | - |
| | **12** | 0.024 | - | - |
| **120** | **1** | - 0.088 | - 0.040 | - 0.066 |
| | **2** | - 0.080 | 0.022 | - 0.090 |
| | **3** | - 0.076 | - 0.031 | - 0.110 |
| | **4** | 0.099 | 0.112 | 0.147 |
| | **5** | 0.081 | 0.135 | 0.131 |
| | **6** | 0.115 | 0.133 | 0.081 |
| | **7** | 0.083 | 0.027 | 0.017 |
| | **8** | 0.063 | 0.045 | 0.013 |
| | **9** | 0.061 | 0.028 | - 0.005 |
| | **10** | 0.078 | - | - |
| | **11** | 0.049 | - | - |

**ตาราง ค-8 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน Batch 1 (695 nm)**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *Ankistrodesmus* sp. | *Chlorella* sp. | *Monoraphidium* sp. |
| **120** | **12** | 0.082 | - | - |
| **150** | **1** | 0.082 | 0.053 | 0.029 |
| | **2** | 0.185 | 0.127 | 0.075 |
| | **3** | 0.166 | 0.082 | 0.085 |
| | **4** | 0.084 | 0.089 | 0.117 |
| | **5** | 0.036 | 0.138 | 0.016 |
| | **6** | 0.072 | 0.142 | 0.133 |
| | **7** | 0.073 | 0.049 | 0.032 |
| | **8** | 0.06 | 0.054 | 0.028 |
| | **9** | 0.109 | 0.061 | - 0.007 |
| | **12** | 0.082 | - | - |

**ตาราง ค-9** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน Batch 2 (695 nm)

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *Ankistrodesmus* sp. | *Chlorella* sp. | *Monoraphidium* sp. |
| **0** | **1** | 0.020 | 0.018 | 0.022 |
| | **2** | 0.019 | 0.016 | 0.020 |
| | **3** | 0.022 | 0.017 | 0.021 |
| | **4** | 0.02 | 0.018 | 0.036 |
| | **5** | 0.019 | 0.019 | 0.034 |
| | **6** | 0.02 | 0.018 | 0.037 |
| | **7** | 0.027 | 0.025 | 0.052 |
| | **8** | 0.025 | 0.026 | 0.05 |
| | **9** | 0.028 | 0.025 | 0.039 |
| **30** | **1** | 0.036 | 0.035 | 0.047 |
| | **2** | 0.047 | 0.008 | 0.011 |
| | **3** | 0.063 | 0.057 | 0.051 |
| | **4** | - 0.001 | 0.006 | 0.038 |
| | **5** | - 0.04 | - 0.007 | 0.023 |
| | **6** | 0.003 | - 0.007 | 0.044 |
| | **7** | 0.067 | 0.060 | 0.120 |
| | **8** | 0.038 | 0.066 | 0.096 |
| | **9** | 0.047 | 0.001 | 0.093 |
| **60** | **1** | 0.075 | 0.027 | 0.041 |
| | **2** | 0.059 | 0.042 | 0.060 |
| | **3** | 0.053 | 0.048 | 0.047 |
| | **4** | 0.044 | 0.039 | 0.079 |
| | **5** | - 0.028 | 0.031 | 0.042 |
| | **6** | 0.018 | 0.021 | 0.094 |
| | **7** | 0.081 | 0.090 | 0.119 |

**ตาราง ค-9 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน Batch 2 (695 nm)**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **60** | **8** | 0.062 | 0.093 | 0.127 |
| | **9** | 0.018 | 0.082 | 0.136 |
| **90** | **1** | 0.023 | - 0.015 | 0.008 |
| | **2** | - 0.007 | - 0.010 | 0.014 |
| | **3** | 0.023 | 0.022 | 0.025 |
| | **4** | 0.067 | 0.024 | 0.015 |
| | **5** | 0.064 | 0.095 | 0.093 |
| | **6** | 0.032 | 0.116 | 0.129 |
| | **7** | 0.069 | 0.130 | 0.142 |
| | **8** | 0.108 | 0.118 | 0.178 |
| | **9** | 0.018 | 0.107 | 0.182 |
| | **10** | - | 0.132 | - |
| | **11** | - | 0.114 | - |
| | **12** | - | 0.123 | - |
| **120** | **1** | 0.087 | 0.172 | 0.183 |
| | **2** | 0.150 | 0.138 | 0.154 |
| | **3** | 0.157 | 0.152 | 0.173 |
| | **4** | - 0.15 | 0.092 | - 0.130 |
| | **5** | - 0.147 | - 0.133 | - 0.171 |
| | **6** | - 0.146 | - 0.074 | - 0.136 |
| | **7** | 0.004 | 0.077 | 0.144 |
| | **8** | 0.005 | 0.084 | 0.116 |
| | **9** | 0.004 | 0.083 | 0.165 |
| | **10** | - | 0.026 | - |
| | **11** | - | 0.014 | - |

**ตาราง ค-9 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน Batch 2 (695 nm)

| **เวลา (นาที)** | **ครั้งที่** | **ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **120** | **12** | - | 0.026 | - |
| **150** | **1** | 0.253 | 0.101 | 0.097 |
| | **2** | 0.111 | 0.078 | 0.065 |
| | **3** | 0.150 | 0.079 | 0.100 |
| | **4** | - 0.077 | 0.134 | 0.001 |
| | **5** | - 0.129 | - 0.087 | - 0.044 |
| | **6** | - 0.107 | - 0.079 | - 0.046 |
| | **7** | 0.12 | 0.081 | 0.186 |
| | **8** | 0.067 | 0.140 | 0.125 |
| | **9** | 0.053 | 0.157 | 0.169 |
| | **10** | - | 0.039 | - |
| | **11** | - | 0.015 | - |
| | **12** | - | 0.027 | - |

**ตาราง ค-10 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 1 (695 nm)**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *Ankistrodesmus* sp. | *Chlorella* sp. | *Monoraphidium* sp. |
| 0 | 1 | 0.034 | 0.037 | 0.046 |
| | 2 | 0.027 | 0.037 | 0.055 |
| | 3 | 0.029 | 0.037 | 0.046 |
| | 4 | 0.027 | 0.038 | 0.061 |
| | 5 | 0.034 | 0.058 | 0.048 |
| | 6 | 0.030 | 0.043 | 0.046 |
| | 7 | 0.014 | 0.025 | 0.027 |
| | 8 | 0.013 | 0.038 | 0.040 |
| | 9 | 0.022 | 0.027 | 0.035 |
| | 10 | 0.035 | 0.035 | 0.040 |
| | 11 | 0.031 | 0.033 | 0.040 |
| | 12 | - | - | - |
| | 13 | 0.028 | 0.031 | 0.052 |
| | 14 | 0.022 | 0.036 | 0.037 |
| | 15 | 0.024 | 0.038 | 0.044 |
| | 16 | 0.028 | 0.026 | 0.041 |
| | 17 | 0.033 | 0.027 | 0.047 |
| | 18 | 0.031 | 0.022 | 0.036 |
| 30 | 1 | - 0.064 | - 0.027 | - 0.003 |
| | 2 | - 0.059 | - 0.011 | 0.058 |
| | 3 | - 0.003 | - 0.005 | - 0.015 |
| | 4 | 0.095 | 0.133 | 0.054 |
| | 5 | 0.103 | 0.121 | 0.122 |
| | 6 | 0.064 | 0.133 | 0.120 |
| | 7 | 0.036 | - 0.080 | 0.313 |

**ตาราง ค-10 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 1 (695 nm)

| **เวลา (นาที)** | **ครั้งที่** | **ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **30** | **8** | - 0.004 | - 0.056 | 0.004 |
| | **9** | - 0.020 | 0.055 | - 0.099 |
| | **10** | 0.084 | 0.102 | 0.069 |
| | **11** | 0.053 | 0.151 | 0.084 |
| | **12** | 0.093 | 0.141 | 0.116 |
| | **13** | 0.092 | 0.071 | 0.067 |
| | **14** | 0.043 | 0.149 | 0.050 |
| | **15** | 0.108 | 0.127 | 0.054 |
| | **16** | 0.000 | - 0.003 | 0.111 |
| | **17** | 0.115 | 0.021 | 0.110 |
| | **18** | 0.011 | 0.057 | 0.093 |
| | **19** | 0.113 | 0.076 | - |
| | **20** | 0.078 | 0.053 | - |
| | **21** | 0.062 | 0.088 | - |
| **60** | **1** | 0.054 | 0.093 | 0.136 |
| | **2** | 0.067 | 0.100 | 0.090 |
| | **3** | 0.086 | 0.030 | 0.123 |
| | **4** | 0.023 | 0.064 | 0.079 |
| | **5** | 0.017 | 0.024 | 0.053 |
| | **6** | 0.001 | 0.059 | 0.050 |
| | **7** | 0.104 | 0.054 | - 0.044 |
| | **8** | - 0.014 | 0.270 | - 0.011 |
| | **9** | 0.031 | 0.158 | 0.095 |
| | **10** | 0.016 | 0.179 | 0.013 |
| | **11** | 0.232 | 0.120 | 0.148 |

**ตาราง ค-10 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 1 (695 nm)

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **60** | **12** | 0.226 | -0.020 | 0.115 |
| | **13** | 0.047 | 0.064 | 0.105 |
| | **14** | 0.069 | 0.089 | 0.100 |
| | **15** | 0.055 | 0.076 | 0.106 |
| | **16** | 0.071 | 0.079 | 0.146 |
| | **17** | 0.083 | 0.082 | 0.162 |
| | **18** | 0.075 | 0.094 | 0.126 |
| **90** | **1** | 0.097 | 0.053 | 0.138 |
| | **2** | 0.048 | 0.050 | 0.148 |
| | **3** | 0.111 | 0.114 | 0.129 |
| | **4** | 0.232 | 0.106 | 0.176 |
| | **5** | 0.106 | 0.261 | 0.237 |
| | **6** | 0.123 | 0.255 | 0.156 |
| | **7** | - 0.033 | 0.117 | 0.028 |
| | **8** | - 0.011 | 0.105 | 0.065 |
| | **9** | 0.180 | 0.056 | 0.015 |
| | **10** | 0.072 | 0.000 | 0.031 |
| | **11** | 0.018 | 0.081 | 0.136 |
| | **12** | - 0.004 | 0.109 | 0.097 |
| | **13** | 0.100 | 0.159 | 0.284 |
| | **14** | 0.067 | 0.150 | 0.130 |
| | **15** | 0.097 | 0.111 | 0.235 |
| | **16** | 0.123 | 0.128 | 0.236 |
| | **17** | 0.132 | 0.148 | 0.184 |
| | **18** | 0.135 | 0.155 | 0.185 |

**ตาราง ค-10 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 1 (695 nm)**

| **เวลา (นาที)** | **ครั้งที่** | **ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **120** | **1** | 0.043 | 0.180 | 0.049 |
| | **2** | 0.093 | 0.138 | 0.079 |
| | **3** | 0.192 | 0.094 | 0.088 |
| | **4** | 0.253 | 0.290 | 0.265 |
| | **5** | 0.175 | 0.195 | 0.232 |
| | **6** | 0.129 | 0.169 | 0.423 |
| | **7** | 0.110 | 0.175 | 0.034 |
| | **8** | 0.066 | 0.304 | 0.058 |
| | **9** | 0.288 | 0.420 | 0.083 |
| | **10** | 0.068 | 0.115 | 0.184 |
| | **11** | 0.138 | 0.177 | 0.171 |
| | **12** | 0.175 | 0.165 | 0.163 |
| | **13** | 0.119 | 0.221 | 0.362 |
| | **14** | 0.182 | 0.252 | 0.268 |
| | **15** | 0.227 | 0.286 | 0.317 |
| | **16** | 0.140 | 0.179 | 0.251 |
| | **17** | 0.194 | 0.212 | 0.272 |
| | **18** | 0.139 | 0.141 | 0.225 |
| **150** | **1** | 0.264 | 0.181 | 0.257 |
| | **2** | 0.140 | 0.094 | 0.165 |
| | **3** | 0.171 | 0.143 | 0.230 |
| | **4** | 0.171 | 0.486 | 0.686 |
| | **5** | 0.170 | 0.597 | 0.511 |
| | **6** | 0.603 | 0.400 | 0.387 |
| | **7** | 0.304 | 0.205 | 0.083 |

**ตาราง ค-10 (ต่อ)** **ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 1 (695 nm)**

| **เวลา (นาที)** | **ครั้งที่** | **ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **150** | **8** | 0.127 | 0.195 | 0.473 |
| | **9** | 0.133 | 0.595 | 0.087 |
| | **10** | 0.179 | 0.249 | 0.258 |
| | **11** | 0.102 | 0.307 | 0.234 |
| | **12** | 0.089 | 0.145 | 0.201 |
| | **13** | 0.163 | 0.276 | 0.233 |
| | **8** | 0.127 | 0.195 | 0.473 |
| | **14** | 0.105 | 0.396 | 0.235 |
| | **15** | 0.163 | 0.340 | 0.255 |
| | **16** | 0.227 | 0.266 | 0.343 |
| | **17** | 0.219 | 0.186 | 0.352 |
| | **18** | 0.235 | 0.165 | 0.255 |

**ตาราง ค-11** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 2 (695 nm)

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *Ankistrodesmus* sp. | *Chlorella* sp. | *Monoraphidium* sp. |
| **0** | **1** | 0.024 | 0.034 | 0.029 |
| | **2** | 0.029 | 0.034 | 0.025 |
| | **3** | 0.025 | 0.033 | 0.030 |
| | **4** | 0.02 | 0.015 | 0.015 |
| | **5** | 0.012 | 0.023 | 0.008 |
| | **6** | 0.020 | 0.030 | 0.012 |
| | **7** | 0.014 | 0.019 | 0.006 |
| | **8** | 0.022 | 0.012 | 0.003 |
| | **9** | 0.014 | 0.008 | 0.014 |
| | **10** | 0.030 | 0.026 | 0.028 |
| | **11** | 0.032 | 0.032 | 0.033 |
| | **12** | - | - | - |
| | **13** | 0.020 | 0.025 | 0.023 |
| | **14** | 0.026 | 0.030 | 0.023 |
| | **15** | 0.021 | 0.028 | 0.016 |
| | **16** | 0.033 | 0.022 | 0.029 |
| | **17** | 0.031 | 0.039 | 0.027 |
| | **18** | 0.038 | 0.033 | 0.028 |
| **30** | **1** | 0.040 | 0.125 | 0.077 |
| | **2** | 0.128 | 0.122 | 0.127 |
| | **3** | 0.057 | 0.162 | 0.112 |
| | **4** | 0.058 | 0.022 | 0.058 |
| | **5** | 0.021 | 0.057 | 0.015 |
| | **6** | 0.049 | 0.032 | 0.053 |
| | **7** | - 0.019 | - 0.057 | 0.415 |

**ตาราง ค-11 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 2 (695 nm)**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **30** | **8** | - 0.020 | - 0.080 | 0.059 |
| | **9** | - 0.023 | 0.137 | - 0.018 |
| | **10** | 0.053 | 0.089 | 0.045 |
| | **11** | 0.060 | 0.118 | 0.043 |
| | **12** | 0.070 | 0.087 | 0.061 |
| | **13** | 0.026 | 0.040 | 0.022 |
| | **14** | 0.033 | 0.019 | 0.013 |
| | **15** | 0.052 | 0.075 | 0.040 |
| | **16** | 0.098 | 0.075 | 0.056 |
| | **17** | 0.074 | 0.061 | 0.086 |
| | **18** | 0.099 | 0.067 | 0.071 |
| **60** | **1** | 0.049 | 0.100 | 0.103 |
| | **2** | 0.119 | 0.164 | 0.079 |
| | **3** | 0.141 | 0.221 | 0.074 |
| | **4** | 0.089 | 0.281 | 0.143 |
| | **5** | 0.258 | 0.123 | 0.229 |
| | **6** | 0.198 | 0.207 | 0.055 |
| | **7** | 0.019 | 0.223 | 0.300 |
| | **8** | 0.026 | - 0.133 | 0.037 |
| | **9** | - 0.081 | 0.186 | 0.027 |
| | **10** | - 0.054 | 0.012 | 0.035 |
| | **11** | 0.095 | 0.173 | -0.011 |
| | **12** | 0.016 | 0.200 | 0.010 |
| | **13** | 0.079 | 0.082 | 0.048 |
| | **14** | 0.077 | 0.096 | 0.050 |

**ตาราง ค-11 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 2 (695 nm)**

| **เวลา (นาที)** | **ครั้งที่** | **ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **60** | **15** | 0.079 | 0.080 | 0.073 |
| | **16** | 0.070 | 0.068 | 0.095 |
| | **17** | 0.081 | 0.086 | 0.080 |
| | **18** | 0.094 | 0.093 | 0.076 |
| **90** | **1** | 0.099 | 0.274 | 0.074 |
| | **2** | 0.061 | 0.167 | 0.103 |
| | **3** | 0.141 | 0.253 | 0.046 |
| | **4** | - 0.044 | 0.254 | 0.111 |
| | **5** | 0.030 | 0.217 | 0.208 |
| | **6** | 0.063 | 0.117 | 0.048 |
| | **7** | 0.111 | 0.237 | 0.063 |
| | **8** | 0.035 | - 0.041 | 0.145 |
| | **9** | 0.054 | 0.158 | 0.028 |
| | **10** | 0.045 | 0.274 | 0.087 |
| | **11** | 0.074 | 0.200 | 0.123 |
| | **12** | 0.085 | 0.148 | 0.167 |
| | **13** | 0.142 | 0.160 | 0.281 |
| | **14** | 0.171 | 0.146 | 0.108 |
| | **15** | 0.178 | 0.176 | 0.085 |
| | **16** | 0.141 | 0.185 | 0.180 |
| | **17** | 0.171 | 0.141 | 0.120 |
| | **18** | 0.162 | 0.139 | 0.158 |
| **120** | **1** | 0.245 | 0.372 | 0.130 |
| | **2** | 0.143 | 0.387 | 0.045 |
| | **3** | 0.154 | 0.285 | 0.206 |

