รายงานการวิจัย

ผลของการแปรรูป ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*)

Effects of processing for bioactive compounds changing in the sea grapes (*Caulerpa lentillifera*).

อุไรวรรณ วัฒนกุล Uraiwan Wattanakul
วัฒนา วัฒนกุล Wattana Wattanakul
มาโนช ขำเจริญ Manoch khamcharoen

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณการวิจัยเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณการวิจัยเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 งานวิจัยนี้ เป็นแนวทางการวิจัยเพื่อพัฒนาการแปรรูปสาหร่ายพวงองุ่น *Caulerpa lentillifera* เพื่อให้คงคุณค่าทางโภชนาการและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้ได้นานที่สุดก่อนการนำไปใช้ประโยชน์หรือการแปรรูป โดยใช้สภาวะการเก็บรักษาสาหร่ายที่แตกต่างกัน 4 วิธีการ ที่สามารถทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้เครื่องมือชั้นสูง เพื่อช่วยเกษตรกรในการยืดอายุสาหร่ายพวงองุ่นระหว่างรอการจำหน่าย

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้การช่วยเหลืออำนวยความสะดวกด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยในการวิจัยครั้งนี้ลุล่วงได้ด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและผองเพื่อนที่ให้ความห่วงใย เป็นกำลังใจให้เสมอมา ความดีของรายงานฉบับนี้ ขอมอบแด่ อาจารย์ทุกท่านที่ได้คอยประสิทธิ์ประสาทวิชาการให้แก่ข้าพเจ้า ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงาน ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

อุไรวรรณ วัฒนกุล
วัฒนา วัฒนกุล
มาโนช ขำเจริญ
สิงหาคม 2562

ผลของการแปรรูป ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*)

อุไรวรรณ วัฒนกุล[1] วัฒนา วัฒนกุล[1] และ มาโนช ขำเจริญ[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการแปรรูป ต่อคุณค่าทางโภชนาการและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* ได้แก่ ความชื้น โปรตีน เถ้า และเยื่อใย ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณฟินอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลการวิจัย พบว่า คุณค่าทางโภชนาการในสาหร่ายแต่ละสภาวะได้แก่ สาหร่ายแห้ง สาหร่ายเก็บอุณหภูมิตู้เย็น สาหร่ายแช่แข็ง และสาหร่ายดองเกลือ มีปริมาณความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 6.12 – 22.25 ปริมาณโปรตีนมีค่าระหว่างร้อยละ 13.80- 28.91 ปริมาณเถ้ามีค่าระหว่างร้อยละ 6.43 -24.80 และปริมาณเยื่อใยมีค่าระหว่างร้อยละ 9.46- 16.13 ตามลำดับ สาหร่ายพวงองุ่น (*C. lentillifera*) ให้ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ตรวจสอบโดยวิธี DPPH assay และ ABTS assay ทั้ง 4 สภาวะมีค่าแตกต่างกัน โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วงระหว่าง 0.145 – 0.740 และ 0.018 – 0.068 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บี มีค่าแตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 66.49 – 522.91 และ 70.09 – 488.89 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ สาหร่ายพวงองุ่นทั้ง 4 สภาวะ ได้แก่ สาหร่ายแห้ง สาหร่ายเก็บในอุณหภูมิตู้เย็น สาหร่ายแช่แข็ง สาหร่ายดองเกลือ มีค่าปริมาณฟินอลิกอยู่ในช่วงร้อยละ 0.63 – 16.35 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิคต่อกรัม ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 7.78 – 99.50 มิลลิกรัมสมมูลเคทิชินต่อกรัม ส่วน ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* พบว่า สาหร่ายพวงองุ่นสามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ตั้งแต่ 1-10 เท่าของสารมาตรฐานกรดโคจิก

คำสำคัญ : การแปรรูป สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)*

---

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.สิเกา จ.ตรัง

Effects of processing for bioactive compounds changing in the sea grapes (*Caulerpa lentillifera*)

Uraiwan Wattanakul[1] Wattana Wattanakul[1] and Manoch khamcharoen[1]

