

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing จากการสร้างท่อคอนจูเกชัน ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มาเพาะเลี้ยงใน 5 สภาวะ คือ เพาะเลี้ยงในอาหาร Chart-Grote liquid medium ซึ่งเป็นอาหารที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนตามรายงานของ Grote (1977 cited by Drummond, 2005) พบว่า อาหารนี้สามารถเหนี่ยวนำให้สาหร่ายในกลุ่ม Zygnematales เกิดการคอนจูเกชันได้ ที่อุณหภูมิ 24 °C, เพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 150 ml ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมงต่อวัน, เพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 20 ml ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมงต่อวัน, เพาะเลี้ยงในน้ำประปา ปริมาตร 150 ml ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมงแล้วนำมาเลี้ยงต่อภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่อุณหภูมิห้อง 16 ชั่วโมงต่อวัน, เพาะเลี้ยงในน้ำประปา ปริมาตร 150 ml ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมงแล้วนำมาเลี้ยงต่อภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่อุณหภูมิห้อง 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า ทั้ง 5 สภาวะ ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้สาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing เกิดการสร้างท่อคอนจูเกชันและไซโกสปอร์ได้ โดยพบว่า เมื่อเลี้ยงในน้ำประปาสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing จะมีชีวิตทนอยู่นานกว่าสภาวะอื่นๆ และสภาวะที่เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมงแล้วนำมาเลี้ยงต่อภายใต้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่อุณหภูมิห้อง 16 ชั่วโมงต่อวันนั้นสาหร่ายมีชีวิตทนอยู่ต่ำที่สุด แต่สุดท้ายสาหร่ายจะเหี่ยวและตายในที่สุด

แตเมื่อนำสาหร่ายที่เริ่มเกิดการคอนจูเกชันแล้วจากบ่อเพาะเลี้ยงตามธรรมชาติมาทำการเลี้ยงต่อ 2 สภาวะ คือ เลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 150 ml และ 20 ml พบว่า สามารถทำการเลี้ยงต่อจนทำให้สาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing สร้างไซโกสปอร์ที่เจริญเต็มที่ได้ โดยที่การเพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 20 ml สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างไซโกสปอร์ที่เจริญเต็มที่ได้เร็วกว่าการเพาะเลี้ยงในน้ำประปาปริมาตร 150 ml อาจเนื่องมาจากการเลี้ยงสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ในน้ำประปาปริมาตร 20 ml มีปริมาณน้ำน้อย จึงเร่งทำให้สาหร่ายมีการสืบพันธุ์โดยอาศัยเพศที่เร็วขึ้นโดยการสร้างไซโกสปอร์ เพื่อการอยู่รอดของตัวสาหร่ายเอง การที่นำเส้นสาขปกติของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing จากบ่อเพาะเลี้ยง มาทดลองเลี้ยงเพื่อที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างไซโกสปอร์ แต่ไม่เกิดการเหนี่ยวนำนั้น อาจเป็นผลเนื่องมาจากปัจจัยอื่นๆหลายปัจจัยด้วยกันเช่น สภาวะที่เพาะเลี้ยงในบ่อตามธรรมชาตินั้น เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่าย *Spirogyra*

neglecta (Hassall) Kützing มากกว่า และปัจจัยภายนอกต่างๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ปริมาณสารอาหารในน้ำ ค่าการนำกระแสไฟฟ้า ปริมาณแคลเซียมในแหล่งน้ำ และ pH ยังมีผลอีกด้วย ซึ่งมีรายงานของ Grote (1977 cited by Drummond, 2005) สภาพที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ จะเหนี่ยวนำทำให้สาหร่ายในกลุ่ม Zygnematales เกิดการคอนจูเกชันได้ หรือ pH ของแหล่งน้ำก็มีผลต่อการเกิดคอนจูเกชันได้เช่นกัน (Chapman and Chapman, 1975) สอดคล้องกับการรายงานของ Brook (1981) พบว่า สาหร่ายกลุ่ม Zygnematales จะเกิดการคอนจูเกชันได้ในน้ำที่มี pH = 4.1-6.5 และฤดูกาลที่เหมาะสมก็มีผลต่อการเกิดคอนจูเกชันของสาหร่ายสีเขียวเช่นกัน โดยส่วนใหญ่สาหร่าย *Spirogyra* sp. จะมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในช่วงปลายฤดูใบไม้ผลิ หรือต้นฤดูร้อน และโดยปกติในธรรมชาติการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะเกิดยากในกลุ่มของ Zygnematales และ Desmidiaceae (Van den Hoek *et al.*, 1998; Transeau, 1916) จึงคาดว่าต้องมีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างคอนจูเกชันของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมการเหนี่ยวนำให้เกิดการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ได้

