

#### บทที่ 4

#### ผลการวิจัย

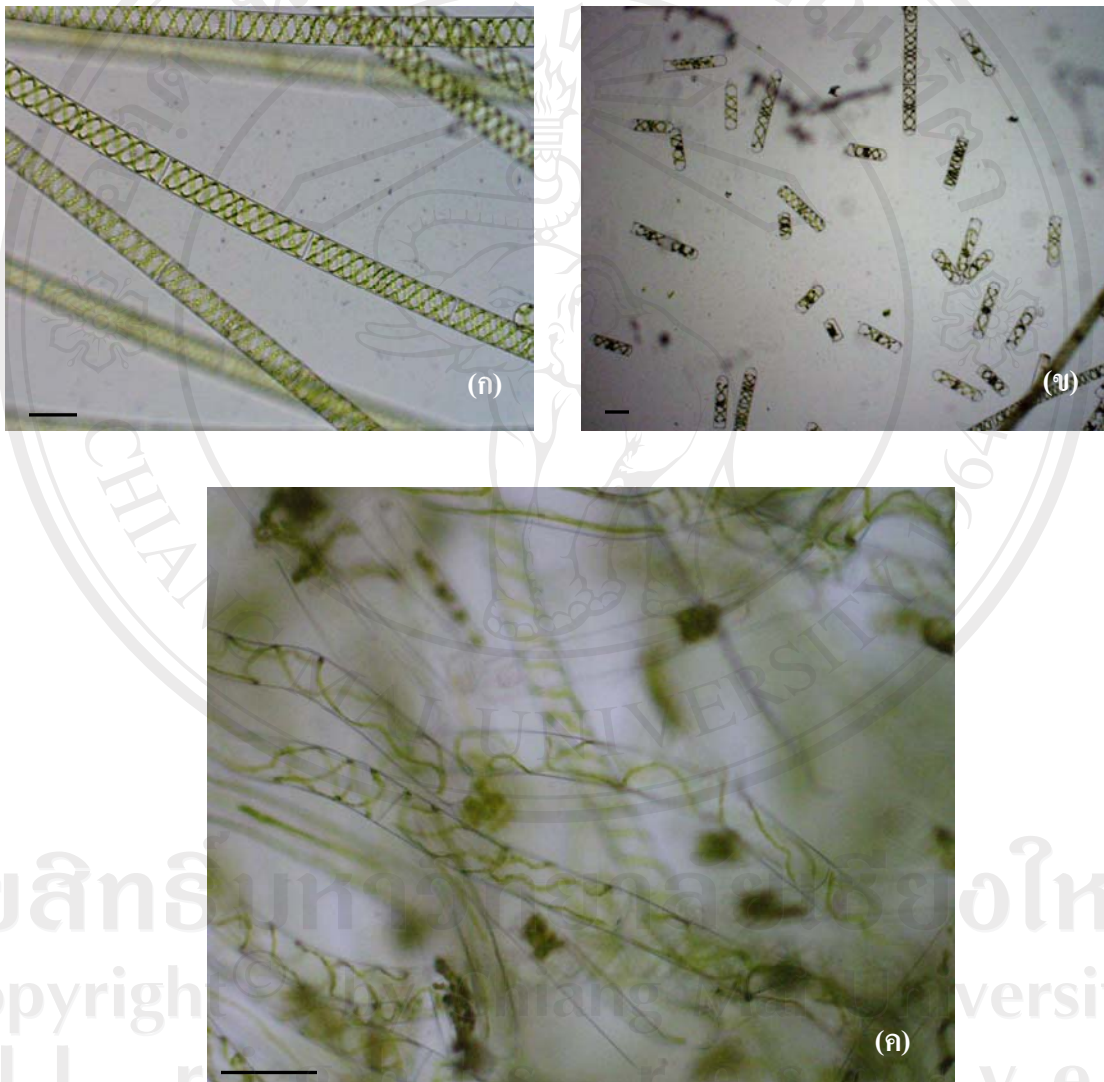
### 1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย *Spirogyra* sp. จากการศึกษาลักษณะเซลล์ คลอโรพลาสต์และการสร้างท่อคอนจูเกชัน

จากการทดลองนำสาหร่าย *Spirogyra* sp. จากบ้านนาคูหา ตำบลสวนเขื่อน อำเภอเมือง จังหวัด  
แพร่ มาเพาะเลี้ยงใน 5 สภาวะ ดังนี้

1. เพาะเลี้ยงในอาหาร Chart-Grote liquid medium ซึ่งไม่มีแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 24 °C
2. เพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 150 ml ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์  
24 ชั่วโมงต่อวัน
3. เพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 20 ml ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์  
24 ชั่วโมงต่อวัน
4. เพาะเลี้ยงในน้ำประปา ปริมาตร 150 ml ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมงแล้วนำมาเลี้ยง  
ต่อภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่อุณหภูมิห้อง 16 ชั่วโมงต่อวัน
5. เพาะเลี้ยงในน้ำประปา ปริมาตร 150 ml ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมงแล้วนำมาเลี้ยง  
ต่อภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่อุณหภูมิห้อง 16 ชั่วโมงต่อวัน

พบว่า การเพาะเลี้ยงทั้ง 5 สภาวะ ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้สาหร่าย *Spirogyra* sp. เกิดการสร้าง  
ท่อคอนจูเกชัน และไซโกสปอร์ได้ โดยผลของการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ 1, 2 และ 3 คือ เลี้ยงในอาหาร  
Chart-Grote liquid medium, เพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 150 ml, 20 ml ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสง  
หลอดฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมงต่อวัน ตามลำดับ พบว่า วันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง vegetative cells บาง  
เส้นเริ่มเกิดการแตกหักของเส้นสายเป็นท่อนเล็กๆ จากนั้นในช่วงวันที่ 5-10 ของการเพาะเลี้ยง  
คลอโรพลาสต์ของแต่ละเส้นสายเกิดการคลายเกลียว ดังภาพ 16 และหลังจากนั้นเส้นสายจะกลายเป็นสี  
เหลืองและตายในที่สุด สำหรับการเพาะเลี้ยงสภาวะที่ 4 คือ เพาะเลี้ยงในน้ำประปา ที่อุณหภูมิ 4 °C  
เป็นเวลา 8 ชั่วโมงแล้วนำมาเลี้ยงต่อภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวันนั้น วันที่ 1-5  
ของการเพาะเลี้ยงลักษณะของเส้นสายจะเป็นเส้นปกติ แต่เมื่อเริ่มเข้าวันที่ 7 คลอโรพลาสต์ของแต่ละ  
เส้นสายเกิดการคลายเกลียว หลังจากนั้นเส้นสายจะกลายเป็นสีเหลืองและตายในวันที่ 10 ของการ

เพาะเลี้ยง และการเพาะเลี้ยงสภาวะสุดท้าย คือเพาะเลี้ยงในน้ำประปา ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมงแล้วนำมาเลี้ยงต่อภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน ให้ผลการทดลอง คือ วันที่ 1 และ 2 จะมีลักษณะเส้นสายปกติ แต่คลอโรพลาสต์จะเกิดการคลายเกลียวในวันที่ 3 และตายเร็วกว่าการเลี้ยงในสภาวะอื่นๆ แสดงได้ดังตาราง 2



ภาพ 16 *Spirogyra* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ก) ลักษณะของเส้นสายปกติของสาหร่าย *Spirogyra* sp., (ข) ลักษณะของเส้นสายที่มี fragmentation, (ค) คลอโรพลาสต์เกิดการคลายเกลียว (Scale bar = 100  $\mu$ m)

ตาราง 2 ผลของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirogyra* sp. ในสภาวะต่างๆ

| สภาวะในการเพาะเลี้ยง         | อุณหภูมิ             | ผลการทดลอง                                                                                                                                                       |
|------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Chart-Grote liquid medium | 24 °C                | วันที่ 1-2 เส้นสายปกติ<br>วันที่ 3 บางเส้นเกิด fragmentation<br>วันที่ 5 คลอโรพลาสต์ของแต่ละเส้นสายเกิดการคลายเกลียว<br>วันที่ 7 เส้นสายเริ่มเป็นสีเหลือง และตาย |
| 2. น้ำประปาปริมาณ 150 ml     | อุณหภูมิห้อง (27 °C) | วันที่ 1-2 เส้นสายปกติ<br>วันที่ 3 บางเส้นเกิด fragmentation<br>วันที่ 10 คลอโรพลาสต์เริ่มเกิดการคลายเกลียว<br>วันที่ 12 เส้นสายเริ่มเป็นสีเหลือง และตาย         |
| 3. น้ำประปาปริมาณ 20 ml      | อุณหภูมิห้อง (27 °C) | วันที่ 1-2 เส้นสายปกติ<br>วันที่ 3 บางเส้นเกิด fragmentation<br>วันที่ 7 คลอโรพลาสต์เริ่มเกิดการคลายเกลียว<br>วันที่ 9 เส้นสายเริ่มเป็นสีเหลือง และตาย           |

ตาราง 2 (ต่อ)

| สภาวะในการเพาะเลี้ยง                                                    | อุณหภูมิ                                                             | ผลการทดลอง                                                                                                                |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4. น้ำปริมาตร 150 ml<br>แล้วนำมาเลี้ยงต่อภายใต้แสง<br>หลอดฟลูออเรสเซนต์ | อุณหภูมิ 4 °C 8 ชั่วโมง<br>อุณหภูมิห้อง (27 °C)<br>16 ชั่วโมงต่อวัน  | วันที่ 1-5 เส้นสายปกติ<br>วันที่ 7 คลอโรพลาสต์เริ่ม<br>เกิดการคลายเกลียว<br>วันที่ 10 เส้นสายเริ่มเป็น<br>สีเหลือง และตาย |
| 5. น้ำปริมาตร 20 ml<br>แล้วนำมาเลี้ยงต่อภายใต้แสง<br>หลอดฟลูออเรสเซนต์  | อุณหภูมิ 30 °C 8 ชั่วโมง<br>อุณหภูมิห้อง (27 °C)<br>16 ชั่วโมงต่อวัน | วันที่ 1-2 เส้นสายปกติ<br>วันที่ 3 คลอโรพลาสต์เริ่ม<br>เกิดการคลายเกลียว<br>วันที่ 5 เส้นสายเริ่มเป็น<br>สีเหลือง และตาย  |

และจากการนำสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่เริ่มสร้างท่อคอนจูเกชันแล้ว จากบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย มาทำการเลี้ยงต่อในน้ำประปา ปริมาตร 150 ml และ 20 ml พบว่า สามารถทำการเลี้ยงต่อจนทำให้สาหร่าย *Spirogyra* sp. สร้างไซโกสปอร์ที่เจริญเต็มที่ ได้ โดยที่การเพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 20 ml สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างไซโกสปอร์ที่เจริญเต็มที่ ได้เร็วกว่าการเพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 150 ml ให้ผลดังตาราง 3

ขั้นตอนของการคอนจูเกชัน เริ่มจากเส้นสายของสาหร่าย *Spirogyra* sp. จะเข้าคู่กัน (ภาพ 17) จากนั้นทั้งสองเส้นจะเริ่มสร้างท่อมาต่อเชื่อมกัน ต่อมาโปรโตพลาสต์ภายในเซลล์จะเริ่มหดตัวและสร้างเซลล์สืบพันธุ์ เส้นสายที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จะไหลผ่านท่อคอนจูเกชันไปยังอีกเส้นหนึ่ง และเกิดการรวมกันระหว่างแกมมิตเพศผู้และเพศเมีย เกิดเป็นไซโกต และมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสได้ 4 นิวเคลียส จากนั้นจะสลายไป 3 นิวเคลียสเหลือเพียงหนึ่งเซลล์เท่านั้น และเจริญเติบโตเป็นไซโกสปอร์ต่อไป (ภาพ 18)

ตาราง 3 ผลของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สร้างท่อคอนจูเกชัน 2 สภาวะ