Abstract

This research aims to study nutritional values and radical scavenging activity of products derived from the processing of sea grape, *Caulerpa lentillifera*. Nutritional values analyzed including moisture, protein, ash, fiber, chlorophyll, Phenolic content, Flavonoid, radical scavenging activity and inhibitory activity of the enzyme tyrosinase. The results showed that the nutritional value of algae in four conditions; including dry algae, storage in refrigerator, frozen algae and salt pickled seaweed, had amount percentage of moisture, protein, ash and fiber were 6.12 – 22.25, 13.80- 28.91, 6.43 - 24.80 and 9.46-16.13 respectively. Efficiency of radical scavenging activity by IC_{50} DPPH and ABTS assay in 4 conditions of sea grape were range of between 0.145 – 0.740 and 0.018 – 0.068 mg/ml respectively. Chlorophyll a and b had different values It's value between 66.49 - 522.91 and 70.09 - 488.89 milligrams per gram, respectively. Four coditions of sea grape; dry algae, storage in refrigerator, frozen algae and salt pickled seaweed gave a phenolic compound in the range of 0.63-16.35 mgGAE/g. The amount of flavonoids were in the range of 7.78 - 99.50 mg CAE/g. Sea grape *C. lentillifera* can show the inhibition activity of the enzyme tyrosinase from 1-10folds of the standard Kojic acid.

Keywords : The processing, Bioactive compound and sea grape, *Caulerpa lentillifera*

.....

[1]Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Techonology Srivijaya, Sikao, Trang

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ช
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	13
ผลการวิจัยและวิจารณ์	15
สรุปผลการวิจัย	27
บรรณานุกรม	28
ภาคผนวก	34
ภาคผนวก ก ภาพการวิเคราะห์ค่าต่างๆ	35
ภาคผนวก ข วิธีการวิเคราะห์ค่าต่างๆ	45
ภาคผนวก ค การนำเสนอผลงานทางวิชาการ proceeding	57

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 แสดงคุณค่าทางอาหารของสาหร่าย *C. lentillifera* 3
2 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(Caulerpa lentillifera)* แห้ง 16
3 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น (4°C) 22
4 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* เก็บที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-20°C) 23
5 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 °C 25
6 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* ดองเกลือร้อยละ 15, 25 27

ภาคผนวกที่ **หน้า**

ข แฟกเตอร์ที่ใช้คำนวณปริมาณโปรตีนสำหรับอาหารชนิดต่างๆ 45

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สาหร่ายทะเล *Caulerpa lentilifera* ทั้งในรูปแบบสดและแห้ง	15
2	การเตรียมสาหร่ายพวงองุ่นที่ทำการแปรรูป และเก็บรักษาในรูปแบบแตกต่างกัน	20

ภาพผนวกที่		หน้า
1	การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*	33
2	การเตรียมสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) เพื่อศึกษาผลของการแปรรูป แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง	34
3	การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*	35
4	การวิเคราะห์ปริมาณไขมันในสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*	36
5	การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*	37
6	การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าและปริมาณความชื้นในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*	38
7	การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*	39
8	การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*	40
9	การวิเคราะห์ปริมาณฟินอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*	41

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

ก. = กรัม
กก. = กิโลกรัม
ชม. = ชั่วโมง
ซม. = เซนติเมตร
มล. = มิลลิลิตร
มม. = มิลลิเมตร
มก./ก. = มิลลิกรัมต่อกรัม
% = เปอร์เซ็นต์
A = Absorbance
ABTS = 2, 2’ –Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)
AOAC = Association of Official Analytical Chemists
$^{\circ}C$ = degree Celsius
CRD = Analysis of Variance in Completely Randomized Design
C. lentillifera = *Caulerpa lentillifera*
DMRT = Duncan’s New multiple range test:
DPPH = 2,2-dipheyl-l-picrylhydrazl
Kg = kilograms
IC_{50} = Inhibitory concentration at 50%
N = Normal
µl = microliter
µg/ml = micrograms/ milliliter
HPLC = High Performance Liquid Chromatography
M = Molar
ml = milliliter
mg/g = micrograms/grams
mM = millimolar
nm = nanometre
w/w = weight / weight
pH = Potential of Hydrogen ion
ppt = Part Per thaosand
rpm = Revolutions per minute

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

บทนำ

สาหร่ายพวงองุ่น

สาหร่ายพวงองุ่น มีชื่อสามัญว่า Sea Grape หรือ Green Caviar สาหร่ายสกุล *Caulerpa* เป็นสาหร่ายสีเขียว มีการจัดอันดับทางอนุกรมวิธานดังนี้

