

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายเตา THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF *SPIROGYRA* SP. CRUDE EXTRACTS

สุทธรวรรณ สุพรรณ^{*}, พลอยไพลิน สดมณี, ปัทมาภรณ์ คุ่มกัน, ศราวุธ ราชลี
และ ประดับรัฐ ประจันเขตต์

Sutthawan Suphan^{*}, Ploypairin Sodmanee, Pattama Koomkan, Sarawut Rachari
and Pradabrat Prajangkett

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
Division of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University
of Technology Thanyaburi

Received: 10 January 2021

Accepted: 7 June 2021

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ปริมาณโพลีแซคคาไรด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายเตา (*Spirogyra* sp.) โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและเมทานอล ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion assay พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดบริเวณยับยั้งเฉลี่ยเท่ากับ 22.7 มิลลิเมตร จากการศึกษาค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) พบว่าสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายเมทานอล จากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ให้ค่า MIC ต่ำที่สุดต่อเชื้อ *S. aureus* และ *P. aeruginosa* เท่ากันโดยมีค่าเท่ากับ 0.0625 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร และค่า Minimal bactericidal concentration (MBC) พบว่าสารสกัดหยาบ จากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ และการวิเคราะห์ปริมาณโพลีแซคคาไรด์ พบว่าสาหร่าย *Spirogyra* sp. มีปริมาณโพลีแซคคาไรด์เท่ากับ 1.34 ± 0.413 เปอร์เซ็นต์ของ น้ำหนักแห้ง และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. พบว่า ปริมาณ inhibitory concentration at 50% (IC50) ของสารสกัดจากสาหร่าย

^{*} ผู้ประสานงาน: สุทธรวรรณ สุพรรณ
อีเมลล์: sutthawan_s@rmutt.ac.th

Spirogyra sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีค่าเท่ากับ 64.19 $\mu\text{g/ml}$ และปริมาณ IC50 ของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp ด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีค่าเท่ากับ 64.15 $\mu\text{g/ml}$ นอกจากนี้ผลการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของสารประกอบ ฟีนอลิก พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล มีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คือ 54.569 ± 6.74 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid (mg GAE) ต่อน้ำหนัก 100 มิลลิลิตร (mL)

คำสำคัญ: *Spirogyra* sp., สารออกฤทธิ์ชีวภาพ, ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย, ปริมาณโพลีแซคคาไรด์, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

The objective of this research was to study the antibacterial activity, polysaccharide content and antioxidant activity in *Spirogyra* sp. by using two types of solvents; ethanol and methanol. The results showed that the antibacterial activity test by disk diffusion assay found that the crude extract from *Spirogyra* sp. extracted with methanol solvent could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* the best with the size of the inhibitory area was 22.7 mm. According to the minimal inhibitory concentration (MIC), the research found that the crude extract from *Spirogyra* sp. with methanol solvent had the lowest MIC values against *S. aureus* and *P. aeruginosa* at the same value at 0.0625 mg/ml. The minimal bactericidal concentration (MBC) showed that the crude extract from *Spirogyra* sp. could not kill the bacteria. Polysaccharide content analysis revealed that *Spirogyra* sp. had polysaccharide content of 1.34 ± 0.413 percent of dry weight. The analysis of antioxidant activity revealed that the crude extract from *Spirogyra* sp. found that the inhibitory concentration at 50% (IC50) content of *Spirogyra* sp. extracted with ethanol solvent was 64.19 $\mu\text{g/ml}$ and the IC50 content of the extract from *Spirogyra* sp. with methanol solvent was 64.15 $\mu\text{g/ml}$. In addition, the results of the examination of the compound content

was all phenolics, the research found that *Spirogyra* sp. extracted by methanol solvent contained the highest total amount of phenolic compounds at 54.569 ± 6.74 milligrams equivalent to gallic acid per 100 milliliters of weight, mg GAE/100 mL.

Keywords: *Spirogyra* sp, Bioactive compound, Antibacterial activity, Polysaccharide content, Antioxidant activity

บทนำ

ในปัจจุบันมีปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลกระทบต่อผิวหนังทั้งทางตรงและทางอ้อม ได้แก่ รังสี ultraviolet (UV) จากแสงแดด ฝุ่นควัน ความเครียด การพักผ่อนไม่เพียงพอ การดื่มเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ รวมไปถึงการใช้เครื่องสำอางที่นิยมใช้กันมากขึ้นเป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระส่งผลให้ผิวหนังเกิดฝ้า กระ รอยเหี่ยวย่น ผิวไหม้เกรียม จากแสงแดด ผิวแห้งขาดความชุ่มชื้น การใช้สารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นการต้านหรือช่วยชะลอปัญหาต่างๆ ของผิวหนังได้ (Demina & Lysenko, 1996) ทำให้ผู้บริโภคมีความสนใจเกี่ยวกับสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อการดูแลตัวเองมากขึ้น ดังนั้น การศึกษาหาสารประกอบชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก โพลีแซคคาไรด์ และรงควัตถุชนิดต่างๆ เป็นต้น จึงได้รับความสนใจจากนักวิจัยในปัจจุบัน โดยสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบได้ตามธรรมชาติในพืช รวมทั้งในสาหร่าย โดยสารสกัดจากสาหร่ายพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งแสดงคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง (ยวดี พีรพรพิศาล และคณะ (2555) นอกจากนี้พบว่าพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่ายมีฤทธิ์ต่อต้านทางชีวภาพ เช่น เซลล์มะเร็ง สารต้านการแข็งตัวของเลือด และมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Tanna & Mishra, 2019)