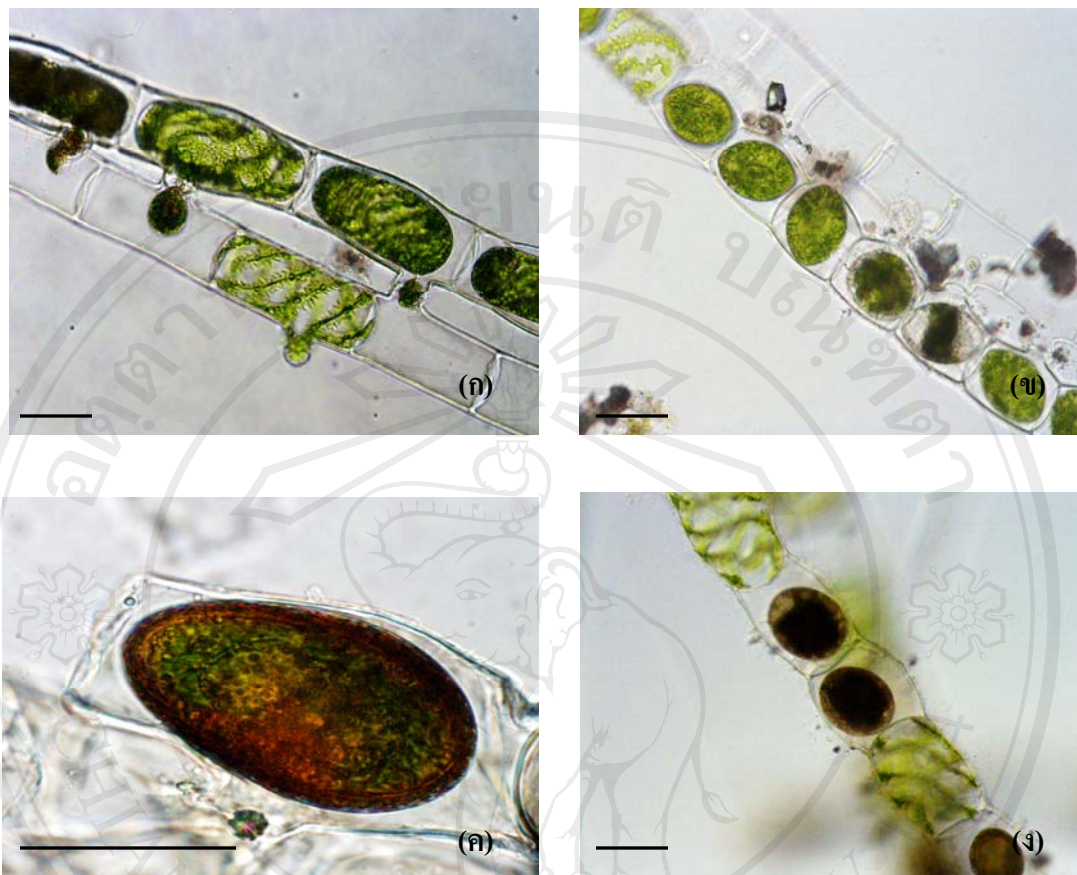
| สภาวะในการเพาะเลี้ยง        | อุณหภูมิ             | ผลการทดลอง                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. น้ำประปาปริมาณ<br>150 ml | อุณหภูมิห้อง (27 °C) | วันที่ 1-2 เส้นสายเริ่มสร้างท่อ<br>คอนจูเกชันและจับคู่กัน<br>แต่กลอโรพลาสต์ ภายในยังปกติ<br>วันที่ 5 กลอโรพลาสต์เริ่มหดตัว<br>วันที่ 8 กลอโรพลาสต์เริ่มไหลมา<br>รวมกัน<br>วันที่ 38-40 ของการเพาะเลี้ยง<br>ไซโกสปอร์เจริญเติบโตเต็มที่ |
| 2. น้ำประปาปริมาณ<br>20 ml  | อุณหภูมิห้อง (27 °C) | วันที่ 1-2 เส้นสายเริ่มสร้างท่อ<br>คอนจูเกชันและจับคู่กัน<br>แต่กลอโรพลาสต์ ภายในยังปกติ<br>วันที่ 3 กลอโรพลาสต์เริ่มหดตัว<br>วันที่ 5 กลอโรพลาสต์เริ่มไหลมา<br>รวมกัน<br>วันที่ 28-30 ของการเพาะเลี้ยง<br>ไซโกสปอร์เจริญเติบโตเต็มที่ |

ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างท่อคอนจูเกชันของสาหร่าย *Spirogyra* sp. เช่น แสง อุณหภูมิ ปริมาณ  
สารอาหารในน้ำ ค่าการนำกระแสไฟฟ้า ปริมาณแคลเซียมในแหล่งน้ำ pH และฤดูกาล โดยส่วนใหญ่  
สาหร่ายในกลุ่มนี้จะมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในช่วงปลายฤดูใบไม้ผลิ หรือต้นฤดูร้อน และ pH  
ในช่วง 4.1-6.5 และโดยปกติการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่ายในกลุ่มนี้จะเกิดขึ้นน้อยใน  
ธรรมชาติ



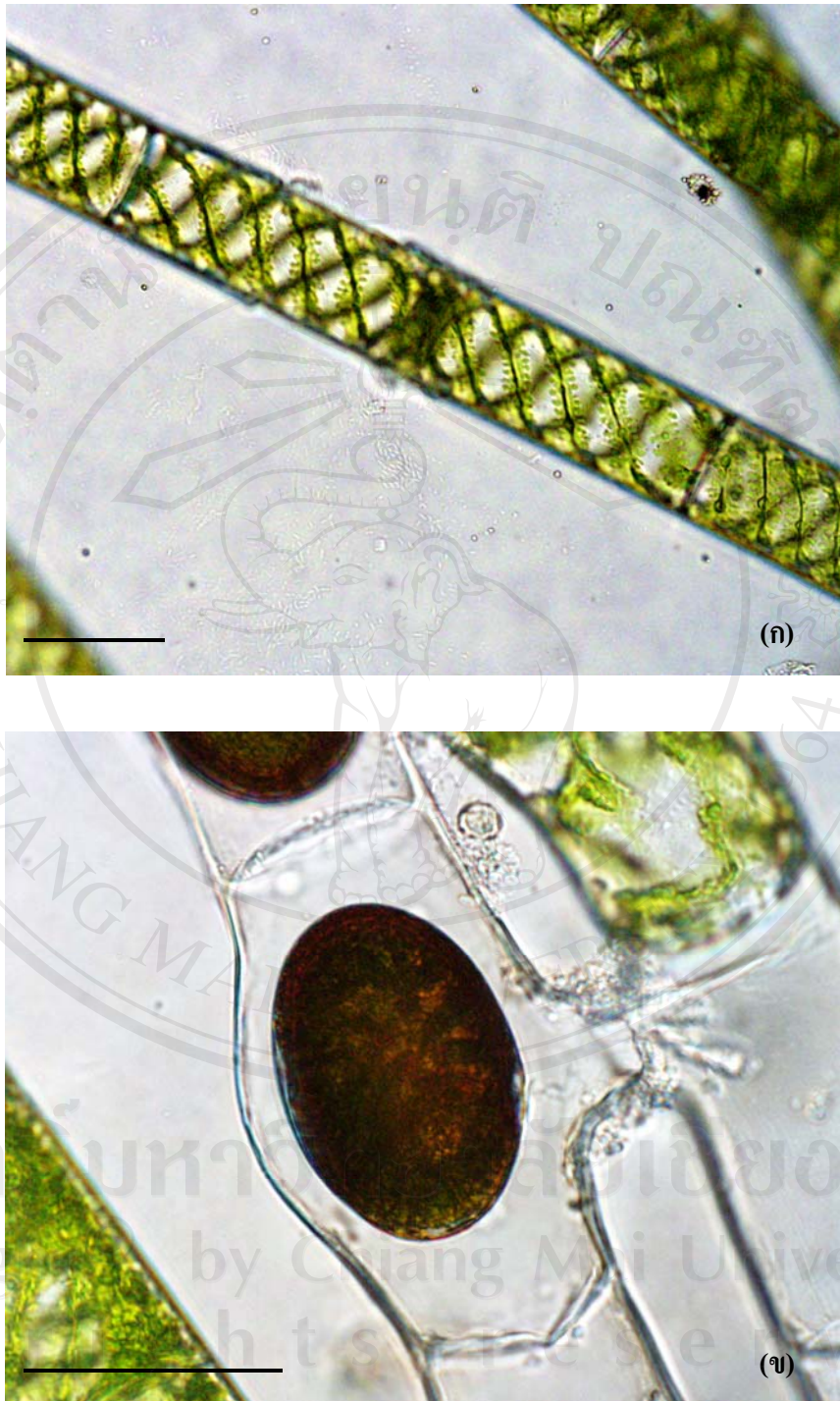
ภาพ 17 การสร้างท่อคอนจูเกชัน (ก)-(ข), การจับคู่กันของเส้นสายโดยลักษณะคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์ยังเป็นปกติ (ค), คลอโรพลาสต์กำลังหดตัว (ง), คลอโรพลาสต์ไหลมารวมกัน (จ)-(ฉ)

Scale bar = 50  $\mu\text{m}$



ภาพ 18 การเกิดเป็นไซโกสปอร์ที่ยังอ่อน (ก)-(ข), ไซโกสปอร์เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ค) และไซโกสปอร์ที่เจริญเติบโตเต็มที่ Scale bar = 50  $\mu\text{m}$

เมื่อสาหร่ายสร้างไซโกสปอร์ที่เจริญเต็มที่แล้ว จะนำมาจัดจำแนกชนิดของสาหร่าย *Spirogyra* sp. โดยใช้หลักการของลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลายองค์ประกอบ เช่น ขนาดความกว้างความยาวของเส้นสาย ลักษณะของผนังกั้นระหว่างเซลล์ อาจเป็นแบบระนาบ (end wall plane) หรือมีลักษณะซ้อนทับเป็นวงแหวน (replicate) หรืออาจมีลักษณะเป็นปลอกกรอบระหว่างรอยต่อระหว่างเซลล์ (colligate) จำนวนของคลอโรพลาสต์ จำนวนของรอบหมุนเป็นเกลียวของคลอโรพลาสต์ ลักษณะของการคอนจูเกชัน เช่น เป็นแบบ ladder-like หรือ lateral รูปร่างของท่อคอนจูเกชัน และลักษณะของไซโกสปอร์ เช่น ขนาด สี รูปร่าง ตามวิธีของ John *et al.* (2002) พบว่า สาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่ศึกษาในครั้ง นี้ คือ *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing และเมื่อส่งข้อมูลไปยืนยันกับ David M. John และ Hilary Belcher ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญด้านสาหร่าย *Spirogyra* ได้รับการยืนยันเมื่อวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2551 ว่าเป็นสาหร่ายชนิดนี้จริง ข้อมูลที่ใช้ในการจัดจำแนกแสดงดังภาพ 19 และตาราง 4



ภาพ 19 (ก) Vegetative cell กำลังขยาย 20 เท่า และ(ข) ไซโกสปอร์ที่เจริญเติบโตเต็มที่  
กำลังขยาย 40 เท่า Scale bar = 50  $\mu$ m

ตาราง 4 ลักษณะของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ที่ใช้ในการจัดจำแนกถึงระดับชนิด

| สิ่งที่ใช้ในการจัดจำแนก | ลักษณะพื้นฐานวิทยา                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Vegetative cell      | <p>ขนาดกว้าง x ยาว ประมาณ<br/>50 x (170-220) <math>\mu\text{m}</math><br/>ผนังกั้นระหว่างเซลล์เป็นแบบระนาบ<br/>(End walls plane)<br/>คลอโรพลาสต์มี 3-4 เส้น<br/>จำนวนของรอบหมุนเป็นเกลียวของ<br/>คลอโรพลาสต์ เท่ากับ 2.5-3.5 รอบต่อเซลล์<br/>ลักษณะของการคอนจูเกชันเป็นแบบ ladder-like<br/>ท่อคอนจูเกชันสร้างมาจากเส้นสายทั้งสองมา<br/>เชื่อมกัน</p> |
| 2. ไชโกสปอร์            | <p>ขนาดกว้าง x ยาว ประมาณ<br/>50 x (80-90) <math>\mu\text{m}</math><br/>รูปร่าง ทรงรี<br/>ผนังชั้นนอกบางและเรียบ<br/>สีน้ำตาลเข้ม<br/>ไชโกสปอร์เจริญเต็มที่จะทำให้เซลล์พองตัว<br/>และการวางตัวของไชโกสปอร์จะวางตัวตามแนว<br/>ยาวของเส้นสายซึ่งบางครั้งอาจจะอยู่ตรงมุมของ<br/>เส้นสาย</p>                                                             |

*Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing (John *et al.*, 2002)

เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีลักษณะเป็นเส้นสายไม่แตกแขนง มีสีเขียวสด ขนาดของเซลล์ กว้าง 50-67  $\mu\text{m}$  ยาว 100-300  $\mu\text{m}$  ผนังกั้นระหว่างเซลล์เป็นแบบระนาบ (end wall plane) มีคลอโรพลาสต์ 3-4 เส้น จำนวนของรอบหมุนเป็นเกลียวของคลอโรพลาสต์เท่ากับ 1.5-3.5 รอบต่อเซลล์

ลักษณะของการคอนจูเกชันเป็นแบบ ladder-like ท่อคอนจูเกชันสร้างมาจากเส้นสายทั้งสองมาเชื่อมกัน ไชโกตสปอร์มีความกว้างประมาณ 54-64  $\mu\text{m}$  ความยาวประมาณ 75-100  $\mu\text{m}$  รูปร่างทรงรีผ่นข้าง นูนออกบางและเรียบ มีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อไชโกตสปอร์เจริญเต็มที่ที่จะทำให้เซลล์พองตัวและการวางตัวของไชโกตสปอร์จะวางตัวตามแนวยาวของเส้นสายซึ่งบางครั้งอาจจะอยู่ตรงมุมของเส้นสายก็ได้

## 2. ปริมาณสารสกัดแห้งของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing

นำสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มาจากบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing บ้านนาควหา ตำบลสวนเขื่อน อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ มาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาสกัดด้วยน้ำ ระเหยเอาน้ำออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนได้สารสกัดที่มีความหนืดสีเขียวเข้ม จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่อง Lyophilizer พบว่าจากน้ำหนักสาหร่ายแห้งผ่นเริ่มต้น 50 g ได้ปริมาณน้ำหนักสารสกัดจากสาหร่าย 12.9 g คิดเป็นปริมาณ % yield เท่ากับ 25.8 สารสกัดที่ได้มีสีเขียวเข้มเกือบดำ (ภาพ 20)