**ตาราง ค-11 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 2 (695 nm)**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **120** | **4** | 0.412 | 0.304 | 0.553 |
| | **5** | 0.349 | 0.566 | 0.401 |
| | **6** | 0.466 | 0.630 | 0.522 |
| | **7** | 0.026 | 0.202 | 0.026 |
| | **8** | 0.023 | 0.075 | 0.178 |
| | **9** | 0.037 | 0.222 | 0.250 |
| | **10** | 0.167 | 0.218 | 0.173 |
| | **11** | 0.188 | 0.269 | 0.268 |
| | **12** | 0.338 | 0.311 | 0.248 |
| | **13** | 0.218 | 0.282 | 0.169 |
| | **14** | 0.317 | 0.257 | 0.185 |
| | **15** | 0.239 | 0.203 | 0.162 |
| | **16** | 0.148 | 0.338 | 0.151 |
| | **17** | 0.238 | 0.236 | 0.129 |
| | **18** | 0.200 | 0.155 | 0.125 |
| **150** | **1** | 0.334 | 0.491 | 0.266 |
| | **2** | 0.159 | 0.374 | 0.138 |
| | **3** | 0.305 | 0.562 | 0.173 |
| | **4** | - 0.194 | 0.122 | - 0.112 |
| | **5** | - 0.180 | - 0.086 | - 0.063 |
| | **6** | - 0.105 | - 0.117 | 0.276 |
| | **7** | 0.111 | 0.020 | 0.408 |
| | **8** | 0.274 | 0.010 | 0.037 |
| | **9** | 0.197 | 0.064 | 0.198 |
| | **10** | 0.190 | 0.461 | 0.154 |

**ตาราง ค-11 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล Batch 2 (695 nm)**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | ***Chlorella* sp.** | ***Monoraphidium* sp.** |
| **150** | **11** | 0.222 | 0.396 | 0.238 |
| | **12** | 0.209 | 0.252 | 0.186 |
| | **13** | 0.211 | 0.374 | 0.144 |
| | **14** | 0.315 | 0.208 | 0.148 |
| | **15** | 0.276 | 0.233 | 0.165 |
| | **16** | 0.220 | 0.195 | 0.248 |
| | **17** | 0.256 | 0.443 | 0.269 |
| | **18** | 0.245 | 0.293 | 0.168 |

**ตาราง ค-12** ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน (695 nm)

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | | ***Chlorella* sp.** | | ***Monoraphidium* sp.** | |
| | | **Batch 1** | **Batch 2** | **Batch 1** | **Batch 2** | **Batch 1** | **Batch 2** |
| **0** | **1** | 0.020 | 0.028 | 0.018 | 0.019 | 0.014 | 0.036 |
| | **2** | 0.021 | 0.022 | 0.019 | 0.025 | 0.016 | 0.037 |
| | **3** | 0.022 | 0.027 | 0.021 | 0.025 | 0.019 | 0.039 |
| | **4** | 0.023 | 0.025 | 0.021 | 0.026 | 0.018 | 0.05 |
| | **เฉลี่ย** | 0.022 | 0.026 | 0.020 | 0.024 | 0.017 | 0.041 |
| | | 0.024 | | 0.022 | | 0.029 | |
| **30** | **1** | 0.040 | 0.047 | 0.033 | 0.035 | 0.045 | 0.047 |
| | **2** | 0.043 | 0.063 | 0.048 | 0.066 | 0.018 | 0.051 |
| | **3** | 0.040 | 0.067 | 0.059 | 0.057 | 0.037 | 0.093 |
| | **4** | 0.048 | 0.047 | 0.048 | 0.060 | 0.053 | 0.096 |
| | **เฉลี่ย** | 0.043 | 0.056 | 0.047 | 0.055 | 0.038 | 0.072 |
| | | 0.044 | | 0.048 | | 0.052 | |
| **60** | **1** | 0.075 | 0.075 | 0.066 | 0.082 | 0.040 | 0.136 |
| | **2** | 0.079 | 0.059 | 0.067 | 0.048 | 0.056 | 0.094 |
| | **3** | 0.082 | 0.062 | 0.076 | 0.090 | 0.077 | 0.119 |
| | **4** | 0.069 | 0.081 | 0.080 | 0.093 | 0.064 | 0.127 |
| | **เฉลี่ย** | 0.076 | 0.069 | 0.072 | 0.078 | 0.059 | 0.119 |
| | | 0.065 | | 0.068 | | 0.082 | |
| **90** | **1** | 0.069 | 0.067 | 0.088 | 0.116 | 0.095 | 0.182 |
| | **2** | 0.070 | 0.064 | 0.089 | 0.118 | 0.057 | 0.129 |
| | **3** | 0.090 | 0.032 | 0.103 | 0.123 | 0.070 | 0.142 |
| | **4** | 0.100 | 0.069 | 0.092 | 0.114 | 0.084 | 0.178 |
| | **เฉลี่ย** | 0.082 | 0.058 | 0.093 | 0.118 | 0.077 | 0.158 |
| | | 0.068 | | 0.103 | | 0.112 | |

**ตาราง ค-12 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน (695 nm)**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Ankistrodesmus* sp. | | *Chlorella* sp. | | *Monoraphidium* sp. | |
| | | Batch 1 | Batch 2 | Batch 1 | Batch 2 | Batch 1 | Batch 2 |
| 120 | 1 | 0.099 | 0.087 | 0.112 | 0.172 | 0.147 | 0.183 |
| | 2 | 0.081 | 0.150 | 0.135 | 0.138 | 0.131 | 0.154 |
| | 3 | 0.082 | 0.157 | 0.133 | 0.152 | 0.081 | 0.173 |
| | 4 | 0.083 | 0.005 | 0.045 | 0.092 | 0.017 | 0.165 |
| | เฉลี่ย | 0.086 | 0.100 | 0.106 | 0.139 | 0.094 | 0.169 |
| | | 0.091 | | 0.116 | | 0.125 | |
| 150 | 1 | 0.109 | 0.253 | 0.127 | 0.101 | 0.075 | 0.169 |
| | 2 | 0.185 | 0.111 | 0.142 | 0.134 | 0.085 | 0.100 |
| | 3 | 0.166 | 0.150 | 0.089 | 0.157 | 0.117 | 0.186 |
| | 4 | 0.084 | 0.12 | 0.138 | 0.140 | 0.133 | 0.125 |
| | เฉลี่ย | 0.136 | 0.1585 | 0.124 | 0.133 | 0.1025 | 0.145 |
| | | 0.147 | | 0.129 | | 0.124 | |

**ตาราง ค-13** ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล (695 nm)

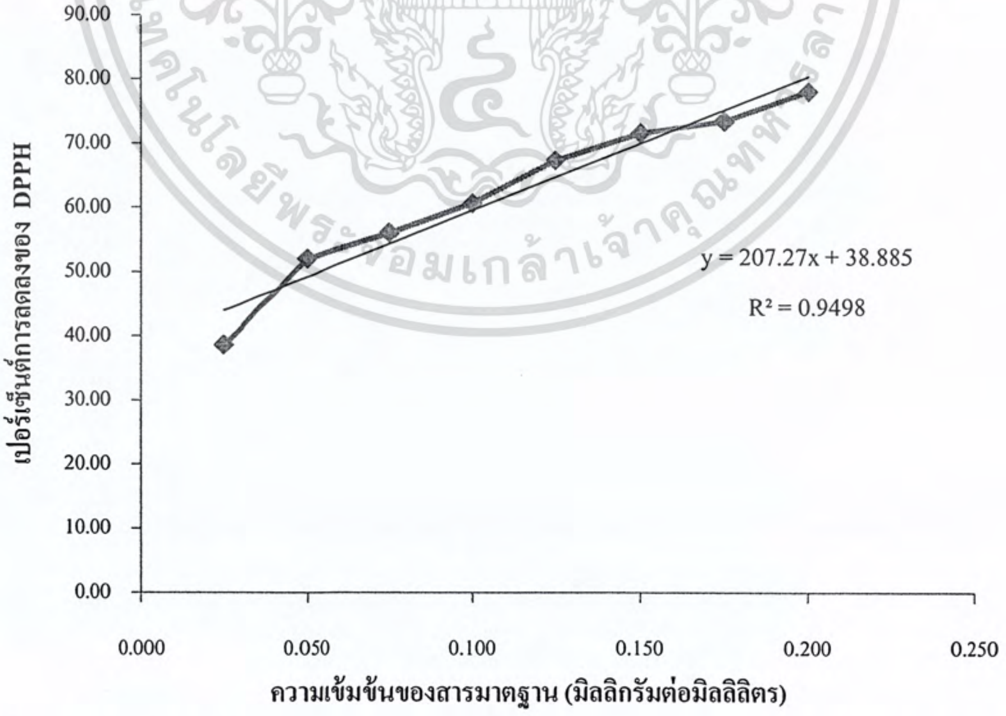
| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ***Ankistrodesmus* sp.** | | ***Chlorella* sp.** | | ***Monoraphidium* sp.** | |
| | | **Batch 1** | **Batch 2** | **Batch 1** | **Batch 2** | **Batch 1** | **Batch 2** |
| **0** | **1** | 0.027 | 0.022 | 0.037 | 0.033 | 0.040 | 0.028 |
| | **2** | 0.027 | 0.024 | 0.037 | 0.033 | 0.040 | 0.028 |
| | **3** | 0.028 | 0.025 | 0.037 | 0.034 | 0.040 | 0.029 |
| | **4** | 0.028 | 0.026 | 0.038 | 0.034 | 0.041 | 0.029 |
| | **เฉลี่ย** | 0.028 | 0.024 | 0.037 | 0.034 | 0.040 | 0.029 |
| | | 0.026 | | 0.035 | | 0.034 | |
| **30** | **1** | 0.053 | 0.052 | 0.053 | 0.075 | 0.050 | 0.053 |
| | **2** | 0.062 | 0.053 | 0.055 | 0.075 | 0.054 | 0.056 |
| | **3** | 0.064 | 0.057 | 0.057 | 0.087 | 0.054 | 0.058 |
| | **4** | 0.078 | 0.058 | 0.076 | 0.089 | 0.058 | 0.061 |
| | **เฉลี่ย** | 0.064 | 0.055 | 0.060 | 0.082 | 0.054 | 0.057 |
| | | 0.060 | | 0.071 | | 0.056 | |
| **60** | **1** | 0.067 | 0.070 | 0.082 | 0.086 | 0.126 | 0.073 |
| | **2** | 0.069 | 0.077 | 0.089 | 0.093 | 0.136 | 0.074 |
| | **3** | 0.071 | 0.079 | 0.093 | 0.096 | 0.146 | 0.076 |
| | **4** | 0.075 | 0.079 | 0.094 | 0.100 | 0.148 | 0.079 |
| | **เฉลี่ย** | 0.071 | 0.076 | 0.090 | 0.094 | 0.139 | 0.076 |
| | | 0.073 | | 0.092 | | 0.107 | |
| **90** | **1** | 0.097 | 0.162 | 0.109 | 0.160 | 0.156 | 0.063 |
| | **2** | 0.097 | 0.171 | 0.111 | 0.167 | 0.176 | 0.074 |
| | **3** | 0.100 | 0.171 | 0.114 | 0.176 | 0.184 | 0.085 |
| | **4** | 0.106 | 0.178 | 0.117 | 0.185 | 0.185 | 0.087 |
| | **เฉลี่ย** | 0.100 | 0.171 | 0.113 | 0.172 | 0.175 | 0.077 |
| | | 0.135 | | 0.142 | | 0.126 | |

**ตาราง ค-13 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 *Monoraphidium* sp. W53 และ *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน (695 nm)**

| เวลา (นาที) | ครั้งที่ | ตัวอย่างสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียว | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Ankistrodesmus* sp. | | *Chlorella* sp. | | *Monoraphidium* sp. | |
| | | Batch 1 | Batch 2 | Batch 1 | Batch 2 | Batch 1 | Batch 2 |
| 120 | 1 | 0.129 | 0.200 | 0.175 | 0.257 | 0.225 | 0.162 |
| | 2 | 0.138 | 0.218 | 0.177 | 0.269 | 0.232 | 0.169 |
| | 3 | 0.139 | 0.238 | 0.179 | 0.282 | 0.251 | 0.173 |
| | 4 | 0.140 | 0.239 | 0.180 | 0.285 | 0.265 | 0.185 |
| | เฉลี่ย | 0.137 | 0.224 | 0.178 | 0.273 | 0.243 | 0.172 |
| | | 0.180 | | 0.226 | | 0.208 | |
| 150 | 1 | 0.170 | 0.245 | 0.165 | 0.374 | 0.255 | 0.168 |
| | 2 | 0.171 | 0.256 | 0.181 | 0.374 | 0.255 | 0.173 |
| | 3 | 0.171 | 0.274 | 0.186 | 0.396 | 0.257 | 0.186 |
| | 4 | 0.179 | 0.276 | 0.195 | 0.443 | 0.258 | 0.198 |
| | เฉลี่ย | 0.173 | 0.263 | 0.182 | 0.397 | 0.256 | 0.181 |
| | | 0.218 | | 0.289 | | 0.219 | |

**ตาราง ค-14** ค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารมาตรฐาน BHT ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

| ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน BHT (มก./มล.) | $A_0$ (DPPH) | A (Sample + DPPH) | | | | $A_b$ (Sample) | Scavenging capacity (% SC) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | ซ้ำที่ 3 | ค่าเฉลี่ย | | |
| **0.010** | 3.094 | 2.299 | 2.319 | 2.289 | 2.3023 | 0.006 | 25.78 |
| **0.025** | | 1.888 | 1.871 | 1.9530 | 1.9040 | 0.004 | 38.59 |
| **0.050** | | 1.516 | 1.437 | 1.5100 | 1.4877 | 0.004 | 52.05 |
| **0.075** | | 1.365 | 1.342 | 1.3780 | 1.3617 | 0.003 | 56.09 |
| **0.100** | | 1.244 | 1.212 | 1.2040 | 1.2200 | 0.003 | 60.67 |
| **0.125** | | 0.996 | 1.039 | 1.0100 | 1.0150 | 0.004 | 67.32 |
| **0.150** | | 0.906 | 0.839 | 0.9040 | 0.8830 | 0.004 | 71.59 |
| **0.175** | | 0.789 | 0.806 | 0.8890 | 0.8280 | 0.004 | 73.37 |
| **0.200** | | 0.682 | 0.718 | 0.6590 | 0.6863 | 0.004 | 77.95 |



**รูปที่ ค-3** กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารมาตรฐาน BHT

**ตาราง ค-15 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดจากน้ำร้อน (ไม่เติม DPPH) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ($A_b$)**

| ความเข้มข้น | *Monoraphidium* sp. W53 | | *Ankistrodesmus* sp. W53 | | *Chlorella* sp. W54 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Batch 1** | **Batch 2** | **Batch 1** | **Batch 2** | **Batch 1** | **Batch 2** |
| **0.2** | 0.107 | 0.176 | 0.118 | 0.127 | 0.119 | 0.109 |
| **0.4** | 0.118 | 0.213 | 0.209 | 0.233 | 0.192 | 0.164 |
| **0.6** | 0.152 | 0.275 | 0.293 | 0.275 | 0.254 | 0.187 |
| **0.8** | 0.168 | 0.331 | 0.365 | 0.35 | 0.285 | 0.212 |
| **1.0** | 0.175 | 0.397 | 0.439 | 0.42 | 0.301 | 0.261 |
| **1.2** | 0.193 | 0.493 | 0.525 | 0.481 | 0.317 | 0.283 |
| **1.4** | 0.266 | 0.551 | 0.59 | 0.536 | 0.533 | 0.317 |
| **1.6** | 0.271 | 0.671 | 0.656 | 0.634 | 0.574 | 0.357 |

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตาราง ค-16 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.2 | 1/1 | 2.595 | 2.603 | 2.608 | 2.602 | 3.499 | 29.0369 | 28.26 ± 0.72$^{b,c}$ |
| | 1/2 | 2.624 | 2.625 | 2.628 | 2.626 | 3.506 | 28.5035 | |
| | 2/1 | 2.614 | 2.611 | 2.610 | 2.612 | 3.495 | 28.3929 | |
| | 2/2 | 2.667 | 2.664 | 2.669 | 2.667 | 3.509 | 27.1112 | |
| 0.4 | 1/1 | 2.589 | 2.587 | 2.584 | 2.587 | 3.499 | 31.5614 | 30.72 ± 1.29$^{c}$ |
| | 1/2 | 2.584 | 2.587 | 2.588 | 2.586 | 3.506 | 31.7075 | |
| | 2/1 | 2.591 | 2.597 | 2.593 | 2.594 | 3.495 | 30.4816 | |
| | 2/2 | 2.650 | 2.655 | 2.646 | 2.650 | 3.509 | 29.1441 | |
| 0.6 | 1/1 | 2.472 | 2.479 | 2.474 | 2.475 | 3.499 | 36.5247 | 34.88 ± 3.77$^{b}$ |
| | 1/2 | 2.411 | 2.408 | 2.405 | 2.408 | 3.506 | 38.5625 | |
| | 2/1 | 2.568 | 2.567 | 2.562 | 2.566 | 3.495 | 31.9409 | |
| | 2/2 | 2.556 | 2.561 | 2.551 | 2.556 | 3.509 | 32.4879 | |
| 0.8 | 1/1 | 2.386 | 2.387 | 2.384 | 2.386 | 3.499 | 39.9638 | 37.92 ± 3.58$^{b}$ |
| | 1/2 | 2.356 | 2.358 | 2.354 | 2.356 | 3.506 | 40.9298 | |
| | 2/1 | 2.493 | 2.501 | 2.497 | 2.497 | 3.495 | 34.6209 | |
| | 2/2 | 2.450 | 2.451 | 2.456 | 2.452 | 3.509 | 36.1546 | |
| 1 | 1/1 | 2.320 | 2.322 | 2.329 | 2.324 | 3.499 | 42.1930 | 41.66 ± 1.34$^{b}$ |
| | 1/2 | 2.302 | 2.299 | 2.295 | 2.299 | 3.506 | 43.0215 | |
| | 2/1 | 2.363 | 2.366 | 2.368 | 2.366 | 3.495 | 39.7806 | |
| | 2/2 | 2.311 | 2.308 | 2.307 | 2.309 | 3.509 | 41.6453 | |
| 1.2 | 1/1 | 2.195 | 2.189 | 2.193 | 2.192 | 3.499 | 46.4037 | 47.47 ± 1.72$^{b}$ |
| | 1/2 | 2.120 | 2.225 | 2.126 | 2.157 | 3.506 | 47.5185 | |
| | 2/1 | 2.109 | 2.111 | 2.107 | 2.109 | 3.495 | 47.7539 | |
| | 2/2 | 2.105 | 2.101 | 2.097 | 2.101 | 3.509 | 48.1904 | |