นอกจากนี้ยังพบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมเลือกใช้เวชสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากธรรมชาติเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากสารสกัดจากธรรมชาติหลายตัวมีประสิทธิภาพเทียบเคียงกับสารสังเคราะห์ที่ได้จากห้องทดลอง (รัตนา อินทรานุกปรณ์, 2550) โดยพบว่าสารสกัดจากว่านสาวหลงมีคุณสมบัติทำให้ผิวกระจ่างใส (อรรถพล อุทัยเรือง และคณะ, 2563) สารสกัด

จากพืชสกุลมะเขือมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (พรรณรัตน์ อภินิษฐาภิชาติ และ เบญจภรณ์ เศรษฐบุปผา, 2563) สารสกัดจากใบบัวบกมีคุณสมบัติในการรักษาสิ่ว (ภารดี อินทจันทร์ และ วิภาเพ็ญ โชคดีสัมฤทธิ์, 2563) และสารสกัดจากดอกเก๊กฮวยเหลืองมีคุณสมบัติชะลอวัย (รวีสรา รื่นไวย, 2563) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่น่าสนใจและเป็นความต้องการที่สำคัญของผู้บริโภค ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลให้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากธรรมชาติเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งและมีแนวโน้มในการเลือกซื้อจากผู้บริโภคเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพบว่าอุตสาหกรรมการผลิตสารสกัดจากธรรมชาติมีมูลค่าตลาดมากกว่า 30,000 ล้านบาท และมีการเติบโตมากกว่า 15% -20% ต่อปี (รชตะ รุ่งตระกูลชัย และคณะ, 2562)

สาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในประเทศไทยที่เป็นที่รู้จักกันดีคือ สาหร่าย *Spirogyra* sp. หรือสาหร่ายเตา หรือทาน้ำ และเป็นผู้ผลิตออกซิเจนจากกระบวนการสังเคราะห์แสงให้แก่สิ่งมีชีวิตในน้ำ นอกจากนี้ในระบบนิเวศทางน้ำ สาหร่าย *Spirogyra* sp. ยังเป็นผู้ผลิต (producer) ในห่วงโซ่อาหาร (food chain) ชาวบ้านในแถบพื้นที่ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือนิยมนำสาหร่าย *Spirogyra* sp. มารับประทานเป็นอาหาร แต่สาหร่ายชนิดนี้ไม่นิยมบริโภคในพื้นที่ภาคกลาง ในบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมโดยเฉพาะนาข้าว สาหร่าย *Spirogyra* sp. ถูกจัดเป็นพืชที่ไม่มีคุณค่าใด ๆ ถูกกำจัดทิ้งเป็นจำนวนมากในแต่ละวัน (ปริญญา มูลสิน และ อมรรรัตน์ วงษ์กลม, 2556) ในแถบภาคเหนือนิยมนำสาหร่าย *Spirogyra* sp. มาปรุงเพื่อเป็นอาหารที่เรียกว่า “ยำเตา” สำหรับสาหร่ายชนิดนี้พบว่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูงซึ่งประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งประกอบไปด้วยโปรตีน 18.63-23.76% ไขมัน 2.68-5.51% คาร์โบไฮเดรต 53.98-67.13% เส้นใย (fiber) 6.24-7.66% เถ้า 11.78-17.37% ความชุ่มชื้น 14.90% โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง โดยมีพลังงานเท่ากับ 363 kcal/100g นอกจากนี้ยังมีปริมาณรงควัตถุชนิด chlorophyll a, b และ carotenoid เท่ากับ 4.067, 1.716 และ 1.209 mg/g ตามลำดับ (ยุวดี พิรพรพิศาล, 2549; Sitthiwong, 2019) สาหร่ายชนิดนี้สามารถดัดแปลงเป็นขนมและอาหารได้ เช่น เค้ก คุกกี้ ข้าวเกรียบ ครองแครงกรอบ และทำเป็นเส้นบะหมี่ ซึ่งให้รสชาติและกลิ่นหอม (ยุวดี พิรพรพิศาล, 2549)

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ต่อการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง ได้แก่ เชื้อ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ตามลำดับ ศึกษาปริมาณ

พอลิแซ็กคาไรด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมไปถึงการหาปริมาณสารฟีนอลิก เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในทางเวชสำอางค์ และสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับสาหร่าย *Spirogyra* sp.