ภาพ 20 สารสกัดแห้งของตัวอย่างสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing

## 3. ผลการศึกษาปริมาณรงควัตถุคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing

จากการนำสาหร่ายแห้ง มาวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ พบว่าสาหร่าย *Spirogyra* มีรงควัตถุทั้งสองชนิด คือ มีทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ  $3.160 \pm 0.579 \text{ mg/g cell dry weight}$  คลอโรฟิลล์ บี  $4.997 \pm 0.147 \text{ mg/g cell dry weight}$  และแคโรทีนอยด์  $0.399 \pm 0.073$

mg/g cell dry weight เมื่อเทียบกับปริมาณรงควัตถุแคโรทีนของพืชผักชนิดต่างๆ เช่น กระเทียม, กระเพรา, ขิง, ตะไคร้, ตำลึง, ผักบุ้ง, ผักปลัง, สะระแหน่, โหระพา, หูฉ่ายหวาน, ฟักทอง มีปริมาณเบต้าแคโรทีนเท่ากับ 0.0064, 0.051, 0.0064, 0.0255, 0.0191, 0.0383, 0.2487, 0.0255, 0.1084, 0.051 และ 0.0191 mg/g cell dry weight (นวลศรี และอัญญา, 2545) และปริมาณบริโภคน้ำแครอทแคโรทีนที่แนะนำต่อวัน คือ 2.4-3.0 mg แต่ปริมาณบริโภคสำหรับการต้านออกซิเดชัน เท่ากับ 15-25 mg (ประกอบ, 2551)

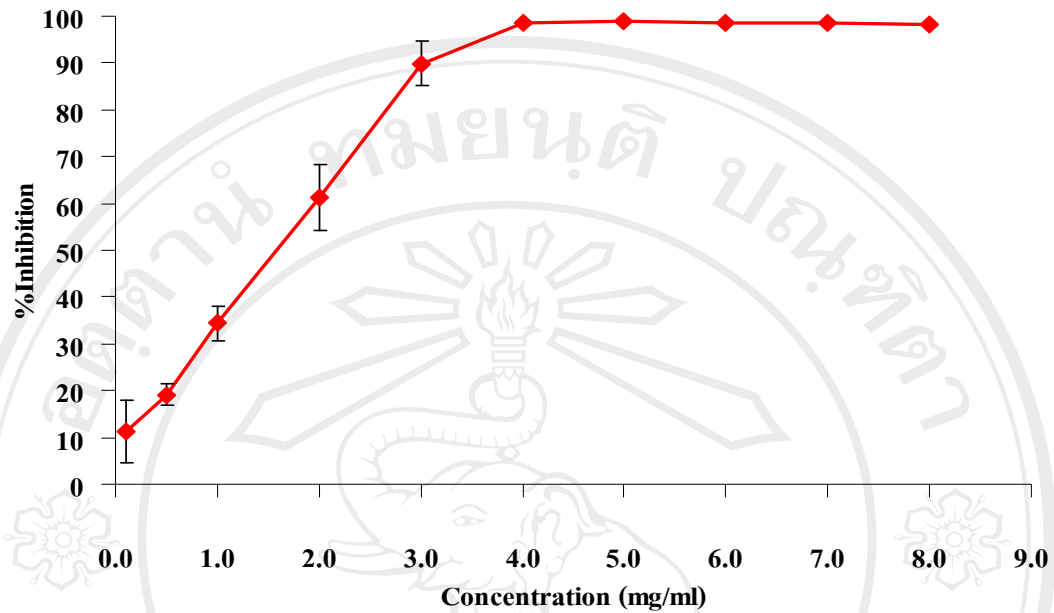
#### 4. ผลการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger

นำสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันทั้งหมด 7 วิธี ซึ่งแต่ละวิธีเป็นการกำจัดหรือยับยั้งสารอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน และนำค่าที่วัดค่าการดูดกลืนแสงได้มาคำนวณหา % Inhibition จากนั้นนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่างๆ ที่ทำปฏิกิริยากับสารแต่ละการทดสอบ จากนั้นนำสมการที่ได้จากกราฟมาคำนวณค่า  $IC_{50}$  ซึ่งเป็นค่าที่สารสกัดสามารถยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) ได้ครึ่งหนึ่ง หรือ 50% โดยที่ถ้าค่า  $IC_{50}$  ที่ได้มีค่าน้อย แสดงถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระ ก็ยิ่งมีมาก ซึ่งมีรายละเอียดของผลการวิจัยของแต่ละวิธีดังนี้

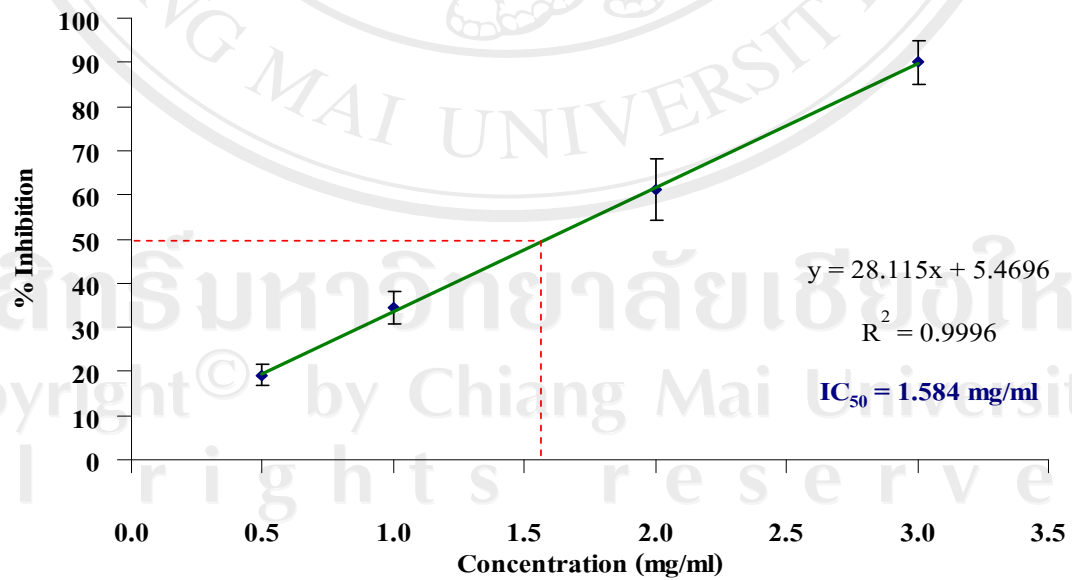
##### 4.1 ผลการทดสอบด้วยวิธี Scavenging activity of ABTS radical

ABTS radical cation ( $ABTS^{+•}$ ) เป็นสารอนุมูลอิสระกึ่งสังเคราะห์ ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในการวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันวิธีหนึ่ง เมื่อนำสาร ABTS ผสมกับสาร Potassium persulfate ( $K_2S_2O_8$ ) จะกลายเป็นสีน้ำเงินอมเขียว และเมื่อได้รับ Hydrogen atom จากสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ จะทำให้  $ABTS^{+•}$  ลดลง ซึ่งทำให้สีจางลง ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 734 nm

เมื่อนำสารละลายของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาทำปฏิกิริยากับสารละลายของ  $ABTS^{+•}$  radical พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ที่ช่วงความเข้มข้น 0.1-8.0 mg/ml สามารถยับยั้ง  $ABTS^{+•}$  radical ได้ระหว่าง 11-99 % โดยที่ความเข้มข้น 4.0 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งสูงสุดที่ 99 % (ภาพ 21) และมีค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง เท่ากับ  $1.584 \pm 0.183$  mg/ml (ภาพ 22)



ภาพ 21 ความสามารถในการยับยั้ง  $\text{ABTS}^{+\bullet}$  radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.1-8.0 mg/ml



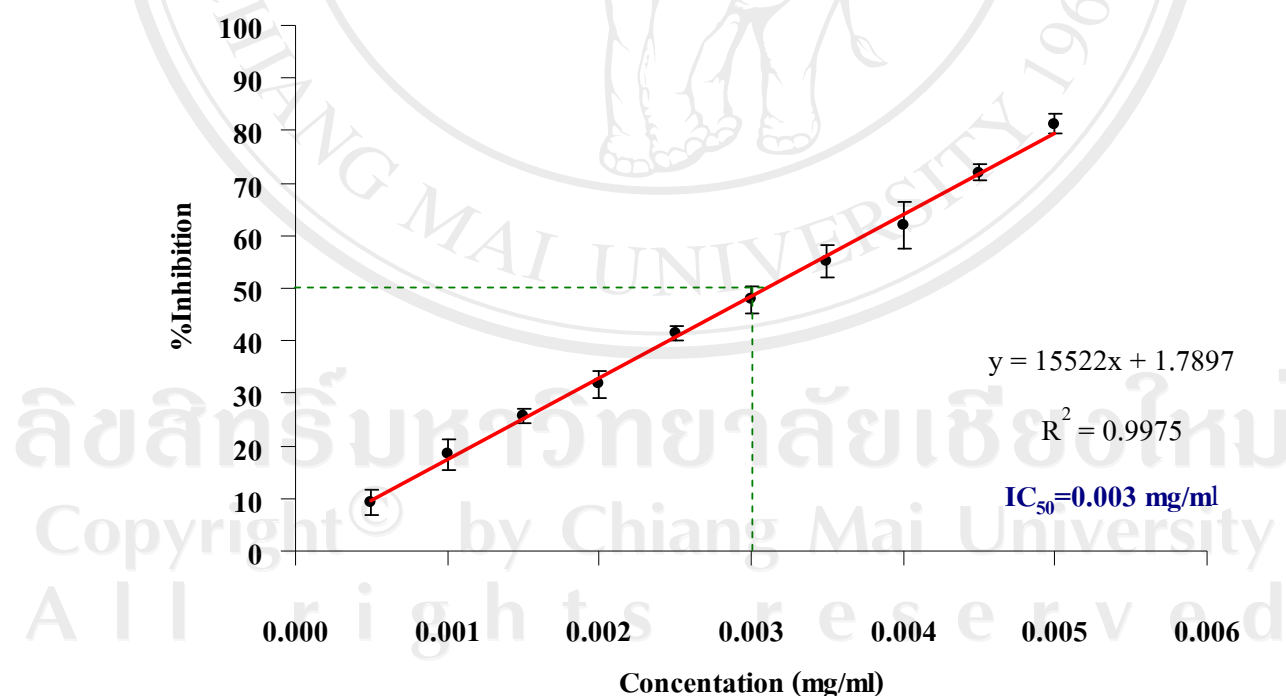
ภาพ 22 การหาค่า  $\text{IC}_{50}$  ของการยับยั้ง  $\text{ABTS}^{+\bullet}$  radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing

สารมาตรฐาน Trolox ที่ช่วงความเข้มข้น 0.0005-0.005 mg/ml สามารถยับยั้ง ABTS<sup>+</sup> radical ได้ระหว่าง 9-81 % และมีค่า IC<sub>50</sub> ของการยับยั้ง มีค่าเท่ากับ  $0.003 \pm 0.000$  mg/ml (ภาพ 23)

ความสามารถในการยับยั้ง ABTS<sup>+</sup> radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger สามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ได้ในรูปของ Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ดังสมการ

$$\text{TEAC (mg Trolox /g ของสารสกัด)} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ ของ Trolox (mg/ml)}}{\text{IC}_{50} \text{ ของสารสกัดสาหร่าย (g/ml)}}$$

ค่าที่ได้ยังมีค่ามาก ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจะสูงด้วย พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่า TEAC ของการยับยั้ง ABTS<sup>+</sup> radical เท่ากับ 1.894 (mg Trolox /g ของสารสกัด) หรือ 0.489 (mg Trolox /g ของสาหร่ายแห้ง)



ภาพ 23 การหาค่า IC<sub>50</sub> ของการยับยั้ง ABTS<sup>+</sup> radical ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.0005-0.005 mg/ml

#### 4.2 ผลการทดสอบด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity

DPPH<sup>•</sup> radical เป็นสารอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เมื่อละลายในเอทานอล จะได้สารละลายที่มีสีม่วง และเมื่อได้รับ Hydrogen atom จากสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ สารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ซึ่งสามารถทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 517 nm

