กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lintillifera*) สาหร่ายทุ่น (*Sargassum oligocystum*) และสาหร่ายเขากวาง (*Gracilaria changii*)

Antioxidant Activities of Crude Extracts from *Caulerpa lintillifera*, *Sargassum oligocystum* and *Gracilaria changii*

วสันต์ สุมินทิลี่[1,]* ปนิดา บรรจงสินศิริ[2] จันทนา ไพรบูรณ์[3] และวรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์[1]
Wasan Sumintilee[1]*, Panida Banjongsinsiri[2], Jantana Praiboon[3], Wanwimol Klaypradit[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทะเล 3 ชนิด คือ สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera)* สาหร่ายทุ่น (*Sargassum oligocystum*) และสาหร่ายเขากวาง (*Gracilaria changii*) ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล และศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ โดยวิเคราะห์ประสิทธิภาพในด้าน (1) การขจัดอนุมูล DPPH (2) การรีดิวซ์ (3) การจับโลหะ และ (4) การต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีน ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดเท่ากับ 75.37 ± 9.11 mg GAE/g dried basis สารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนและสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่ายทุ่นมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH (EC_{50}) มากที่สุดเท่ากับ 118.24 ± 9.76 µg/ml และ 121.33 ± 4.89 µg/ml ตามลำดับ ($p>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่น มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ ประสิทธิภาพในการจับโลหะ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีนสูงที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 171.69 ± 2.13 µM AAE/g dried basis (ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 500 µg/ml) EC_{50} = 55.94 ± 0.23 µg/ml และ 64.75 ± 0.58% (ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 1,000 µg/ml) ตามลำดับ ทั้งนี้สารสกัดจากสาหร่ายอาจนำไปใช้เป็นสารแอนติออกซิแดนท์ธรรมชาติในอุตสาหกรรมอาหาร เวชสำอางค์และเภสัชกรรมได้

คำสำคัญ: กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ แอนติออกซิแดนท์ สาหร่ายพวงองุ่น สาหร่ายทุ่น สาหร่ายเขากวาง

ABSTRACT

The objectives of this research were to study total phenolic contents (TPC) and antioxidant activities (AOA) of the crude hot water extracts and crude ethanolic extracts from three different species of seaweed including *Caulerpa lentillifera* (Chlorophyta), *Sargassum oligocystum* (Ochrophyta) and *Gracilaria changii* (Rhodophyta). The AOA of the extracts were measured by (1) DPPH radical scavenging assay (2) Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay (3) Ferrous-ion chelating (FIC) assay and (4) β–carotene bleaching (BCB) assay. The results showed that the ethanolic extract from *C. lentillifera* had the highest TPC (75.37 ± 9.11 mg GAE/g dry basis). Moreover the hot water extract and ethanolic extract from *S. oligocystum* were shown the highest activity of scavenging DPPH with EC_{50} = 118.24 ± 9.76 and 121.33 ± 4.89 µg/ml, respectively ($p > 0.05$). However, the ethanolic extract from *C. lentillifera* was found to have the highest reducing ability (171.69 ± 2.13 µM AAE/g dry basis, at conc. 500 µg/ml), chelating ability (EC_{50} = 55.94 ± 0.23 µg/ml) and %BCB (64.75 ± 0.58%, at conc. 1,000 µg/ml). The natural antioxidants obtained from these seaweed could be used to apply for food industries, cosmetics and pharmaceutics.

Keywords: antioxidant activity, seaweed, *C. lentillifera*, *S. oligocystum*, *G. changii*

w.sumintilee@gmail.com
[1,]* ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[2] ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
[3] ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทนำ

สาหร่าย (algae) ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในหลากหลายรูปแบบ ตัวอย่างเช่น ใช้บริโภคเป็นอาหาร [8] ใช้ในการปศุสัตว์ ใช้เป็นปุ๋ย ใช้บำบัดน้ำเสีย [1] และใช้เป็นยา [15] เป็นต้น โดยทั่วโลกมีการบริโภคสาหร่ายชนิดต่างๆ คิดเป็น สัดส่วนโดยประมาณคือ สาหร่ายสีเขียว 5% สาหร่ายสีน้ำตาล 66.5% และสาหร่ายสีแดง 33% โดยทวีปเอเชียมีการบริโภคสาหร่ายมากที่สุด โดยเฉพาะประเทศญี่ปุ่น จีน และเกาหลี [2] นอกจากนี้สาหร่ายยังมีสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) ที่สำคัญ คือ มีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์หรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) สารออกฤทธิ์ต้านเนื้องอก (antitumor) สารออกฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) สารออกฤทธิ์ลดไขมันในเลือด (antihyperlipidemic) และสารออกฤทธิ์ต้านไวรัส (antiviral) เป็นต้น [30]

สารแอนติออกซิแดนท์มีบทบาทในการชะลอยับยั้ง หรือขจัดอนุมูลอิสระ (free radicals) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) โดยทำหน้าที่เป็นผู้ให้อิเล็กตรอน (electron donors) ผู้ให้โปรตอน (hydrogen donors) รวมถึงมีบทบาทในการจับโลหะ (metal chelating) ด้วย [21] ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) ส่งผลให้อัตราการสูญเสียกลิ่น รส ลักษณะปรากฏ และคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์อาหารช้าลง [15] รวมทั้งมีบทบาทในการชะลอหรือขจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกายมนุษย์ ซึ่งสามารถป้องกันภาวะเครียดที่เกิดจากการออกซิเดชัน (oxidative stress) ได้ ทำให้สามารถลดการเกิดโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระภายในร่างกาย รวมทั้งชะลอการแก่ก่อนวัย [10] ซึ่งในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับสมบัติการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ของวัตถุดิบจากแหล่งธรรมชาติต่างๆ เช่น พืช ผลไม้ รวมไปถึงสาหร่าย ได้มีการศึกษากันอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากสาหร่ายจัดเป็นอีกแหล่งหนึ่งของสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ซึ่งสามารถสกัดได้โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น เมทานอลหรือเอทานอล เป็นต้น [10] ในขณะที่การใช้น้ำร้อนในการสกัดสารสกัดจากสาหร่ายจะทำให้ได้สารในกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) [20] ซึ่งทั้งสารประกอบฟีนอลิกและโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายล้วนมีความสามารถในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่มีประสิทธิภาพสูง [16,27] โดยประสิทธิภาพในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ของสารสกัดจากสาหร่ายที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก ชนิดของโพลีแซคคาไรด์ รงควัตถุ แคโรทีนอยด์ เช่น fucoxanthin เป็นต้น รวมทั้งโปรตีน ที่แตกต่างกันในสาหร่ายแต่ละชนิด [15] นอกจากนี้ปริมาณและตำแหน่งของหมู่ซัลเฟตบนโครงสร้างน้ำตาลที่แตกต่างกันของโพลีแซคคาไรด์ที่สารสกัดได้จากสาหร่ายชนิดต่างๆ ยังมีผลต่อประสิทธิภาพในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์อีกด้วย [13,30,35]

โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสมบัติการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์จากสาหร่ายทะเล (seaweed) 3 ชนิด ที่พบได้ในแถบชายฝั่งภาคตะวันออกของประเทศไทย ได้แก่ สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta) ซึ่งในประเทศไทยนิยมใช้สาหร่ายพวงองุ่นในการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงกุ้ง [29] สาหร่ายทุ่น (*Sargassum oligocystum*) จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีน้ำตาล (Ochrophyta) สาหร่ายชนิดนี้มีการนำไปศึกษากันค่อนข้างน้อย แต่อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าสารสกัดจากสาหร่ายทุ่นมีความสามารถในการต่อต้านเซลล์มะเร็งได้ [34] และสาหร่ายเขากวาง (*Gracilaria changii*) จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีแดง (Rhodophyta) นิยมนำไปใช้ในการผลิตวุ้น (agar) เพื่อใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวในอุตสาหกรรมอาหาร และบริโภคสด [17] แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่เกี่ยวกับสมบัติการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดนี้ ในประเทศไทยยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้อาจนำสารสกัดจากสาหร่ายไปประยุกต์เป็นสารแอนติออกซิแดนท์ธรรมชาติทดแทนการใช้สารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร รวมไปถึงอาจสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมเวชสำอางและเภสัชกรรมได้อีกด้วย

w.sumintilee@gmail.com
[1]Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University
[2]Food Technology Department, Thailand Institute of Scientific and Technological Research
[3]Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

สาหร่ายที่ใช้ในการทดลองนี้มีทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) จัดในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta) สาหร่ายทุ่น (*Sargassum oligocystum*) จัดอยู่ในกลุ่มของสาหร่ายสีน้ำตาล (Orchrophyta) และสาหร่ายเขากวาง (*Gracilaria changii*) จัดในกลุ่มของสาหร่ายสีแดง (Rhodophyta) โดยตัวอย่างสาหร่ายทุ่นได้ เก็บจากหาดนางรอง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2554 สำหรับสาหร่ายพวงองุ่นและสาหร่ายเขากวางได้รับจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งตราด จังหวัดตราด ในช่วงเดือนมีนาคม 2554 บรรจุสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดนี้ ในถุงพลาสติกและควบคุมอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็ง และทำการขนส่งตัวอย่างสาหร่ายมายังห้องปฏิบัติการภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ล้างทำความสะอาดสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ด้วยน้ำจืดสะอาดโดยแช่ตัวอย่างสาหร่ายในน้ำจืดไหลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการแยกเศษหินและสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ออกจากสาหร่าย จากนั้นจึงนำสาหร่ายบรรจุในถุงและเก็บรักษาในอุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำไปศึกษาต่อไป

2. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากสาหร่าย ได้แก่ เอทานอล 95% (commercial grade) สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ประสิทธิภาพความเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ของสารสกัดจากสาหร่าย ได้แก่ Gallic acid, 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Linoleic acid, Tween 20, β-carotene (Sigma-Aldrich, Germany), Folin-Cioceateau reagent, Iron (III) chloride hexahydride (Merck, Germany), 2, 4, 6-tripyridyl-3-triazine (TPTZ), 4, 4’-[3-(2-pyridinyl)]-1, 2, 4-trizaine-s, 6 dinyl (Ferrozine) (Fluka, Germany), Iron (II) chloride, L-ascorbic acid (Ajax Fine Chem, New Zealand), Acetic acid (BDH, USA) และ Chloroform (Lab scan, Poland)

3. การสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

สกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่ายด้วยเอทานอล ได้ดัดแปลงจากวิธีของ Chew และคณะ, 2008 [7] โดยใช้ตัวอย่างสาหร่ายสด 10 กรัม ปั่นผสมเอทานอลในอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างสาหร่ายและเอทานอล เท่ากับ 1:10 (w/v) และทำการเขย่าตัวอย่างอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยเครื่องเขย่าสารแบบเป็นวงโคจร (orbital shaker) แล้วจึงนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 จากนั้นนำไปประเหยสารละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Buchi Rotavapor รุ่น R-124, Switzerland) สารสกัดที่ทำการระเหยสารละลายออก แล้วได้นำมาละลายอีกครั้งด้วยตัวทำละลายชนิดเดิม ซึ่งการสกัดสารสกัดหยาบจากตัวอย่างได้ทำการสกัดซ้ำจากตัวอย่างเดิมจำนวน 3 ครั้ง โดยสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ได้จะบรรจุในขวดแก้วสีชาและทำการเติมแก๊สไนโตรเจน และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำไปศึกษาในขั้นต่อไป

สำหรับการสกัดสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนจากสาหร่ายได้ดัดแปลงจากวิธีของ Pereira และคณะ, 2003 [28] และ Zvyagintseva และคณะ, 1999 [36] โดยใช้ตัวอย่างสาหร่ายสด 10 กรัม ปั่นผสมรวมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างสาหร่ายและน้ำกลั่น เท่ากับ 1:20 (w/v) จากนั้นจึงให้ความร้อนกับตัวอย่างสาหร่ายที่อุณหภูมิ 110°C ความดัน 0.05 MPa เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อระบบความดัน (Hirayama รุ่น 240/300 MIV, Japan) เมื่อครบเวลาจึงทำการกรองตัวอย่างสาหร่ายด้วยผ้าขาวบาง และนำไปแยกตะกอนออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงหนีจุดศูนย์กลางด้วยความเร็ว 10,000 *g* เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 สารสกัดที่ผ่านการกรองแล้วได้ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการคัดแยกส่วนที่เป็นของแข็งออกจากสารสกัด และนำส่วนที่เป็นของเหลวไประเหยสารละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ โดยทำการสกัดสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนจากตัวอย่างเดิมจำนวน 3 ครั้ง จากนั้นจึงนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายไปทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตัวอย่างสารสกัดจากสาหร่ายที่ผ่านการ ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแล้วได้ทำการเก็บรักษาในภาชนะบรรจุสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ -20°C

นำสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอลจากสาหร่าย 3 ชนิด ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันในบทบาทต่างๆ ต่อไป

w.sumintilee@gmail.com
[1] ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[2] ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
[3] ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content; TPC)

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ใช้วิธี Folin-Ciocalteu ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Chew และคณะ, 2008 [7] ทำได้โดยนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายปริมาตร 20 µl มาทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 100 µl และน้ำกลั่นปริมาตร 1.6 ml จากนั้นใส่สารละลาย Sodium carbonate ความเข้มข้น 10% (w/v) ปริมาตร 300 µl แล้วเก็บไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาแล้วจึงนำสารเหล่านั้นไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Shimadzu รุ่น UV-1700, Japan) จากนั้นจึงนำค่าเหล่านั้นมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยอาศัยการคำนวณจากสมการมาตรฐานของ Gallic acid

5. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่าย

5.1 วิธี 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging

วิธี DPPH radical scavenging ได้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Brand-Williams และคณะ, 1995 [6] วิเคราะห์โดยนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายมาเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 6.25-500 µg/ml ด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 95% จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างและสารละลาย DPPH ในเมทานอล ที่มีความเข้มข้น 6×10^{-5} M มาผสมกันในอัตราส่วน 1:1 (v/v) แล้วจึงนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง 96 well microplate reader (Costar รุ่น 3799, USA) ที่ความยาวคลื่น 517 nm และนำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ตรวจวัดได้ไปคำนวณเป็นร้อยละความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารแอนติออกซิแดนท์ (%inhibition) ดังสมการที่ (1) จากนั้นจึงนำค่า %inhibition ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ได้จากการคำนวณไปสร้างเป็นกราฟเส้นตรงเพื่อใช้คำนวณหาค่า Half maximal effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีผลต่อการลดจำนวนของอนุมูลอิสระลงไปครึ่งหนึ่งจากจำนวนของอนุมูลอิสระเริ่มต้น

$$\% \text{ inhibition} = \frac{[A_c - (A_S - A_{S0})]}{A_c} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ A_c คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลาย DPPH

A_s คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายตัวอย่างที่ใส่สารละลาย DPPH

A_{s0} คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายตัวอย่าง

5.2 วิธี Ferric-reducing antioxidant power

วิธี Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) ได้ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie และคณะ, 1999 [5] โดยนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายมาเจือจางในระดับความเข้มข้น 100-500 µg/ml ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% จากนั้นนำสารที่ถูกเจือจางแล้วจำนวน 0.3 ml เติมลงในสารละลาย FRAP reagaent ปริมาตร 3.7 ml และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง จากนั้นไปคำนวณเป็นประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ (reducing ability) โดยอาศัยสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานของ L-ascorbic acid

5.3 วิธี Ferrous ion chelating

วิธี Ferrous ion chelating (FIC) ได้ดัดแปลงจากวิธีของ Dinis และคณะ, 1994 [11] วิเคราะห์โดยละลายสารสกัดหยาบสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้น 1-1,000 µg/ml ด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 95% จากนั้นจึงนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปริมาณ 1 ml มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย $FeCl_2$ ความเข้มข้น 2 mM ปริมาณ 1 ml และสารละลาย ferrozine ความเข้มข้น 5 mM ปริมาณ 1 ml แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ช่วงความคลื่น 562 nm ด้วยเครื่อง 96 well microplate reader แล้วนำผลที่ได้ไปคำนวณเป็น ความสามารถในการจับโลหะ (%chelating ability) ดังสมการที่ (2) โดยค่า %chelating ability ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดจากสาหร่ายที่ได้จากการคำนวณจากสมการที่ (2) จะนำไปสร้างเป็นกราฟเส้นตรงเพื่อใช้คำนวณหาค่า EC_{50}

$$\%\text{Chelating ability} = [(A_c - A_s)/A_c] \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ A_c คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลาย $FeCl_2$ และสารละลาย ferrozine

A_s คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายตัวอย่างที่ใส่สารละลาย $FeCl_2$ และสารละลาย ferrozine

w.sumintilee@gmail.com
[1]Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University
[2]Food Technology Department, Thailand Institute of Scientific and Technological Research
[3]Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

5.4 วิธี β-carotene bleaching (BCB)

วิธี β-carotene bleaching (BCB) ได้ดัดแปลงจากวิธีของ Kumaran และคณะ, 2006 [23] ทำได้โดยนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายมาเจือจางด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1.56-1,000 µg/ml จากนั้นจึงทำการเตรียมสารละลาย β-carotene/linoleic acid emulsion ซึ่งเตรียมโดยนำ β-carotene จำนวน 5 mg ละลายในคลอโรฟอร์ม 50 ml จากนั้นจึงนำ 10 ml ของสารละลาย β-carotene มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ จนกระทั่งมีปริมาตรเท่ากับ 1 ml จากนั้นจึงนำ 1 ml ของสารละลาย β-carotene ที่ระเหยตัวทำละลายออกแล้ว ผสมรวมกับน้ำกลั่น 100 ml linoleic acid ปริมาตร 40 ml และ Tween 20 จำนวน 400 mg จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารแบบเป็นวงโคจรจนกระทั่งสารละลายทั้งหมดละลายเข้ากันดี

นำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.2 ml ไปเติมลงในสารละลาย β-carotene/linoleic acid emulsion ปริมาตร 3.5 ml และบ่มที่อุณหภูมิ 50°C จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง 96 well microplate reader ที่ความยาวคลื่น 470 nm ทุกๆ 15 นาที จนครบ 120 นาที โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้จะนำไปคำนวณเป็น ร้อยละกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (%Antioxidant activity; %AOA) ดังสมการที่ (3)

$$\%AOA = 1 - \frac{(As_{t=0} - As_{t=120})}{(Ac_{t=0} - Ac_{t=120})} \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ As คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลาย β-carotene/linoleic acid emulsion ที่เติมสารละลายตัวอย่าง