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp.

นำตัวอย่างสาหร่าย *Spirogyra* sp. 100 กรัม บดให้ละเอียด ใส่ลงในขวดแก้ว เต็มตัวทำละลาย คือ เมทานอลและเอทานอล ที่ต้องการทดสอบ 300 มิลลิลิตร ในอัตราส่วนที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และนำส่วนน้ำที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator) รุ่น R-300 บริษัท Buchi ที่อุณหภูมิ 50 °C จะได้สารสกัดเมทานอลเข้มข้นและสารสกัดเอทานอลเข้มข้น จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพต่อไป

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp.

ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่เตรียมได้จากตัวทำละลาย คือ เมทานอลและเอทานอล กับแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก คือ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ตามลำดับด้วยวิธี disk diffusion โดยปรับเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland standard no. 0.5 แล้วใช้ไม้ปั่นสำลีจุ่มเชื้อขีดให้ทั่วผิวหน้าอาหาร Mueller-Hinton agar รอให้ผิวหน้าอาหารแห้งแล้วจึงนำแผ่นกระดาษกรอง (disk) ที่ใส่สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ปริมาณ 5 ไมโครลิตร วางลงบนผิวหน้าของอาหาร Mueller-Hinton agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลด้วยการวัดขนาดของบริเวณยับยั้ง (zone of inhibition) ที่เกิดขึ้น จากนั้นทำการเปรียบเทียบผลการทดลองด้วยวิธีทางสถิติ ทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนปลະความแตกต่างของชุดการทดลองด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และ Duncan's Multiple Comparison test ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์

3. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration, MBC)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย โดยการเจือจางสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วย Mueller Hinton broth (MHB) แบบ two-fold dilution โดยให้แต่ละหลุมของไมโครไตเตอร์เพลท ให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 100 ไมโครลิตร เติมสารสกัดปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายที่เจือจางทุกหลอด โดยใช้อาหาร MHB ที่ไม่เติมสารสกัดเป็นชุดควบคุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกค่า MIC โดยค่า MIC หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration) มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการสูมตัวอย่างหลอดทดลอง ที่ไม่มีการเจริญของเชื้อปริมาตร 10 ไมโครลิตร ไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MHA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกค่า MBC โดยค่า MBC หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimal bactericidal concentration) มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การวิเคราะห์ปริมาณโพลีแซคคาไรด์

วิเคราะห์ปริมาณโพลีแซคคาไรด์โดยซังสาหร่าย *Spirogyra* sp. แห่ง 1 กรัม ต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ทำการสกัดโพลีแซคคาไรด์โดยต้มในอ่างควบคุม อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำส่วนกากที่กรองได้มาทำการสกัดโพลีแซคคาไรด์อีกครั้ง นำสารละลายที่ได้จากการสกัดทั้งสองครั้งรวมกัน แล้วทำให้เข้มข้นขึ้นโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ (evaporator) ให้เหลือปริมาตรของสารละลาย 1 ใน 4 ส่วนของปริมาตรเดิม ทำการปั่นเหวี่ยงสารละลายที่เหลือนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที เพื่อกำจัดตะกอนของสารปนเปื้อนออก นำสารละลายส่วนใสมาตกตะกอนโพลีแซคคาไรด์ด้วยเอทานอล 95% โดยเติมเอทานอลในอัตราส่วนสารละลายต่อเอทานอล 1 : 2 แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตะกอนโพลีแซคคาไรด์โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 6,000 rpm เป็น เวลา 10 นาที แล้วนำตะกอนโพลีแซคคาไรด์ที่ได้อบให้แห้งที่ 55 องศาเซลเซียส นำโพลีแซคคาไรด์แห้งมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ปริมาณโพลีแซคคาไรด์แห้งที่สกัดได้จากสาหร่าย *Spirogyra* sp. โดยเทียบจาก 1 กรัม