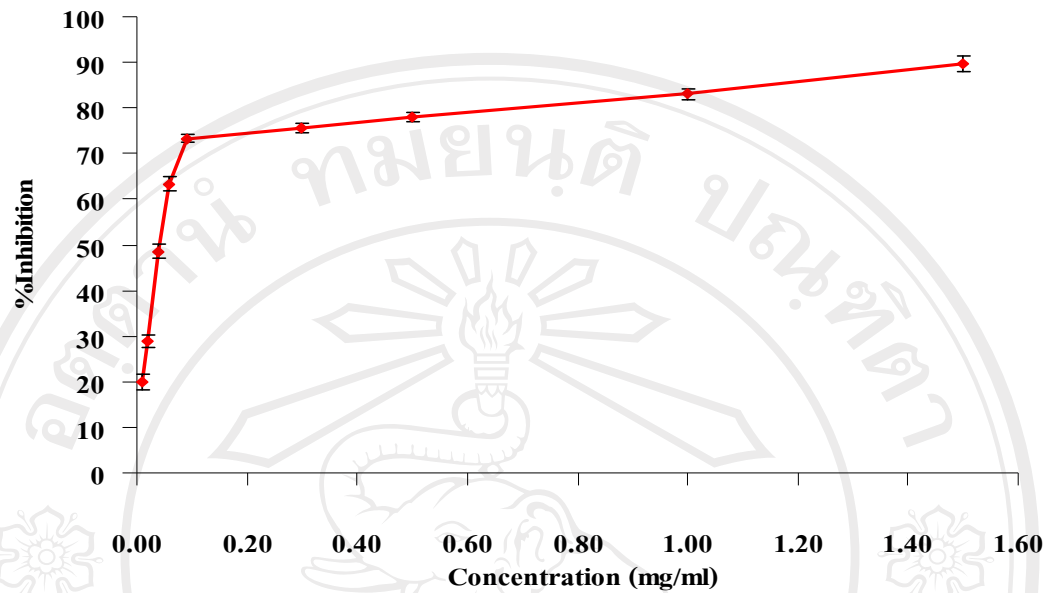
เมื่อนำสารละลายของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาทำปฏิกิริยากับสารละลายของ 5 mM DPPH<sup>•</sup> radical พบว่า สารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01-1.5 mg/ml สามารถยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical ระหว่าง 20-90 % โดยที่ความเข้มข้น 1.5 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งสูงสุดที่ 90 % (ภาพ 24) และมีค่า IC<sub>50</sub> ของการยับยั้ง เท่ากับ  $0.044 \pm 0.002$  mg/ml (ภาพ 25)

สารมาตรฐาน Gallic acid ที่ช่วงความเข้มข้น 0.002-0.02 mg/ml สามารถยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical ระหว่าง 12-88 % (ภาพ 26) และมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ  $0.008 \pm 0.000$  mg/ml (ภาพ 27)

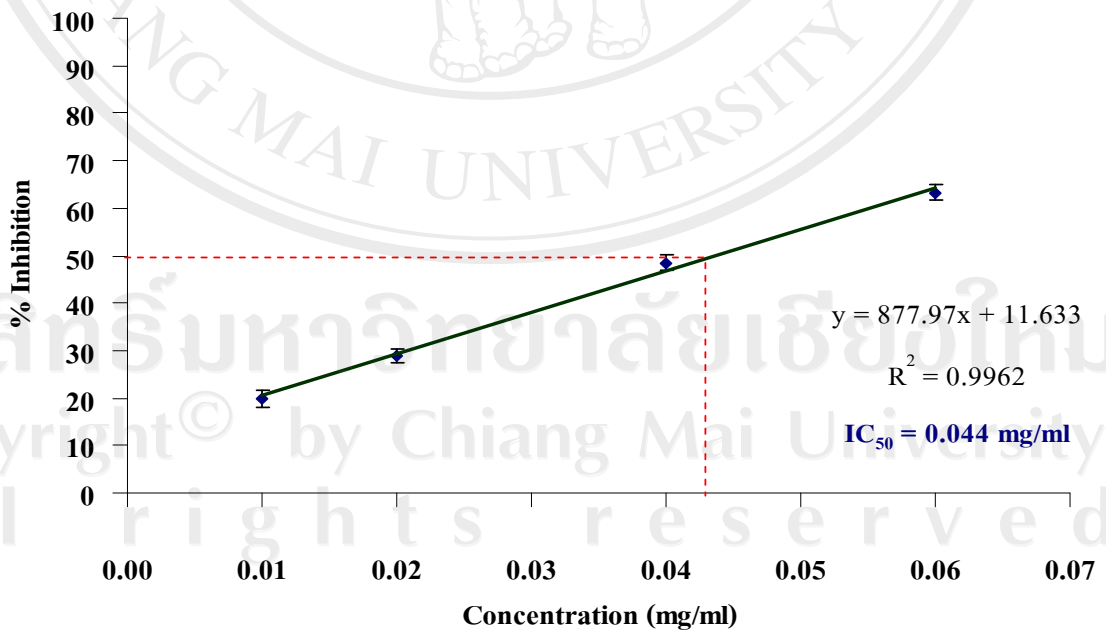
ความสามารถในการยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger สามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid ได้ ในรูปของ Gallic acid Equivalent Antioxidant Capacity (GAE) ดังสมการ

$$\text{GAE (mg Gallic acid /g ของสารสกัด)} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ ของ Gallic acid (mg/ml)}}{\text{IC}_{50} \text{ ของสารสกัดสาหร่าย (g/ml)}}$$

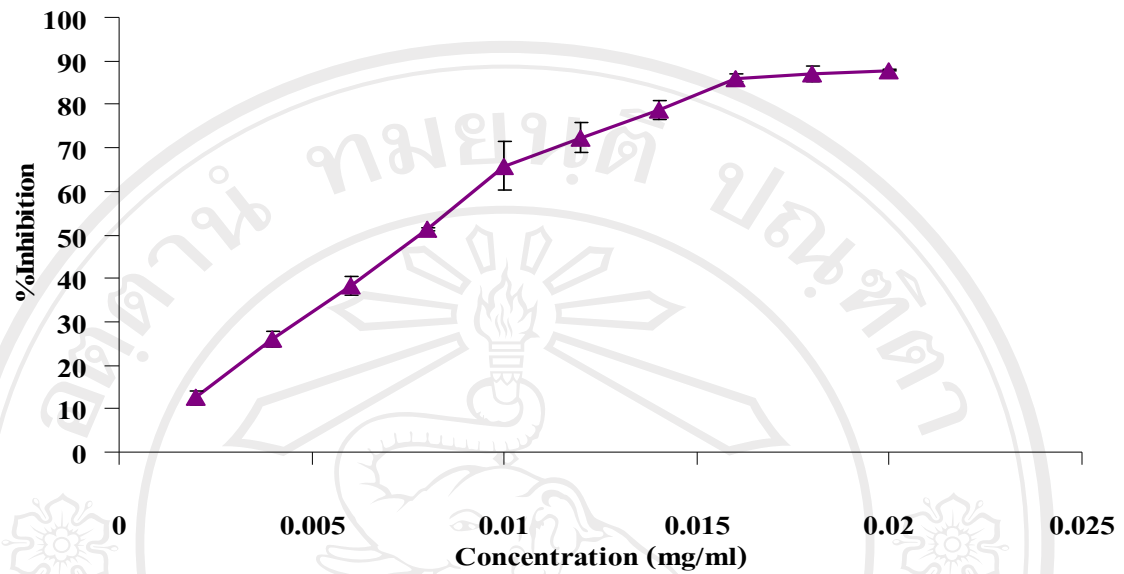
ถ้าค่าที่ได้ยังมีค่ามาก ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจะสูงด้วย พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่า GAE ของการยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical เท่ากับ 181.818 (mg Gallic acid /g ของสารสกัด) หรือ 46.909 (mg Gallic acid /g ของสาหร่ายแห้ง)



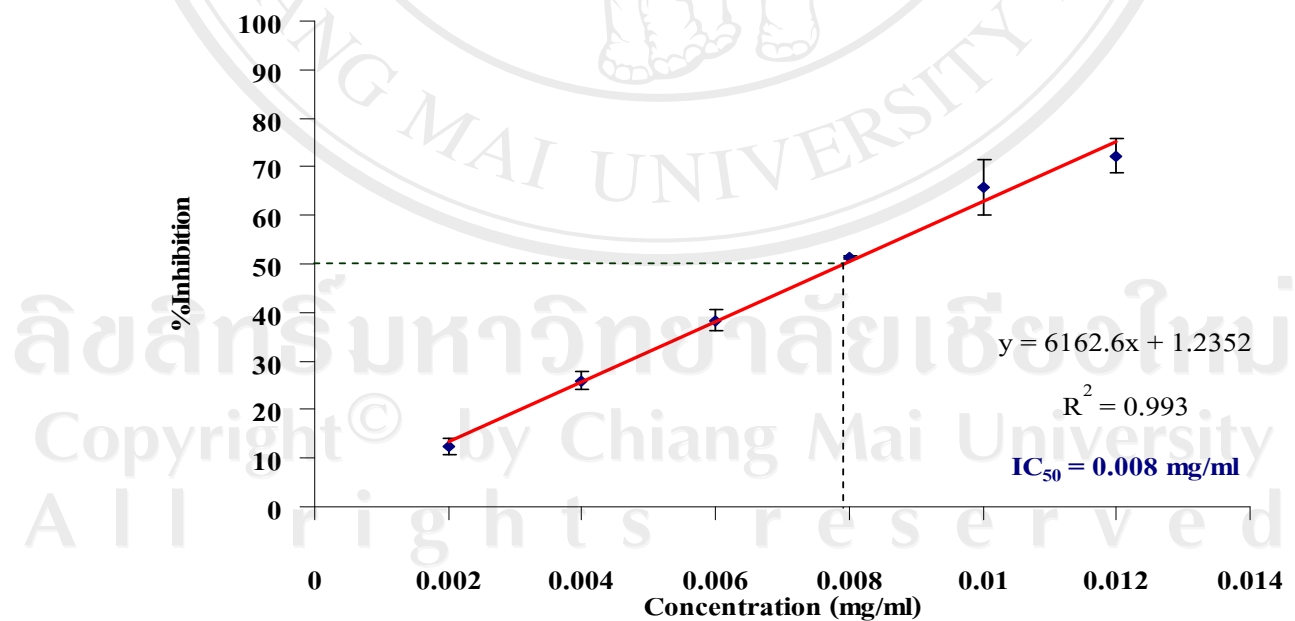
ภาพ 24 ความสามารถในการยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.01-1.5 mg/ml



ภาพ 25 การหาค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing



ภาพ 26 ความสามารถในการยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.002-0.02 mg/ml



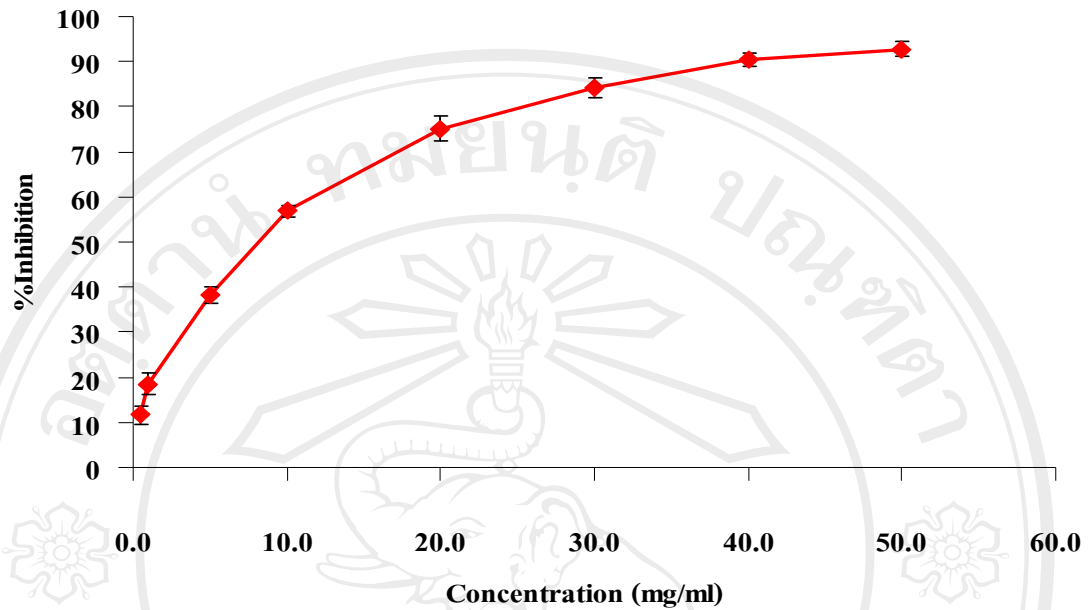
ภาพ 27 การหาค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.002-0.02 mg/ml