Ac คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลาย β-carotene/linoleic acid emulsion ที่ไม่ได้เติมสารละลายตัวอย่าง

6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (วิธี DPPH, FRAP, FIC และ BCB) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายใช้การวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of varience, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระกัน (Independent-Samples t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS เวอร์ชั่น 18

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณสารสกัดหยาบของสารสกัดจากสาหร่าย

จากการศึกษาปริมาณสารสกัดหยาบของสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ที่ทำการสกัดด้วยตัวละลายที่แตกต่างกันได้แสดงดัง Table 1 พบว่าการใช้น้ำร้อนในการสกัดให้ปริมาณสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดมากกว่าการใช้เอทานอลในการสกัด โดยในการใช้น้ำร้อนในการสกัดสาหร่ายเขากวางให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 55.53% ในขณะที่การสกัดสารจากสาหร่ายโดยใช้เอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่นให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด (17.46%) ทั้งนี้การใช้ชนิดตัวทำละลายต่างกันในการสกัดส่งผลต่อปริมาณสารสกัดของสาหร่ายที่ได้แตกต่างกัน เนื่องจากความมีขั้ว (polarity) ของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีความแตกต่างกัน ซึ่งพบว่าการใช้น้ำซึ่งจัดเป็นตัวทำละลายที่มีความมีขั้วสูง (ดัชนีความมีขั้วเท่ากับ 10.2) ในการสกัดร่วมกับอุณหภูมิและความดัน ส่งผลต่อปริมาณสารสกัดที่ได้มากกว่าการใช้เอทานอลซึ่งจัดเป็นตัวทำละลายที่มีความมีขั้วระดับปานกลาง (ดัชนีความมีขั้วเท่ากับ 5.1) โดยน้ำมีความสามารถในการสกัดสารในกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งจัดเป็นองค์ประกอบหลักที่พบได้มากในผนังเซลล์ของสาหร่ายขนาดใหญ่หลายชนิด และสามารถสกัดออกมาได้โดยการใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูง [4] ดังนั้นการใช้น้ำซึ่งมีความมีขั้วสูงจึงสามารถสกัดสารสกัดได้ในปริมาณที่สูงกว่าการใช้เอทานอล

2. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ได้แสดงดัง Table 2 ซึ่งค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อนและเอทานอล ได้ทำการคำนวณจาก

w.sumintilee@gmail.com
[1] ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[2] ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
[3] ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน gallic acid ($y = 4.4459x + 0.0184$; $R^2 = 0.9969$) โดยปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสามารถใช้บ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ [12,24,32] ซึ่งจากการศึกษา พบว่าการใช้เอทานอลในการสกัดให้ผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สูงกว่าการใช้น้ำร้อนในการสกัด ซึ่งให้ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Table 1 Extraction yield of crude extracts from three types of seaweed

Samples	Extraction yield (%)	
	Hot water extraction	Ethanolic extraction
C. lentillifera	22.93	17.46
S. oligocystum	13.01	7.87
G. changii	55.53	7.05

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ใช้เอทานอลในการสกัดให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าการใช้น้ำร้อนในการสกัด โดยสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 75.37 ± 9.11 mg GAE/g dry basis รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่ายทุ่นและสาหร่ายเขากวาง ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 23.10 ± 2.28 และ 5.00 ± 2.82 mg GAE/g dry basis ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่สารสกัดจากสาหร่ายที่ใช้น้ำร้อนในการสกัด พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายทุ่นมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 8.09 ± 0.09 mg GAE/g dry basis ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นและสาหร่ายเขากวาง มีซึ่งปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดค่าเท่ากับ 0.22 ± 0.14 และ 0.06 ± 0.04 mg GAE/g dry basis ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากการศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลายที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่างสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด สามารถสังเกตได้ว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันของสารสกัดจากสาหร่าย อาจเกิดขึ้นจากสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายที่มีความแตกต่างกันในด้านความมีขั้วของตัวทำละลาย ดังที่กล่าวข้างต้น ซึ่งจากระดับความมีขั้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลายจะส่งผลต่อการละลายหรือการสกัดสารที่มีองค์ประกอบทางเคมีประเภทต่างๆ รวมถึงสารประกอบฟีนอลิกออกมาจากตัวอย่างสาหร่าย ดังนั้นในการสกัดตัวอย่างสาหร่ายด้วยตัวทำละลายที่มีความมีขั้วสูงจะมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดที่ได้จะมีความมีขั้วสูง ตัวอย่างเช่น สารประกอบฟีนอลิกที่มีขั้วสูงและโพลีแซคคาไรด์ ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความมีขั้วปานกลางจะส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดที่ได้มีความมีขั้วปานกลางเช่นเดียวกัน ตัวอย่างเช่น สารประกอบฟีนอลิกที่มีขั้วปานกลาง นอกจากนี้การเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ระดับความมีขั้วที่แตกต่างกัน ยังมีผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้มีปริมาณ และลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกันไป [10,33] ซึ่งจะส่งผลต่อการมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันด้วย

Table 2 Total phenolic contents of crude extracts from three types of seaweed

Samples	Total phenolic contents (TPC, mg GAE/g dry basis)	
	Hot water extraction	Ethanolic extraction
C. lentillifera	$0.22 \pm 0.14^{*b}$	75.37 ± 9.11^{a}
S. oligocystum	$8.09 \pm 0.09^{*a}$	23.10 ± 2.28^{b}
G. changii	$0.06 \pm 0.04^{*b}$	5.00 ± 2.82^{c}

Remark: Data are expressed as means ± SD (n = 3)

$^{a-c}$ Means with the different letters in the same column were significant at $p \leq 0.05$

* Means in the same row were significant at $p \leq 0.05$

w.sumintilee@gmail.com

[1]Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

[2]Food Technology Department, Thailand Institute of Scientific and Technological Research