ตาราง ค-16 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.4 | 1/1 | 2.079 | 2.083 | 2.090 | 2.084 | 3.499 | 55.6730 | 53.17 ± 3.64$^{a,b}$ |
| | 1/2 | 2.084 | 2.082 | 2.080 | 2.082 | 3.506 | 55.8186 | |
| | 2/1 | 2.054 | 2.052 | 2.055 | 2.054 | 3.495 | 50.3100 | |
| | 2/2 | 2.042 | 2.038 | 2.041 | 2.040 | 3.509 | 50.8882 | |
| 1.6 | 1/1 | 1.969 | 1.961 | 1.966 | 1.965 | 3.499 | 60.2363 | 58.22 ± 2.79$^{b}$ |
| | 1/2 | 1.978 | 1.965 | 1.971 | 1.971 | 3.506 | 60.1445 | |
| | 2/1 | 1.887 | 1.885 | 1.881 | 1.884 | 3.495 | 56.2995 | |
| | 2/2 | 1.893 | 1.890 | 1.899 | 1.894 | 3.509 | 56.1983 | |

ตาราง ค-17 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.2 | 1/1 | 2.586 | 2.588 | 2.586 | 2.587 | 3.512 | 29.3945 | 30.20 ± 0.50$^{b}$ |
| | 1/2 | 2.561 | 2.556 | 2.559 | 2.559 | 3.517 | 30.2910 | |
| | 2/1 | 2.616 | 2.618 | 2.624 | 2.619 | 3.518 | 30.5477 | |
| | 2/2 | 2.629 | 2.622 | 2.620 | 2.624 | 3.520 | 30.4640 | |
| 0.4 | 1/1 | 2.572 | 2.571 | 2.565 | 2.569 | 3.512 | 30.2012 | 32.00 ± 1.91$^{c}$ |
| | 1/2 | 2.540 | 2.535 | 2.538 | 2.538 | 3.517 | 31.2008 | |
| | 2/1 | 2.535 | 2.531 | 2.536 | 2.534 | 3.518 | 34.0250 | |
| | 2/2 | 2.584 | 2.581 | 2.584 | 2.583 | 3.520 | 32.6705 | |

**ตาราง ค-17 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.6 | 1/1 | 2.513 | 2.511 | 2.509 | 2.511 | 3.512 | 32.8303 | 34.48 ± $3.36^{b}$ |
| | 1/2 | 2.492 | 2.499 | 2.495 | 2.495 | 3.517 | 33.3712 | |
| | 2/1 | 2.462 | 2.459 | 2.457 | 2.459 | 3.518 | 37.9098 | |
| | 2/2 | 2.468 | 2.460 | 2.465 | 2.464 | 3.520 | 37.8030 | |
| 0.8 | 1/1 | 2.438 | 2.430 | 2.433 | 2.434 | 3.512 | 35.4879 | 37.87 ± $4.32^{b}$ |
| | 1/2 | 2.481 | 2.485 | 2.488 | 2.485 | 3.517 | 34.1295 | |
| | 2/1 | 2.364 | 2.361 | 2.365 | 2.363 | 3.518 | 42.2304 | |
| | 2/2 | 2.455 | 2.459 | 2.456 | 2.457 | 3.520 | 39.6117 | |
| 1 | 1/1 | 2.376 | 2.372 | 2.373 | 2.374 | 3.512 | 37.3956 | 40.80 ± $5.17^{b}$ |
| | 1/2 | 2.399 | 2.390 | 2.395 | 2.395 | 3.517 | 36.8875 | |
| | 2/1 | 2.351 | 2.359 | 2.356 | 2.355 | 3.518 | 44.3339 | |
| | 2/2 | 2.348 | 2.351 | 2.345 | 2.348 | 3.520 | 44.5739 | |
| 1.2 | 1/1 | 2.318 | 2.319 | 2.320 | 2.319 | 3.512 | 39.4647 | 40.80 ± $5.17^{c}$ |
| | 1/2 | 2.344 | 2.345 | 2.349 | 2.346 | 3.517 | 38.7831 | |
| | 2/1 | 2.232 | 2.235 | 2.231 | 2.233 | 3.518 | 50.5496 | |
| | 2/2 | 2.247 | 2.249 | 2.245 | 2.247 | 3.520 | 50.1705 | |
| 1.4 | 1/1 | 2.225 | 2.227 | 2.224 | 2.225 | 3.512 | 44.2103 | 49.41 ± $8.66^{b}$ |
| | 1/2 | 2.291 | 2.300 | 2.289 | 2.293 | 3.517 | 42.3562 | |
| | 2/1 | 2.119 | 2.110 | 2.113 | 2.114 | 3.518 | 55.5713 | |
| | 2/2 | 2.117 | 2.115 | 2.120 | 2.117 | 3.520 | 55.5019 | |
| 1.6 | 1/1 | 2.028 | 2.019 | 2.025 | 2.024 | 3.512 | 50.0854 | 54.66 ± $6.43^{b}$ |
| | 1/2 | 2.026 | 2.031 | 2.018 | 2.025 | 3.517 | 50.1279 | |
| | 2/1 | 2.103 | 2.107 | 2.107 | 2.106 | 3.518 | 59.2193 | |
| | 2/2 | 2.111 | 2.103 | 2.109 | 2.108 | 3.520 | 59.1856 | |

**ตาราง ค-18 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน**

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.2 | 1/1 | 2.769 | 2.766 | 2.763 | 2.766 | 3.458 | 23.4239 | $25.66 \pm 2.28^{c}$ |
| | 1/2 | 2.760 | 2.755 | 2.759 | 2.758 | 3.505 | 24.6790 | |
| | 2/1 | 2.645 | 2.642 | 2.644 | 2.644 | 3.46 | 27.2640 | |
| | 2/2 | 2.672 | 2.682 | 2.679 | 2.678 | 3.508 | 27.2900 | |
| 0.4 | 1/1 | 2.607 | 2.615 | 2.612 | 2.611 | 3.458 | 30.5282 | $32.38 \pm 2.19^{c}$ |
| | 1/2 | 2.618 | 2.624 | 2.626 | 2.623 | 3.505 | 31.1365 | |
| | 2/1 | 2.524 | 2.533 | 2.527 | 2.528 | 3.46 | 33.6705 | |
| | 2/2 | 2.536 | 2.547 | 2.541 | 2.541 | 3.508 | 34.1980 | |
| 0.6 | 1/1 | 2.524 | 2.528 | 2.521 | 2.524 | 3.458 | 35.4733 | $35.70 \pm 1.55^{b}$ |
| | 1/2 | 2.512 | 2.517 | 2.508 | 2.512 | 3.505 | 36.1674 | |
| | 2/1 | 2.491 | 2.483 | 2.487 | 2.487 | 3.46 | 36.0694 | |
| | 2/2 | 2.471 | 2.467 | 2.462 | 2.467 | 3.508 | 37.5238 | |
| 0.8 | 1/1 | 2.483 | 2.482 | 2.480 | 2.482 | 3.458 | 38.7893 | $40.00 \pm 0.75^{b}$ |
| | 1/2 | 2.469 | 2.456 | 2.463 | 2.463 | 3.505 | 40.1522 | |
| | 2/1 | 2.440 | 2.427 | 2.436 | 2.434 | 3.46 | 39.7592 | |
| | 2/2 | 2.418 | 2.409 | 2.399 | 2.409 | 3.508 | 41.3151 | |
| 1 | 1/1 | 2.419 | 2.421 | 2.430 | 2.423 | 3.458 | 42.6162 | $43.65 \pm 0.56^{b}$ |
| | 1/2 | 2.402 | 2.409 | 2.405 | 2.405 | 3.505 | 43.8992 | |
| | 2/1 | 2.388 | 2.382 | 2.395 | 2.388 | 3.46 | 43.1118 | |
| | 2/2 | 2.358 | 2.351 | 2.342 | 2.350 | 3.508 | 44.9734 | |
| 1.2 | 1/1 | 2.247 | 2.253 | 2.258 | 2.253 | 3.458 | 50.0386 | $48.86 \pm 2.11^{b}$ |
| | 1/2 | 2.256 | 2.255 | 2.251 | 2.254 | 3.505 | 50.6705 | |
| | 2/1 | 2.340 | 2.345 | 2.350 | 2.345 | 3.46 | 46.1272 | |
| | 2/2 | 2.326 | 2.330 | 2.329 | 2.328 | 3.508 | 47.3394 | |

ตาราง ค-18 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1.4** | **1/1** | 2.202 | 2.189 | 2.196 | 2.196 | 3.458 | 53.5666 | $52.13 \pm 2.16^{a,b}$ |
| | **1/2** | 2.211 | 2.207 | 2.216 | 2.211 | 3.505 | 53.7423 | |
| | **2/1** | 2.268 | 2.272 | 2.270 | 2.270 | 3.46 | 49.8844 | |
| | **2/2** | 2.302 | 2.298 | 2.294 | 2.298 | 3.508 | 49.7719 | |
| **1.6** | **1/1** | 2.106 | 2.103 | 2.099 | 2.103 | 3.458 | 58.1646 | $56.60 \pm 2.07^{b}$ |
| | **1/2** | 2.116 | 2.113 | 2.115 | 2.115 | 3.505 | 58.3833 | |
| | **2/1** | 2.211 | 2.214 | 2.215 | 2.213 | 3.46 | 54.9904 | |
| | **2/2** | 2.204 | 2.203 | 2.201 | 2.203 | 3.508 | 55.2832 | |

ตาราง ค-19 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดจากเอทานอล (ไม่เติม DPPH) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ($A_b$)

| ความเข้มข้น | *Monoraphidium* sp. W53 | | *Ankistrodesmus* sp. W53 | | *Chlorella* sp. W54 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Batch 1** | **Batch 2** | **Batch 1** | **Batch 2** | **Batch 1** | **Batch 2** |
| **0.2** | 0.172 | 0.13 | 0.098 | 0.029 | 0.15 | 0.131 |
| **0.4** | 0.32 | 0.285 | 0.213 | 0.21 | 0.279 | 0.236 |
| **0.6** | 0.48 | 0.424 | 0.287 | 0.333 | 0.441 | 0.354 |
| **0.8** | 0.671 | 0.488 | 0.394 | 0.345 | 0.539 | 0.459 |
| **1.0** | 0.846 | 0.633 | 0.475 | 0.419 | 0.674 | 0.58 |
| **1.2** | 1.005 | 0.664 | 0.585 | 0.483 | 0.814 | 0.691 |
| **1.4** | 1.14 | 0.675 | 0.66 | 0.59 | 1.014 | 0.842 |
| **1.6** | 1.1308 | 0.852 | 0.74 | 0.703 | 1.148 | 0.934 |

**ตาราง ค-20** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยเอทานอล

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.2 | 1/1 | 2.561 | 2.568 | 2.563 | 2.564 | 3.794 | 36.3732 | 36.38 ± 0.73$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.524 | 2.520 | 2.527 | 2.524 | 3.793 | 37.4198 | |
| | 2/1 | 2.578 | 2.568 | 2.572 | 2.573 | 3.794 | 35.6440 | |
| | 2/2 | 2.558 | 2.552 | 2.557 | 2.556 | 3.793 | 36.0752 | |
| 0.4 | 1/1 | 2.551 | 2.557 | 2.554 | 2.554 | 3.794 | 40.0369 | 40.30 ± 0.50$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.509 | 2.504 | 2.506 | 2.506 | 3.793 | 41.2778 | |
| | 2/1 | 2.523 | 2.525 | 2.522 | 2.523 | 3.794 | 39.7118 | |
| | 2/2 | 2.505 | 2.508 | 2.502 | 2.505 | 3.793 | 40.1793 | |
| 0.6 | 1/1 | 2.530 | 2.523 | 2.531 | 2.528 | 3.794 | 44.9921 | 44.701 ± 1.20$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.485 | 2.483 | 2.488 | 2.485 | 3.793 | 46.1025 | |
| | 2/1 | 2.485 | 2.488 | 2.480 | 2.484 | 3.794 | 43.8499 | |
| | 2/2 | 2.483 | 2.487 | 2.480 | 2.483 | 3.793 | 43.8615 | |
| 0.8 | 1/1 | 2.508 | 2.501 | 2.503 | 2.504 | 3.794 | 48.2077 | 49.02 ± 0.27$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.428 | 2.429 | 2.426 | 2.428 | 3.793 | 50.2065 | |
| | 2/1 | 2.398 | 2.401 | 2.404 | 2.401 | 3.794 | 48.8139 | |
| | 2/2 | 2.394 | 2.399 | 2.405 | 2.399 | 3.793 | 48.8444 | |
| 1 | 1/1 | 2.477 | 2.474 | 2.470 | 2.474 | 3.794 | 52.5655 | 53.66 ± 0.13$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.395 | 2.397 | 2.398 | 2.397 | 3.793 | 54.5830 | |
| | 2/1 | 2.349 | 2.343 | 2.347 | 2.346 | 3.794 | 53.4440 | |
| | 2/2 | 2.320 | 2.325 | 2.322 | 2.322 | 3.793 | 54.0645 | |
| 1.2 | 1/1 | 2.394 | 2.402 | 2.398 | 2.398 | 3.794 | 58.2499 | 58.16 ± 1.03$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.346 | 2.354 | 2.348 | 2.349 | 3.793 | 59.5219 | |
| | 2/1 | 2.322 | 2.319 | 2.320 | 2.320 | 3.794 | 57.0550 | |
| | 2/2 | 2.294 | 2.290 | 2.290 | 2.291 | 3.793 | 57.8082 | |

**ตาราง ค-20 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยเอทานอล

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.4 | 1/1 | 2.266 | 2.269 | 2.260 | 2.265 | 3.794 | 67.0269 | 65.02 ± 3.21$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.243 | 2.244 | 2.246 | 2.244 | 3.793 | 67.5631 | |
| | 2/1 | 2.258 | 2.259 | 2.261 | 2.259 | 3.794 | 62.6428 | |
| | 2/2 | 2.253 | 2.250 | 2.249 | 2.251 | 3.793 | 62.8614 | |
| 1.6 | 1/1 | 2.235 | 2.242 | 2.239 | 2.239 | 3.794 | 71.2529 | 70.05 ± 2.13$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.219 | 2.216 | 2.212 | 2.216 | 3.793 | 71.8517 | |
| | 2/1 | 2.148 | 2.147 | 2.151 | 2.149 | 3.794 | 67.9845 | |
| | 2/2 | 2.109 | 2.103 | 2.107 | 2.106 | 3.793 | 69.0922 | |

**ตาราง ค-21** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.2 | 1/1 | 2.666 | 2.667 | 2.665 | 2.666 | 3.819 | 34.6949 | 34.27 ± 0.41$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.670 | 2.678 | 2.674 | 2.674 | 3.815 | 34.4168 | |
| | 2/1 | 2.644 | 2.640 | 2.648 | 2.644 | 3.819 | 34.1712 | |
| | 2/2 | 2.652 | 2.659 | 2.658 | 2.656 | 3.815 | 33.7789 | |
| 0.4 | 1/1 | 2.627 | 2.621 | 2.624 | 2.624 | 3.819 | 39.6701 | 39.52 ± 0.02$^{a}$ |
| | 1/2 | 2.632 | 2.633 | 2.632 | 2.632 | 3.815 | 39.3884 | |
| | 2/1 | 2.593 | 2.587 | 2.589 | 2.590 | 3.819 | 39.6526 | |
| | 2/2 | 2.604 | 2.597 | 2.595 | 2.599 | 3.815 | 39.3534 | |