### 4.3 ผลการทดสอบด้วยวิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity

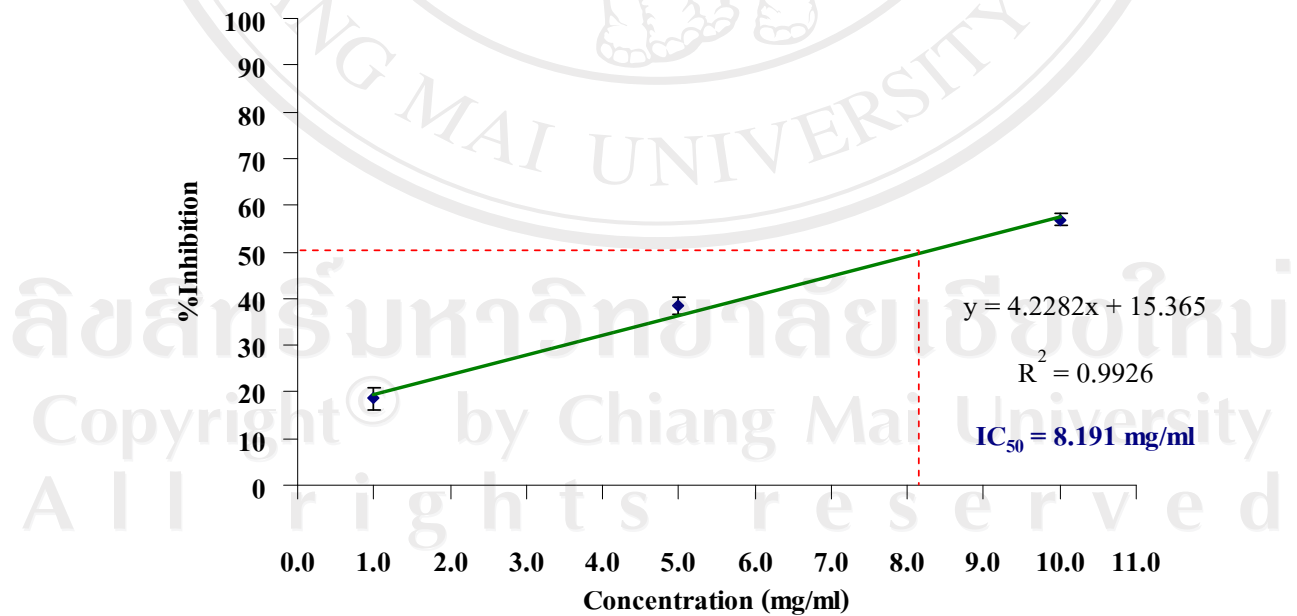
ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ของสารตัวอย่าง จะทำการสังเคราะห์ OH<sup>•</sup> radical จากน้ำตาล deoxyribose โดยอาศัยปฏิกิริยา Fenton reaction model system ในหลอดทดลอง เมื่อเติมสาร Thiobarbituric acid (TBA) และ Trichloroacetic acid จะเกิดเป็นสีชมพูขึ้น ถ้าสารสกัดที่ใช้ทดสอบมีความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical จะทำให้สีชมพูจางลง ซึ่งวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical โดยแสดงได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ที่ความเข้มข้น 0.5-50.0 mg/ml สามารถยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ระหว่าง 12-93 % โดยที่ความเข้มข้น 50.0 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งสูงสุดที่ 93 % (ภาพ 28) และมีค่า IC<sub>50</sub> ของการยับยั้ง เท่ากับ  $8.191 \pm 0.309$  mg/ml (ภาพ 29) สารมาตรฐาน Trolox ที่ช่วงความเข้มข้น 0.1-4.0 mg/ml สามารถยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ได้ระหว่าง 11-57 % (ภาพ 30) และมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ  $1.743 \pm 0.011$  mg/ml (ภาพ 31) ความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger สามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ได้ ในรูปของ Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ดังสมการ

$$\text{TEAC (mg Trolox /g ของสารสกัด)} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ ของ Trolox (mg/ml)}}{\text{IC}_{50} \text{ ของสารสกัดสาหร่าย (g/ml)}}$$

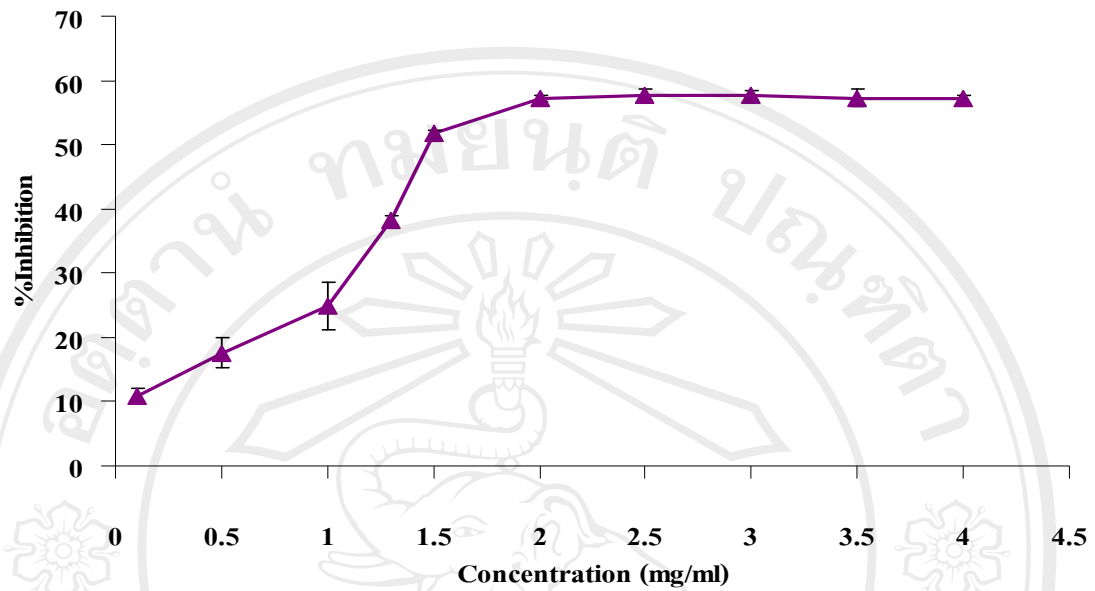
พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่า TEAC ของการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical เท่ากับ 212.795 (mg Trolox /g ของสารสกัด) หรือ 54.901 (mg Trolox /g ของสาหร่ายแห้ง)



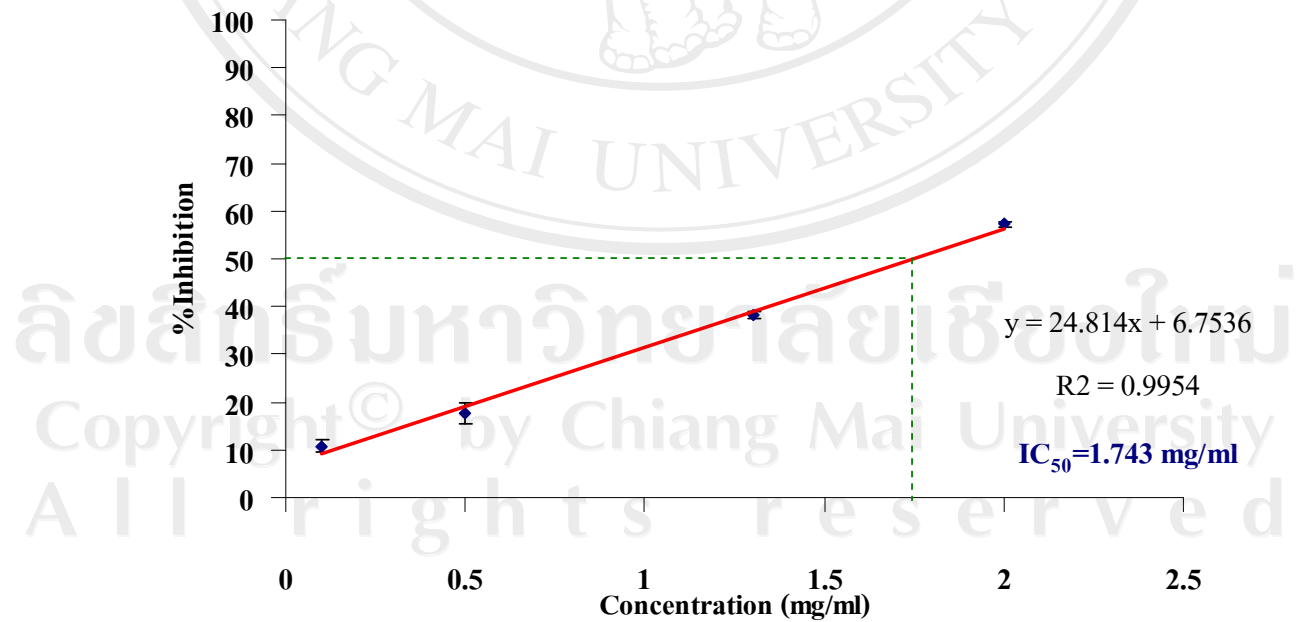
ภาพ 28 ความสามารถในการยับยั้ง  $\text{OH}^\bullet$  radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.5-50.0 mg/ml



ภาพ 29 การหาค่า  $\text{IC}_{50}$  ของการยับยั้ง  $\text{OH}^\bullet$  radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing



ภาพ 30 ความสามารถในการยับยั้ง  $\text{OH}^\bullet$  radical ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.1-4.0 mg/ml



ภาพ 31 การหาค่า  $\text{IC}_{50}$  ของการยับยั้ง  $\text{OH}^\bullet$  radical ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.1-4.0 mg/ml

#### 4.4 ผลการทดสอบด้วยวิธี Lipid peroxidation in liver homogenates

วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดที่ต้องการทดสอบ โดยใช้ดัชนีหนูมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วทำให้เกิดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) ซึ่งเป็นผลผลิตจากการเกิด Lipid peroxidation จากนั้นเติมกรดไทโอบาร์บิทูริก ในสภาวะกรดสาร MDA จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริก ได้เป็นสารมีสีเรียกว่า TBARS เมื่อเติมสารสกัดทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ลงไป จะทำให้สารสีจางลงจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm จากการทดลอง พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation โดยแสดงได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง

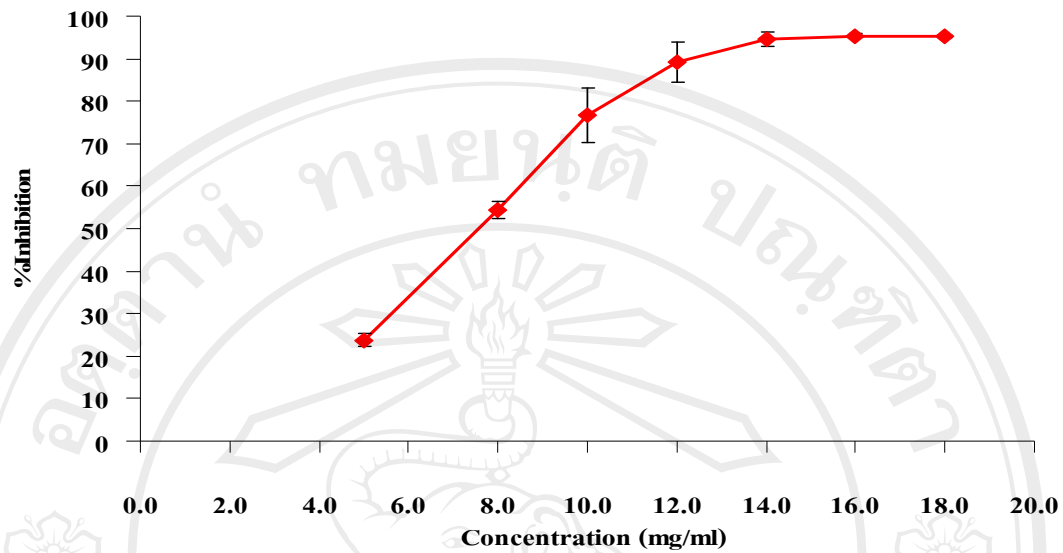
สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ที่ความเข้มข้น 5.0-18.0 mg/ml สามารถยับยั้ง Lipid peroxidation ได้ระหว่าง 24-95 % โดยที่ความเข้มข้น 14.0 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งสูงสุดที่ 95 % (ภาพ 32) และมีค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง เท่ากับ  $7.605 \pm 0.211$  mg/ml (ภาพ 33)

สารมาตรฐาน Trolox ที่ช่วงความเข้มข้น 0.01-0.35 mg/ml สามารถยับยั้ง Lipid peroxidation ได้ระหว่าง 3-91 % (ภาพ 34) และมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.112 \pm 0.001$  mg/ml (ภาพ 35)

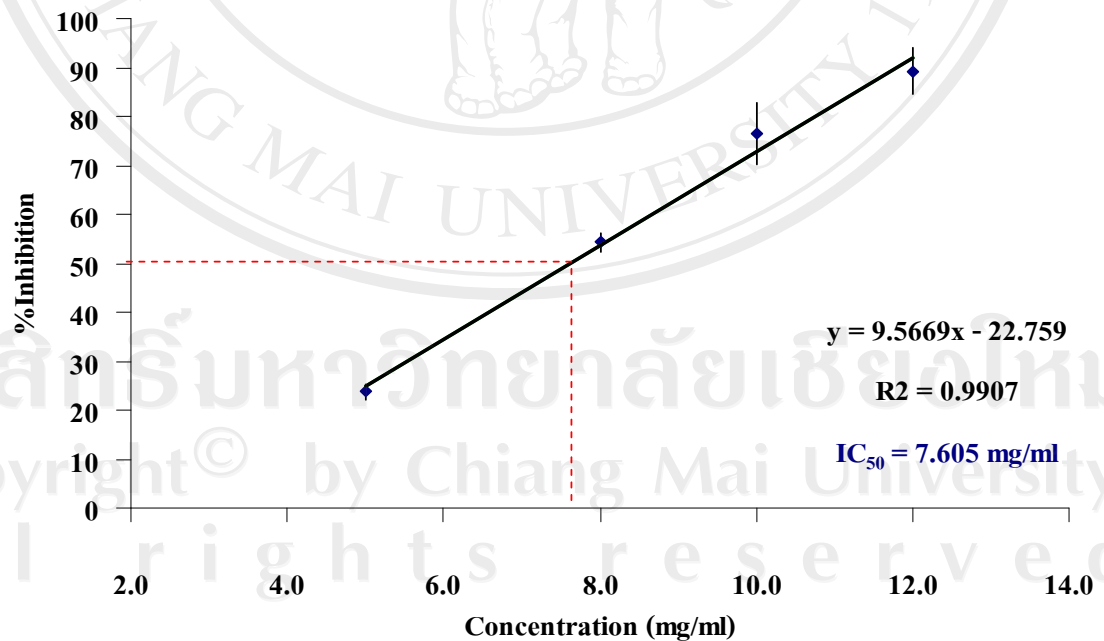
ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing สามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ได้ ในรูปของ Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ดังสมการ

$$TEAC \text{ (mg Trolox /g ของสารสกัด)} = \frac{IC_{50} \text{ ของ Trolox (mg/ml)}}{IC_{50} \text{ ของสารสกัดสาหร่าย (g/ml)}}$$