[3]Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

3. กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่าย

3.1 ประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย

การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging เป็นการทดสอบประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลอิสระโดยสารแอนติออกซิแดนท์ ซึ่งอนุมูล DPPH เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในการทดสอบ เนื่องจากมีความคงตัวสูง และสารแอนติออกซิแดนท์ในการทดลองนี้ ได้แก่ สารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ทั้งนี้สารแอนติออกซิแดนท์จะทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูล DPPH ส่งผลให้โครงสร้างของอนุมูล DPPH เปลี่ยนไปเป็นโครงสร้างที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ [9,19] โดยในการวิเคราะห์นี้ประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด จะรายงานผลการทดลองในค่า Half maximal effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีผลต่อการลดจำนวนของอนุมูลอิสระลงไปครึ่งหนึ่งจากจำนวนของอนุมูลอิสระเริ่มต้น โดยหากค่า EC_{50} มาก บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของตัวอย่างนั้นต่ำ แต่ในทางกลับกันหากค่า EC_{50} น้อย บ่งบอกถึงประสิทธิภาพที่ดีของตัวอย่าง

Table 3 ability of scavenging DPPH of crude extracts from three types of seaweed

Samples	Scavenging DPPH$^{\cdot}$ ability (EC_{50} (µg/ml))	
	Hot water extraction	Ethanolic extraction
C. lentilifera	nd	204.56 ± 2.59^{c}
S. oligocystum	118.24 ± 9.76**	121.33 ± 4.89^{b**}
G. changii	nd	336.68 ± 11.18^{d}
Gallic acid	-	0.52 ± 0.04^{a}
Butylated Hydroxytoluene (BHT)	-	1.03 ± 0.17^{a}

Remark: Data are expressed as means of Half maximal effective concentration (EC_{50}) ± SD (n = 3)

nd = not detect for DPPH$^{\cdot}$ scavenging ability

$^{a-d}$ Means with the different letters in the same column were significant at p ≤ 0.05

** Means in the same row were no significant at p > 0.05

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด แสดงดัง Table 3 พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ในทุกตัวอย่าง โดยให้ค่า EC_{50} ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) และสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทุ่นมีประสิทธิภาพในขจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุด มีค่า EC_{50} เท่ากับ 121.13 ± 4.89 µg/ml รองลงมาคือสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่น และสาหร่ายเขากวาง ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 204.56 ± 2.59 และ 336.68 ± 11.18 µg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างสารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายสามารถตรวจพบความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ได้เฉพาะสารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายทุ่นเท่านั้น โดยมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 118.24 ± 9.76 µg/ml อย่างไรก็ตาม สารสกัดน้ำร้อนและสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทุ่นมีค่า EC_{50} ในการขจัดอนุมูล DPPH ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ของสารละลาย gallic acid และ BHT ที่ใช้เป็นสารแอนติออกซิแดนท์มาตรฐาน (Positive control) พบว่าประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ของ gallic acid และ BHT มีค่าไม่แตกต่างกัน และมีค่าประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ซึ่งจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดน้ำร้อนและสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทุ่นมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH โดดเด่นกว่าสารสกัดจากสาหร่ายชนิดอื่น ทั้งนี้อาจอธิบายได้ว่า สาหร่ายทุ่นมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม phlorotannins ที่พบเฉพาะกลุ่มสาหร่ายสีน้ำตาล และจัดว่าเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง [31] ทำให้สารสกัดน้ำร้อนและสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทุ่นมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ที่สูงกว่าสารสกัดจากสาหร่ายชนิดอื่นๆ

w.sumintilee@gmail.com

[1] ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[2] ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

[3] ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากสาหร่าย

ประสิทธิภาพในรีดิวซ์ของสารสกัดจากสาหร่ายที่ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการส่งผ่าน/ให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่าง โดยสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทำหน้าที่เป็นผู้ให้อิเล็กตรอนกับสารประกอบเชิงซ้อนของ [Fe^{3+}-TPTZ] ทำให้อะตอมเหล็กถูกรีดิวซ์และเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ [Fe^{2+}-TPTZ] [9] ซึ่งค่าประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย 3 ชนิด ที่วิเคราะห์ได้ แสดงดัง Table 4 โดยรายงานผลการทดลองในค่าของ µM ascorbic acid equivalent (AAE)/g dry basis โดยอาศัยสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานของ L-ascorbic acid ($y = 0.0023x – 0.0454$; $R^2 = 0.9968$)

Table 4 Reducing ability of crude seaweed extracts at different concentrations

Samples	concentration (µg/ml)	Reducing ability (µM AAE/g dry basis)	
		Hot water extraction	Ethanolic extraction
C. lentilifera	100	11.28 ± 0.00^{f*}	44.76 ± 0.53^{f}
	200	12.23 ± 0.24^{e*}	74.62 ± 1.78^{d}
	300	13.74 ± 0.50^{d*}	102.55 ± 1.23^{c}
	400	14.14 ± 0.24^{d*}	134.74 ± 3.10^{b}
	500	15.33 ± 0.24^{c*}	171.69 ± 2.13^{a}
S. oligocystum	100	7.99 ± 0.65^{f,i*}	13.59 ± 0.14^{j}
	200	14.07 ± 1.15^{d*}	23.92 ± 0.29^{h}
	300	15.75 ± 0.26^{c*}	33.38 ± 0.17^{g}
	400	19.62 ± 0.65^{b*}	43.02 ± 0.38^{f}
	500	23.31 ± 0.75^{a*}	52.50 ± 0.66^{e}
G. changii	100	7.24 ± 0.00^{i*}	6.33 ± 0.11^{m}
	200	7.24 ± 0.00^{i*}	8.79 ± 0.15^{l}
	300	7.88 ± 0.00^{f,i*}	11.53 ± 0.19^{k}
	400	8.04 ± 0.00^{f,i*}	14.47 ± 0.15^{j}
	500	8.25 ± 0.09^{g*}	17.15 ± 0.06^{i}

Remark: Data are expressed as means ± SD (n = 3)
$^{a-m}$ Means with the different letters in the same column were significant at $p \le 0.05$
* Means in the same row were significant at $p \le 0.05$