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Capacity Assay (Anti-oxidant activity)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยวิธี 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) เตรียมสารละลาย 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) ที่ความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ ใน Absolute ethanol โดยชั่ง DPPH 0.0240 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute ethanol ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน 2, 6-di-tert-butyl-4-methylphenol (Butylated hydroxyl toluene, BHT) ที่ค่าความเข้มข้น 4 ความเข้มข้น โดยละลายสารกับ Absolute ethanol ให้มีความเข้มข้นที่ 2, 20, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. มาละลายกับ Absolute ethanol ให้มีความเข้มข้นที่ 2, 20, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน BHT โดยนำสารละลายมาตรฐาน BHT ที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นใส่ลงในหลอดทดลองปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที สารละลายจะเปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสารละลายสีเหลือง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ BHT 2 มิลลิลิตร และ Absolute ethanol 2 มิลลิลิตร เป็น Blank นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นทำการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสาหร่าย โดยนำสารละลายของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น 2, 20, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (โดยความเข้มข้นสุดท้ายหลังการเติม DPPH เท่ากับ 1, 10, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที สารละลายจะเปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสารละลายสีเหลือง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดย Blank ของตัวอย่างสารสกัด คือ ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ 2 มิลลิลิตร และ Absolute ethanol 2 มิลลิลิตร การรายงานผลเป็นค่า IC₅₀ ซึ่งหมายถึง ปริมาณของสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ 50% ค่าที่มีค่าน้อยจะแสดงความสามารถในการ

ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าค่าที่มีค่ามาก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ Vitamin C หรือ Trolox เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ จากนั้นคำนวณหา % inhibition จากสมการ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs sample} \times 100}{\text{Abs control}}$$

6. การตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound) ของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp.

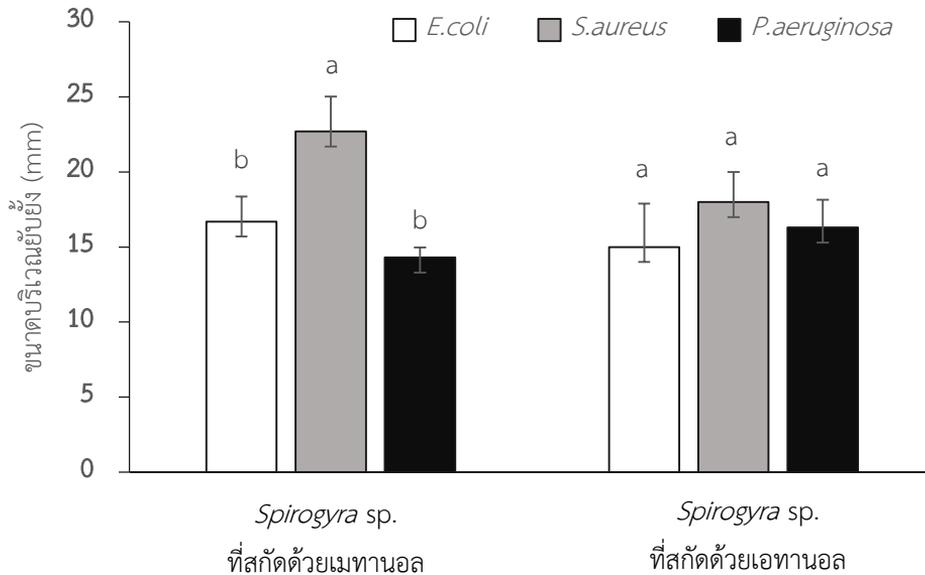
ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound) ของสารสกัด โดยทำการเจือจางสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยเอทานอล ให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดที่เจือจางแต่ละความเข้มข้นมาใส่ในหลอดทดลอง ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เติม Sodium carbonate (Na_2CO_3) เข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารให้เข้ากัน นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้ Blank คือ เอทานอล 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แทนสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ทำการการสร้างกราฟมาตรฐานของ Gallic acid โดยการเจือจาง Gallic acid ด้วยเอทานอล 40 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1, 10, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลาย Gallic acid แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที เติม Sodium carbonate (Na_2CO_3) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้ Blank คือ เอทานอล 40 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตร แทนสารละลาย Gallic acid สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารละลาย Gallic acid กับค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี (Disk diffusion method)

จากการนำสาหร่าย *Spirogyra* sp. มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เมทานอลและเอทานอล จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion method โดยพิจารณาจากบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้มากที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 22.7 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 18.0 มิลลิเมตร (รูปที่ 1) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pati et al. (2011) ที่ได้ทำการศึกษาในการใช้สารสกัดจากสาหร่าย 3 ชนิด ได้แก่ *Spirogyra* sp., *Chara* sp. และ *Cladophora* sp. ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ได้แก่ *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Asperigillus niger* และ *Candida albicans* โดยใช้วิธี agar well diffusion method พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาด inhibition zone เท่ากับ 17 มิลลิเมตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ที่พบว่า สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเท่ากับ 16.7 มิลลิเมตร นอกจากนี้ปริญา มุลสิน และ อมรรัตน์ วงษ์กลม (2556) ได้ทำการศึกษาการใช้สารสกัดจากสาหร่ายในการเพิ่มมูลค่าเครื่องสำอางศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Disc diffusion assay พบว่าสารสกัดของ *Spirogyra* sp. มีฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* มีค่า inhibition zone เท่ากับ 11.66 มิลลิเมตร นอกจากนี้ รัตน์ภรณ์ จันทร์ทิพย์ และคณะ (2555) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายเตา (*Spirogyra* spp.) และสาหร่ายไถ (*Cladophora* spp.) จากภาคเหนือตอนบนของประเทศไทยโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งหมด 3 ชนิดคือ เฮกเซนไดคลอโลมีเทน และเมทานอล ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* และ *Vibrio cholera* พบว่าสารสกัดหยาบจาก *Spirogyra* spp. ทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*