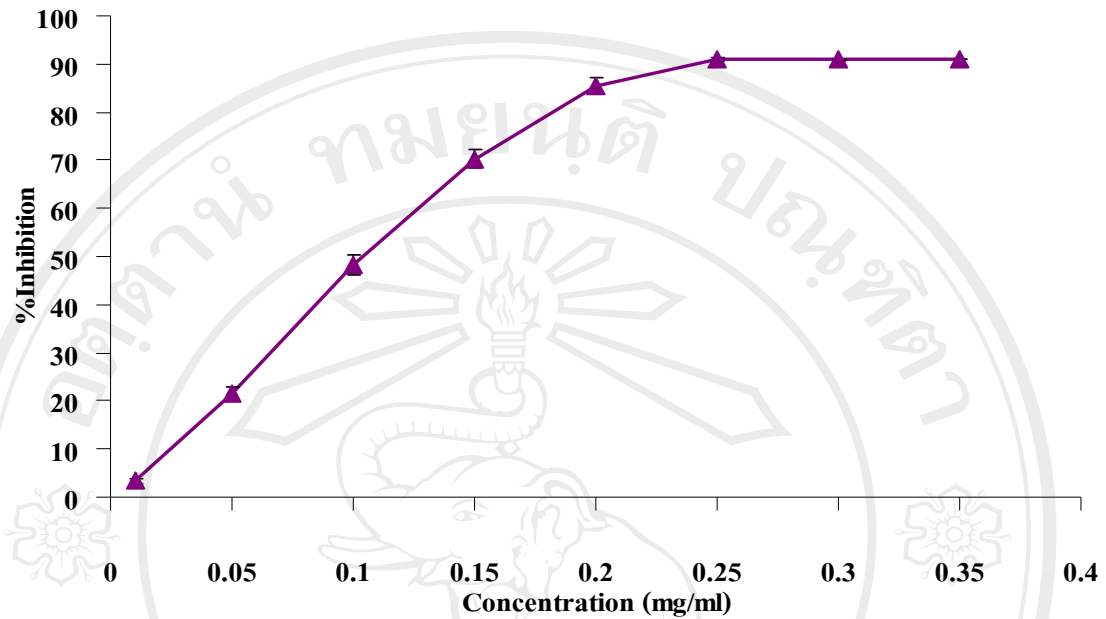
พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีค่า TEAC ของการยับยั้ง Lipid peroxidation เท่ากับ 14.727 (mg Trolox /g ของสารสกัด) หรือ 3.800 (mg Trolox /g ของสาหร่ายแห้ง)



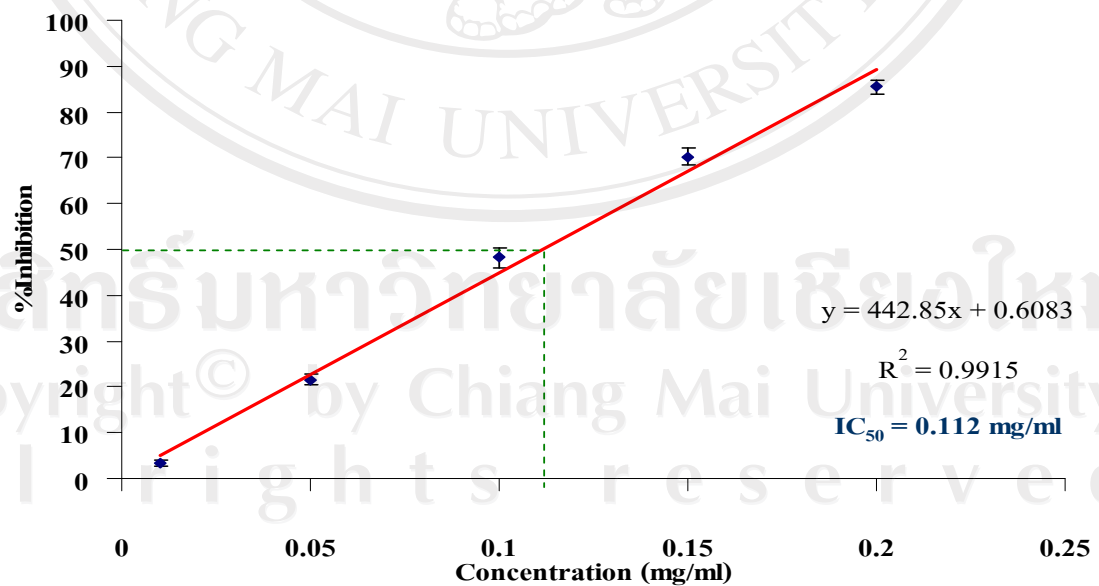
ภาพ 32 ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 5.0-18.0 mg/ml



ภาพ 33 การหาค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing



ภาพ 34 ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.35 mg/ml



ภาพ 35 การหาค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.35 mg/ml

#### 4.5 ผลการทดสอบด้วยวิธี Metal chelating activity

วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการแย่งจับโลหะไอออน เช่น เหล็กไอออน ของสารสกัดที่ต้องการทดสอบ ซึ่งตัวโลหะไอออนนี้จะเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาเคมีของสารที่จะทำให้เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระต่างๆได้ จากปฏิกิริยาเคมี เมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไป จะไปจับกับ  $Fe^{2+}$  แล้วจะอยู่ในรูป Ferrozine -  $Fe^{2+}$  complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารสกัดทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับ  $Fe^{2+}$  จะทำให้สีแดงของ Ferrozine -  $Fe^{2+}$  complex จางลงได้ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 nm และจากการทดลอง พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ  $Fe^{2+}$  โดยแสดงได้จากการดูดกลืนแสงที่ลดลง

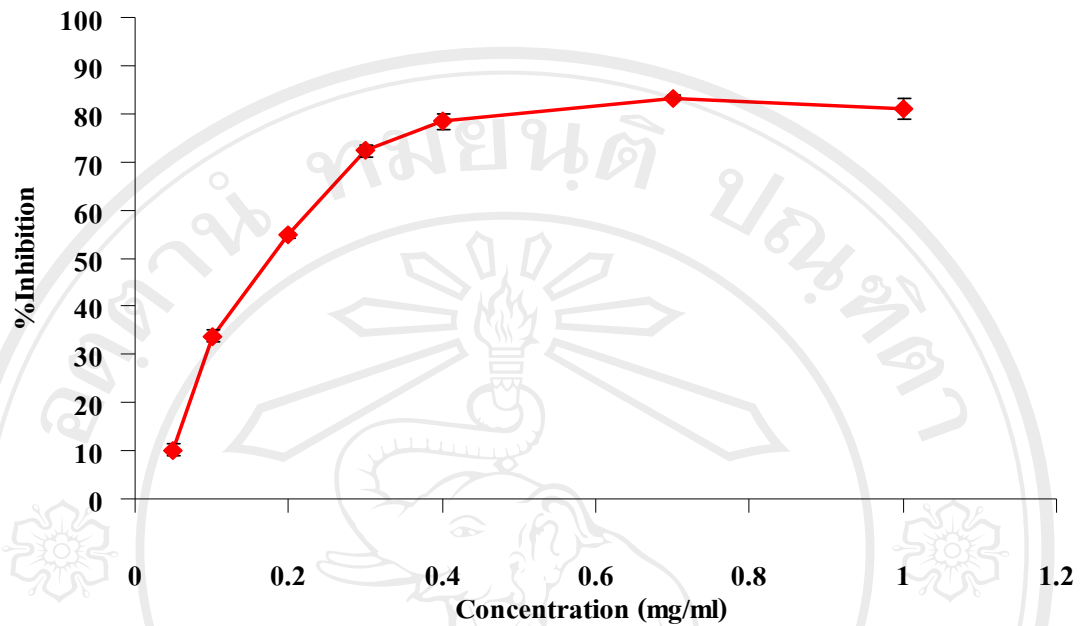
สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ที่ความเข้มข้น 0.05-1.0 mg/ml สามารถแย่งจับกับโลหะ  $Fe^{2+}$  ได้ระหว่าง 10-83 % โดยที่ความเข้มข้น 0.7 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งสูงสุดที่ 83 % (ภาพ 36) และมีค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง เท่ากับ  $0.181 \pm 0.004$  mg/ml (ภาพ 37)

สารมาตรฐาน EDTA ที่ช่วงความเข้มข้น 0.02-1.2 mg/ml สามารถแย่งจับกับโลหะ  $Fe^{2+}$  ได้ระหว่าง 3-99 % (ภาพ 38) และมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.082 \pm 0.001$  mg/ml (ภาพ 39)

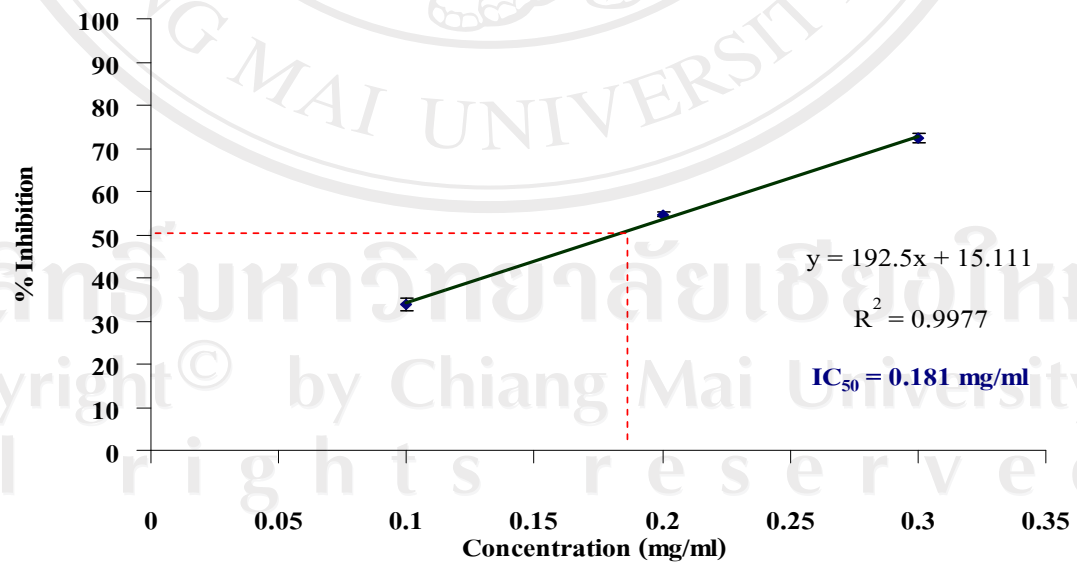
ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ  $Fe^{2+}$  ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing สามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน EDTA ได้ ในรูปของ EDTA Equivalent (EDTAE) ดังสมการ

$$EDTAE \text{ (mg EDTA /g ของสารสกัด)} = \frac{IC_{50} \text{ ของ EDTA (mg/ml)}}{IC_{50} \text{ ของสารสกัดสาหร่าย (g/ml)}}$$

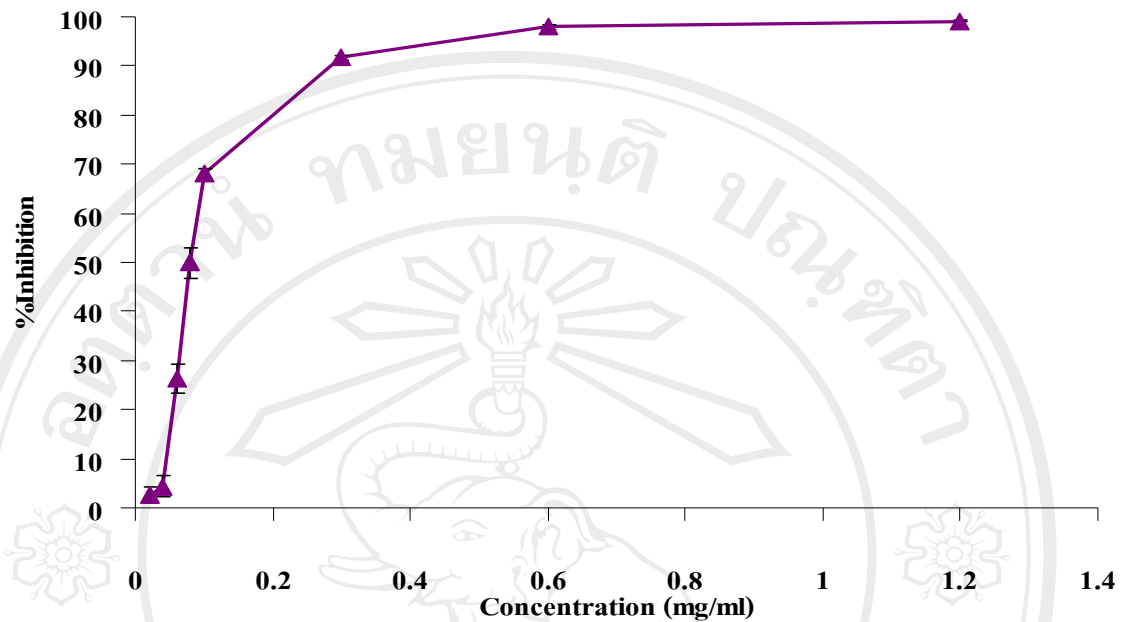
ถ้าค่าที่ได้ยังมีค่ามาก ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจะสูงด้วย พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีค่า EDTAE ของการแย่งจับกับโลหะ  $Fe^{2+}$  เท่ากับ 453.039 (mg EDTA /g ของสารสกัด) หรือ 116.884 (mg EDTA /g ของสาหร่ายแห้ง)



