

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญ	๗
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ฉ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ค
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	33
บทที่ 4 ผลการวิจัย	44
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	76
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	87
เอกสารอ้างอิง	88
ภาคผนวก ก อาหาร Chart-Grote liquid medium สำหรับเลี้ยงสาหร่าย	96
<i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	
ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมี	97
ภาคผนวก ค ข้อมูลปริมาณรงควัตถุคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์	103
ภาคผนวก ง ข้อมูลปริมาณกิจกรรมต้านออกซิเดชันของสาหร่าย	104
<i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ทั้ง 7 วิธี	
ภาคผนวก จ ข้อมูลกราฟมาตรฐาน Trolox, Gallic acid และ EDTA ทั้ง 7 วิธี	118
ภาคผนวก ฉ การวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Lowry	131
ประวัติผู้เขียน	135

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง	4
2 ผลของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Spirogyra</i> sp. ในสภาวะต่างๆ	46
3 ผลของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Spirogyra</i> sp. ที่สร้างท่อคอนจูเกชัน 2 สภาวะ	48
4 ลักษณะของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ที่ใช้ในการจัดจำแนกถึงระดับชนิด	52
5 กิจกรรมต้านออกซิเดชันของสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing เทียบกับสารมาตรฐานต่างๆ	75
6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 และ 665 nm ของสารละลายคลอโรฟิลล์ ที่สกัดได้จากสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	103
7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของสารละลายแคโรทีนอยด์ ที่สกัดได้จากสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	103
8 ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง ABTS ^{•+} radical ที่ความยาวคลื่น 734 nm ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	104
9 % Inhibition ของ ABTS ^{•+} radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	105
10 การคำนวณค่า IC ₅₀ ของการยับยั้ง ABTS ^{•+} radical จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	105
11 ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง DPPH [•] radical ที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	106
12 % Inhibition ของ DPPH [•] radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	107

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
13	การคำนวณค่า IC_{50} ของการยับยั้ง DPPH [•] radical จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	107
14	ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง OH [•] radical ที่ความยาวคลื่น 532 nm ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	108
15	% Inhibition ของ OH [•] radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	109
16	การคำนวณค่า IC_{50} ของการยับยั้ง OH [•] radical จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	109
17	ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง Lipid peroxidation ที่ความยาวคลื่น 532 nm ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	110
18	% Inhibition ของ Lipid peroxidation ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	111
19	การคำนวณค่า IC_{50} การยับยั้ง Lipid peroxidation จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	111
20	ค่าการดูดกลืนแสงของการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ที่ความยาวคลื่น 562 nm ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	112
21	% Inhibition ของการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	113
22	การคำนวณค่า IC_{50} ของการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	113

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
23	ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง $O_2^{\bullet}$ radical ที่ความยาวคลื่น 560 nm ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	114
24	% Inhibition ของ $O_2^{\bullet}$ radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	115
25	การคำนวณค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $O_2^{\bullet}$ radical จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	115
26	ค่าการดูดกลืนแสงของความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ ที่ความยาวคลื่น 700 nm ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	116
27	การคำนวณความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	117
28	ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง $ABTS^{\bullet}$ radical ที่ความยาวคลื่น 734 nm ของสารมาตรฐาน Trolox	118
29	% Inhibition ของ $ABTS^{\bullet}$ radical ของสารมาตรฐาน Trolox	119
30	การคำนวณค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $ABTS^{\bullet}$ radical จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox	119
31	ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง $DPPH^{\bullet}$ radical ที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารมาตรฐาน Gallic acid	120
32	% Inhibition ของ $DPPH^{\bullet}$ radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid	121
33	การคำนวณค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $DPPH^{\bullet}$ radical จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Gallic acid	121
34	ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง $OH^{\bullet}$ radical ที่ความยาวคลื่น 532 nm ของสารมาตรฐาน Trolox	122

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
35 % Inhibition ของ $\text{OH}^\bullet$ radical ของสารมาตรฐาน Trolox	123
36 การคำนวณค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $\text{OH}^\bullet$ radical จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox	123
37 ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง Lipid peroxidation ที่ความยาวคลื่น 532 nm ของสารมาตรฐาน Trolox	124
38 % Inhibition Lipid peroxidation ของสารมาตรฐาน Trolox	125
39 การคำนวณค่า IC_{50} ของการยับยั้ง Lipid peroxidation จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox	125
40 ค่าการดูดกลืนแสงของการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ที่ความยาวคลื่น 562 nm ของสารมาตรฐาน EDTA	126
41 % Inhibition ของการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ของสารมาตรฐาน EDTA	127
42 การคำนวณค่า IC_{50} ของการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน EDTA	127
43 ค่าการดูดกลืนแสงของการยับยั้ง $\text{O}_2^\bullet$ radical ที่ความยาวคลื่น 560 nm ของสารมาตรฐาน Gallic acid	128
44 % Inhibition ของ $\text{O}_2^\bullet$ radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid	129
45 การคำนวณค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $\text{O}_2^\bullet$ radical จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Gallic acid	129
46 ค่าการดูดกลืนแสงของความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ ที่ความยาวคลื่น 700 nm ของสารมาตรฐาน Gallic acid	130
47 การคำนวณความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ จากสมการเส้นตรง ระหว่าง % Inhibition กับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Gallic acid	130
48 ปริมาณ BSA และค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm	133