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากสาหร่าย พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด มีผลทำให้ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด สูงขึ้นตามลำดับ และสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ที่สูงกว่าสารสกัดน้ำร้อน อย่างมีนัยสำคัญ ($p \le 0.05$) ในทุกระดับความเข้มข้น โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 500 µg/ml สารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 171.69 ± 2.13 µM AAE/g dry basisรองลงมาคือสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทุ่น และสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายเขากวาง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 52.50 ± 0.66 และ 17.15 ± 0.06 µM AAE/g dry basis ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \le 0.05$) สำหรับสารสกัดน้ำร้อน พบว่าสารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายทุ่นมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด ที่ความเข้มข้น 500 µg/ml มีค่าเท่ากับ 23.31 ± 0.75 µM AAE/g dry basis รองลงมาคือสารสกัดหยาบน้ำร้อนจากสาหร่ายพวงองุ่นและสารสกัดหยาบน้ำร้อนจากสาหร่ายเขากวาง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 15.33 ± 0.24 และ 8.25 ± 0.09 µM AAE/g dry basis ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \le 0.05$) จากผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Matanjun และคณะ, 2008 [25] ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดจากสาหร่าย 9 ชนิด ที่ใช้เมทานอลและสารละลายไดเอธิล

w.sumintilee@gmail.com
[1]Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University
[2]Food Technology Department, Thailand Institute of Scientific and Technological Research
[3]Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

อีเธอร์ในการสกัด พบว่าประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากสาหร่ายที่สกัดด้วยเมทานอล (ซึ่งมีดัชนีความมีขั้วในระดับปานกลางเช่นเดียวกับเอทานอล) เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ คือ สารสกัดจากสาหร่าย *C. lentillifera* (สาหร่ายสีเขียว) > *C. racemosa* (สาหร่ายสีเขียว) > *Padina* spp. (สาหร่ายสีน้ำตาล) > *Eucheuma spinosum* (สาหร่ายสีแดง) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 362.11 ± 15.65, 355.36 ± 20.65, 251.43 ± 14.07 และ 153.97 ± 8.07 μM AAE/g dry basis ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่พบประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ของสารสกัดสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ คือ สารสกัดหยาบเอทานอล จากสาหร่ายพวงองุ่น (สาหร่ายสีเขียว) > สาหร่ายทุ่น (สาหร่ายสีน้ำตาล) > สาหร่ายเขากวาง (สาหร่ายสีแดง)

3.3 ประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารสกัดจากสาหร่าย

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารสกัดจากสาหร่ายด้วยวิธี FIC จัดเป็นการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันในบทบาทการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ทุติยภูมิของสารแอนติออกซิแดนท์ โดยสารแอนติออกซิแดนท์จะทำหน้าที่จับโลหะ (Fe^{2+}) ที่มีบทบาทในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโลหะกับสารแอนติออกซิแดนท์ขึ้น ส่งผลทำให้โลหะหนักเหล่านั้นไม่สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ [18] โดยผลการทดลองการศึกษาประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ได้แสดงดัง Table 5

Table 5 chelating ability of crude extracts from three types of seaweed

Samples	Chelating ability (EC_{50} (μg/ml))	
	Hot water extraction	Ethanolic extraction
C. lentillifera	271.71 ± 6.33^{b*}	55.94 ± 0.23^{a}
S. oligocystum	372.90 ± 12.20^{c*}	765.29 ± 4.76^{c}
G. changii	412.28 ± 18.01^{d*}	499.94 ± 1.75^{b}
Ethelenediaminetetraacetic acid (EDTA)	29.76 ± 0.22^{a}	-

Remark: Data are expressed as means of EC_{50} ± SD (n = 3)
$^{a-d}$ Means with the different letters in the same column were significant at p ≤ 0.05
* Means in the same row were significant at p ≤ 0.05

จากการศึกษาพบว่าในสารสกัดน้ำร้อนและสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด มีค่าประสิทธิภาพในการจับโลหะที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามตัวอย่างสารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด มีค่าประสิทธิภาพในการจับโลหะที่ไม่กระจายตัวมาก ในขณะที่ค่าประสิทธิภาพในการจับโลหะของตัวอย่างสารสกัดหยาบเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด มีความกระจายกันอย่างเห็นได้ชัด โดยพบว่าสารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายพวงองุ่นมีประสิทธิภาพในการจับโลหะสูงที่สุด มีค่า EC_{50} เท่ากับ 271.71 ± 6.33 μg/ml รองลงมาคือสารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายทุ่น และสาหร่ายเขากวาง ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 372.90 ± 12.20 และ 412.28 ± 18.01 μg/ml ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มตัวอย่างสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพบว่า สารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นมีประสิทธิภาพในการจับโลหะสูงที่สุด ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 55.94 ± 0.23 μg/ml รองลงมาคือสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายเขากวาง และสาหร่ายทุ่น ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 499.94 ± 1.75 และ 765.29 ± 4.76 μg/ml ตามลำดับ ซึ่งเหตุผลที่สารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นมีประสิทธิภาพในการจับโลหะสูง อาจเป็นเพราะภายในสารสกัดมีสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มของ *ortho*-dihydroxyl polyphenols อยู่มาก ซึ่งมีความสามารถในการเกิดโคออร์ดิเนชันกับ Fe^{2+} ได้ดี [3,26] ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการจับโลหะสูง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารสกัดสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด กับประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารละลาย EDTA ที่ใช้เป็นสารแอนติออกซิแดนท์มาตรฐาน พบว่าประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารละลาย EDTA มีค่ามากกว่าตัวอย่างสารสกัดสาหร่ายทุกชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดย

w.sumintilee@gmail.com
[1] ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[2] ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
[3] ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารละลาย EDTA มีค่า EC_{50} เท่ากับ 29.76 ± 0.22 µg/ml นอกจากนี้เหตุผลที่สารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายทุ่นและสาหร่ายเขากวางมีประสิทธิภาพในการจับโลหะที่ดีกว่าสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทั้งสองชนิดนี้ อาจเป็นเพราะผลจากการใช้น้ำร้อนในสกัดมีผลทำให้เกิดการสกัดสารพวกเส้นใย (dietary fiber) ได้ ซึ่งปนอยู่ภายในตัวอย่างสารสกัดน้ำร้อน ซึ่งสมบัติของ dietary fiber คือสามารถดูดซับ Fe^{2+} ได้ ส่งผลทำให้สารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายทุ่น และสาหร่ายเขากวางมีประสิทธิภาพในการจับโลหะที่ดีกว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล [15,22]