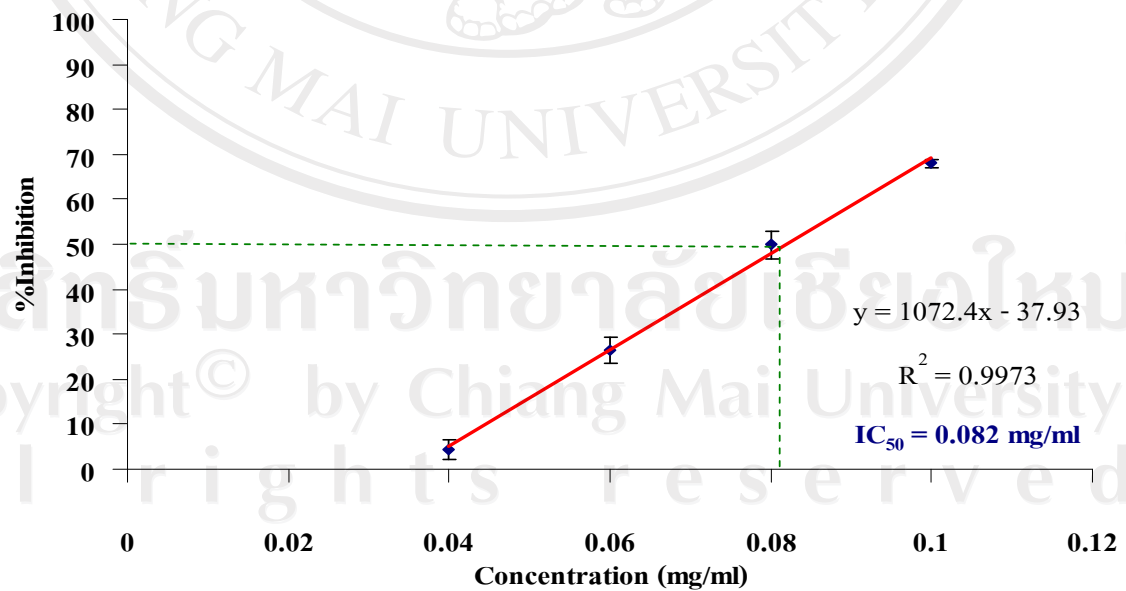
ภาพ 36 ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ  $\text{Fe}^{2+}$  ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.05-1.0 mg/ml



ภาพ 37 การหาค่า  $\text{IC}_{50}$  ของการแย่งจับกับโลหะ  $\text{Fe}^{2+}$  ของสารสกัดด้วยน้ำของตัวอย่างสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing



ภาพ 38 ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ  $\text{Fe}^{2+}$  ของสารมาตรฐาน EDTA ในช่วงความเข้มข้น 0.02-1.2 mg/ml



ภาพ 39 การหาค่า  $\text{IC}_{50}$  ของการแย่งจับกับโลหะ  $\text{Fe}^{2+}$  ของสารมาตรฐาน EDTA ในช่วงความเข้มข้น 0.02-1.2 mg/ml

#### 4.6 ผลการทดสอบด้วยวิธี Superoxide radical scavenging activity

การศึกษาความสามารถในการยับยั้ง Superoxide anion radical ( $O_2^{\bullet-}$ ) โดยการสังเคราะห์  $O_2^{\bullet-}$  จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในระบบ Phenazine methosulphate (PMS) – Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) อนุโมล  $O_2^{\bullet-}$  ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับสาร Nitroblue tetrazolium (NBT) เกิดเป็นสารสีน้ำเงิน ถ้าสารสกัดทดสอบมีความสามารถในการยับยั้ง  $O_2^{\bullet-}$  radical จะทำให้สีจางลงได้ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 560 nm และจากการทดลอง พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความสามารถในการยับยั้ง  $O_2^{\bullet-}$  radical โดยแสดงได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง

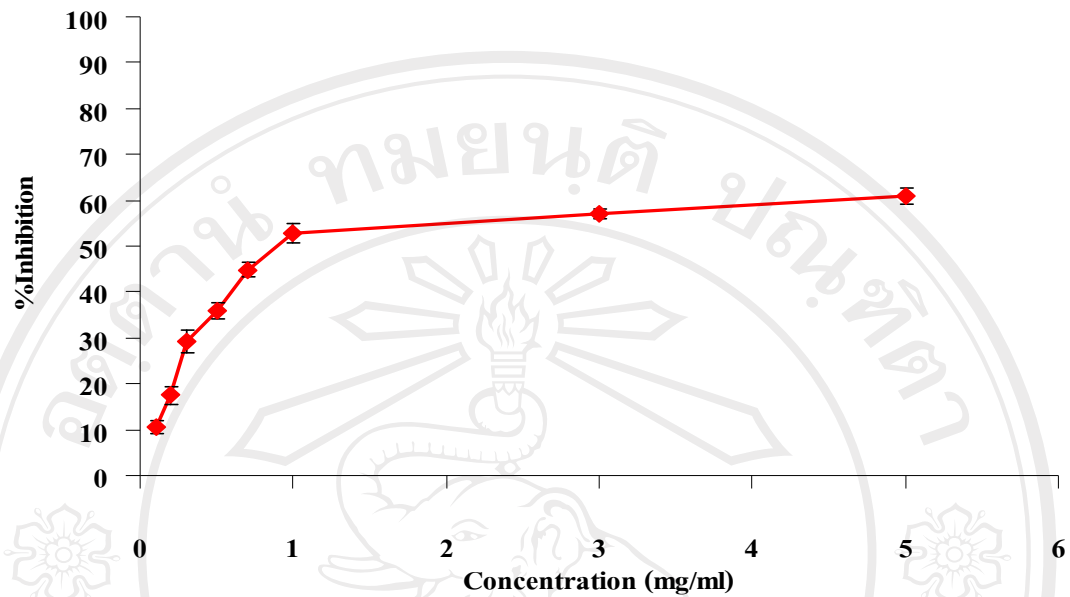
สารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ที่ช่วงความเข้มข้น 0.1-5.0 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้ง  $O_2^{\bullet-}$  radical ได้ระหว่าง 10-61 % โดยที่ความเข้มข้น 5.0 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้งสูงสุดที่ 61 % (ภาพ 40) และมีค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง เท่ากับ  $0.897 \pm 0.052$  mg/ml (ภาพ 41)

สารมาตรฐาน Gallic acid ที่ช่วงความเข้มข้น 0.05-1.6 mg/ml มีความสามารถในการยับยั้ง  $O_2^{\bullet-}$  radical ได้ระหว่าง 21-83 % (ภาพ 42) และมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.288 \pm 0.001$  mg/ml (ภาพ 43)

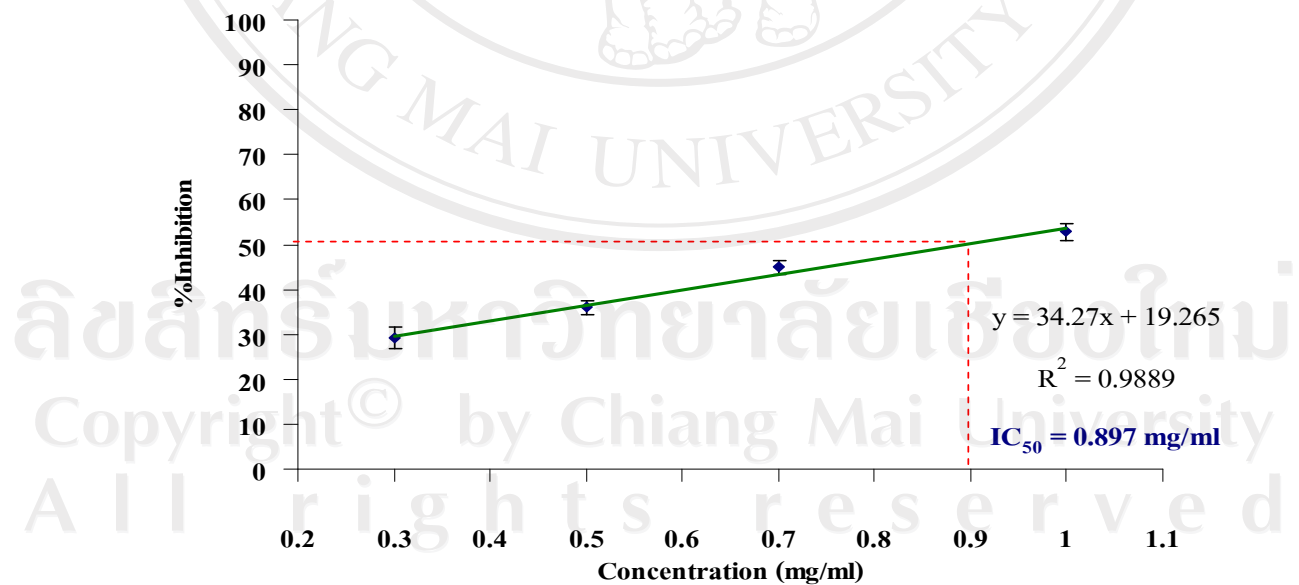
ความสามารถในการยับยั้ง  $O_2^{\bullet-}$  radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger สามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid ได้ ในรูปของ Gallic acid Equivalent Antioxidant Capacity (GAE) ดังสมการ

$$GAE \text{ (mg Gallic acid /g ของสารสกัด)} = \frac{IC_{50} \text{ ของ Gallic acid (mg/ml)}}{IC_{50} \text{ ของสารสกัดสาหร่าย (g/ml)}}$$

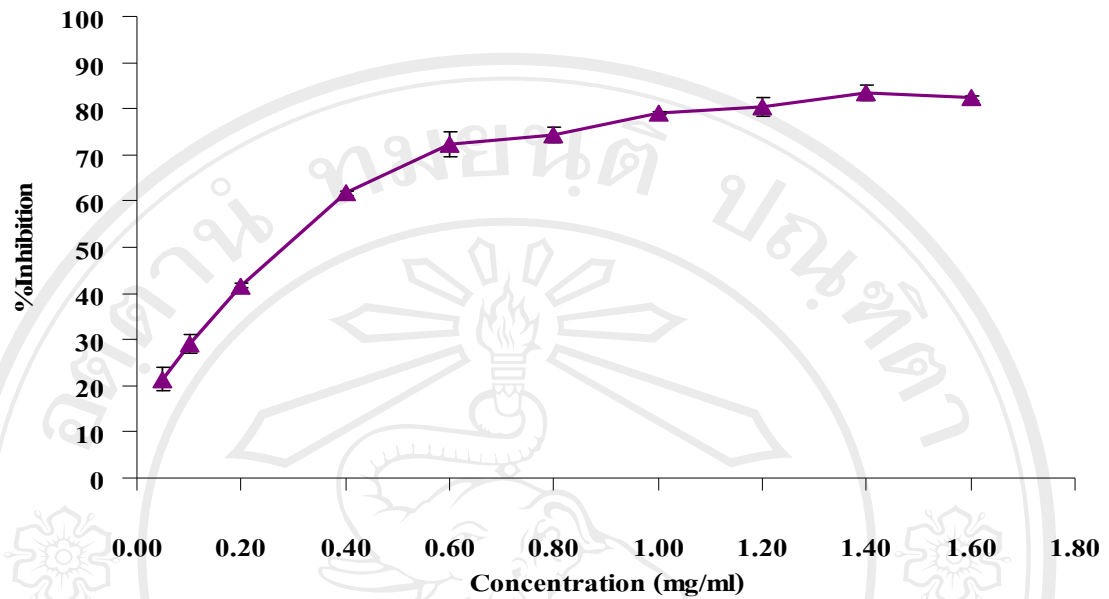
พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่า GAE ของการยับยั้ง  $O_2^{\bullet-}$  radical เท่ากับ 321.070 (mg Gallic acid /g ของสารสกัด) หรือ 82.836 (mg Gallic acid /g ของสาหร่ายแห้ง)