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของ อัลฟา-แคโรทีน (α -carotene) และเบต้า-แคโรทีน (β -carotene)	12
2	โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ	15
3	โครงสร้างทางเคมีของ Trolox	16
4	โครงสร้างทางเคมีของ Gallic acid	16
5	โครงสร้างทางเคมีของ EDTA	17
6	โครงสร้างทางเคมีของ EDTA จับกับไอออนของโลหะ	17
7	โครงสร้างทางเคมีของ ABTS [2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)]	19
8	โครงสร้างทางเคมีของ DPPH radical	20
9	กลไกการเกิดปฏิกิริยา Lipid peroxidation	22
10	ปฏิกิริยาการเกิด TBARS	23
11	โครงสร้างทางเคมีของ Nitroblue tetrazolium (NBT)	25
12	สาหร่าย <i>Spirogyra</i> spp. (ก) ภาพในภาคสนาม (ข) ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Scale bar = 50 μ m)	27
13	วงจรชีวิตของ <i>Spirogyra</i> spp.	28
14	บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Spirogyra</i> sp.	37
15	บ้านนาคูหา ต.สวนเขื่อน อ.เมือง จ.พิจิตร (ก) ขั้นตอนการเก็บสาหร่าย (ข) สาหร่าย <i>Spirogyra</i> sp. หลังการเก็บเกี่ยว	37
16	<i>Spirogyra</i> sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Scale bar = 100 μ m) (ก) ลักษณะของเส้นสาขปกติของสาหร่าย <i>Spirogyra</i> sp., (ข) ลักษณะของเส้นสาขที่มี fragmentation, (ค) คลอโรพลาสต์เกิดการคลายเกลียว	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
17	การสร้างท่อคอนจูเกชัน (ก)-(ข), การจับคู่กันของเส้นสายโดยลักษณะ คลอโรพลาสต์ภายในเซลล์ยังเป็นปกติ (ค), คลอโรพลาสต์กำลังหดตัว (ง), คลอโรพลาสต์ไหลมารวมกัน (จ)-(ฉ) Scale bar = 50 μ m	49
18	การเกิดเป็นไซโกสปอร์ที่ยังอ่อน (ก)-(ข), ไซโกสปอร์เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ค) และไซโกสปอร์ที่เจริญเติบโตเต็มที่ Scale bar = 50 μ m	50
19	(ก) Vegetative cell กำลังขยาย 20 เท่า และ(ข) ไซโกสปอร์ที่เจริญเติบโตเต็มที่ กำลังขยาย 40 เท่า Scale bar = 50 μ m	51
20	สารสกัดแห้งของตัวอย่างสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	53
21	ความสามารถในการยับยั้ง ABTS ⁺ radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.1-8.0 mg/ml	55
22	การหาค่า IC ₅₀ ของการยับยั้ง ABTS ⁺ radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	55
23	การหาค่า IC ₅₀ ของการยับยั้ง ABTS ⁺ radical ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.0005-0.005 mg/ml	56
24	ความสามารถในการยับยั้ง DPPH [•] radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.01-1.5 mg/ml	58
25	การหาค่า IC ₅₀ ของการยับยั้ง DPPH [•] radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	58
26	ความสามารถในการยับยั้ง DPPH [•] radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.002-0.02 mg/ml	59
27	การหาค่า IC ₅₀ ของการยับยั้ง DPPH [•] radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.002-0.02 mg/ml	59
28	ความสามารถในการยับยั้ง OH [•] radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.5-50.0 mg/ml	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
29	การหาค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $OH^{\bullet}$ radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	61
30	ความสามารถในการยับยั้ง $OH^{\bullet}$ radical ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.1-4.0 mg/ml	62
31	การหาค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $OH^{\bullet}$ radical ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.1- 4.0 mg/ml	62
32	ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 5.0-18.0 mg/ml	64
33	การหาค่า IC_{50} ของการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	64
34	ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.35 mg/ml	65
35	การหาค่า IC_{50} ของการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารมาตรฐาน Trolox ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.35 mg/ml	65
36	ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.05-1.0 mg/ml	67
37	การหาค่า IC_{50} ของการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ของสารสกัดด้วยน้ำของตัวอย่างสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	67
38	ความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ของสารมาตรฐาน EDTA ในช่วงความเข้มข้น 0.02-1.2 mg/ml	68
39	การหาค่า IC_{50} ของการแย่งจับกับโลหะ Fe^{2+} ของสารมาตรฐาน EDTA ในช่วงความเข้มข้น 0.02-1.2 mg/ml	68
40	ความสามารถในการยับยั้ง $O_2^{\bullet-}$ radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.1-5.0 mg/ml	70

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
41	การหาค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $O_2^{\bullet}$ radical ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	70
42	ความสามารถในการยับยั้ง $O_2^{\bullet}$ radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.05-1.6 mg/ml	71
43	การหาค่า IC_{50} ของการยับยั้ง $O_2^{\bullet}$ radical ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.05-1.6 mg/ml	71
44	ความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing ในช่วงความเข้มข้น 0.0-1.0 mg/ml	72
45	ความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารมาตรฐาน Gallic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.0-0.1 mg/ml	73
46	ค่า IC_{50} ของการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่าย <i>Spirogyra neglecta</i> (Hassall) Kützing	74
47	กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณ BSA และค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm	134

อักษรย่อและสัญลักษณ์

อักษรย่อ

ความหมาย

λ

ความยาวคลื่นแสง

e-

อิเล็กตรอน

Abs.

ค่าการดูดกลืนแสง

n

จำนวนครั้ง

l

ลิตร

ml

มิลลิลิตร

mg

มิลลิกรัม

g

กรัม

nm

นาโนเมตร

μ m

ไมโครเมตร

v/v

volume by volume

w/v

weight by volume

M

โมลาร์

mM

มิลลิโมลาร์

$^{\circ}$ C

เซลเซียส

U

หน่วย

N

นอร์มอล