Divison : Chlorophyta
Class : Chlorophyceae
Order : Caulerpales
Family : Caulerpaceae
Genus : Caulerpa (กาญจนภาชน์, 2527)

ลักษณะของสาหร่ายสกุล *Caulerpa* มีดังนี้

ทัลลัสเป็นท่อติดต่อกันตลอด มีรากเป็นฝอยทำหน้าที่ยึดเกาะ และทอดแขนง ลักษณะคล้ายไหล (stolon) ออกเป็นระยะๆ ส่วนที่ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงมีลักษณะคล้ายใบเรียกว่ารามูลัส (ramulus) มีรลักษณะต่างๆ บางชนิดกลม บางชนิดแบน หรือเป็นเส้นเหมือนขนนก ทัลลัสมีขนาดใหญ่เล็กต่างกัน มีทราเบคูลา (trabecula) ซึ่งเป็นส่วนของผนังเซลล์ชั้นในยื่นเข้าไปในช่องเซลล์ (cell cavity) มีลักษณะเหมือนตาข่ายประสานกัน สาหร่ายสกุลนี้ขึ้นอยู่ตามพื้นทรายปนโคลนหรือขึ้นเกาะบนซากปะการัง (กาญจนภาชน์, 2527)

การแพร่กระจายของสาหร่ายสกุล *Caulerpa*

สาหร่ายสีเขียวสกุล *Caulerpa* แพร่กระจายทั่วไปตามบริเวณชายฝั่งทะเลเขตร้อน และทะเลเขตอบอุ่นทั่วโลก (Weber–van Bosse, 1898; Dawson, 1966) ขึ้นอยู่บริเวณซากปะการัง ชายฝั่งทะเลที่เป็นก้อนหิน น้ำทะเลค่อนข้างใส ความเค็มประมาณ 32-34% คลื่นลมไม่รุนแรง พบที่ความลึก 2-5 เมตร (นัยนา, 2529) นอกจากนี้ ยังพบสาหร่ายสกุลนี้หลายชนิดในบริเวณป่าชายเลน ตามพื้นโคลนเลน หรือโคลนปนทราย และอาจพบตามรากแสม โกงกาง (กาญจนภาชน์, 2519) คาดว่าสาหร่ายสกุล *Caulerpa* ทั่วโลกมีทั้งหมดประมาณ 73 ชนิด จากรายงานการแพร่กระจายในประเทศออสเตรเลีย พบสาหร่ายสกุลนี้ประมาณ 20 ชนิดในเขตร้อนทางตอนเหนือของออสเตรเลีย ประเทศญี่ปุ่นพบการแพร่กระจายของ *Caulerpa lentillifera* ตามริมชายหาดจาก Hateruma ถึงเกาะ Okinawa (Toma, 1987) ในประเทศฟิลิปปินส์รายงานว่า พบสาหร่าย *Caulerpa* มากกว่า 30 ชนิด (Trono and GanZen-Fortes, 1988) ส่วนประเทศไทยพบสาหร่ายสกุล *Caulerpa* แพร่กระจายทั้งในบริเวณชายฝั่งตะวันออก จังหวัดระยอง และจังหวัดจันทบุรี (พ้วน, 2535) ยังพบแพร่กระจายบริเวณชายฝั่งตะวันตกของอ่าวไทย และชายฝั่งทะเลอันดามันมหาสมุทรอินเดียบางส่วน จังหวัดชุมพร, สุราษฎร์ธานี, สงขลา และภูเก็ต (นัยนา, 2529)

ลักษณะทางอนุกรมวิธานของสาหร่ายสกุล *Caulerpa lentillifera* J. Agerdh

ทัลลัสประกอบด้วยสโตลอน (stolon) ที่คืบคลานไปตามพื้นและแตกแขนงได้ ส่วนของแขนงที่ตั้งตรงสูง 1-6 เซนติเมตร มักเกิดเดี่ยวๆ ไม่ค่อยแตกแขนง ประกอบด้วยรามูลัส (ramulus) เล็กๆ ลักษณะกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-2.0 มิลลิเมตร มีก้านสั้นๆ เรียงกันคล้ายช่อพริกไทย แต่ละรามูลัส

(ramulus) มีรอยคอดระหว่างก้านและส่วนที่เป็นเม็ดกลม สีเขียวใส (Lewmanomont and Ogawa, 1995)