**ตาราง ค-21 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **0.6** | **1/1** | 2.522 | 2.529 | 2.518 | 2.523 | 3.819 | 46.5043 | 45.49 ± $0.85^{a}$ |
| | **1/2** | 2.551 | 2.551 | 2.555 | 2.552 | 3.815 | 45.6793 | |
| | **2/1** | 2.531 | 2.524 | 2.526 | 2.527 | 3.819 | 44.9332 | |
| | **2/2** | 2.528 | 2.529 | 2.527 | 2.528 | 3.815 | 44.8493 | |
| **0.8** | **1/1** | 2.498 | 2.490 | 2.494 | 2.494 | 3.819 | 52.2650 | 50.42 ± $2.00^{a}$ |
| | **1/2** | 2.524 | 2.529 | 2.523 | 2.525 | 3.815 | 51.3936 | |
| | **2/1** | 2.448 | 2.442 | 2.445 | 2.445 | 3.819 | 48.7562 | |
| | **2/2** | 2.421 | 2.423 | 2.428 | 2.424 | 3.815 | 49.2529 | |
| **1** | **1/1** | 2.384 | 2.381 | 2.390 | 2.385 | 3.819 | 59.7015 | 57.45 ± $2.73^{a}$ |
| | **1/2** | 2.408 | 2.405 | 2.410 | 2.408 | 3.815 | 59.0651 | |
| | **2/1** | 2.335 | 2.340 | 2.337 | 2.337 | 3.819 | 55.3723 | |
| | **2/2** | 2.321 | 2.326 | 2.324 | 2.324 | 3.815 | 55.6837 | |
| **1.2** | **1/1** | 2.271 | 2.276 | 2.272 | 2.273 | 3.819 | 66.7976 | 57.46 ± $2.73^{a}$ |
| | **1/2** | 2.246 | 2.249 | 2.245 | 2.247 | 3.815 | 67.4530 | |
| | **2/1** | 2.271 | 2.278 | 2.276 | 2.275 | 3.819 | 57.8162 | |
| | **2/2** | 2.299 | 2.293 | 2.304 | 2.299 | 3.815 | 57.1516 | |
| **1.4** | **1/1** | 2.249 | 2.254 | 2.251 | 2.251 | 3.819 | 70.8999 | 65.02 ± $8.58^{a,b}$ |
| | **1/2** | 2.235 | 2.233 | 2.239 | 2.236 | 3.815 | 71.2800 | |
| | **2/1** | 2.247 | 2.249 | 2.250 | 2.249 | 3.819 | 58.7938 | |
| | **2/2** | 2.233 | 2.237 | 2.235 | 2.235 | 3.815 | 59.1088 | |
| **1.6** | **1/1** | 2.090 | 2.094 | 2.098 | 2.094 | 3.819 | 74.7787 | 70.60 ± $5.31^{a}$ |
| | **1/2** | 2.128 | 2.123 | 2.125 | 2.125 | 3.815 | 73.9310 | |
| | **2/1** | 2.130 | 2.128 | 2.124 | 2.127 | 3.819 | 66.6056 | |
| | **2/2** | 2.109 | 2.105 | 2.110 | 2.108 | 3.815 | 67.0773 | |

ตาราง ค-22 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล

| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **0.2** | **1/1** | 2.684 | 2.685 | 2.687 | 2.685 | 3.758 | 31.1513 | 30.43 ± 0.81$^{b}$ |
| | **1/2** | 2.690 | 2.697 | 2.695 | 2.694 | 3.755 | 30.8655 | |
| | **2/1** | 2.655 | 2.654 | 2.656 | 2.655 | 3.758 | 30.1224 | |
| | **2/2** | 2.670 | 2.671 | 2.677 | 2.673 | 3.755 | 29.5961 | |
| **0.4** | **1/1** | 2.626 | 2.629 | 2.628 | 2.628 | 3.758 | 35.7460 | 35.75 ± 0.20$^{b}$ |
| | **1/2** | 2.637 | 2.638 | 2.635 | 2.637 | 3.755 | 35.4549 | |
| | **2/1** | 2.610 | 2.616 | 2.614 | 2.613 | 3.758 | 36.0475 | |
| | **2/2** | 2.626 | 2.620 | 2.624 | 2.623 | 3.755 | 35.7301 | |
| **0.6** | **1/1** | 2.542 | 2.540 | 2.545 | 2.542 | 3.758 | 39.9858 | 40.36 ± 1.18$^{a,b}$ |
| | **1/2** | 2.578 | 2.576 | 2.571 | 2.575 | 3.755 | 39.0679 | |
| | **2/1** | 2.539 | 2.534 | 2.536 | 2.536 | 3.758 | 41.3695 | |
| | **2/2** | 2.549 | 2.548 | 2.547 | 2.548 | 3.755 | 41.0120 | |
| **0.8** | **1/1** | 2.516 | 2.518 | 2.514 | 2.516 | 3.758 | 43.5338 | 42.86 ± 0.74$^{b}$ |
| | **1/2** | 2.524 | 2.529 | 2.523 | 2.525 | 3.755 | 43.2401 | |
| | **2/1** | 2.501 | 2.507 | 2.506 | 2.505 | 3.758 | 42.5315 | |
| | **2/2** | 2.518 | 2.517 | 2.518 | 2.518 | 3.755 | 42.1394 | |
| **1** | **1/1** | 2.495 | 2.497 | 2.490 | 2.494 | 3.758 | 46.2746 | 45.89 ± 0.15$^{b}$ |
| | **1/2** | 2.515 | 2.511 | 2.513 | 2.513 | 3.755 | 45.7257 | |
| | **2/1** | 2.441 | 2.447 | 2.443 | 2.444 | 3.758 | 46.1238 | |
| | **2/2** | 2.467 | 2.469 | 2.466 | 2.467 | 3.755 | 45.4505 | |
| **1.2** | **1/1** | 2.406 | 2.410 | 2.414 | 2.410 | 3.758 | 51.4369 | 50.21 ± 1.39$^{b}$ |
| | **1/2** | 2.428 | 2.429 | 2.424 | 2.427 | 3.755 | 50.9454 | |
| | **2/1** | 2.378 | 2.383 | 2.380 | 2.380 | 3.758 | 49.5122 | |
| | **2/2** | 2.402 | 2.398 | 2.402 | 2.401 | 3.755 | 48.9303 | |

**ตาราง ค-22 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล

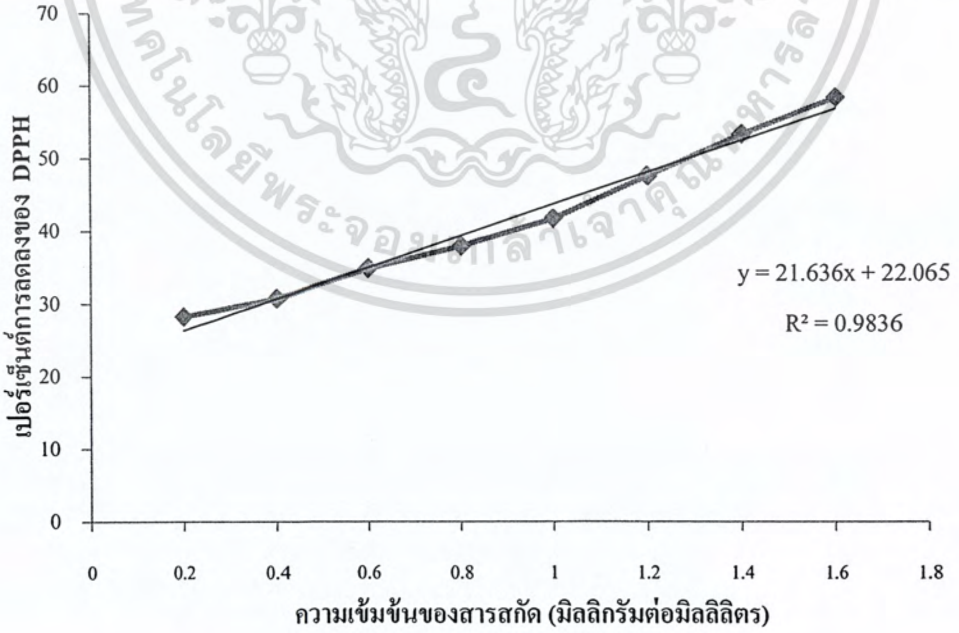
| ความเข้มข้น | Batch | A (Sample + DPPH) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ (DPPH) | Scavenging capacity (% SC) | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.4 | 1/1 | 2.257 | 2.264 | 2.259 | 2.260 | 3.758 | 57.4242 | $55.66 \pm 1.69^{a,b}$ |
| | 1/2 | 2.242 | 2.243 | 2.420 | 2.302 | 3.755 | 56.2805 | |
| | 2/1 | 2.309 | 2.304 | 2.306 | 2.306 | 3.758 | 54.3285 | |
| | 2/2 | 2.298 | 2.294 | 2.293 | 2.295 | 3.755 | 54.5939 | |
| 1.6 | 1/1 | 2.170 | 2.172 | 2.168 | 2.170 | 3.758 | 61.9478 | $60.69 \pm 1.14^{b}$ |
| | 1/2 | 2.180 | 2.178 | 2.177 | 2.178 | 3.755 | 61.6955 | |
| | 2/1 | 2.204 | 2.207 | 2.209 | 2.207 | 3.758 | 59.9876 | |
| | 2/2 | 2.216 | 2.213 | 2.211 | 2.213 | 3.755 | 59.7781 | |

**หมายเหตุ**

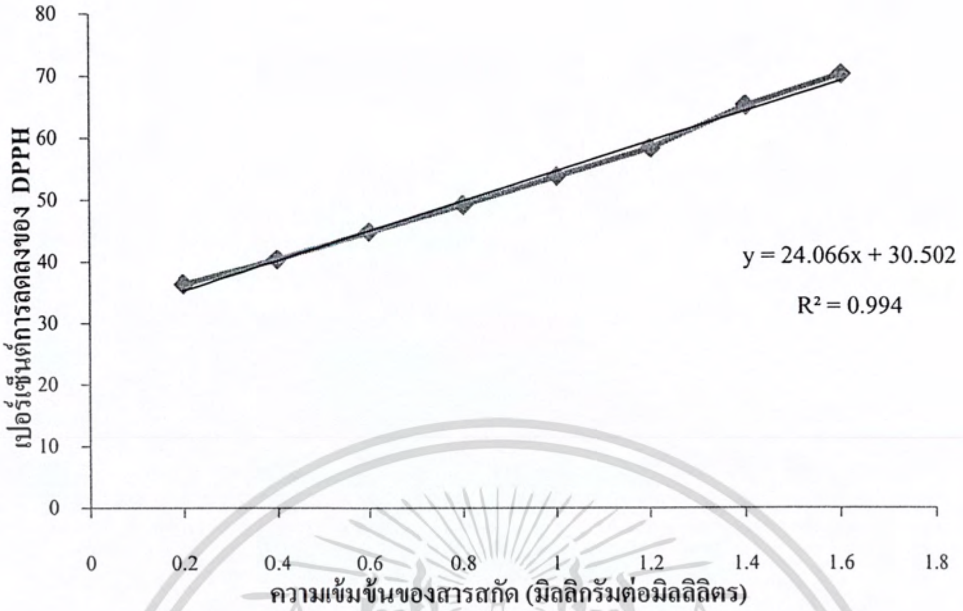
$A_o$ = $A_{517}$ ของ DPPH ที่ไม่เติมตัวอย่างสารสกัด

$A$ = $A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดผสมกับ DPPH

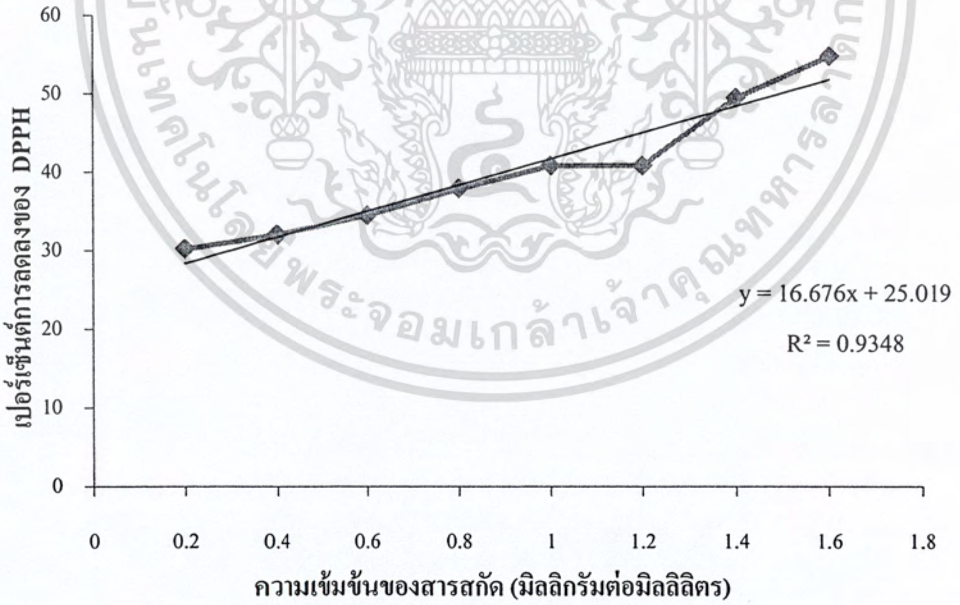
$A_b$ = $A_{517}$ ของตัวอย่างสารสกัดที่ไม่เติม DPPH



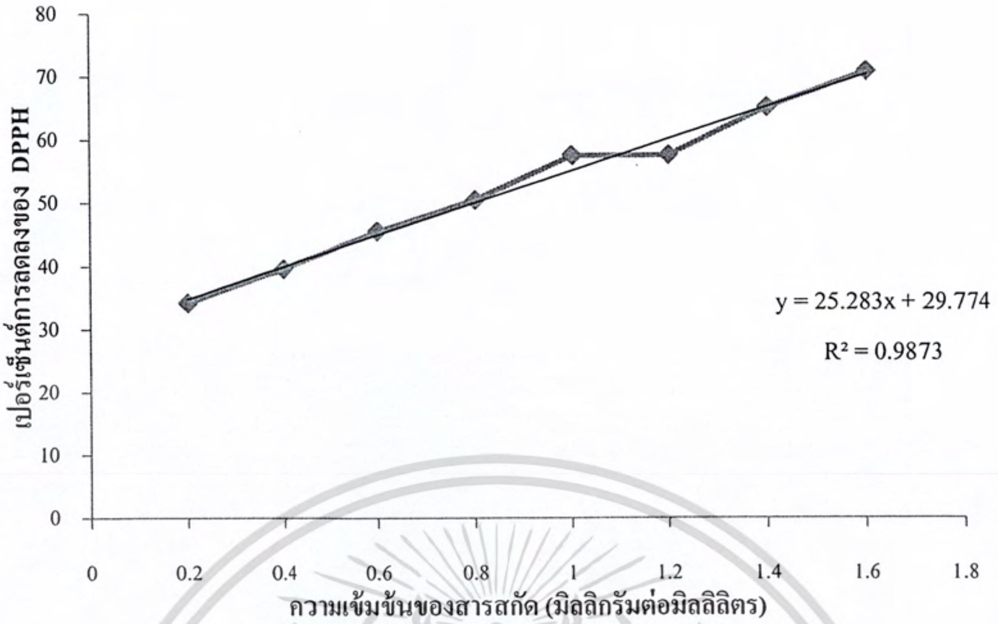
รูปที่ ค-4 กราฟแสดงสมการหาค่า $EC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน



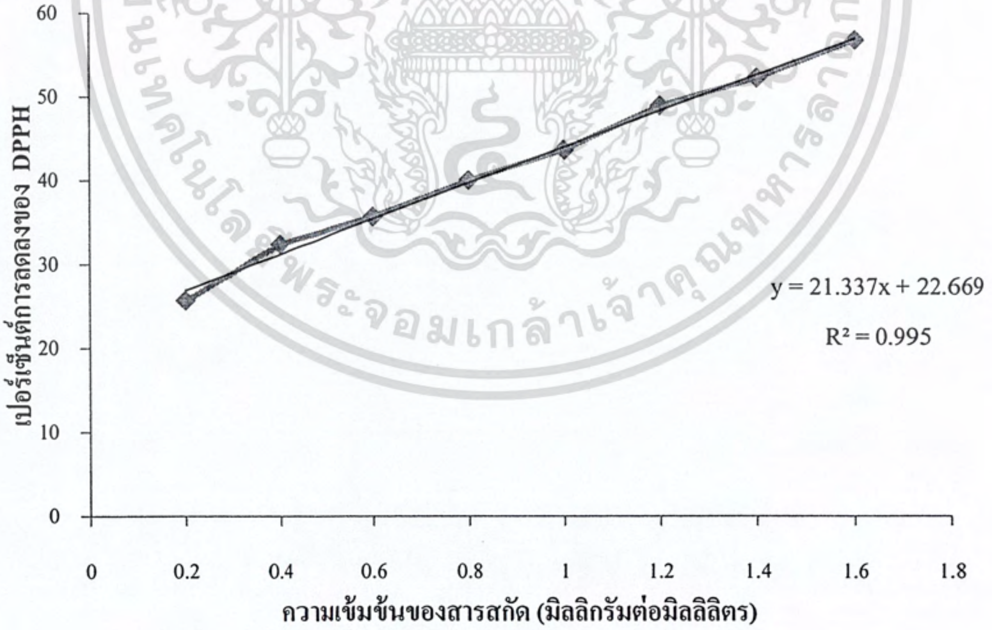
**รูปที่ ค-5** กราฟแสดงสมการหาค่า $EC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยเอทานอล



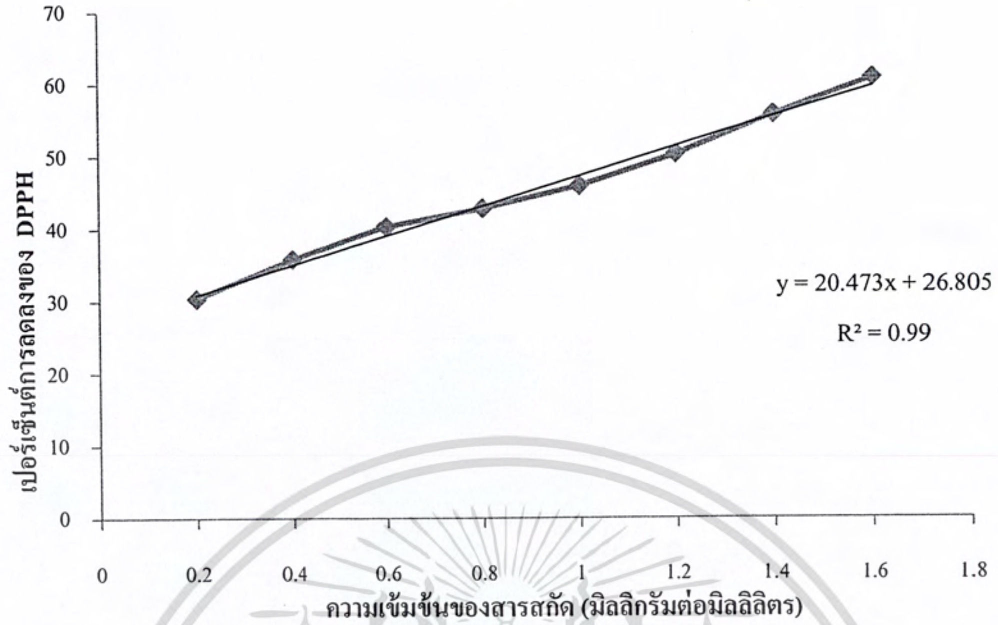
**รูปที่ ค-6** กราฟแสดงสมการหาค่า $EC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน



**รูปที่ ค-7** กราฟแสดงสมการหาค่า $EC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล



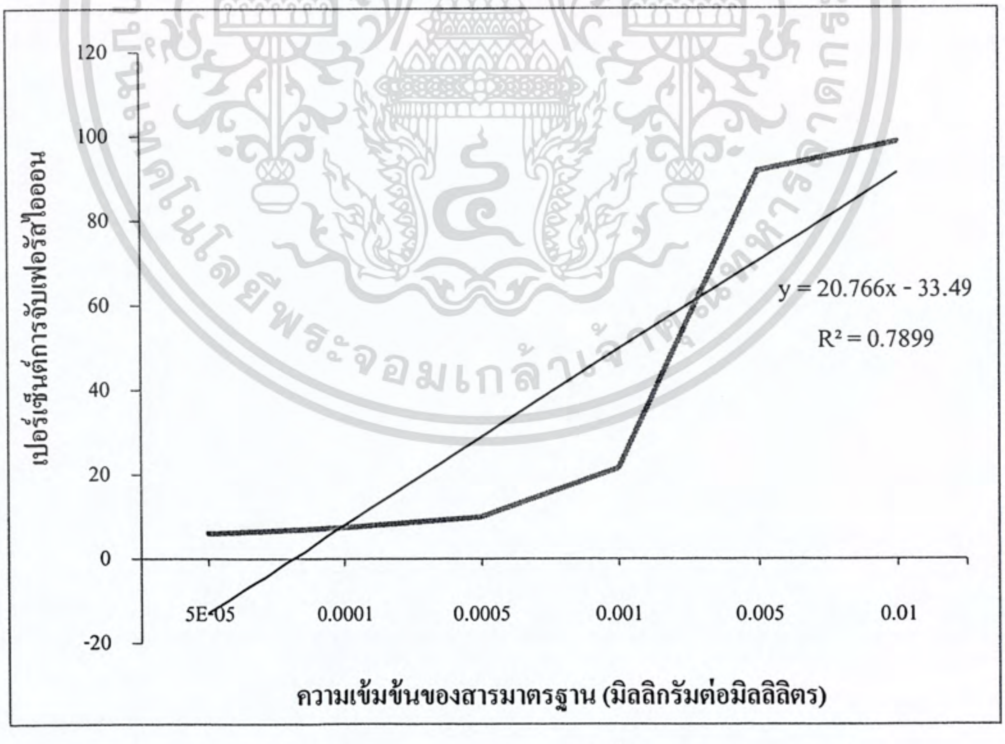
**รูปที่ ค-8** กราฟแสดงสมการหาค่า $EC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน



**รูปที่ ค-9 กราฟแสดงสมการหาค่า $EC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล**

ตาราง ค-23 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร ของปฏิกิริยาการยับยั้งการจับเฟอร์รัสไอออนของสารมาตรฐาน EDTA-$Na_2$

| ความเข้มข้นของ EDTA-$Na_2$ (มก./มล.) | $A_{562}$ ของปฏิกิริยา ($A_0$) | $A_1$ (สารมาตรฐาน EDTA-$Na_2$) | | | | $A_2$ (Blank, $A_2$) | เปอร์เซ็นการยับยั้งการจับเฟอร์รัสไอออน |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | ซ้ำที่ 3 | ค่าเฉลี่ย | | |
| **0.00005** | 1.091 | 1.022 | 1.008 | 1.058 | 1.029333 | 0.004 | 6.018943 |
| **0.0001** | | 1.057 | 1.056 | 0.943 | 1.018667 | 0.009 | 7.454934 |
| **0.0005** | | 0.977 | 1.006 | 0.985 | 0.989333 | 0.007 | 9.960281 |
| **0.001** | | 0.859 | 0.864 | 0.877 | 0.866667 | 0.01 | 21.47877 |
| **0.005** | | 0.146 | 0.074 | 0.07 | 0.096667 | 0.006 | 91.68958 |
| **0.01** | | 0.014 | 0.038 | 0.008 | 0.02 | 0.004 | 98.53346 |



รูปที่ ค-10 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการจับกับเฟอร์รัสไอออนของสารมาตรฐาน EDTA –$Na_2$

ตาราง ค-24 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| ความเข้มข้น | Batch | $A_1$ (Sample) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ ของปฏิกิริยา | $A_2$ (Blank) | % Ferrous ion | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **0.2** | 1/1 | 1.010 | 1.018 | 1.014 | 1.014 | 1.387 | 0.065 | 31.579 | 29.87 ± 3.56$^c$ |
| | 1/2 | 0.991 | 0.994 | 0.990 | 0.992 | | 0.065 | 33.189 | |
| | 2/1 | 1.077 | 1.082 | 1.097 | 1.085 | | 0.080 | 27.517 | |
| | 2/2 | 1.094 | 1.084 | 1.092 | 1.090 | | 0.080 | 27.181 | |
| **0.4** | 1/1 | 0.889 | 0.890 | 0.897 | 0.892 | 1.387 | 0.101 | 42.970 | 42.00 ± 3.50$^c$ |
| | 1/2 | 0.855 | 0.849 | 0.846 | 0.850 | | 0.101 | 45.999 | |
| | 2/1 | 0.942 | 0.939 | 0.938 | 0.940 | | 0.099 | 39.390 | |
| | 2/2 | 0.942 | 0.934 | 0.932 | 0.936 | | 0.099 | 39.654 | |
| **0.6** | 1/1 | 0.770 | 0.762 | 0.767 | 0.766 | 1.387 | 0.149 | 55.491 | 51.66 ± 6.32$^a$ |
| | 1/2 | 0.746 | 0.755 | 0.745 | 0.749 | | 0.149 | 56.765 | |
| | 2/1 | 0.800 | 0.856 | 0.852 | 0.836 | | 0.122 | 48.522 | |
| | 2/2 | 0.890 | 0.861 | 0.868 | 0.873 | | 0.122 | 45.854 | |
| **0.8** | 1/1 | 0.616 | 0.611 | 0.609 | 0.612 | 1.387 | 0.179 | 68.782 | 61.24 ± 11.01$^a$ |
| | 1/2 | 0.609 | 0.605 | 0.602 | 0.605 | | 0.179 | 69.262 | |
| | 2/1 | 0.798 | 0.794 | 0.808 | 0.800 | | 0.149 | 53.064 | |
| | 2/2 | 0.783 | 0.797 | 0.788 | 0.789 | | 0.149 | 53.833 | |
| **1** | 1/1 | 0.547 | 0.545 | 0.541 | 0.544 | 1.387 | 0.181 | 73.804 | 68.32 ± 6.89$^a$ |
| | 1/2 | 0.556 | 0.562 | 0.566 | 0.561 | | 0.181 | 72.579 | |
| | 2/1 | 0.695 | 0.703 | 0.700 | 0.699 | | 0.195 | 63.639 | |
| | 2/2 | 0.704 | 0.699 | 0.711 | 0.705 | | 0.195 | 63.254 | |

**ตาราง ค-25** ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| ความเข้มข้น | Batch | $A_1$ (Sample) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ ของปฏิกิริยา | $A_2$ (Blank) | % Ferrous ion | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.2 | 1/1 | 0.661 | 0.664 | 0.675 | 0.667 | 1.387 | 0.062 | 56.405 | 53.26 ± 2.85$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.705 | 0.695 | 0.694 | 0.698 | | 0.062 | 54.146 | |
| | 2/1 | 0.735 | 0.748 | 0.750 | 0.744 | | 0.087 | 52.608 | |
| | 2/2 | 0.786 | 0.783 | 0.777 | 0.782 | | 0.087 | 49.892 | |
| 0.4 | 1/1 | 0.578 | 0.575 | 0.578 | 0.577 | 1.387 | 0.063 | 62.942 | 64.31 ± 0.82$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.559 | 0.555 | 0.552 | 0.555 | | 0.063 | 64.504 | |
| | 2/1 | 0.626 | 0.639 | 0.641 | 0.635 | | 0.139 | 64.215 | |
| | 2/2 | 0.621 | 0.612 | 0.617 | 0.617 | | 0.139 | 65.561 | |
| 0.6 | 1/1 | 0.542 | 0.536 | 0.533 | 0.537 | 1.387 | 0.065 | 65.970 | 68.38 ± 3.17$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.531 | 0.527 | 0.539 | 0.532 | | 0.065 | 66.306 | |
| | 2/1 | 0.605 | 0.613 | 0.619 | 0.612 | | 0.202 | 70.416 | |
| | 2/2 | 0.611 | 0.607 | 0.602 | 0.607 | | 0.202 | 70.824 | |
| 0.8 | 1/1 | 0.478 | 0.489 | 0.477 | 0.481 | 1.387 | 0.097 | 72.290 | 75.36 ± 2.26$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.431 | 0.435 | 0.456 | 0.441 | | 0.097 | 75.222 | |
| | 2/1 | 0.526 | 0.529 | 0.535 | 0.530 | | 0.204 | 76.496 | |
| | 2/2 | 0.517 | 0.523 | 0.512 | 0.517 | | 0.204 | 77.409 | |
| 1 | 1/1 | 0.392 | 0.399 | 0.364 | 0.385 | 1.387 | 0.151 | 83.129 | 83.96 ± 0.67$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.372 | 0.377 | 0.376 | 0.375 | | 0.151 | 83.850 | |
| | 2/1 | 0.440 | 0.434 | 0.431 | 0.435 | | 0.227 | 85.004 | |
| | 2/2 | 0.447 | 0.451 | 0.454 | 0.451 | | 0.227 | 83.874 | |

ตาราง ค-26 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน

| ความเข้มข้น | Batch | $A_1$ (Sample) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ ของปฏิกิริยา | $A_2$ (Blank) | % Ferrous ion | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.2 | 1/1 | 0.758 | 0.752 | 0.775 | 0.762 | 1.387 | 0.086 | 51.286 | 48.06 ± 3.53$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.786 | 0.789 | 0.771 | 0.782 | | 0.086 | 49.820 | |
| | 2/1 | 0.849 | 0.847 | 0.846 | 0.847 | | 0.086 | 45.109 | |
| | 2/2 | 0.834 | 0.836 | 0.834 | 0.835 | | 0.086 | 46.023 | |
| 0.4 | 1/1 | 0.646 | 0.633 | 0.627 | 0.635 | 1.387 | 0.098 | 61.259 | 56.27 ± 6.67$^{a,b}$ |
| | 1/2 | 0.662 | 0.624 | 0.643 | 0.643 | | 0.098 | 60.707 | |
| | 2/1 | 0.781 | 0.775 | 0.776 | 0.777 | | 0.099 | 51.093 | |
| | 2/2 | 0.768 | 0.754 | 0.772 | 0.765 | | 0.099 | 52.007 | |
| 0.6 | 1/1 | 0.549 | 0.563 | 0.560 | 0.557 | 1.387 | 0.158 | 71.209 | 64.92 ± 6.99$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.599 | 0.594 | 0.591 | 0.595 | | 0.158 | 68.517 | |
| | 2/1 | 0.696 | 0.694 | 0.693 | 0.694 | | 0.128 | 59.168 | |
| | 2/2 | 0.676 | 0.657 | 0.683 | 0.672 | | 0.128 | 60.779 | |
| 0.8 | 1/1 | 0.418 | 0.406 | 0.406 | 0.410 | 1.387 | 0.179 | 83.345 | 78.62 ± 5.82$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.423 | 0.428 | 0.430 | 0.427 | | 0.179 | 82.120 | |
| | 2/1 | 0.517 | 0.529 | 0.520 | 0.522 | | 0.168 | 74.477 | |
| | 2/2 | 0.515 | 0.524 | 0.525 | 0.521 | | 0.168 | 74.525 | |
| 1 | 1/1 | 0.339 | 0.340 | 0.346 | 0.342 | 1.387 | 0.198 | 89.642 | 87.37 ± 4.01$^{a}$ |
| | 1/2 | 0.322 | 0.327 | 0.329 | 0.326 | | 0.198 | 90.771 | |
| | 2/1 | 0.412 | 0.424 | 0.417 | 0.418 | | 0.200 | 84.307 | |
| | 2/2 | 0.408 | 0.411 | 0.415 | 0.411 | | 0.200 | 84.763 | |

ตาราง ค-27 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยเอทานอล

| ความเข้มข้น | Batch | $A_1$ (Sample) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ ของปฏิกิริยา | $A_2$ (Blank) | % Ferrous ion | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.2 | 1/1 | 0.754 | 0.779 | 0.765 | 0.766 | 1.4945 | 0.032 | 50.887 | $46.19 \pm 6.47^{a,b}$ |
| | 1/2 | 0.770 | 0.782 | 0.757 | 0.770 | | 0.032 | 50.641 | |
| | 2/1 | 0.923 | 0.927 | 0.928 | 0.926 | | 0.053 | 41.586 | |
| | 2/2 | 0.935 | 0.922 | 0.918 | 0.925 | | 0.053 | 41.653 | |
| 0.4 | 1/1 | 0.716 | 0.727 | 0.720 | 0.721 | 1.4945 | 0.057 | 55.570 | $49.47 \pm 8.53^{b,c}$ |
| | 1/2 | 0.723 | 0.725 | 0.721 | 0.723 | | 0.057 | 55.437 | |
| | 2/1 | 0.904 | 0.918 | 0.897 | 0.906 | | 0.054 | 42.969 | |
| | 2/2 | 0.884 | 0.894 | 0.899 | 0.892 | | 0.054 | 43.905 | |
| 0.6 | 1/1 | 0.611 | 0.578 | 0.599 | 0.596 | 1.4945 | 0.088 | 66.009 | $56.42 \pm 12.89^{a}$ |
| | 1/2 | 0.623 | 0.594 | 0.614 | 0.610 | | 0.088 | 65.050 | |
| | 2/1 | 0.862 | 0.867 | 0.859 | 0.863 | | 0.077 | 47.429 | |
| | 2/2 | 0.869 | 0.858 | 0.872 | 0.866 | | 0.077 | 47.184 | |
| 0.8 | 1/1 | 0.514 | 0.507 | 0.511 | 0.511 | 1.4945 | 0.149 | 75.800 | $64.34 \pm 16.18^{a}$ |
| | 1/2 | 0.529 | 0.497 | 0.508 | 0.511 | | 0.149 | 75.756 | |
| | 2/1 | 0.808 | 0.814 | 0.818 | 0.813 | | 0.105 | 52.604 | |
| | 2/2 | 0.805 | 0.797 | 0.812 | 0.805 | | 0.105 | 53.184 | |
| 1 | 1/1 | 0.420 | 0.397 | 0.415 | 0.411 | 1.4945 | 0.151 | 82.625 | $69.59 \pm 18.70^{a}$ |
| | 1/2 | 0.410 | 0.401 | 0.404 | 0.405 | | 0.151 | 83.004 | |
| | 2/1 | 0.783 | 0.788 | 0.779 | 0.783 | | 0.119 | 55.548 | |
| | 2/2 | 0.755 | 0.760 | 0.761 | 0.759 | | 0.119 | 57.199 | |

ตาราง ค-28 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล

| ความเข้มข้น | Batch | $A_1$ (Sample) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ ของปฏิกิริยา | $A_2$ (Blank) | % Ferrous ion | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **0.2** | 1/1 | 1.008 | 0.975 | 1.004 | 0.996 | 1.4945 | 0.037 | 35.8537 | 35.10 ± $0.26^{b,c}$ |
| | 1/2 | 1.012 | 1.015 | 1.011 | 1.013 | | 0.037 | 34.7162 | |
| | 2/1 | 0.994 | 0.988 | 1.005 | 0.996 | | 0.026 | 35.1177 | |
| | 2/2 | 1.002 | 1.007 | 0.996 | 1.002 | | 0.026 | 34.7162 | |
| **0.4** | 1/1 | 0.956 | 0.972 | 0.961 | 0.963 | 1.4945 | 0.084 | 41.1843 | 41.68 ± $0.06^{c}$ |
| | 1/2 | 0.935 | 0.949 | 0.957 | 0.947 | | 0.084 | 42.2549 | |
| | 2/1 | 0.920 | 0.918 | 0.917 | 0.918 | | 0.044 | 41.4966 | |
| | 2/2 | 0.918 | 0.909 | 0.915 | 0.914 | | 0.044 | 41.7866 | |
| **0.6** | 1/1 | 0.888 | 0.901 | 0.893 | 0.894 | 1.4945 | 0.126 | 48.6116 | 47.50 ± $0.69^{a}$ |
| | 1/2 | 0.886 | 0.935 | 0.917 | 0.913 | | 0.126 | 47.3626 | |
| | 2/1 | 0.838 | 0.851 | 0.867 | 0.852 | | 0.068 | 47.541 | |
| | 2/2 | 0.864 | 0.868 | 0.871 | 0.868 | | 0.068 | 46.4927 | |
| **0.8** | 1/1 | 0.794 | 0.782 | 0.768 | 0.781 | 1.4945 | 0.162 | 58.5592 | 56.52 ± $1.80^{a}$ |
| | 1/2 | 0.807 | 0.813 | 0.793 | 0.804 | | 0.162 | 57.0202 | |
| | 2/1 | 0.743 | 0.758 | 0.751 | 0.751 | | 0.09 | 55.7935 | |
| | 2/2 | 0.763 | 0.762 | 0.776 | 0.767 | | 0.09 | 54.7006 | |
| **1** | 1/1 | 0.711 | 0.720 | 0.709 | 0.713 | 1.4945 | 0.21 | 66.321 | 65.67 ± $1.16^{a}$ |
| | 1/2 | 0.703 | 0.714 | 0.708 | 0.708 | | 0.21 | 66.6555 | |
| | 2/1 | 0.627 | 0.652 | 0.633 | 0.637 | | 0.113 | 64.9158 | |
| | 2/2 | 0.631 | 0.640 | 0.647 | 0.639 | | 0.113 | 64.782 | |