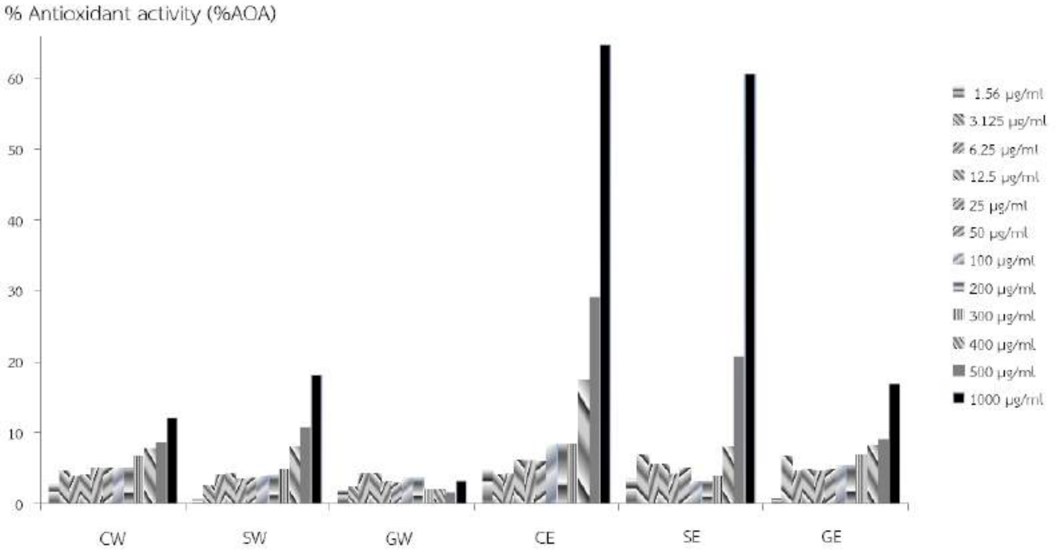

Figure 1 Antioxidant activity (%) (%AOA) of crude extracts from three type of seaweed from β-carotene bleaching assay

Remark: Data are expressed as means (n =3)

CW = Crude hot water extract from *C. lentillifera*, SW = Crude hot water extract from *S. oligocystum*,

GW = Crude hot water extract from *G. changii*, CE = Crude ethanolic extract from *C. lentillifera*,

SE = Crude ethanolic extract from *S. oligocystum* and GE = Crude ethanolic extract from *G. changii* (GE)

3.4 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีนของสารสกัดจากสาหร่าย

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีนของสารสกัดจากสาหร่าย 3 ชนิด ด้วยวิธี BCB เป็นการตรวจวัดประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือขัดขวางการฟอกสีบีต้า-แคโรทีนของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากการให้ความร้อนกับ linoleic acid โดยสารสกัดจากสาหร่ายจะมีหน้าที่ในการให้ไฮโดรเจนอะตอมไปยังอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเหล่านั้นมีเสถียรภาพขึ้นและไม่ทำลายโครงสร้างของโมเลกุลของบีต้า-แคโรทีน [19] นอกจากนี้วิธี BCB ยังเป็นวิธีที่สามารถทดสอบประสิทธิภาพของสารแอนติออกซิแดนท์ได้ทั้งสารแอนติออกซิแดนท์ที่ชอบน้ำ และสารแอนติออกซิแดนท์ที่ไม่ชอบน้ำ เนื่องจากสภาวะของการทดลองนี้อยู่ในลักษณะของอิมัลชัน โดยจากผลการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีน ของสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แสดงดัง Figure 1 ซึ่งรายงานในค่าประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีนในค่าของ %Antioxidant Activity (%AOA)

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีนสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อน โดยที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml สารสกัดหยาบเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่น มีค่า %AOA สูงที่สุด เท่ากับ 64.75 ± 0.58% รองลงมาคือสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทุ่น และสาหร่ายเขากวาง ซึ่งมีค่า %AOA เท่ากับ 60.63 ± 2.38% และ 16.93 ± 0.46% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

w.sumintilee@gmail.com
[1]Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University
[2]Food Technology Department, Thailand Institute of Scientific and Technological Research
[3]Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

($p \leq 0.05$) สำหรับสารสกัดจากสาหร่ายที่สกัดด้วยน้ำร้อน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 µg/ml สารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายทุ่นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีบีต้า-แคโรทีนมีค่าสูงที่สุด ซึ่งมีค่า %AOA เท่ากับ 18.22 ± 0.43% รองลงมาคือสารสกัดน้ำร้อนจากสาหร่ายพวงองุ่น และสาหร่ายเขากวาง ซึ่งมีค่า %AOA เท่ากับ 12.18 ± 0.19% และ 3.24 ± 0.50% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีนของสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด มีค่อนข้างน้อย ซึ่งมีงานวิจัยของ Chew และคณะ, 2008 [7] ที่ได้รายงานว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 2 mg/ml สารสกัดจากสาหร่าย *C. racemosa* (เป็นสาหร่ายมีลักษณะคล้ายกับสาหร่ายพวงองุ่น) ที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลร่วมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 (v/v) มีค่า %AOA เท่ากับ 30% ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพต่ำกว่าสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นในงานวิจัยนี้

สรุปผล

สารสกัดหยาบที่ได้จากสาหร่ายพวงองุ่น สาหร่ายทุ่น และสาหร่ายเขากวาง ที่ทำการสกัดด้วยน้ำร้อน และสารละลายเอทานอลในทุกตัวอย่างมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ และมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชัน โดยสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นและสาหร่ายทุ่น มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด และพบว่าสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นมีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ การจับโลหะ และการต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อการฟอกสีของบีต้า-แคโรทีน สูงที่สุด ในขณะที่สารสกัดน้ำร้อนและสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายทุ่น มีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ที่ดีที่สุด ซึ่งสารสกัดธรรมชาติที่ได้จากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด อาจนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารแอนติออกซิแดนท์จากแหล่งธรรมชาติ สำหรับอุตสาหกรรมอาหารต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร สถาบันวิทยาการขั้นสูง แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับทุนผู้ช่วยวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาและทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

[1] กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. (2527). สาหร่าย. กรุงเทพมหานคร: คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[2] Anantharaman, P., Karthikaidevi, G., Manivannan, K., Thirumaran, G. and Balasubramanian, T. (2010). Mineral composition of marine macroalgae from Mandapam Coastal Regions; Southeast Coast of India. Recent Research in Science and Technology. 2: 66-71.

[3] Andjelkovic, M., Camp, J.V., Meulenaer, B.D., Depaemelaere, G., Socaciu, C., Verloo, M. and Verhe, R. (2006). Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. Food Chemistry. 98: 23-31.