และ *S. epidermidis* ได้เกือบทุกชนิด ส่วนสารสกัดหยาบจากสาหร่ายไถทุกชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้



รูปที่ 1 การเปรียบเทียบสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *P. Aeruginosa*

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion method พบว่าสาหร่าย *Spirogyra* sp. สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีขนาดของบริเวณยับยั้ง 22.7±4.01, 16.7±2.92 และ 14.3±1.21 มิลลิเมตรตามลำดับ พบว่าขนาดของบริเวณยับยั้งของ *Staphylococcus aureus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีขนาดของบริเวณยับยั้ง 18±3.53, 16.3±3.22 และ 15±5.01 มิลลิเมตรตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration, MBC)

จากผลการหาค่าบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) ซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งแบคทีเรีย ดังนั้นขั้นตอนต่อไปจึงได้มีการนำสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. มาหาค่า MIC ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารเหลว (broth microdilution method) แบบ two-fold dilution ด้วยไมโครไตเตอร์เพลท จากการทดสอบพบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. จากทั้งเอทานอลและเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยเอทานอลมีค่า MIC ต่ำสุดต่อเชื้อ *P.aeruginosa* ที่ความเข้มข้น 0.0625 mg/ml ในขณะที่สารสกัดด้วยเมทานอล มีค่า MIC ต่ำสุดที่ความเข้มข้น 0.0625 mg/ml ต่อเชื้อ *S. aureus* และ *P.aeruginosa* (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของปริญญา มุลสิน และ อมรรัตน์ วงษ์กลม (2556) ที่ได้ทำการศึกษาการใช้สารสกัดจากสาหร่ายในการเพิ่มมูลค่าเครื่องสำอางค์ ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disc diffusion assay และการหาค่า MIC พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. จังหวัดอุบลราชธานี สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดีที่สุด โดยมีค่า MIC ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ โดยการหาค่า MBC จากสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Spirogyra* sp. โดยนำตัวอย่างจากทุกหลุมบนไมโครไตเตอร์เพลท ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MHA พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้

ตารางที่ 1 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยเอทานอลและเมทานอล

ตัวทำละลาย	<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	ค่า MIC (mg/ml)	ค่า MBC (mg/ml)	ค่า MIC (mg/ml)	ค่า MBC (mg/ml)	ค่า MIC (mg/ml)	ค่า MBC (mg/ml)
เอทานอล	0.1250	-	0.0625	-	0.1250	-
เมทานอล	0.0625	-	0.0625	-	0.1250	-

หมายเหตุ: ค่าความเข้มข้นสูงสุด 0.5 กรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารสกัดในความเข้มข้นถัดมาเท่ากับ 0.2500, 0.1250, 0.0625, 0.0312, 0.0156, 0.0078, 0.0039, 0.0019 และ 0.0009 กรัมต่อมิลลิลิตร
- = ไม่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย

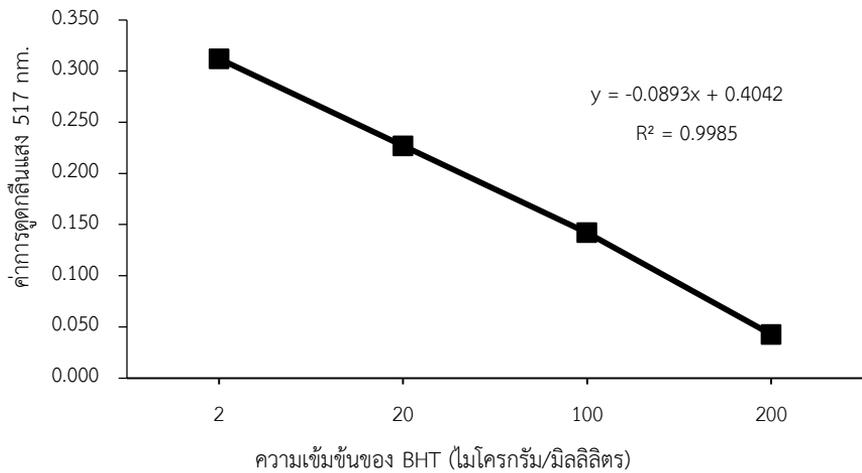
3. การวิเคราะห์ปริมาณโพลีแซคคาไรด์

ผลการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่าย *Spirogyra* sp. พบว่าสาหร่าย *Spirogyra* sp. มีปริมาณโพลีแซคคาไรด์เท่ากับ 1.34 ± 0.413 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากสาหร่าย *Spirogyra* sp. โดย Sarayot et al. (2015) ได้รายงานเกี่ยวกับการตรวจจคุณลักษณะของซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์ของสาหร่าย *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing พบว่าประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 68-85.3% กรดยูโรนิก 3.2-4.9% ซัลเฟต 2.2-12.2% และปริมาณโปรตีนอื่นๆ 2.6-17.1% นอกจากนี้ยังพบ D-galactose 23.5-27.3%, D-glucose 11.5-24.8%, L-fucose 19.0-26.7% และ L-rhamnose 16.4-18.3% เป็นโมโนแซคคาไรด์หลัก จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงคุณประโยชน์ของโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ ได้