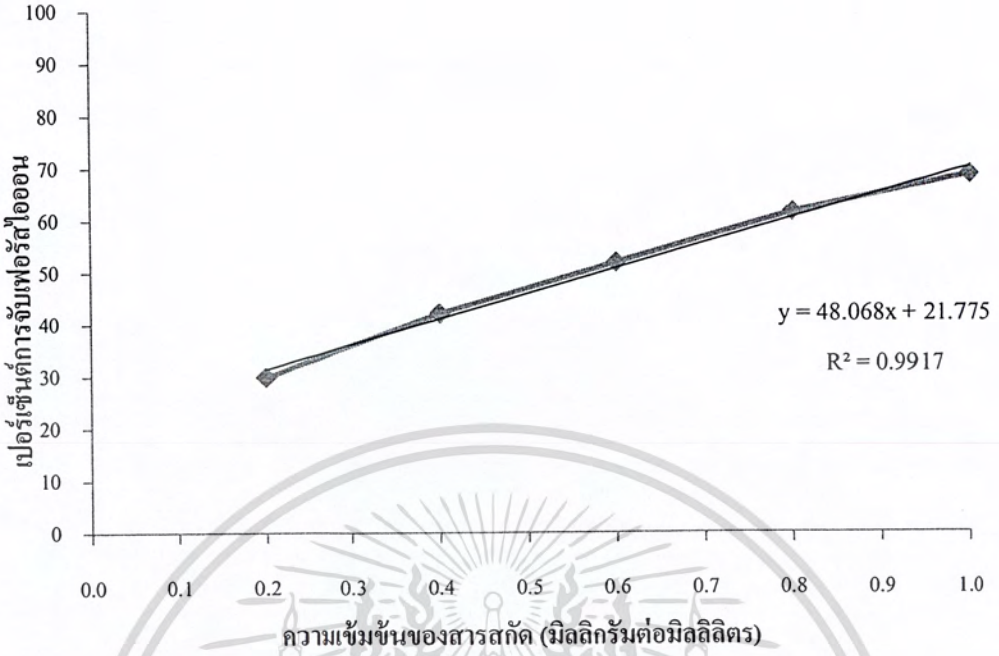
ตาราง ค-29 ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล

| ความเข้มข้น | Batch | $A_1$ (Sample) | | | ค่าเฉลี่ย | $A_0$ ของปฏิกิริยา | $A_2$ (Blank) | % Ferrous ion | ค่าเฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **0.2** | 1/1 | 0.947 | 0.932 | 0.928 | 0.936 | 1.4945 | 0.042 | 40.203 | 48.06 ± 3.53[a] |
| | 1/2 | 0.944 | 0.951 | 0.936 | 0.944 | | 0.042 | 39.668 | |
| | 2/1 | 1.145 | 1.157 | 1.160 | 1.154 | | 0.106 | 29.876 | |
| | 2/2 | 1.159 | 1.153 | 1.152 | 1.155 | | 0.106 | 29.832 | |
| **0.4** | 1/1 | 0.926 | 0.919 | 0.897 | 0.914 | 1.4945 | 0.102 | 45.667 | 56.27 ± 6.67[a,b] |
| | 1/2 | 0.920 | 0.898 | 0.937 | 0.918 | | 0.102 | 45.377 | |
| | 2/1 | 1.039 | 1.038 | 1.022 | 1.033 | | 0.109 | 38.173 | |
| | 2/2 | 1.021 | 0.997 | 1.000 | 1.006 | | 0.109 | 39.980 | |
| **0.6** | 1/1 | 0.786 | 0.805 | 0.795 | 0.795 | 1.4945 | 0.353 | 70.403 | 64.92 ± 6.99[a] |
| | 1/2 | 0.778 | 0.764 | 0.771 | 0.771 | | 0.353 | 72.031 | |
| | 2/1 | 0.899 | 0.914 | 0.927 | 0.913 | | 0.115 | 46.582 | |
| | 2/2 | 0.917 | 0.912 | 0.898 | 0.909 | | 0.115 | 46.872 | |
| **0.8** | 1/1 | 0.719 | 0.707 | 0.694 | 0.707 | 1.4945 | 0.375 | 77.808 | 78.62 ± 5.82[a] |
| | 1/2 | 0.725 | 0.731 | 0.719 | 0.725 | | 0.375 | 76.581 | |
| | 2/1 | 0.851 | 0.853 | 0.846 | 0.850 | | 0.119 | 51.087 | |
| | 2/2 | 0.845 | 0.840 | 0.858 | 0.848 | | 0.119 | 51.243 | |
| **1** | 1/1 | 0.581 | 0.602 | 0.595 | 0.593 | 1.4945 | 0.401 | 87.175 | 87.37 ± 4.01[a] |
| | 1/2 | 0.586 | 0.597 | 0.603 | 0.595 | | 0.401 | 86.997 | |
| | 2/1 | 0.697 | 0.691 | 0.699 | 0.696 | | 0.213 | 67.704 | |
| | 2/2 | 0.709 | 0.713 | 0.721 | 0.714 | | 0.213 | 66.455 | |

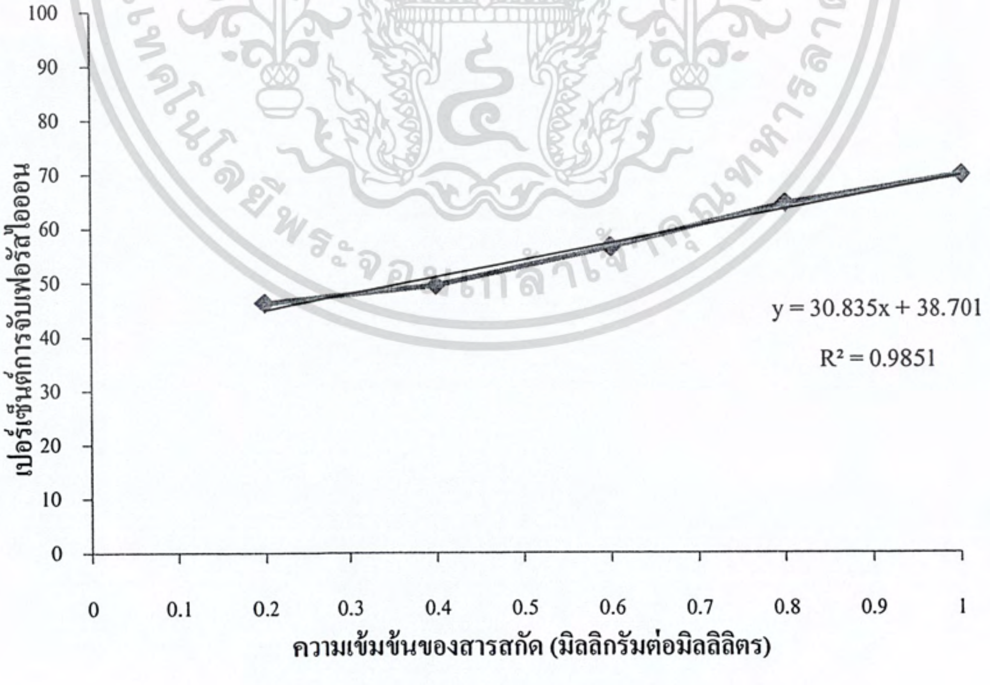
**หมายเหตุ** $A_0$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

$A_1$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน EDTA-$Na_2$

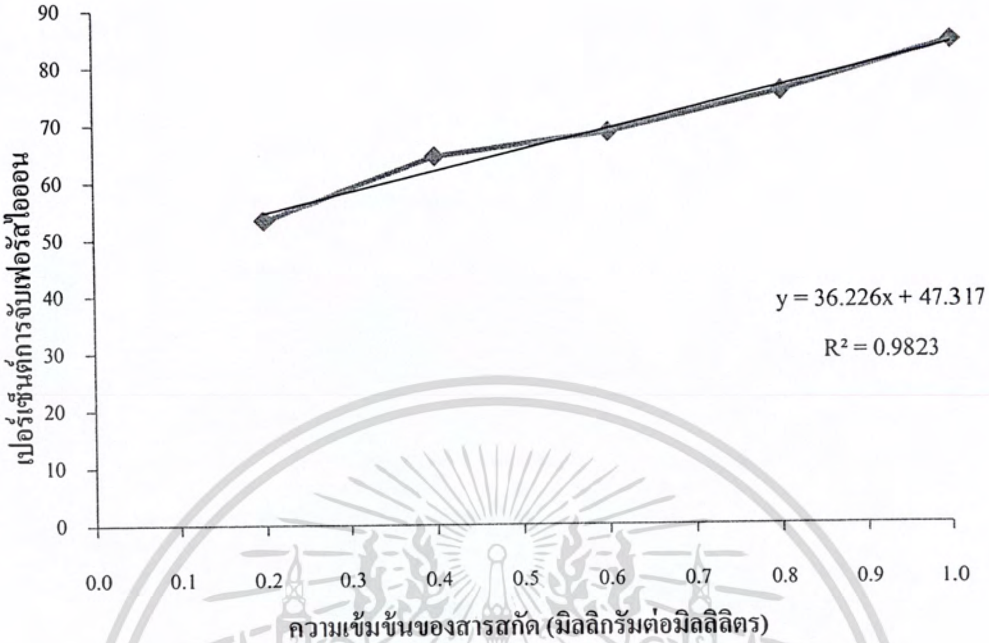
$A_2$ = ค่าการดูดกลืนแสงของ blank



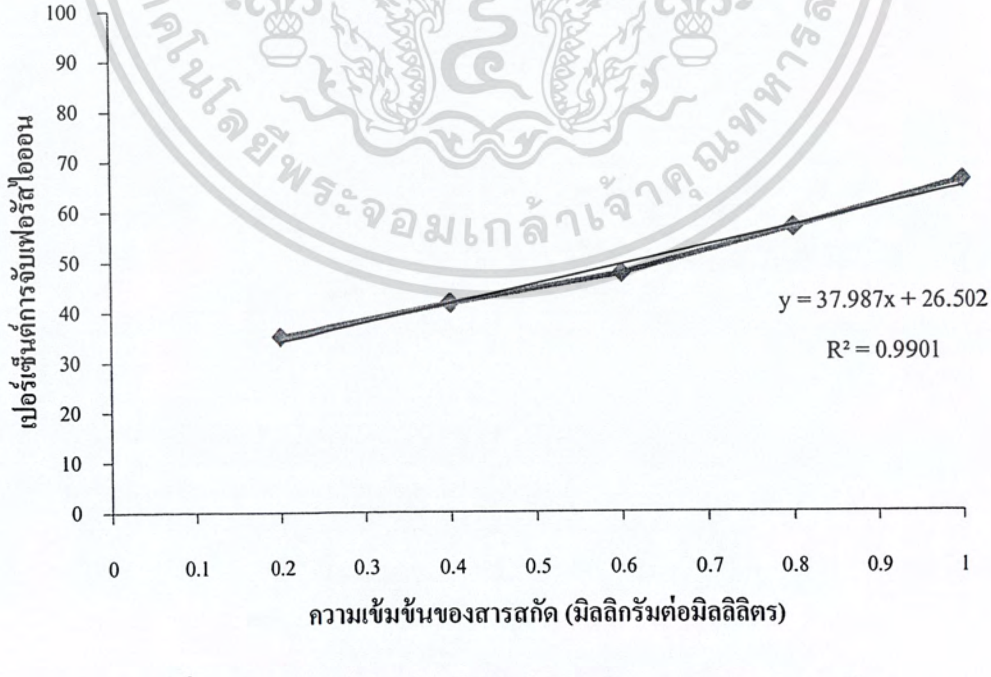
รูปที่ ค-11 กราฟแสดงสมการหาค่า $IC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน



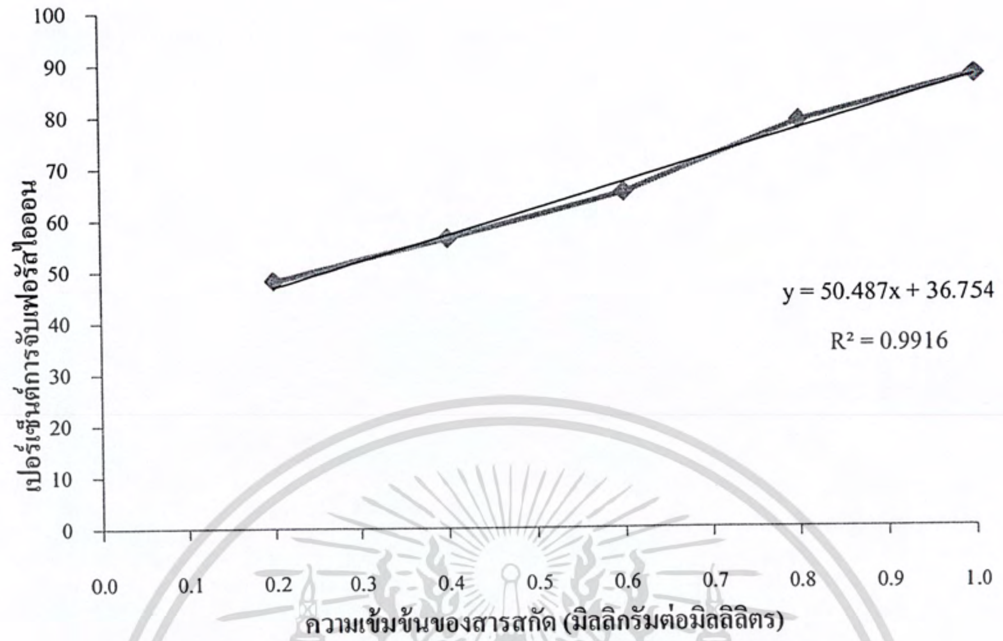
รูปที่ ค-12 กราฟแสดงสมการหาค่า $IC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. W54 ที่สกัดด้วยเอทานอล



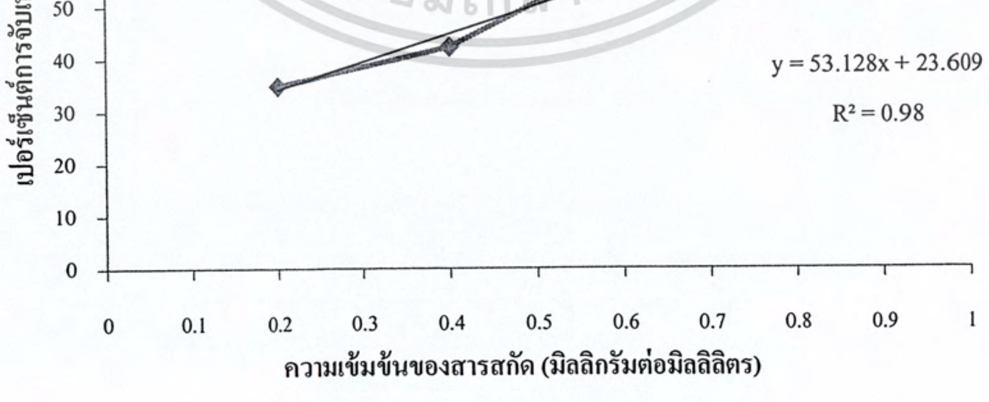
รูปที่ ค-13 กราฟแสดงสมการหาค่า $IC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน



รูปที่ ค-14 กราฟแสดงสมการหาค่า $IC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Monoraphidium* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล



รูปที่ ค-15 กราฟแสดงสมการหาค่า $IC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยน้ำร้อน



รูปที่ ค-16 กราฟแสดงสมการหาค่า $IC_{50}$ ของสารสกัดจากสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. W53 ที่สกัดด้วยเอทานอล

# ภาคผนวก ง

# ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

**ตาราง ง-1 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน ซ้ำที่ 1**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CW1 | 2 | 16.2610 | 1.63766 | 1.15800 | 1.5472 | 30.9748 | 15.10 | 17.42 |
| MW | 2 | 29.3890 | 25.55625 | 18.07100 | -200.2248 | 259.0028 | 11.32 | 47.46 |
| AW1 | 2 | 6.7155 | .08132 | .05750 | 5.9849 | 7.4461 | 6.66 | 6.77 |
| Total | 6 | 17.4552 | 15.32434 | 6.25613 | 1.3733 | 33.5371 | 6.66 | 47.46 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | Df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 518.366 | 2 | 259.183 | 1.186 | .417 |
| Within Groups | 655.811 | 3 | 218.604 | | |
| Total | 1174.176 | 5 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AW1 | 2 | 6.7155 |
| CW1 | 2 | 16.2610 |
| MW | 2 | 29.3890 |
| Sig. | | .222 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