Wehr and Sheath (2003) กล่าวว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศสามารถใช้ในการจัดจำแนกสาหร่ายกลุ่ม Zygnematales และ Desmidiaceae ในระดับจีนัสและสปีชีส์ได้ โดยใช้ลักษณะของ vegetative cell และไซโกสปอร์

จุดประสงค์ของการเหนี่ยวนำให้สาหร่ายสร้างท่อคอนจูเกชันและไซโกสปอร์เพื่อใช้ประกอบในการจัดจำแนกถึงระดับชนิดของสาหร่าย *Spirogyra* sp. ดังนั้นเมื่อสาหร่ายสร้างไซโกสปอร์ที่เจริญเต็มที่แล้ว จึงนำมาจัดจำแนกชนิดของสาหร่ายดังกล่าว โดยใช้หลักการของลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลายองค์ประกอบ เช่น ขนาดความกว้างความยาวของเส้นสาย ลักษณะของผนังกันระหว่างเซลล์ อาจเป็นแบบระนาบ (end wall plane) หรือมีลักษณะซ้อนพับเป็นวงแหวน (replicate) หรืออาจมีลักษณะเป็นปลอกกรอบระหว่างรอยต่อระหว่างเซลล์ (colligate) จำนวนของคลอโรพลาสต์ จำนวนของรอบหมุนเป็นเกลียวของคลอโรพลาสต์ ลักษณะของการคอนจูเกชัน เช่น เป็นแบบ ladder-like หรือ lateral รูปร่างของท่อคอนจูเกชัน และลักษณะของไซโกสปอร์ เช่น ขนาด สี รูปร่าง ซึ่งลักษณะของ *Spirogyra* spp. แต่ละชนิดจะแตกต่างกันทั้งขนาดของ vegetative cell และรูปร่างของไซโกสปอร์ เช่น *Spirogyra colligata* Hodgetts จะมีลักษณะพิเศษแตกต่างจากชนิดอื่นคือ จะมีลักษณะเป็นปลอกกรอบระหว่างรอยต่อระหว่างเซลล์ (colligate) ขนาด vegetative cell กว้าง 20-40 μm ยาว 240-260 μm มีคลอโรพลาสต์เส้นเดียว จำนวนของรอบหมุนเป็นเกลียวของคลอโรพลาสต์เท่ากับ 4-8 รอบต่อเซลล์ ไซโกสปอร์ทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50-90 μm สีน้ำตาลเข้ม, *Spirogyra maxima* (Hassall)

Wittrock ขนาด vegetative cell กว้าง 118-140 μm ยาว 100-250 μm มีคลอโรพลาสต์ 6-7 เส้น จำนวนของรอบหมุนเป็นเกลียวของคลอโรพลาสต์เท่ากับ 3.5 รอบต่อเซลล์ ไชโกสปอร์ตรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100-125 μm สีน้ำตาลทอง และสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่นำมาศึกษาในการทดลองนี้จัดอยู่ในชนิด *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ซึ่งมีขนาด vegetative cell กว้าง 50 μm ยาว 170-220 μm ผันกั้นระหว่างเซลล์เป็นแบบระนาบ (end walls plane) มีคลอโรพลาสต์ 3-4 เส้น จำนวนของรอบหมุนเป็นเกลียวของคลอโรพลาสต์ เท่ากับ 2.5-3.5 รอบต่อเซลล์ ไชโกสปอร์ตรังรี ขนาดกว้าง x ยาว ประมาณ 50 x (80-90) μm สีน้ำตาลเข้ม เมื่อไชโกสปอร์ เจริญเต็มที่จะทำให้เซลล์พองตัวและการวางตัวของไชโกสปอร์จะวางตัวตามแนวยาวของเส้นสายซึ่งบางครั้งอาจจะอยู่ตรงมุมของเส้นสาย สอดคล้องกับ John *et al.* (2002)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารประกอบที่มีวงเบนซีนเป็นองค์ประกอบ และมีหมู่แทนที่เป็น hydroxyl group ทำให้มีความเป็นขั้วสูง จึงสามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ เมทานอล เอทานอล และเอทิลแอลกอฮอล์ เป็นต้น และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพดี (โอภา และคณะ, 2549; Jimenez-Escrig *et al.*, 2001; Nagai and Yukimoto *et al.*, 2003)