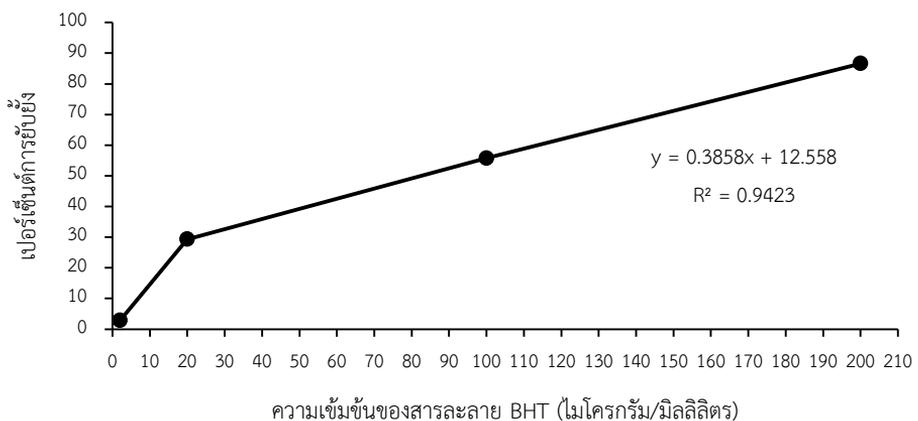
4. ความสามารถในการยับยั้ง 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl radical (DPPH)

DPPH radical เป็นสารอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เมื่อละลายในเอทานอล จะไดสารละลายที่มีสีม่วง และเมื่อได้รับ Hydrogen atom จากสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ

สารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ซึ่งสามารถทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากนั้นนำสารละลายมาตรฐาน BHT (Butylated hydroxyl toluene) ละลายในเอทานอลที่ความเข้มข้น 2, 20, 100 และ 200 ไมโครกรัม มาทำปฏิกิริยากับสารละลายของ DPPH เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 2) และสร้างกราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ BHT (รูปที่ 3)



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานของ BHT



รูปที่ 3 การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ BHT

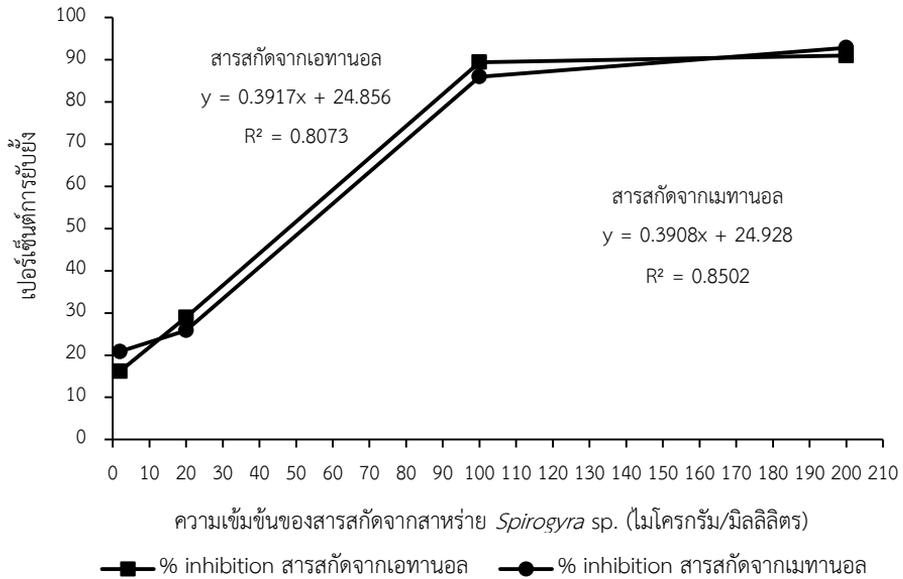
4.1 ผลการยับยั้ง DPPH ของสารสังเคราะห์ BHT

ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระเสถียร DPPH จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ BHT เพิ่มขึ้น เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่แต่ละความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ BHT ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับความเข้มข้นสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ BHT (รูปที่ 3) พบว่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 80 $\mu\text{g/ml}$ หรือต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ BHT เข้มข้น 80 $\mu\text{g/ml}$ จึงสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ ลดลงไป 50 เปอร์เซ็นต์

4.2 ผลการยับยั้ง DPPH ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp.

ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระเสถียร DPPH จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ *Spirogyra* sp. เพิ่มขึ้น เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่แต่ละความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) เพื่อสร้างกราฟการยับยั้งกับความเข้มข้นสารสกัดหยาบ *Spirogyra* sp. ด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล (รูปที่ 4 และตารางที่ 2) พบว่าปริมาณ IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีค่าเท่ากับ 64.19 $\mu\text{g/ml}$ และปริมาณ IC_{50} ของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีค่าเท่ากับ 64.15 $\mu\text{g/ml}$ หรือต้องใช้สารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. เข้มข้น 64.19 $\mu\text{g/ml}$ และ 64.15 $\mu\text{g/ml}$ จึงสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้น 6×10^{-5} โมลาร์ ลดลงไป 50 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณางานวิจัยของฐิติกานต์ ปัญญาใหญ่ (2551) ที่ได้ศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing พบว่าสารสกัดด้วยน้ำมีปริมาณสารสกัดหยาบ เท่ากับ 25.8% และมีผลการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน พบว่า สาหร่ายเตาดังกล่าวสามารถยับยั้ง DPPH• radical ได้ดีที่สุดคือมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.044 ± 0.002 mg/ml และรายงานของ Thumvijit et al. (2013) ที่รายงานว่าสาหร่ายเตา *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing ที่เก็บจากจังหวัดแพร่ มีค่ากิจกรรมต้านออกซิเดชันเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Capacity Assay พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 48.67 ± 3.06 $\mu\text{g/ml}$ จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. จากงานวิจัยนี้มีค่าสูงกว่า



รูปที่ 4 การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ในตัวทำละลายที่ต่างกัน

5. การตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound) ของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp.

จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ด้วยวิธี Total phenolic assay ซึ่งคำนวณได้จากสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression equation) ที่ได้จากกราฟมาตรฐานของ Gallic acid ($Y = 9.3027X + 0.0136$, $R^2 = 0.9996$) โดย $Y =$ gallic acid equivalents และ $X =$ ค่าดูดกลืนแสง พบว่า สารสกัดจากสาหร่ายน้ำจืด *Spirogyra* sp. ที่สกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คือ 54.57 ± 6.74 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อน้ำหนัก 100 มิลลิลิตร, mg GAE/100 mL สารสกัดจากสาหร่ายน้ำจืด *Spirogyra* sp. ที่สกัดโดยตัวทำละลายเอทานอลมีค่าเท่ากับ 14.70 ± 1.53 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อน้ำหนัก 100 มิลลิลิตร, mg GAE/100 mL (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Assawarachan et al. (2013) ที่ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสาหร่าย *Spirogyra* sp. พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 17.91 ± 4.09 มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อน้ำหนัก

100 มิลลิลิตร, mg GAE/100 mL เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Yosboonrung et al. (2020) ที่ได้ที่ได้รายงานเกี่ยวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสาหร่าย *Spirogyra neglecta* พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 157.92 mg GAE/g จากตัวอย่างสาหร่าย ที่เก็บจากภาคเหนือของประเทศไทย จากงานวิจัยต่างๆที่ได้กล่าวมาแล้วนั้นจะเห็นได้ว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีความแตกต่างกันในแต่ละงานวิจัยรวมถึงงานวิจัยนี้ด้วย โดย Alshididi & Jawad (2015) ได้รายงานว่ องค์ประกอบต่าง ๆ รวมถึงสารประกอบชีวภาพในสาหร่าย *Spirogyra* sp. มีปริมาณที่แตกต่างกันในแต่ละงานวิจัยนั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของสาหร่าย วิธีการสกัด การเลือกใช้ตัวทำละลาย อายุของการเก็บรักษาสารสกัด ตลอดจนสภาพแวดล้อมที่สาหร่ายนั้นๆ เจริญเติบโต

ตารางที่ 2 ปริมาณ IC₅₀ และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ในตัวทำละลายต่าง ๆ

ตัวทำละลาย	ปริมาณ IC ₅₀ (µg/ml)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อน้ำหนัก 100 มิลลิลิตร, mg GAE/100 mL)
เอทานอล	64.19	14.70±1.53
เมทานอล	64.15	54.57±6.74

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดของสาหร่าย *Spirogyra* sp. โดยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย การวิเคราะห์ปริมาณโพลีแซคคาไรด์ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากผลการศึกษารังนี้ แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Spirogyra* sp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังได้ และมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพสูงสะสมอยู่ในสาหร่ายดังกล่าว ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานส่วนหนึ่งในการประยุกต์ใช้สาหร่ายที่เป็นทรัพยากรธรรมชาติ ในการนำไปมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ โดยเฉพาะการนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านเวชสำอางค์ อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้สาหร่าย *Spirogyra* sp. อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ได้สนับสนุนงบประมาณตลอดจนการเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการทดลอง อุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือต่าง ๆ ในการทำโครงการวิจัยเรื่องนี้