[4] Attachai, K. and Anong, C. (2010). Components and antimicrobial activity of polysaccharides extracted from Thai brown seaweed. Kasetsart Journal Natural Science. 44: 220-233.

[5] Benzie, I. F. and Strain, J.J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymology. 299: 15-27.

[6] Brand-Williams, M., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel - wissenchaft and Technologie. 28: 25-30.

[7] Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M. and Khoo, K.S. (2008). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT-Food Science and Technology. 41: 1067-1072.

w.sumintilee@gmail.com

[1] ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[2] ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

[3] ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[8] Chinnadurai, S. and Kalyanasundaram, G. (2013). Estimation of major pigment content in seaweeds collected from Pondicherry Coast. International Journal of Science and Technology. 9(1): 522-525.

[9] Craft, B.D., Kerrihard, A.L., Amarowicz, R. and Pegg, R.B. (2012). Phenol-based antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 11: 149-173.

[10] Dai, J. and Mumper, R.J. (2010). Plant Phenolic: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules. 15: 7313-7352.

[11] Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. and Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivatives (Acetaminophen, Salicylate and 5-Amino salicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and peroxyl radical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics. 315(1): 161-169.

[12] Duan, X.J., Zhang, W.W., Li, X.M. and Wang, B.G. (2006). Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. Food Chemistry. 95: 37-43.

[13] Duarte, M.E.R., Cardoso, M.A., Noseda, M.D. and Cerezo, A.S. (2001). Structural studies on fucoidans from the brown seaweed S*argassum stenophyllum*. Carbohydrate Research. 333: 281-293.

[14] Farasat, M., Khavari-Nejad, R.A., Nabavi, S.M.B. and Namjooyan, F. (2013). Antioxidant properties of two edible green seaweeds northern coasts of the Persian Gulf. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. 8(1): 47-52.

[15] Farvin, K.H.S. and Jacobsen C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish Coast. Food Chemistry. 138: 1670-1681.

[16] Ganesan, P., Chandini, S. and Bhaskar, N. (2008). Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. Bioresource Technology. 99: 2717-2723.

[17] Glickman, M. (1987). Utilization of seaweed hydrocolloids in the food industry. Hydrobiologia. 151/152: 31-47.

[18] Gordon, M.H. (1990). The mechanism of antioxidant action in vitro. *In*: BJF Hudson (Ed.), Food antioxidants. England: Elsevier Applied Science.

[19] Huang, D., Ou, B., and Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemisty. 53: 1841-1856.

[20] Jiao, G., Yu, G., Zhang, J. and Ewart, H.S. (2011). Chemical structures and bio activities of sulfated polysaccharide from marine algae. Marine Drugs. 9: 196-223.

[21] Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 3954-3962.

[22] Kuda, T., Tsunekawa, M., Hishi, T. and Araki, Y. (2005). Antioxidant properties of dry “kayamo nori”, a brown alga *Scytosiphon lomentaria* (*Scytosiphonales*, *Phaeophyceae*). Food Chemistry. 89: 617-622.

[23] Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging

w.sumintilee@gmail.com

[1]Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

[2]Food Technology Department, Thailand Institute of Scientific and Technological Research

[3]Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. Food Chemistry. 97: 109-114.

[24] Luo, H.Y., Wang, B.G., Yu, C.G., Qu, Y.I. and Su, C.I. (2010). Evaluation of antioxidant activities of five selected brown seaweeds from China. Journal of Medicinal Plants. 18: 2557-2565.

[25] Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N.M., Muhammad, K. and Ming, C.H. (2008). Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. Journal of Applied Phycology. 20: 367-373.

[26] Moran, F.J., Klucas, R.V., Grayer, R.J., Abian, J. and Becana, M. (1997). Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissue: prooxidant and antioxidant properties. Free Radical Biology and Medicine. 22: 861-870.

[27] Nalin, S., Wan, L.K. and Jin, J.Y. (2005). Radical scavenging potential of hydrophilic phlorotanins of *Hizikia fusiformis*. Algae. 20:69-75.

[28] Pereira, L., Sousa, A., Coelho, H., Amado, A.M. and Ribeiro-Claro, P.J.A. (2003). Use of FTIR, FT-Raman and ^{13}C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids. Biomolecular Engineering. 20: 223-228.

[29] Ratana-arporn, P. and Chirapart, A. (2006). Nutritional Evaluation of Tropical Green Seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *Ulva reticulat.* Kasetsart Journal Natural Science. 40 (Suppl.): 75–83.

[30] Silva, T.H., Alves, A., Popa, E.F., Reys, L.L., Gomes, M.E., Sousa, R.A., Silva, S.S., Mano, J.F. and Reis, R.L. (2012). Marine algae sulfated polysaccharides for tissue engineering and drug delivery approaches. Biomatter. 2(4): 278-289.

[31] Wang, T., Jonsdottir, R., Liu, H., Gu, L., Kristinsson, H.G., Raghavan, S. and Olafsdottir, G. (2012). Antioxidant capacities of phlorotannins extracted from the brown algae *Fucus vesiculosus*. Journal of Agricultural and Food Chemisty. 60: 5874-5883.

[32] Wang, T., Rosa, J. and Guorum, O. (2009). Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. Food Chemistry. 116: 240-248.

[33] Xu, B.J. and Chang, S.K.C. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of Legumes as affected by extraction solvents. Journal of Food Science. 72: S159-S166.

[34] Zandi, K., Ahmadzadh, S., Tajbakshs, S. Rastian, Z., Yousefi, F., Farshadpour, F. and Sartavi, K. (2010). Anticancer activity of *Sargassum oligocystum* water extract against human cancer cell lines. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 14: 669-673.

[35] Zhang, Q., Yu, P., Li, Z., Zhang, H., Xu, Z. and Li, P. (2003). Antioxidant activities of sulfated polysaccharide fractions from *Porphyra haitanesis*. Journal of Applied Phycology. 15(4): 305-310.

[36] Zvyagintseva, T.N., Shevchenko, N.M., Popivnich, I.B., Isakov, V.V., Scobun, A.S., Sundukova, E.V. and Elyakova, L.A. (1999). A new procedure for the eparation of water-soluble polysaccharides from brown seaweeds. Carbohydrate Research. 322: 32-39.

w.sumintilee@gmail.com

[1] ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[2] ฝ่ายเทคโนโลยีอาหาร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

[3] ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์