ก่อนหน้างานวิจัยนี้ ได้มีการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยใช้เอทานอล และน้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing เนื่องจากมีความเป็นขั้วสูง จากผลการทดลองหาปริมาณสารสกัดแห้ง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และศึกษาความสามารถในการยับยั้ง ABTS^{•+} radical พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ที่สกัดด้วยน้ำ ให้ปริมาณสารสกัดแห้ง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และมีความสามารถในการยับยั้ง ABTS^{•+} radical ได้สูงกว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ที่สกัดด้วยเอทานอล (ไชยขง, 2549) เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีขั้วสูง จึงเป็นไปได้ว่าสารนี้จะละลายได้ดีในน้ำ ซึ่งมีความเป็นขั้วสูงกว่าเอทานอล จึงทำให้ได้ปริมาณสารฟีนอลิกที่มากกว่า สอดคล้องกับงานวิจัยของ Senevirathne *et al.* (2006) พบว่า การสกัดสารประกอบฟีนอลิกในสารละลายที่มีขั้วจะให้ปริมาณที่มากกว่าการสกัดด้วยสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว Kuda *et al.* (2005) ที่ทำการสกัดสาหร่ายสีน้ำตาล 3 ชนิด คือ *Scytosiphon lomentaria*, *Papenfussiella kurom*, *Nemacystus decipiens* และสาหร่ายสีแดง 1 ชนิด คือ *Porphyra* sp. พบว่าสารสกัดสาหร่ายด้วยตัวทำละลายน้ำ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล Matsukawa *et al.* (1997) รายงานว่า สารสกัดสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum siliquastrum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH[•] radical ได้ดีกว่าสารสกัดสาหร่ายด้วยตัวทำละลายเอทานอล

จากงานวิจัยของ Tangkanakul *et al.* (2005) ได้ศึกษาหาปริมาณ total phenolic ในสาหร่าย *Spirogyra* sp. พบว่าสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่ทำการสกัดด้วยน้ำมีปริมาณ total phenolic เท่ากับ 1.70 ± 0.11 mg GAE/g น้ำหนักตัวอย่างสาหร่ายสดอีกด้วย

ยังมีผลการวิจัยของ ธนิษฐา (2550) ที่ทำการสกัดสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยตัวทำละลาย น้ำและเอทานอล พบว่า น้ำเป็นตัวทำละลายได้ดีที่สุด และได้ % yield มากกว่าตัวทำละลายเอทานอล โดยค่า % yield สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลของสาหร่ายดังกล่าว เท่ากับ 12.62 และ 4.44 ตามลำดับ เทียบกับ % yield ที่สกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ของการทดลองนี้ เท่ากับ 25.8 ซึ่งแสดงถึงปริมาณ % yield ที่มากกว่าการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล ของงานวิจัยของธนิษฐา อาจเนื่องมาจากใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน จึงทำให้ปริมาณ % yield ที่ได้แตกต่างกัน

จากการศึกษาปริมาณรงควัตถุ ซึ่งได้แก่ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ พบว่า ในสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีรงควัตถุทั้งสองชนิด ดังนี้ ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และบี เท่ากับ 3.160 ± 0.579 , 4.997 ± 0.147 mg/g cell dry weight ตามลำดับ และปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 0.399 ± 0.073 mg/g cell dry weight ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ อัญชลี (2543) พบว่าในสาหร่ายสีเขียวมีปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ สูงกว่าในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

นอกจากนี้ ยูวดี (2549) รายงานว่า ในสาหร่าย *Spirogyra* spp. ยังมีรงควัตถุหลายชนิด เช่น คลอโรฟิลล์ เอ และบี, เบต้า-แคโรทีน (β -carotene) อัลฟา-แคโรทีน (α -carotene) แกมมา-แคโรทีน (γ -carotene), แซนโทฟิลล์ หลายชนิด ซึ่งรงควัตถุนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Tomas-Barberan and Robins, 1997) มีการศึกษาความสามารถของคลอโรฟิลล์ เอ และ porphyrin ring ในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน และคลอโรฟิลล์ เอ จะจับกับอนุมูล peroxyl radical และยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของวิตามินอี ในการกำจัดอนุมูลอิสระ (Endo *et al.*, 1985; Mendiola *et al.*, 2005 cited by Shanab, 2007) มีรายงานถึงรงควัตถุและแคโรทีนอยด์ (แคโรทีน และแซนโทฟิลล์) ช่วยกำจัดสารที่เป็นต้นกำเนิดของสารอนุมูลอิสระ และsinglet oxygen ให้อยู่ในรูปที่ไม่สามารถทำงานได้ และยังมีการใช้เบต้า-แคโรทีน ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อใช้ยับยั้ง Lipid peroxidation อีกด้วย (Bondarev, 1997; Tsuchihashi *et al.*, 1995)

การศึกษาศักยภาพในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ได้ทำการศึกษาศักยภาพในการยับยั้ง ABTS^{•+} radical, DPPH[•] radical, hydroxyl radical, Lipid peroxidation, ความสามารถในการจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} , superoxide radical และความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์หรือตัวให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระ

การศึกษาความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing พบว่า สารละลายสีน้ำเงินอมเขียวของ $ABTS^{+•}$ radical มีสีจางลง หรือมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ต่ำลงเรื่อยๆ เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing เพิ่มขึ้น และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเป็น % Inhibition ของการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical พบว่า % Inhibition แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing แสดงว่าในสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายดังกล่าวมีสารซึ่งสามารถเป็นตัวให้ H แก่ $ABTS^{+•}$ radical ได้

ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical จากค่า IC_{50} ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีค่าเท่ากับ 1.584 ± 0.183 mg/ml เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ ธนิษฐา (2550) ที่รายงานถึงความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical ของสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.520 mg/ml ซึ่งมีค่าน้อยที่สุด และมีความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลของสาหร่ายไคและสาหร่ายลอนอีกด้วย พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ของงานวิจัยนี้ มีความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical ได้น้อยกว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra* sp. ของงานวิจัย ธนิษฐา อาจเนื่องมาจากขั้นตอนในการสกัดที่แตกต่างกันจึงอาจมีผลทำให้สารที่ออกฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันนั้นละลายออกมาในตัวทำละลายต่างกันด้วย จึงทำให้ความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical ต่างกัน และงานวิจัยของ ปาวลี (2550) พบว่าสาหร่ายสีเขียว *Caulerpa racemosa* var. *corynephora* (Montagne) Weber-van Bosse ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ 5 ชนิด เช่น เมทานอล เอทานอล ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และอะซิโตน มีความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical เช่นกัน และพบว่าสารสกัดด้วยอะซิโตนสาหร่าย มีความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical ได้สูงสุด ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 24.82 ± 1.05 mg/ml รองลงมาคือ สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และเมทานอล โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 32.87 ± 0.40 , 33.39 ± 0.69 , 43.76 ± 0.31 และ 46.45 ± 0.96 mg/ml ตามลำดับ เมื่อเทียบกับค่า IC_{50} กับสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ของการวิจัยนี้ พบว่า สาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีความสามารถในการยับยั้ง $ABTS^{+•}$ radical ได้ดีกว่าสาหร่ายสีเขียว *Caulerpa racemosa* var. *corynephora* (Montagne) Weber-van Bosse ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ 5 ชนิด อาจเป็นเพราะว่า สารที่มีความสามารถในการให้ H แก่ $ABTS^{+•}$ radical ได้นั้นถูกสกัดออกมาในตัวทำละลายนํ้ามากกว่าสารสกัดชนิดอื่นๆ

ในการศึกษาความสามารถการยับยั้ง DPPH[•] radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger โดยผลการทดลอง พบว่า สารละลายสีม่วงของ DPPH[•] radical เปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองมากขึ้น หรือมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ต่ำลงเรื่อยๆ เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger เพิ่มขึ้น และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเป็น % Inhibition ของการยับยั้ง DPPH[•] radical พบว่า % Inhibition แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย แสดงว่าในสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายดังกล่าว มีสารซึ่งสามารถเป็นตัวให้ H แก่ DPPH[•] radical ได้ ดังสมการ



ซึ่งสารต้านออกซิเดชันมีบทบาทสำคัญในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ โดยจะเป็นตัวให้ H แก่สารอนุมูลอิสระ แล้วเปลี่ยนไปเป็นสารที่คงตัวได้ (Jadhave *et al.*, 1995; Yamaguchi *et al.*, 1998)

ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง DPPH[•] radical จากค่า IC₅₀ ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่าเท่ากับ 0.044 ± 0.002 mg/ml เมื่อเทียบกับค่า IC₅₀ ของตัวอย่างสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายสไปรูลินา 5 ตัวอย่าง มีค่าเท่ากับ 2.045 ± 0.060 , 1.952 ± 0.192 , 1.994 ± 0.222 , 0.552 ± 0.179 และ 0.588 ± 0.723 ตามลำดับ (รจนา, 2551) และเมื่อเปรียบเทียบค่า IC₅₀ ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายทะเล 4 ชนิด คือ Nori, Kumbu, Wakame และ Hijiki มีค่าเท่ากับ 0.55, 0.58, 0.66 และ 0.57 mg/ml ตามลำดับ (Ismail and Hong, 2002) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่า IC₅₀ น้อยกว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายสไปรูลินาทั้ง 5 ตัวอย่าง และสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายทะเลทั้ง 4 ชนิด แสดงว่ามีความสามารถในการยับยั้ง DPPH[•] radical ได้สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายสไปรูลินาทั้ง 5 ตัวอย่าง และสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายทะเล 4 ชนิด อาจเป็นเพราะในสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีปริมาณสารที่เป็นตัวให้ H แก่ DPPH[•] radical ได้ดีกว่าสาหร่ายสไปรูลินา อีกทั้งงานวิจัยของ Senevirathne *et al.* (2006) ที่ทำการศึกษาสารสกัดของ *Ecklonia cava* ซึ่งเป็นสาหร่ายสีน้ำตาล พบว่า มีความสามารถในการยับยั้ง DPPH[•] radical และความสามารถในการกำจัด DPPH[•] radical ยังเพิ่มขึ้นตามปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้ง DPPH[•] radical จากค่า IC₅₀ พบว่ามีค่า 0.013 mg/ml ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง DPPH[•] radical ได้

ดีกว่าสารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing อาจเนื่องมาจากว่าสาหร่าย *Ecklonia cava* มีปริมาณสารพอลิฟีนอลิกหรือรงควัตถุชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระชนิดนี้ได้มากกว่าสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing

การศึกษาความสามารถการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical ของสารตัวอย่างจะทำการสังเคราะห์ Hydroxyl radical ($\text{OH}^\bullet$) จากน้ำตาล Deoxyribose แล้วทดสอบความสามารถในการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical ของสารสกัดซึ่งจะทำให้สีชมพูจางลง ซึ่งวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีความสามารถในการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical จากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเป็น % Inhibition ของการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical พบว่า % Inhibition แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing แสดงว่าในสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีสารซึ่งสามารถยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical และเป็นตัวให้ H แก่ $\text{OH}^\bullet$ radical ได้ เมื่อกำหนดให้สารประกอบ RH เป็นสารประกอบในสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing จะเกิดปฏิกิริยาดังสมการ ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นคาดว่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Afanasév *et al.* (1989) ที่ศึกษากลไกการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical ของสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารนี้เป็นสารประกอบพอลิฟีนอลชนิดหนึ่ง ดังสมการ



จากผลการวัดความสามารถในการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing พบว่า ค่า IC_{50} ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีค่าเท่ากับ 8.191 ± 0.309 mg/ml เทียบกับค่า IC_{50} ของสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* มีค่าเท่ากับ 0.023 ± 0.003 mg/ml พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีค่า IC_{50} สูงกว่าสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* แสดงว่าสารสกัดมีความสามารถในการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical ได้ต่ำกว่าสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* อาจเป็นเพราะในสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* มีสารที่มีความสามารถในการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical มากกว่าในสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ได้

การศึกษาความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดทดสอบ โดยใช้ตับหนูมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วทำให้เกิดสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) ซึ่งเป็น

ผลผลิตจากการเกิด Lipid peroxidation จากนั้นเติมกรดไทโอบาร์บิทริก ในสภาวะกรดสาร MDA จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทริก ได้เป็นสารมีสีเรียกว่า TBARS (TBA-MDA adduct) เมื่อเติมสารสกัดทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ลงไป จะทำให้สารสีจางลง จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation โดยแสดงได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายที่เพิ่มสูงขึ้น เมื่อนำมาคำนวณเป็น % Inhibition ของการยับยั้ง Lipid peroxidation พบว่า % Inhibition แปรผันตรงกับ ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing แสดงว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถยับยั้งสาร TBARS จาก Lipid peroxidation สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rice-Evans *et al.* (1997) ที่รายงานว่า สารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งสาร TBARS ที่เกิดจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation และยังสามารถยับยั้ง DPPH[•] radical ได้อีกด้วย เป็นไปได้ว่าสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ซึ่งมีสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการเกิดสาร TBARS ที่เกิดจาก Lipid peroxidation ได้