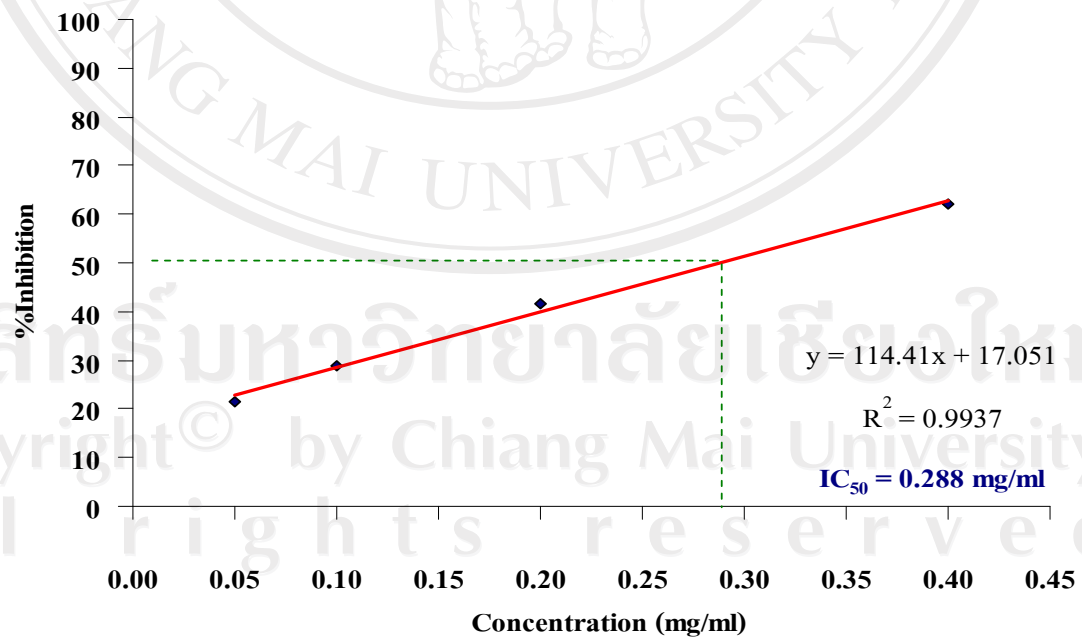
ภาพ 40 ความสามารถในการยับยั้ง  $O_2^{\bullet}$  radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.1-5.0 mg/ml



ภาพ 41 การหาค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง  $O_2^{\bullet}$  radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing



ภาพ 42 ความสามารถในการยับยั้ง  $O_2^{\bullet}$  radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.05-1.6 mg/ml

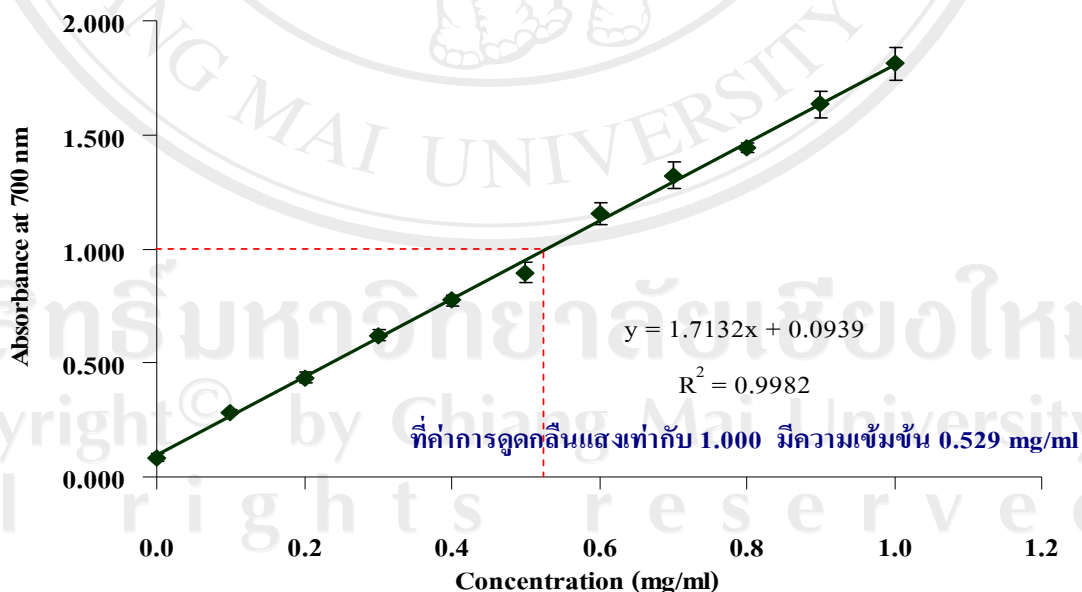


ภาพ 43 การหาค่า  $IC_{50}$  ของการยับยั้ง  $O_2^{\bullet}$  radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.05-1.6 mg/ml

#### 4.7 ผลการทดสอบด้วยวิธี Reducing power

เป็นการศึกษาความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ หรือเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระ ที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ โดยสารทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัวจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ  $\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6$  ไปเป็น  $\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6$  ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น จากการทดลอง พบว่าสารสกัดทดสอบมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระได้ จากค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด

สารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ที่ช่วงความเข้มข้น 0.0-1.0 mg/ml มีค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในช่วง 0.086-1.812 (เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงสามารถวัดการดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ 2.5 U) เมื่อกำหนดค่าการดูดกลืนแสงที่ 1.000 เป็นจุดที่ใช้ในการแสดงถึงความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ พบว่า สารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีความเข้มข้นเท่ากับ  $0.529 \pm 0.019$  mg/ml (ภาพ 44)



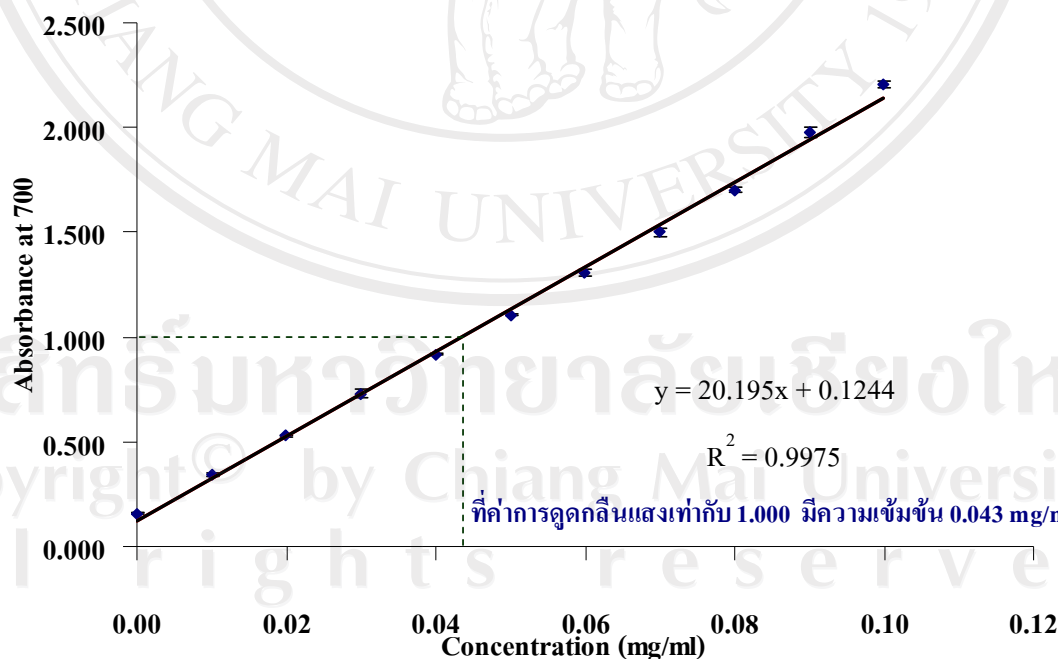
ภาพ 44 ความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.0-1.0 mg/ml

สารมาตรฐาน Gallic acid ที่มีความเข้มข้นในช่วง 0.0-0.1 mg/ml มีค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในช่วง 0.159-2.206 พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงที่ 1.000 สารมาตรฐาน Gallic acid มีความเข้มข้นเท่ากับ  $0.043 \pm 0.001$  mg/ml (ภาพ 45)

ความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.000 ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger สามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid ได้ ในรูปของ Gallic acid Equivalent Antioxidant Capacity (GAE) ดังสมการ

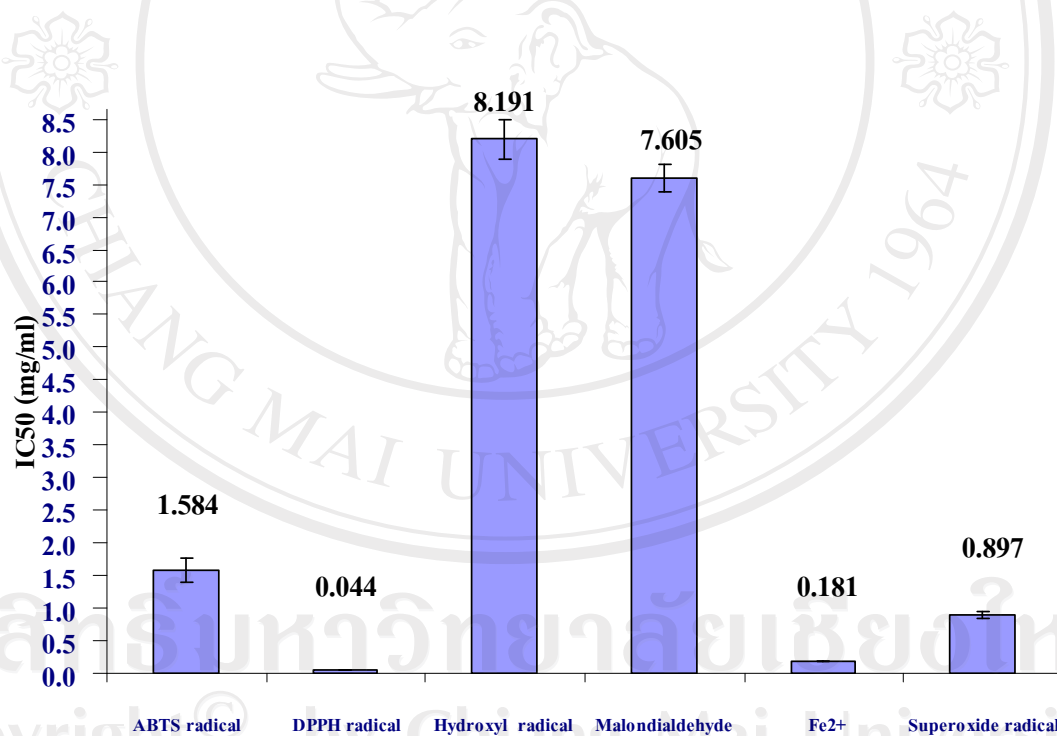
$$\text{GAE (mg Gallic acid /g ของสารสกัด)} = \frac{\text{Abs. 1.000 ของ Gallic acid (mg/ml)}}{\text{Abs.1.000 ของสารสกัดสาหร่าย (g/ml)}}$$

พบว่า สารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่า GAE ของการเป็นตัวรีดิวซ์เท่ากับ 81.285 (mg Gallic acid /g ของสารสกัด) หรือ 20.972 (mg Gallic acid /g ของสาหร่ายแห้ง)



ภาพ 45 ความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.0-0.1 mg/ml

เมื่อเปรียบเทียบผลการต้านออกซิเดชันของวิธีการทดสอบแต่ละวิธี ซึ่งวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระต่างชนิดกัน พบว่า สารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger สามารถยับยั้ง DPPH<sup>•</sup> radical ได้ดีที่สุด คือมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ  $0.044 \pm 0.002$  mg/ml รองลงมาคือ วิธี Metal chelating activity, Superoxide radical scavenging activity, Scavenging activity of ABTS radical, Lipid peroxidation และ Hydroxyl (OH) radical scavenging activity น้อยที่สุด ซึ่งมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ  $0.181 \pm 0.004$  mg/ml,  $0.897 \pm 0.052$ ,  $1.584 \pm 0.183$  mg/ml,  $7.605 \pm 0.211$  mg/ml,  $8.191 \pm 0.309$  mg/ml ตามลำดับ แสดงดังภาพ 46 และความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์หรือตัวให้อิเล็กตรอนของสารสกัดที่ความเข้มข้น  $0.529 \pm 0.019$  mg/ml มีค่าเท่ากับสารมาตรฐาน Gallic acid ความเข้มข้น  $0.043 \pm 0.001$  mg/ml ที่ค่าวัดการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.000 ที่ความยาวคลื่น 700 nm



ชนิดของอนุมูลอิสระที่สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย

*Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ยับยั้งได้

ภาพ 46 ค่า IC<sub>50</sub> ของการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger

เมื่อนำค่า  $IC_{50}$  เทียบกับสารมาตรฐาน ได้ผลดังตาราง 5

ตาราง 5 กิจกรรมต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing เทียบกับสารมาตรฐานต่างๆ

| สารมาตรฐาน  | วิธีการ                                      | Antioxidant activity<br>ของสารสกัด<br>(mg สารมาตรฐาน/g สารสกัด) | Antioxidant activity<br>ของสาหร่ายแห้ง<br>(mg สารมาตรฐาน/ gสาหร่ายแห้ง) |
|-------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Trolox      | Scavenging activity<br>of ABTS radical       | 1.894                                                           | 0.489                                                                   |
|             | Hydroxyl (OH) radical<br>Scavenging activity | 212.795                                                         | 54.901                                                                  |
|             | Lipid peroxidation<br>in liver homogenate    | 14.727                                                          | 3.800                                                                   |
| Gallic acid | DPPH radical<br>scavenging activity          | 181.818                                                         | 46.909                                                                  |
|             | Superoxide radical<br>scavenging activity    | 321.070                                                         | 82.836                                                                  |
|             | Reducing power                               | 81.285                                                          | 20.972                                                                  |
| EDTA        | Metal chelating activity                     | 453.039                                                         | 116.884                                                                 |