**ตาราง ง-1 (ต่อ)  วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน ซ้ำที่ 2**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CW2 | 2 | 6.2655 | 1.37108 | .96950 | -6.0532 | 18.5842 | 5.30 | 7.24 |
| MW2 | 2 | 26.8750 | 22.35023 | 15.80400 | -173.9339 | 227.6839 | 11.07 | 42.68 |
| AW2 | 2 | 4.0240 | .13435 | .09500 | 2.8169 | 5.2311 | 3.93 | 4.12 |
| Total | 6 | 12.3882 | 15.07355 | 6.15375 | -3.4306 | 28.2069 | 3.93 | 42.68 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 634.629 | 2 | 317.315 | 1.898 | .293 |
| Within Groups | 501.431 | 3 | 167.144 | | |
| Total | 1136.060 | 5 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AW2 | 2 | 4.0240 |
| CW2 | 2 | 6.2655 |
| MW2 | 2 | 26.8750 |
| Sig. | | .175 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a  Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

**ตาราง ง-1 (ต่อ) วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน ซ้ำที่ 3**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CW3 | 2 | 2.4340 | .11597 | .08200 | 1.3921 | 3.4759 | 2.35 | 2.52 |
| MW3 | 2 | 10.2760 | 5.65968 | 4.00200 | -40.5742 | 61.1262 | 6.27 | 14.28 |
| AW3 | 2 | 1.1630 | 1.19360 | .84400 | -9.5610 | 11.8870 | .32 | 2.01 |
| Total | 6 | 4.6243 | 5.11683 | 2.08894 | -.7454 | 9.9941 | .32 | 14.28 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 97.439 | 2 | 48.720 | 4.367 | .129 |
| Within Groups | 33.470 | 3 | 11.157 | | |
| Total | 130.910 | 5 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AW3 | 2 | 1.1630 |
| CW3 | 2 | 2.4340 |
| MW3 | 2 | 10.2760 |
| Sig. | | .072 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

**ตาราง ง-2 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล ซ้ำที่ 1**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE1 | 2 | 16.6990 | 7.14602 | 5.05300 | -47.5055 | 80.9035 | 11.65 | 21.75 |
| ME1 | 2 | 12.5810 | 3.82686 | 2.70600 | -21.8020 | 46.9640 | 9.88 | 15.29 |
| AE1 | 2 | 7.5650 | .29981 | .21200 | 4.8713 | 10.2587 | 7.35 | 7.78 |
| Total | 6 | 12.2817 | 5.46807 | 2.23233 | 6.5433 | 18.0201 | 7.35 | 21.75 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 83.699 | 2 | 41.849 | 1.908 | .292 |
| Within Groups | 65.800 | 3 | 21.933 | | |
| Total | 149.499 | 5 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AE1 | 2 | 7.5650 |
| ME1 | 2 | 12.5810 |
| CE1 | 2 | 16.6990 |
| Sig. | | .146 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

**ตาราง ง-2 (ต่อ) วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล ซ้ำที่ 2**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE2 | 2 | 3.1000 | .15556 | .11000 | 1.7023 | 4.4977 | 2.99 | 3.21 |
| ME2 | 2 | 3.8020 | .57700 | .40800 | -1.3821 | 8.9861 | 3.39 | 4.21 |
| AE2 | 2 | 3.0895 | .18738 | .13250 | 1.4059 | 4.7731 | 2.96 | 3.22 |
| Total | 6 | 3.3305 | .46028 | .18791 | 2.8475 | 3.8135 | 2.96 | 4.21 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .667 | 2 | .334 | 2.551 | .225 |
| Within Groups | .392 | 3 | .131 | | |
| Total | 1.059 | 5 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AE2 | 2 | 3.0895 |
| CE2 | 2 | 3.1000 |
| ME2 | 2 | 3.8020 |
| Sig. | | .143 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

**ตาราง ง-2 (ต่อ)** **วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าผลได้ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล ซ้ำที่ 3**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE3 | 2 | 1.7380 | .36911 | .26100 | -1.5783 | 5.0543 | 1.48 | 2.00 |
| ME3 | 2 | 1.3845 | .54235 | .38350 | -3.4883 | 6.2573 | 1.00 | 1.77 |
| AE3 | 2 | 2.0140 | .34083 | .24100 | -1.0482 | 5.0762 | 1.77 | 2.26 |
| Total | 6 | 1.7122 | .43470 | .17747 | 1.2560 | 2.1684 | 1.00 | 2.26 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .398 | 2 | .199 | 1.093 | .440 |
| Within Groups | .547 | 3 | .182 | | |
| Total | .945 | 5 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| ME3 | 2 | 1.3845 |
| CE3 | 2 | 1.7380 |
| AE3 | 2 | 2.0140 |
| Sig. | | .235 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

**ตาราง ง-3 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าผลได้รวม (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CW | 3 | 8.3203 | 7.13875 | 4.12156 | -9.4133 | 26.0540 | 2.43 | 16.26 |
| MW | 3 | 22.1800 | 10.38552 | 5.99608 | -3.6191 | 47.9791 | 10.28 | 29.39 |
| AW | 3 | 3.9720 | 2.78336 | 1.60698 | -2.9423 | 10.8863 | 1.16 | 6.73 |
| CE | 3 | 7.1800 | 8.27256 | 4.77616 | -13.3702 | 27.7302 | 1.74 | 16.70 |
| ME | 3 | 6.5233 | 5.25409 | 3.03345 | -6.5285 | 19.5752 | 3.19 | 12.58 |
| AE | 3 | 4.2233 | 2.94817 | 1.70213 | -3.1003 | 11.5470 | 2.01 | 7.57 |
| Total | 18 | 8.7332 | 8.52840 | 2.01016 | 4.4921 | 12.9742 | 1.16 | 29.39 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 693.872 | 5 | 138.774 | 3.069 | .052 |
| Within Groups | 542.600 | 12 | 45.217 | | |
| Total | 1236.473 | 17 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| AW | 3 | 3.9720 | |
| AE | 3 | 4.2233 | |
| ME | 3 | 6.5233 | |
| CE | 3 | 7.1800 | |
| CW | 3 | 8.3203 | |
| MW | 3 | | 22.1800 |
| Sig. | | .482 | 1.000 |

**ตาราง ง-4 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenoliac) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CW | 2 | 13.0000 | 9.42811 | 6.66668 | -71.7083 | 97.7082 | 6.33 | 19.67 |
| MW | 2 | 17.7222 | 17.52056 | 12.38891 | -139.6938 | 175.1382 | 5.33 | 30.11 |
| AW | 2 | 5.1667 | 1.49277 | 1.05555 | -8.2454 | 18.5787 | 4.11 | 6.22 |
| Total | 6 | 11.9629 | 10.57314 | 4.31646 | .8671 | 23.0588 | 4.11 | 30.11 |

a Warning: Between-component variance is negative. It was replaced by 0.0 in computing this random effects measure.

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 160.868 | 2 | 80.434 | .606 | .601 |
| Within Groups | 398.088 | 3 | 132.696 | | |
| Total | 558.956 | 5 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AW | 2 | 5.1667 |
| CW | 2 | 13.0000 |
| MW | 2 | 17.7222 |
| Sig. | | .353 |

ตาราง ง-5 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenoliac) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 21.8333 | 2.12132 | 1.50000 | 2.7740 | 40.8926 | 20.33 | 23.33 |
| ME | 2 | 25.0556 | 2.43563 | 1.72225 | 3.1723 | 46.9388 | 23.33 | 26.78 |
| AE | 2 | 13.3889 | 1.02135 | .72220 | 4.2125 | 22.5653 | 12.67 | 14.11 |
| Total | 6 | 20.0926 | 5.59779 | 2.28529 | 14.2181 | 25.9671 | 12.67 | 26.78 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 145.201 | 2 | 72.601 | 18.980 | .020 |
| Within Groups | 11.475 | 3 | 3.825 | | |
| Total | 156.676 | 5 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| AE | 2 | 13.3889 | |
| CE | 2 | | 21.8333 |
| ME | 2 | | 25.0556 |
| Sig. | | 1.000 | .198 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

**ตาราง ง-6 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenoliac) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 21.8333 | 2.12132 | 1.50000 | 2.7740 | 40.8926 | 20.33 | 23.33 |
| ME | 2 | 25.0556 | 2.43563 | 1.72225 | 3.1723 | 46.9388 | 23.33 | 26.78 |
| AE | 2 | 13.3889 | 1.02135 | .72220 | 4.2125 | 22.5653 | 12.67 | 14.11 |
| CW | 2 | 13.2780 | 9.03548 | 6.38905 | -67.9026 | 94.4585 | 6.89 | 19.67 |
| MW | 2 | 17.7221 | 17.52076 | 12.38905 | -139.6958 | 175.1399 | 5.33 | 30.11 |
| AW | 2 | 5.1666 | 1.49284 | 1.05560 | -8.2461 | 18.5793 | 4.11 | 6.22 |
| Total | 12 | 16.0741 | 9.06254 | 2.61613 | 10.3160 | 21.8321 | 4.11 | 30.11 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 501.106 | 5 | 100.221 | 1.495 | .317 |
| Within Groups | 402.321 | 6 | 67.054 | | |
| Total | 903.427 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AW | 2 | 5.1666 |
| CW | 2 | 13.2780 |
| AE | 2 | 13.3889 |
| MW | 2 | 17.7221 |
| CE | 2 | 21.8333 |
| ME | 2 | 25.0556 |
| Sig. | | .063 |

**ตาราง ง-7 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ที่เวลา 0 นาที**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| AE | 2 | .0260 | .00283 | .00200 | .0006 | .0514 | .02 | .03 |
| CE | 2 | .0355 | .00212 | .00150 | .0164 | .0546 | .03 | .04 |
| ME | 2 | .0370 | .00424 | .00300 | -.0011 | .0751 | .03 | .04 |
| AW | 2 | .0240 | .00283 | .00200 | -.0014 | .0494 | .02 | .03 |
| CW | 2 | .0220 | .00283 | .00200 | -.0034 | .0474 | .02 | .02 |
| MW | 2 | .0290 | .01697 | .01200 | -.1235 | .1815 | .02 | .04 |
| Total | 12 | .0289 | .00805 | .00232 | .0238 | .0340 | .02 | .04 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .000 | 5 | .000 | 1.358 | .356 |
| Within Groups | .000 | 6 | .000 | | |
| Total | .001 | 11 | | | |

**Duncan**

| ALGAE | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| CW | 2 | .0220 |
| AW | 2 | .0240 |
| AE | 2 | .0260 |
| MW | 2 | .0290 |
| CE | 2 | .0355 |
| ME | 2 | .0370 |
| Sig. | | .106 |

**ตาราง ง-8 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ที่เวลา 30 นาที**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| AE | 2 | .0595 | .00636 | .00450 | .0023 | .1167 | .06 | .06 |
| CE | 2 | .0710 | .01556 | .01100 | -.0688 | .2108 | .06 | .08 |
| ME | 2 | .0555 | .00212 | .00150 | .0364 | .0746 | .05 | .06 |
| AW | 2 | .0495 | .00919 | .00650 | -.0331 | .1321 | .04 | .06 |
| CW | 2 | .0510 | .00566 | .00400 | .0002 | .1018 | .05 | .06 |
| MW | 2 | .0550 | .02404 | .01700 | -.1610 | .2710 | .04 | .07 |
| Total | 12 | .0569 | .01200 | .00346 | .0493 | .0645 | .04 | .08 |

a Warning: Between-component variance is negative. It was replaced by 0.0 in computing this random effects measure.

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .001 | 5 | .000 | .735 | .623 |
| Within Groups | .001 | 6 | .000 | | |
| Total | .002 | 11 | | | |

**Duncan**

| ALGAE | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AW | 2 | .0495 |
| CW | 2 | .0510 |
| MW | 2 | .0550 |
| ME | 2 | .0555 |
| AE | 2 | .0595 |
| CE | 2 | .0710 |
| Sig. | | .161 |

**ตาราง ง-9 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ที่เวลา 60 นาที**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| AE | 2 | .0735 | .00354 | .00250 | .0417 | .1053 | .07 | .08 |
| CE | 2 | .0965 | .00354 | .00250 | .0647 | .1283 | .09 | .10 |
| ME | 2 | .1075 | .04455 | .03150 | -.2927 | .5077 | .08 | .14 |
| AW | 2 | .0725 | .00495 | .00350 | .0280 | .1170 | .07 | .08 |
| CW | 2 | .0750 | .00424 | .00300 | .0369 | .1131 | .07 | .08 |
| MW | 2 | .0890 | .04243 | .03000 | -.2922 | .4702 | .06 | .12 |
| Total | 12 | .0857 | .02322 | .00670 | .0709 | .1004 | .06 | .14 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .002 | 5 | .000 | .648 | .675 |
| Within Groups | .004 | 6 | .001 | | |
| Total | .006 | 11 | | | |

**Duncan**

| ALGAE | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AW | 2 | .0725 |
| AE | 2 | .0735 |
| CW | 2 | .0750 |
| MW | 2 | .0890 |
| CE | 2 | .0965 |
| ME | 2 | .1075 |
| Sig. | | .235 |

**ตาราง ง-10 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ที่เวลา 90 นาที**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| AE | 2 | .1355 | .05020 | .03550 | -.3156 | .5866 | .10 | .17 |
| CE | 2 | .1425 | .04172 | .02950 | -.2323 | .5173 | .11 | .17 |
| ME | 2 | .1260 | .06930 | .04900 | -.4966 | .7486 | .08 | .18 |
| AW | 2 | .0700 | .01697 | .01200 | -.0825 | .2225 | .06 | .08 |
| CW | 2 | .1055 | .01768 | .01250 | -.0533 | .2643 | .09 | .12 |
| MW | 2 | .1175 | .05728 | .04050 | -.3971 | .6321 | .08 | .16 |
| Total | 12 | .1162 | .04239 | .01224 | .0892 | .1431 | .06 | .18 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .007 | 5 | .001 | .632 | .684 |
| Within Groups | .013 | 6 | .002 | | |
| Total | .020 | 11 | | | |

**Duncan**

| ALGAE | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| AW | 2 | .0700 |
| CW | 2 | .1055 |
| MW | 2 | .1175 |
| ME | 2 | .1260 |
| AE | 2 | .1355 |
| CE | 2 | .1425 |
| Sig. | | .188 |

**ตาราง ง-11 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity) ของสาร สกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ที่เวลา 120 นาที**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| AE | 2 | .1805 | .06152 | .04350 | -.3722 | .7332 | .14 | .22 |
| CE | 2 | .2255 | .06718 | .04750 | -.3780 | .8290 | .18 | .27 |
| ME | 2 | .2075 | .05020 | .03550 | -.2436 | .6586 | .17 | .24 |
| AW | 2 | .0930 | .00990 | .00700 | .0041 | .1819 | .09 | .10 |
| CW | 2 | .1225 | .02333 | .01650 | -.0872 | .3322 | .11 | .14 |
| MW | 2 | .1315 | .05303 | .03750 | -.3450 | .6080 | .09 | .17 |
| Total | 12 | .1601 | .06151 | .01776 | .1210 | .1992 | .09 | .27 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .027 | 5 | .005 | 2.299 | .170 |
| Within Groups | .014 | 6 | .002 | | |
| Total | .042 | 11 | | | |

**Duncan**

| ALGAE | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| AW | 2 | .0930 | |
| CW | 2 | .1225 | .1225 |
| MW | 2 | .1315 | .1315 |
| AE | 2 | .1805 | .1805 |
| ME | 2 | .2075 | .2075 |
| CE | 2 | | .2255 |
| Sig. | | .069 | .093 |

**ตาราง ง-12 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชัน (Total antioxidant capacity) ของสาร สกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ที่เวลา 150 นาที**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| AE | 2 | .2180 | .06364 | .04500 | -.3538 | .7898 | .17 | .26 |
| CE | 2 | .2895 | .15203 | .10750 | -1.0764 | 1.6554 | .18 | .40 |
| ME | 2 | .2185 | .05303 | .03750 | -.2580 | .6950 | .18 | .26 |
| AW | 2 | .1475 | .01626 | .01150 | .0014 | .2936 | .14 | .16 |
| CW | 2 | .1285 | .00636 | .00450 | .0713 | .1857 | .12 | .13 |
| MW | 2 | .1240 | .02970 | .02100 | -.1428 | .3908 | .10 | .14 |
| Total | 12 | .1877 | .08201 | .02367 | .1356 | .2398 | .10 | .40 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .043 | 5 | .009 | 1.649 | .279 |
| Within Groups | .031 | 6 | .005 | | |
| Total | .074 | 11 | | | |

**Duncan**

| ALGAE | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| MW | 2 | .1240 |
| CW | 2 | .1285 |
| AW | 2 | .1475 |
| AE | 2 | .2180 |
| ME | 2 | .2185 |
| CE | 2 | .2895 |
| Sig. | | .074 |

**ตาราง ง-13 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 36.3781 | .73320 | .51845 | 29.7905 | 42.9656 | 35.86 | 36.90 |
| CW | 2 | 28.2612 | .71991 | .50905 | 21.7931 | 34.7292 | 27.75 | 28.77 |
| ME | 2 | 34.2655 | .41069 | .29040 | 30.5756 | 37.9554 | 33.98 | 34.56 |
| MW | 2 | 30.1980 | .50240 | .35525 | 25.6841 | 34.7118 | 29.84 | 30.55 |
| AE | 2 | 30.4338 | .81261 | .57460 | 23.1328 | 37.7348 | 29.86 | 31.01 |
| AW | 2 | 25.6643 | 2.28077 | 1.61275 | 5.1723 | 46.1562 | 24.05 | 27.28 |
| Total | 12 | 30.8668 | 3.81589 | 1.10155 | 28.4423 | 33.2913 | 24.05 | 36.90 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 152.832 | 5 | 30.566 | 24.989 | .001 |
| Within Groups | 7.339 | 6 | 1.223 | | |
| Total | 160.171 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| AW | 2 | 25.6643 | | |
| CW | 2 | 28.2612 | 28.2612 | |
| MW | 2 | | 30.1980 | |
| AE | 2 | | 30.4338 | |
| ME | 2 | | | 34.2655 |
| CE | 2 | | | 36.3781 |
| Sig. | | .057 | .107 | .105 |