เมื่อศึกษาความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation จากค่า IC₅₀ ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีค่าเท่ากับ 7.605 ± 0.211 mg/ml เมื่อเทียบกับค่า IC₅₀ ของตัวอย่างสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายสไปรูลินา 5 ตัวอย่าง มีค่า 102.03 ± 0.58 , 130.23 ± 1.21 , 96.91 ± 9.81 , 53.25 ± 9.46 และ 55.37 ± 2.25 ตามลำดับ (รจนา, 2551) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีค่า IC₅₀ น้อยกว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายสไปรูลินาทั้ง 5 ตัวอย่าง แสดงว่ามีความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ได้สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายสไปรูลินาทั้ง 5 ตัวอย่าง

การศึกษาศักยภาพในการแย่งจับกับโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่าง ๆ มากมายหลายชนิดจากปฏิกิริยาเคมี เมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไป จะไปจับกับ Fe²⁺ แล้วจะอยู่ในรูป Ferrozine - Fe²⁺ complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารสกัดทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับ Fe²⁺ จะทำให้สีแดงของ Ferrozine - Fe²⁺ complex จางลงได้ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 nm และจากการทดลอง พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing มีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ Fe²⁺ โดยแสดงได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายที่เพิ่มสูงขึ้น เมื่อนำมาคำนวณเป็น % Inhibition ของการแย่งจับกับโลหะโลหะไอออน พบว่า % Inhibition แปรผันตรงกับ ความเข้มข้น

ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger แสดงว่าสารในสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger เป็นตัวแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ไม่ให้จับกับสาร ferrozine สอดคล้องกับการศึกษาสารโพลีฟีนอลและสารประกอบฟีนอลิกเป็นตัวแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ได้ (Shahidi and Wanasundara, 1992; Sanchez-Moreno *et al.*, 1999) และการศึกษาของ Thompson and Williams (1976) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกมี functional groups ที่สามารถจับกับโลหะไอออน Fe^{2+} ได้ อีกทั้ง Harmuth-Hoene and Schelenz (1980) รายงานว่าเส้นใย (fiber) ในอาหารช่วยในการจับโลหะไอออนได้ดี และปริมาณเส้นใยในสาหร่ายมีความสามารถในการจับกับโลหะไอออนได้ดีเช่นกัน และงานวิจัยของ Kuda *et al.* (1998) รายงานว่าปริมาณเส้นใยของสาหร่าย เช่นสาร alginate และ fucoidan มีความสามารถในการจับกับโลหะไอออนได้อีกด้วย ซึ่งสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีทั้งสารประกอบฟีนอลิกและเส้นใย จึงเป็นไปได้ว่าสาหร่ายมีสารที่ช่วยในการจับโลหะไอออน Fe^{2+} ได้ด้วย

เมื่อศึกษาค่า IC_{50} ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่าเท่ากับ 0.181 ± 0.004 mg/ml เทียบกับค่า IC_{50} ของสารสกัดด้วย 70% เมทานอลของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* มีค่า 0.436 ± 0.030 mg/ml (Senevirathne *et al.*, 2006) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่า IC_{50} ต่ำกว่าสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* แสดงว่าสารสกัดมีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ได้สูงกว่าสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* อาจเป็นเพราะในสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีสารที่ช่วยในการจับโลหะไอออน Fe^{2+} ได้มากกว่าสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava*

การศึกษาความสามารถในการยับยั้ง Superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ซึ่งอนุมูล $\text{O}_2^{\bullet-}$ เป็นอนุมูลที่สำคัญและมีการสร้างขึ้นได้ในกระบวนการต่างๆของร่างกาย และยังเป็นตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมาย การศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์ $\text{O}_2^{\bullet-}$ radical จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในระบบ Phenazine methosulphate (PMS) – Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสารสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา จากการทดลอง พบว่า สารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความสามารถในการยับยั้ง $\text{O}_2^{\bullet-}$ radical โดยแสดงได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายที่เพิ่มสูงขึ้น เมื่อนำมาคำนวณเป็น % Inhibition ของการยับยั้ง $\text{O}_2^{\bullet-}$ radical พบว่า % Inhibition แปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger แสดงว่าสารในสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความสามารถในการยับยั้ง $\text{O}_2^{\bullet-}$ radical และสามารถให้