สาหร่ายสีเขียวสกุล *Caulerpa* เป็นสาหร่ายทะเลที่มีลักษณะนิ่มและอวบน้ำ พบแพร่กระจายทั้งในบริเวณอ่าวไทย ชายฝั่งทะเลตะวันตกและตะวันออกตลอดถึงชายฝั่งทะเลอันดามันในบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเลภาคใต้ของไทยประชาชนในท้องถิ่นรู้จักนำสาหร่าย *Caulerpa* มาใช้ประโยชน์กันเป็นเวลานานแล้ว โดยเก็บรวบรวมจากแหล่งธรรมชาติมาจำหน่ายในสภาพสดตามตลาดท้องถิ่น และนิยมนำมารับประทานเป็นผักสลัดหรือผักจิ้ม เช่นเดียวกับในภาคใต้ของประเทศญี่ปุ่น นิยมนำสาหร่าย *Caulerpa* จากธรรมชาติมาใช้ในการตกแต่งอาหารและบริโภคสด (Toma, 1987) นอกจากนี้ในประเทศฟิลิปปินส์มีการเลี้ยงสาหร่าย *Caulerpa* ในบ่อดินธรรมชาติ เพื่อการบริโภคสดภายในประเทศและส่งออกขายไปยังประเทศญี่ปุ่น ปัจจุบันความต้องการบริโภคสาหร่าย *Caulerpa* ในต่างประเทศกำลังมีแนวโน้มสูงขึ้น

คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายทะเล

สมปอง (2509) พบว่าคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายทะเลบริเวณอ่าวศรีราชา จ.ชลบุรี ประกอบด้วยสาหร่ายสีน้ำตาล 8 ชนิด และสาหร่ายสีแดง 1 ชนิด องค์ประกอบส่วนใหญ่ของสาหร่ายเป็นความชื้นและคาร์โบไฮเดรต มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 34.65-89.99 และ 44.57-76.93 ตามลำดับ ส่วนโปรตีน ไขมัน เถ้า และเส้นใย มีอยู่ในปริมาณน้อยและพบมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 4.86-19.76, 0.56-1.88, 5.88-29.96, 5.05-15.15 ตามลำดับ และ Sanfond (1958) พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ของสาหร่ายเป็นพวกคาร์โบไฮเดรตและส่วนน้อยเป็นพวกโปรตีน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุ โดยเฉพาะธาตุฟอสฟอรัสและโปแตสเซียมมีปริมาณสูง การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Caulerpa racemosa* พบค่าระดับเฉลี่ยของเถ้า ไขมัน คาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เท่ากับร้อยละ 42.5, 5.3, 14.9 และ 5.6 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (Dawes and Goddard, 1978) ส่วน Hasni *et al*., (1986) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายสีเขียว *C. taxifolia* สาหร่ายสีแดง *Hypnea musciformis* ประกอบด้วยร้อยละของโปรตีน 5.8 และ 12.5, คาร์โบไฮเดรต 65.8 และ 25.0 , เถ้า 14.8 และ 35.3 ไขมัน 0 และ 3.7 ตามลำดับ สำหรับปริมาณเยื่อใยในสาหร่าย *Ulva lactuca* และ *Enteromorpha compressa* มีค่าระหว่างร้อยละ 15.8 – 18.0 และ 14.9 – 15.9 ตามลำดับ (Lahaye and Jegou, 1993)

สาหร่ายพวงองุ่นมีองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ โปรตีน 24.8% , คาร์โบไฮเดรต 33.8% และไขมัน 10.6% (Kaliaperumul *et al.,* 1995) ประเทศฟิลิปปินส์นิยมเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุลนี้ เพื่อใช้บริโภคภายในประเทศและส่งออกทั้งในรูปของสาหร่ายสดและสาหร่ายแห้งหมักด้วยเกลือ ทำรายได้เข้าประเทศในปี ค.ศ. 1989 มากกว่า 37 ล้านเหรียญสหรัฐ โดยตลาดส่วนใหญ่อยู่ที่ ญี่ปุ่น, ยุโรป และอเมริกา ทั้งนี้ คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงคุณค่าทางอาหารของสาหร่าย *C. lentillifera*

องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบ	มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
โปรตีน	12.49
ไขมัน	0.86
เยื่อใย	3.17
เถ้า	24.2
คาร์โบไฮเดรต	59.27
ความชื้น	25.31
เกลือแร่	มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
ฟอสฟอรัส	1030
โปแตสเซียม	970
แคลเซียม	780
แมกนีเซียม	630
สังกะสี	2.6
แมงกานีส	7.9
เหล็ก	9.3
	ไมโครกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง
ทองแดง	2200
ไอโอดีน	1424
วิตามิน	มิลลิกรัม /100 กรัมน้ำหนักสด
E	2.22
C	1.00
Thiamin	0.05
Riboflavin	0.02
Niacin	1.09

ที่มา ; (Ratana-arporn and Chirapart , 2006)

นอกจากนี้สาหร่าย *C. lentillifera* ยังมีกรดอะมิโนจำเป็นเกือบร้อยละ 40 ของกรดอะมิโนรวม ใกล้เคียงกับในไข่และโปรตีนถั่วเหลือง และมีกรดอะมิโนชนิดกรดแอสพาติกและกรดกลูตามิค สูงประมาณร้อยละ 25 ของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด ทำให้สาหร่ายมีกลิ่นและรสเฉพาะตัว การทำอาหารของสาหร่ายนิยมรับประทานกับสลัด รับประทานกับซูชิ เป็นส่วนประกอบใน salmon roll และอาหารทะเลต่าง ๆ รับประทานกับมันฝรั่ง ปรุงเหมือนไข่ปลาคาร์เวียร์

พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายสีเขียวมีหลายกลุ่ม มีการศึกษา cell wall polysaccharide ของสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) มุ่งเน้นที่สมบัติทางเคมีกายภาพ และคุณสมบัติทางชีวภาพ เพื่อนำสมบัติที่น่าสนใจมาประยุกต์ใช้ทางด้านอาหาร เภสัชกรรม เกษตรกรรมและทางเคมี สาหร่ายผักกาดสามารถสังเคราะห์ water-soluble polysaccharide ซึ่งเรียกว่า ulvan (Ray and Lahaye, 1995) ซึ่งมีความน่าสนใจ (Lahaye and Robic, 2007) เพราะมี สมบัติด้านการแข็งตัวของเลือด (Zhang *et al*., 2008) ต้านอนุมูลอิสระ (Morelli and Chiellini, 2010) เป็นต้น พอลิแซคคาไรด์ชนิดนี้เป็น water-soluble dietary fiber ซึ่งไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้มนุษย์

สาหร่ายขนนก *C. racemosa* เป็นสาหร่ายสีเขียวเช่นกัน ประกอบด้วย พอลิแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติด้าน immunomodulatory effects 9T lymphocyte subgroup และ natural killer cell ในหนู (Tuo *et al*., 2007) ซึ่ง natural killer cell จะมีหน้าที่ในการยับยั้งเนื้องอกและเซลล์ที่ถูกจับโดยไวรัส อีกทั้งสารสกัดด้วยน้ำร้อนของสาหร่าย *C. racemosa* จะได้พอลิแซคคาไรด์ชนิด sulfated heteropolysacchrides มีคุณสมบัติในการยับยั้งไวรัส

องค์ประกอบทางเคมีในสาหร่าย

คาร์โบไฮเดรต

สาหร่ายประกอบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์จำนวนมาก โดยส่วนใหญ่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์มีการนำสาหร่ายมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไฮโดรคอลลอยด์ เช่น วุ้น และ คาราจีแนน จากสาหร่ายสีแดง สารพอลิแซคคาไรด์ ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เรียกว่า dietary fibres (Lahaye *et, al*., 1991) สารพอลิแซคคาไรด์ที่พบรองลงมาคือ ulvans ในสาหร่ายสีเขียว อาหารสะสมของสาหร่ายสีแดงอยู่ในรูปของแป้งฟลอริเดียน (floridiean starch) นอกจากแป้งแล้วยังสะสมอาหารไว้ในรูปของน้ำตาลฟลอริโคไซด์ (floridoside) ทำหน้าที่เหมือนน้ำตาลซูโครสในพวกสาหร่ายสีเขียวและพืชชั้นสูง จากการเปรียบเทียบปริมาณคาร์โบไฮเดรตและเยื่อใยของสาหร่ายกับพืชอาหาร พบว่าสาหร่ายมีเยื่อใยที่ละลายน้ำ (suluble fiber) และเยื่อใยที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble fiber) สูงกว่าพืชอาหารทั่วไปบางชนิด (Burtin, 2003; MacArtain *et,al.,* 2007)