เอกสารอ้างอิง

- ฐิติกานต์ ปัญญาใหญ่. (2551). *กิจกรรมด้านออกซิเดชันของสาหร่ายเตา Spirogyra neglecta (Hassall) Kützing*. (วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่).
- ปริญญา มูลสิน และ อมรรัตน์ วงษ์กลม. (2556). *การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากสาหร่ายเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง*. รายงานการวิจัย สาขาวิชาชีววิทยา และสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี. อุบลราชธานี
- พรรณรัตน์ อภินิษฐาภิชาติ และ เบญจภรณ์ เศรษฐบุปผา. (2563). *ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ปกป้องเซลล์ของสารสกัดจากผลพืชสกุลมะเขือ 4 ชนิด*. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 16(1), 49-58.
- ภารตี อินทจันทร์ และ วิภาเพ็ญ โชคดีสัมฤทธิ์. (2563). *การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของเจลสารสกัดใบบัวบก 5% กับเจลคลินตามัยซิน 1% ในการรักษาสิว*. *วารสารการแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพ*, 27(1), 1-11.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. (2549). *ศักยภาพของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการนำมาเป็นอาหารและยา*. รายงานการวิจัย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ
- ยุวดี พิรพรพิศาล, ฐิติกานต์ ปัญญาใหญ่ และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล. (2555). *ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของสาหร่ายเตา*. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.* 40(1), 238-235.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2550). *การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- รัตนภรณ์ จันทร์ทิพย์, ฐิติพรรณ ฉิมสุข, อรุณี คงดี และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล. (2555). *พฤษเคมีและผลของตัวทำลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายเตา (Spirogyra sp.)*. ใน: การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ครั้งที่ 3, 23 พฤศจิกายน 2555. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 15-22.
- รวีสรา รื่นไวย. (2563). การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก และความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกเก๊กฮวย. *วารสารนเรศวรพะเยา*, 13(1), 16-20.
- รชตะ รุ่งตระกูลชัย, วุฒิ สุขเจริญ, อนุพงศ์ อวิรุทธา และ วัชรินทร์ โชติชัยชรินทร์. (2562). การศึกษาและวิเคราะห์แนวทางในการพัฒนาตลาดที่ใช้สารสกัดจากธรรมชาติ. *วารสารสถาบันเทคโนโลยีไทย-ญี่ปุ่น : บริหารธุรกิจและภาษา*, 7(1), 75-82.
- อรรถพล อุทัยเรือง, รุจิลักษณ์ รัตตะรมณ์ และ ศัทธิตยา เมฆจรัสกุล. (2563). การประยุกต์ทางเวชสำอางค์ของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจากส่วนทั้งต้นและส่วนใต้ดิน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 9(5), 680-692.
- Alshididi, S. S. & Jawad, A. (2015). Antagonistic activity of *Spirogyra micropunctata* against some multidrug resistant human pathogenic bacteria. *Iraqi Journal of Science*, 56 (3C), 2494-2498.
- Assawarachan, R., Nookong, M., Chailungka, N., & Amornlerdpison, D. (2013). Effects of microwave power on the drying characteristics, color and phenolic content of *Spirogyra* sp. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(1), 15-18.
- Demina, N. S. & Lysenko, S. V. (1996). Collagenolytic enzymes synthesized by microorganisms. *Mikrobiologija*, 65(3), 293-304.
- Patil K. J., Patil, A. V., Mahajan, S. R., & Mahajan, R. T. (2011). Bio-activity of algae belonging to Bhusawal region, Maharashtra. *Current Biology*, 2(1), 29-31.
- Surayot U., Wang J., Lee J. H., Kanongnuch C., Peerapornpisal Y. & You S. G. (2015). Characterization and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79(10), 1644–1653.

- Sitthiwong, N. (2019). Pigment and nutritional value of *Spirogyra* spp. in Sakon Nakhon, Nakhon Phanom and Mukdahan provinces. *Science and Technology RMUTT Journal*, 9(1), 10-21.
- Tanna, b. & Mishra, A. (2019). Nutraceutical potential of seaweed polysaccharides: structure, bioactivity, safety, and toxicity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(3), 817-831.
- Thumvijit, T., Inboot, W., Peerapompisal, Y., Amornlerdpison, D., & Wongpoomchai, R. (2013). The antimutagenic and antioxidant properties of *Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(34), 2494-2500.
- Yosboonruang, A., Duangjai, A., Amornlerdpison, D., & Viyoach, J. (2020). Screening for Biological Activities of *Spirogyra neglecta* Water Extract. *Walailak Journal of Science and Technology*, 17(4), 359-368.