H แก่ $O_2^{\bullet}$ radical ได้ เมื่อกำหนดให้สารประกอบ RH เป็นสารประกอบในสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger จะเกิดปฏิกิริยาดังสมการ



ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Senevirathne *et al.* (2006) รายงานว่า สารในสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* มีความสามารถในการ neutralisation $O_2^{\bullet}$ radical โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอม จากสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสาหร่ายชนิดนี้ เป็นไปได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ก็ทำหน้าที่เป็นตัวให้ H แก่ $O_2^{\bullet}$ radical เช่นเดียวกัน

เมื่อศึกษาค่า IC_{50} ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่าเท่ากับ 0.897 ± 0.052 mg/ml เทียบกับค่า IC_{50} ของสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* มีค่า 0.051 ± 0.003 mg/ml (Senevirathne *et al.*, 2006) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีค่า IC_{50} สูงกว่าสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* แสดงว่าสารสกัดมีความสามารถในการยับยั้ง $O_2^{\bullet}$ radical ได้ต่ำกว่าสารสกัดของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava*

การศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger แก่สารอนุมูลอิสระโดยสารสกัดจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ แล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา Reduction ของ $Fe^{3+}(CN)_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN)_6$ ซึ่งจะให้มีสีน้ำเงินเข้มขึ้นที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น จากการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระได้ จากค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด เมื่อกำหนดค่าการดูดกลืนแสงที่ 1.000 เป็นจุดที่ใช้ในการแสดงถึงความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.529 ± 0.019 mg/ml เทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.043 ± 0.001 mg/ml แสดงว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger และสารมาตรฐาน Gallic acid มีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนทั้งคู่ และเมื่อเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ 1.000 ของความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารสกัดด้วยเฮกเซนของสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia cava* พบว่า มีค่า 1.3 mg/ml

แสดงว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ได้ดีกว่า

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในธรรมชาติหรือภายในร่างกายนั้นมีอยู่มากมายหลายชนิด ที่สำคัญเช่น Hydroxyl radical, Superoxide radical, โลหะ Fe^{2+} , สารที่เกิดจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation ต่างๆ ฯลฯ และอนุมูลอิสระนี้ที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆตามมาได้ ดังนั้นร่างกายจึงต้องการสารต้านออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระเหล่านี้ สารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติมีหลายชนิด ได้แก่ สารที่พบในพืชต่างๆ เช่นสารประกอบฟีนอลิก ฯลฯ หรือพวกรงควัตถุที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์พืชอีกหลายชนิด สารนี้สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้หลายชนิด

จากการศึกษาปริมาณรงควัตถุ และความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger พบว่า สาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีรงควัตถุคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ ซึ่งจัดเป็นสารต้านออกซิเดชัน จึงเป็นไปได้ว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันนั้นมาจากสารประกอบฟีนอลิกและรงควัตถุที่มีอยู่ในสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger จากความสามารถในการต้านออกซิเดชันของทั้ง 7 วิธี ที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันของอนุมูลอิสระทั้ง 7 วิธี ซึ่งสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH[•] radical ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ โลหะ Fe^{2+} , Superoxide radical, ABTS^{•+} radical, Malondialdehyde, Hydroxyl radical จากค่า IC_{50} ที่น้อยไปอย่างมาก และสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger มีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์หรือให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระเพื่อเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้เป็นตัวที่คงตัวหรือหยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด (Mathew and Abraham, 2006) ถ้าทำการสกัดสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützinger ให้ได้สารบริสุทธิ์ คาดว่าความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระน่าจะสูงขึ้น

นอกจากนี้ยังมีรายงานประโยชน์ของสาหร่ายในด้านอื่นๆ ได้แก่ การมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสก่อโรคเริ่มชนิดที่ 1 และ 2 ในขณะที่เกาะติดกับเซลล์ GMK cell ได้ (เชิญขวัญ, 2551; หฤทัย, 2551) Yamamoto *et al.* (1984) รายงานว่า สาหร่าย *Sargassum kjellmanianum* มีความสามารถในการเป็น antitumor ยับยั้ง Sarcoma 180 และ Itoh and Sugiura (1976) รายงานว่า Polysaccharide ของ *Sargassum thumbergii* มีความสามารถในการเป็น antitumor ได้