โปรตีน

สาหร่ายมีปริมาณโปรตีนมาก ประมาณร้อยละ 5-15 ของน้ำหนักแห้ง สาหร่ายสีแดงบางชนิด เช่น *Palmaria palmate* (dulse) และ *Porphyra tenera* (nori) มีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 35-47 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ใกล้เคียงเท่ากับโปรตีนจากถั่วเหลือง (MacArtain *et, al*., 2007) ปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนแตกต่างกันไปตามฤดูกาล และสายพันธุ์ โดยเฉพาะกรดอะมิโนกลูตามิกและแอสปาร์ติก สามารถพบได้ในสาหร่ายเกือบทุกสายพันธุ์ พบมากที่สุดในสาหร่ายสีน้ำตาล รองลงมาคือสาหร่ายสีแดง กรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้มีบทบาทในการเสริมรสชาติทำให้เกิดรสอร่อย ส่วนกรดอะมิโนที่จำเป็นในสาหร่าย ได้แก่ ฮิสติดีน ลิวซีน ไอโซลินซีน และ วาลีน แต่พบ ซิสทิอีน ในปริมาณต่ำ (Fleurence, 1999)

ไขมัน

สาหร่ายประกอบด้วยไขมันเพียงร้อยละ 1-5 ของน้ำหนักแห้ง กรดไขมันที่พบในสาหร่ายมีทั้งกรดไขมันอิ่มตัว (saturated monounsaturated) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) ในอัตราส่วนต่างกัน โดยกรดไขมันอิ่มตัวที่พบมากที่สุดคือกรดปาล์มมิติก กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวที่พบมากในสาหร่ายคือกรดโอเลอิก ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในสาหร่ายสีแดงเท่ากับหรือมากกว่าสาหร่ายสีน้ำตาล ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่พบส่วนใหญ่อยู่ในรูปกรดไขมันสายยาวมีมากถึงร้อยละ 90 ของกรดไขมันทั้งหมด และไม่พบกรดไขมันสายสั้นในสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ นอกจากนี้สาหร่ายยังประกอบด้วยกรดไขมันจำเป็นเช่น omega-3 และ omega-6 มีสมบัติในการป้องกันโรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน โรคไขข้ออักเสบ และโรคเบาหวาน ในสาหร่ายสีเขียวพบในรูป alpha linolenic acid ส่วนในสาหร่ายสีแดงและสีน้ำตาล พบอยู่ในรูปของ eicosapentanoic acid และ arachidonic acid (Burtin, 2003; MacArtain *et, al*., 2007)

แร่ธาตุและวิตามิน

สาหร่ายประกอบด้วยแร่ธาตุที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม โปแตสเซียม แมกนีเซียม โซเดียม คอปเปอร์ เหล็ก ไอโอดีน และสังกะสี โดยเฉพาะแคลเซียมและไอโอดีน มีปริมาณมากกว่าพืชทั่วไป ปริมาณแร่ธาตุขึ้นกับสิ่งแวดล้อมและสายพันธุ์ บางชนิดมีแร่ธาตุถึงร้อยละ 36 ของน้ำหนักแห้ง ทั้งนี้ ไอโอดีนและแมกนีเซียมเป็นแร่ธาตุสำคัญที่พบมากในสาหร่ายสีน้ำตาล ทำให้สามารถนำสาหร่ายสีน้ำตาลมาใช้ในการรักษาโรคไทรอยด์ (Suzuki *et, al*., 1965) สาหร่ายยังเป็นแหล่งของแคลเซียมที่ดี เนื่องจากปริมาณแคลเซียมในสาหร่ายสูงถึงร้อยละ 7 ของน้ำหนักแห้ง และอาจมากกว่าในสาหร่ายบางชนิด (Burtin, 2003)

วิตามินที่พบในสาหร่ายได้แก่ วิตามิน B1, B2, B3, B6, B8, B9, B12, วิตามินซี และวิตามินอี อาจมีปริมาณแตกต่างกันในสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ วิตามินซีมีสมบัติช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น ช่วยดักจับอนุมูลอิสระ และเสริมสร้างการสร้างวิตามินอี ส่วนวิตามินอีมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระพบมากที่สุดในสาหร่ายสีน้ำตาล โดยพบในรูป alpha, beta และ gamma tocopherol ซึ่งช่วยในการป้องกันการเกิดโรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน (Burtin, 2003) ส่วนวิตามินบี 12 ช่วยป้องกันการแก่ของเซลล์ ใช้รักษาโรคอ่อนเพลียเรื้อรัง และมะเร็งเม็ดเลือดขาว สาหร่ายได้ชื่อว่าเป็นแหล่งของวิตามินบี (MacArtain *et, al*., 2007)