**ตาราง ง-14 วิเคราะห์ความแปรปรวน และ**

## การเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่า ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 40.3015 | .50325 | .35585 | 35.7799 | 44.8230 | 39.95 | 40.66 |
| CW | 2 | 30.7237 | 1.28807 | .91080 | 19.1509 | 42.2965 | 29.81 | 31.63 |
| ME | 2 | 39.5161 | .01853 | .01310 | 39.3496 | 39.6826 | 39.50 | 39.53 |
| MW | 2 | 32.0007 | 1.90502 | 1.34705 | 14.8848 | 49.1165 | 30.65 | 33.35 |
| AE | 2 | 35.7447 | .20386 | .14415 | 33.9131 | 37.5762 | 35.60 | 35.89 |
| AW | 2 | 32.3834 | 2.19337 | 1.55095 | 12.6767 | 52.0900 | 30.83 | 33.93 |
| Total | 12 | 35.1117 | 4.00697 | 1.15671 | 32.5657 | 37.6576 | 29.81 | 40.66 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 166.220 | 5 | 33.244 | 19.190 | .001 |
| Within Groups | 10.394 | 6 | 1.732 | | |
| Total | 176.614 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| CW | 2 | 30.7237 | | |
| MW | 2 | 32.0007 | | |
| AW | 2 | 32.3834 | | |
| AE | 2 | | 35.7447 | |
| ME | 2 | | | 39.5161 |
| CE | 2 | | | 40.3015 |
| Sig. | | .268 | 1.000 | .573 |

**ตาราง ง-15 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 44.7015 | 1.19614 | .84580 | 33.9546 | 55.4484 | 43.86 | 45.55 |
| CW | 2 | 34.8790 | 3.76831 | 2.66460 | 1.0220 | 68.7360 | 32.21 | 37.54 |
| ME | 2 | 45.4916 | .84888 | .60025 | 37.8647 | 53.1184 | 44.89 | 46.09 |
| MW | 2 | 35.4786 | 3.36272 | 2.37780 | 5.2658 | 65.6914 | 33.10 | 37.86 |
| AE | 2 | 40.3589 | 1.17655 | .83195 | 29.7879 | 50.9298 | 39.53 | 41.19 |
| AW | 2 | 35.6975 | 1.55443 | 1.09915 | 21.7314 | 49.6635 | 34.60 | 36.80 |
| Total | 12 | 39.4345 | 4.88748 | 1.41089 | 36.3291 | 42.5398 | 32.21 | 46.09 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 231.302 | 5 | 46.260 | 8.823 | .010 |
| Within Groups | 31.460 | 6 | 5.243 | | |
| Total | 262.762 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| CW | 2 | 34.8790 | |
| MW | 2 | 35.4786 | |
| AW | 2 | 35.6975 | |
| AE | 2 | 40.3589 | 40.3589 |
| CE | 2 | | 44.7015 |
| ME | 2 | | 45.4916 |
| Sig. | | .064 | .074 |

**ตาราง ง-16 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 49.0181 | .26729 | .18900 | 46.6166 | 51.4196 | 48.83 | 49.21 |
| CW | 2 | 37.9173 | 3.57725 | 2.52950 | 5.7770 | 70.0576 | 35.39 | 40.45 |
| ME | 2 | 50.4170 | 1.99736 | 1.41235 | 32.4713 | 68.3626 | 49.00 | 51.83 |
| MW | 2 | 37.8649 | 4.32212 | 3.05620 | -.9678 | 76.6976 | 34.81 | 40.92 |
| AE | 2 | 42.8612 | .74359 | .52580 | 36.1803 | 49.5421 | 42.34 | 43.39 |
| AW | 2 | 40.0039 | .75406 | .53320 | 33.2290 | 46.7788 | 39.47 | 40.54 |
| Total | 12 | 43.0137 | 5.57195 | 1.60848 | 39.4735 | 46.5540 | 34.81 | 51.83 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 304.853 | 5 | 60.971 | 9.979 | .007 |
| Within Groups | 36.660 | 6 | 6.110 | | |
| Total | 341.513 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| MW | 2 | 37.8649 | |
| CW | 2 | 37.9173 | |
| AW | 2 | 40.0039 | |
| AE | 2 | 42.8612 | |
| CE | 2 | | 49.0181 |
| ME | 2 | | 50.4170 |
| Sig. | | .103 | .592 |

**ตาราง ง-17 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 53.6643 | .12735 | .09005 | 52.5201 | 54.8084 | 53.57 | 53.75 |
| CW | 2 | 41.6601 | 1.33940 | .94710 | 29.6261 | 53.6941 | 40.71 | 42.61 |
| ME | 2 | 57.4557 | 2.72611 | 1.92765 | 32.9625 | 81.9488 | 55.53 | 59.38 |
| MW | 2 | 40.7977 | 5.17065 | 3.65620 | -5.6587 | 87.2541 | 37.14 | 44.45 |
| AE | 2 | 45.8937 | .15061 | .10650 | 44.5405 | 47.2469 | 45.79 | 46.00 |
| AW | 2 | 43.6501 | .55501 | .39245 | 38.6636 | 48.6367 | 43.26 | 44.04 |
| Total | 12 | 47.1869 | 6.75689 | 1.95055 | 42.8938 | 51.4800 | 37.14 | 59.38 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 465.903 | 5 | 93.181 | 15.398 | .002 |
| Within Groups | 36.308 | 6 | 6.051 | | |
| Total | 502.212 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| MW | 2 | 40.7977 | |
| CW | 2 | 41.6601 | |
| AW | 2 | 43.6501 | |
| AE | 2 | 45.8937 | |
| CE | 2 | | 53.6643 |
| ME | 2 | | 57.4557 |
| Sig. | | .096 | .174 |

**ตาราง ง-18** **วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 58.1588 | 1.02835 | .72715 | 48.9194 | 67.3981 | 57.43 | 58.89 |
| CW | 2 | 47.4667 | .71496 | .50555 | 41.0430 | 53.8903 | 46.96 | 47.97 |
| ME | 2 | 57.4557 | 2.72611 | 1.92765 | 32.9625 | 81.9488 | 55.53 | 59.38 |
| MW | 2 | 40.7977 | 5.17065 | 3.65620 | -5.6587 | 87.2541 | 37.14 | 44.45 |
| AE | 2 | 50.2062 | 1.39300 | .98500 | 37.6906 | 62.7218 | 49.22 | 51.19 |
| AW | 2 | 48.8618 | 2.11100 | 1.49270 | 29.8952 | 67.8284 | 47.37 | 50.35 |
| Total | 12 | 50.4911 | 6.52560 | 1.88378 | 46.3450 | 54.6373 | 37.14 | 59.38 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 426.286 | 5 | 85.257 | 12.141 | .004 |
| Within Groups | 42.133 | 6 | 7.022 | | |
| Total | 468.418 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| MW | 2 | 40.7977 | | |
| CW | 2 | | 47.4667 | |
| AW | 2 | | 48.8618 | |
| AE | 2 | | 50.2062 | |
| ME | 2 | | | 57.4557 |
| CE | 2 | | | 58.1588 |
| Sig. | | 1.000 | .356 | .800 |

**ตาราง ง-19 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 1.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 65.0236 | 3.21232 | 2.27145 | 36.1620 | 93.8851 | 62.75 | 67.30 |
| CW | 2 | 53.1725 | 3.63927 | 2.57335 | 20.4749 | 85.8700 | 50.60 | 55.75 |
| ME | 2 | 65.0207 | 8.58336 | 6.06935 | -12.0978 | 142.1391 | 58.95 | 71.09 |
| MW | 2 | 49.4099 | 8.66439 | 6.12665 | -28.4365 | 127.2564 | 43.28 | 55.54 |
| AE | 2 | 55.6568 | 1.69076 | 1.19555 | 40.4658 | 70.8477 | 54.46 | 56.85 |
| AW | 2 | 52.1261 | 2.16134 | 1.52830 | 32.7072 | 71.5450 | 50.60 | 53.65 |
| Total | 12 | 56.7349 | 7.58017 | 2.18821 | 51.9187 | 61.5511 | 43.28 | 71.09 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 452.210 | 5 | 90.442 | 3.017 | .106 |
| Within Groups | 179.839 | 6 | 29.973 | | |
| Total | 632.049 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| MW | 2 | 49.4099 | |
| AW | 2 | 52.1261 | 52.1261 |
| CW | 2 | 53.1725 | 53.1725 |
| AE | 2 | 55.6568 | 55.6568 |
| ME | 2 | | 65.0207 |
| CE | 2 | | 65.0236 |
| Sig. | | .316 | .068 |

**ตาราง ง-20 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (scavenging activity on DPPH radical) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 70.0454 | 2.13115 | 1.50695 | 50.8977 | 89.1930 | 68.54 | 71.55 |
| CW | 2 | 58.2197 | 2.78706 | 1.97075 | 33.1789 | 83.2604 | 56.25 | 60.19 |
| ME | 2 | 70.5982 | 5.31285 | 3.75675 | 22.8641 | 118.3322 | 66.84 | 74.35 |
| MW | 2 | 54.6546 | 6.43163 | 4.54785 | -3.1314 | 112.4405 | 50.11 | 59.20 |
| AE | 2 | 60.6880 | 1.13872 | .80520 | 50.4570 | 70.9190 | 59.88 | 61.49 |
| AW | 2 | 56.6008 | 2.07034 | 1.46395 | 37.9995 | 75.2020 | 55.14 | 58.06 |
| Total | 12 | 61.8011 | 7.15136 | 2.06442 | 57.2573 | 66.3448 | 50.11 | 74.35 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 475.077 | 5 | 95.015 | 6.516 | .021 |
| Within Groups | 87.485 | 6 | 14.581 | | |
| Total | 562.561 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | |
|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 |
| MW | 2 | 54.6546 | |
| AW | 2 | 56.6008 | |
| CW | 2 | 58.2197 | |
| AE | 2 | 60.6880 | |
| CE | 2 | | 70.0454 |
| ME | 2 | | 70.5982 |
| Sig. | | .182 | .890 |

**ตาราง ง-21** วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการจับ Ferrous ion ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 46.1916 | 6.46624 | 4.57232 | -11.9053 | 104.2884 | 41.62 | 50.76 |
| CW | 2 | 29.8666 | 3.56017 | 2.51742 | -2.1203 | 61.8535 | 27.35 | 32.38 |
| ME | 2 | 35.1009 | .26023 | .18401 | 32.7629 | 37.4390 | 34.92 | 35.28 |
| MW | 2 | 53.2624 | 2.84644 | 2.01274 | 27.6882 | 78.8367 | 51.25 | 55.28 |
| AE | 2 | 34.8946 | 7.12863 | 5.04070 | -29.1536 | 98.9428 | 29.85 | 39.94 |
| AW | 2 | 48.0594 | 3.52619 | 2.49339 | 16.3778 | 79.7409 | 45.57 | 50.55 |
| Total | 12 | 41.2293 | 9.39846 | 2.71310 | 35.2578 | 47.2008 | 27.35 | 55.28 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 845.732 | 5 | 169.146 | 8.060 | .012 |
| Within Groups | 125.908 | 6 | 20.985 | | |
| Total | 971.641 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| CW | 2 | 29.8666 | | |
| AE | 2 | 34.8946 | 34.8946 | |
| ME | 2 | 35.1009 | 35.1009 | |
| CE | 2 | | 46.1916 | 46.1916 |
| AW | 2 | | | 48.0594 |
| MW | 2 | | | 53.2624 |
| Sig. | | .311 | .055 | .186 |

**ตาราง ง-22 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการจับ Ferrous ion ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 49.4703 | 8.53228 | 6.03323 | -27.1892 | 126.1298 | 43.44 | 55.50 |
| CW | 2 | 42.0031 | 3.50919 | 2.48137 | 10.4743 | 73.5320 | 39.52 | 44.48 |
| ME | 2 | 41.6806 | .05520 | .03903 | 41.1847 | 42.1766 | 41.64 | 41.72 |
| MW | 2 | 64.3055 | .82419 | .58279 | 56.9004 | 71.7105 | 63.72 | 64.89 |
| AE | 2 | 42.2995 | 4.55791 | 3.22293 | 1.3484 | 83.2507 | 39.08 | 45.52 |
| AW | 2 | 56.2665 | 6.67002 | 4.71641 | -3.6612 | 116.1942 | 51.55 | 60.98 |
| Total | 12 | 49.3376 | 9.62528 | 2.77858 | 43.2220 | 55.4532 | 39.08 | 64.89 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 868.045 | 5 | 173.609 | 6.896 | .018 |
| Within Groups | 151.060 | 6 | 25.177 | | |
| Total | 1019.105 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| ME | 2 | 41.6806 | | |
| CW | 2 | 42.0031 | | |
| AE | 2 | 42.2995 | | |
| CE | 2 | 49.4703 | 49.4703 | |
| AW | 2 | | 56.2665 | 56.2665 |
| MW | 2 | | | 64.3055 |
| Sig. | | .189 | .224 | .160 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

**ตาราง ง-23 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการจับ Ferrous ion ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 56.4180 | 12.88516 | 9.11119 | -59.3506 | 172.1866 | 47.31 | 65.53 |
| CW | 2 | 51.6583 | 6.32165 | 4.47008 | -5.1395 | 108.4560 | 47.19 | 56.13 |
| ME | 2 | 47.5020 | .68605 | .48511 | 41.3380 | 53.6659 | 47.02 | 47.99 |
| MW | 2 | 68.3790 | 3.16932 | 2.24105 | 39.9038 | 96.8542 | 66.14 | 70.62 |
| AE | 2 | 58.9718 | 17.31690 | 12.24490 | -96.6144 | 214.5580 | 46.73 | 71.22 |
| AW | 2 | 64.9183 | 6.99290 | 4.94472 | 2.0896 | 127.7470 | 59.97 | 69.86 |
| Total | 12 | 57.9745 | 10.37565 | 2.99519 | 51.3822 | 64.5669 | 46.73 | 71.22 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 618.913 | 5 | 123.783 | 1.314 | .370 |
| Within Groups | 565.282 | 6 | 94.214 | | |
| Total | 1184.194 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| ME | 2 | 47.5020 |
| CW | 2 | 51.6583 |
| CE | 2 | 56.4180 |
| AE | 2 | 58.9718 |
| AW | 2 | 64.9183 |
| MW | 2 | 68.3790 |
| Sig. | | .089 |

**ตาราง ง-24 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการจับ Ferrous ion ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 64.3359 | 16.18137 | 11.44195 | -81.0479 | 209.7197 | 52.89 | 75.78 |
| CW | 2 | 61.2353 | 11.01190 | 7.78659 | -37.7027 | 160.1733 | 53.45 | 69.02 |
| ME | 2 | 56.5183 | 1.79793 | 1.27133 | 40.3646 | 72.6721 | 55.25 | 57.79 |
| MW | 2 | 75.3545 | 2.26016 | 1.59817 | 55.0478 | 95.6612 | 73.76 | 76.95 |
| AE | 2 | 64.1798 | 18.40512 | 13.01439 | -101.1837 | 229.5432 | 51.17 | 77.19 |
| AW | 2 | 78.6169 | 5.82033 | 4.11560 | 26.3233 | 130.9105 | 74.50 | 82.73 |
| Total | 12 | 66.7068 | 11.63392 | 3.35842 | 59.3149 | 74.0986 | 51.17 | 82.73 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 724.765 | 5 | 144.953 | 1.138 | .432 |
| Within Groups | 764.064 | 6 | 127.344 | | |
| Total | 1488.829 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| ME | 2 | 56.5183 |
| CW | 2 | 61.2353 |
| AE | 2 | 64.1798 |
| CE | 2 | 64.3359 |
| MW | 2 | 75.3545 |
| AW | 2 | 78.6169 |
| Sig. | | .114 |

**ตาราง ง-25 วิเคราะห์ความแปรปรวน และการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าความสามารถในการจับ Ferrous ion ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**

**Oneway**

**Descriptives**

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| CE | 2 | 69.5941 | 18.69689 | 13.22070 | -98.3908 | 237.5790 | 56.37 | 82.81 |
| CW | 2 | 68.3189 | 6.89093 | 4.87263 | 6.4063 | 130.2315 | 63.45 | 73.19 |
| ME | 2 | 65.6686 | 1.15919 | .81967 | 55.2536 | 76.0835 | 64.85 | 66.49 |
| MW | 2 | 83.9642 | .67125 | .47465 | 77.9332 | 89.9951 | 83.49 | 84.44 |
| AE | 2 | 77.0826 | 14.14687 | 10.00335 | -50.0219 | 204.1872 | 67.08 | 87.09 |
| AW | 2 | 87.3708 | 4.01051 | 2.83586 | 51.3378 | 123.4038 | 84.53 | 90.21 |
| Total | 12 | 75.3332 | 11.32606 | 3.26955 | 68.1370 | 82.5294 | 56.37 | 90.21 |

**ANOVA**

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 796.004 | 5 | 159.201 | 1.553 | .302 |
| Within Groups | 615.071 | 6 | 102.512 | | |
| Total | 1411.075 | 11 | | | |

**Duncan**

| TREATMENT | N | Subset for alpha = .05 |
|---|---|---|
| | | 1 |
| ME | 2 | 65.6686 |
| CW | 2 | 68.3189 |
| CE | 2 | 69.5941 |
| AE | 2 | 77.0826 |
| MW | 2 | 83.9642 |
| AW | 2 | 87.3708 |
| Sig. | | .090 |

**หมายเหตุภาคผนวก ง**

AE : *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล
AW : *Ankistrodesmus* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน
CE : *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยเอทานอล
CW : *Chlorella* sp. W54 สกัดด้วยน้ำร้อน
ME : *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยเอทานอล
MW : *Monoraphidium* sp. W53 สกัดด้วยน้ำร้อน