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านออกซิเดชัน หรือสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายสิ่งมีชีวิต มีการจำแนกได้หลายกลุ่ม ตัวอย่างที่พบ คือกลุ่มเอนไซม์ (enzyme) เช่น catalase, glutathione peroxidase และ superoxide dismutase รวมทั้งสารกลุ่มโปรตีนหรือสารประกอบโปรตีนบางอย่างเช่น glutathione, urate, bilirubin, ubiquinol, albumin, ceruloplasmin และ transferrin เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้ทำหน้าที่ในการควบคุมอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับที่สมดุลแต่หากมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณที่มากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด ทำให้ส่งผลต่อสภาวะ oxidative stress ซึ่งทำให้อนุมูลอิสระทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย หากมีการสะสมในปริมาณมากอาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรค Parkinson โรค Alzheimer ไขข้ออักเสบ และต้อกระจกเป็นต้น (Ames *et,al*.,1993)

จากการศึกษาพบว่า สารประกอบกลุ่มแทนนิน (tannins) หรือกลุ่ม polyphenols โดยเฉพาะกลุ่มแซนโทนิน (xanthones) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี ทั้งการทดลองในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง (Rice-Evans *et,al.,* 1996) แม้ว่าสารสังเคราะห์มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ แต่ยังมีข้อกังขาในแง่ความปลอดภัย (Yang *et al*., 2000) แตกต่างจากสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ที่มีความเชื่อมั่นว่าปลอดภัยกว่า โดยเฉพาะกลุ่ม polyphenols ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ (Van Acker *et,al.,* 2000)

วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

การตรวจวัดกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำได้หลายวิธี การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระนิยมใช้ 2 วิธีขึ้นไป เพื่อเป็นการยืนยันประสิทธิผลของการวิเคราะห์ (ประสาร, 2547)

1. วิธี DPPH (Leong and Shui, 2002)

DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรและมีสีม่วง มีค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 515-517 นาโมเมตร เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนจะกลับคืนสู่สภาพปกติซึ่งมีสีเหลือง DPPH เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการประเมินกิจกรรมของสานต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่มีคุณสมบัติในการจับอนุมูลอิสระที่ถูกกระตุ้นด้วย Chain-breaking mechanism เช่น สารประกอบ ฟีนอลิคและวิตามินซี (Niki, 1987; Lu and Foo, 2000) นิยมใช้วิธีกันมาก เนื่องจากความคงตัวของ DPPH ทำให้สามารถวิเคราะห์ผลได้ อีกทั้งใช้เวลาน้อยในการทดลอง (ประสาร, 2547)

2. วิธี ABTS assay (Rice-Evans และคณะ, 1999)

ABTS assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระโดยใช้รีเอเจนท์ (reagent) คือ 2, 2’ –Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายสีเขียวอ่อน เมื่อทำให้เกิดเป็น stable radical ในตัวทำละลายน้ำ สารละลายจะมีสีเขียวเข้มของ $ABTS^{+}$ ซึ่งดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 414 นาโนเมตร รองลงมาคือ ความยาวคลื่น 645, 734 และ 815 นาโนเมตร การทดลองจะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เพราะปฏิกิริยาจะถูกรบกวนจากภาวะต่างๆ น้อยมาก

ถ้าสารตัวอย่างที่ทดสอบมีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระได้สูง ความเข้มของสีเขียวจะลดลง โดยรายงานผลการทดลองเป็นค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึง ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ ABTS เหลืออยู่ 50% หรือรายงานผลโดยเปรียบเทียบหาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอล มีโภชนเภสัช มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถละลายได้ในน้ำ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

สารประกอบ ฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น ซึ่งประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิกต่อสุขภาพ ได้แก่ การเป็นที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านการกลายพันธุ์ มีความสามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอล จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย

การดองเกลือ

การดอง หมายถึง การถนอมอาหารในน้ำเกลือ และมีน้ำส้มเล็กน้อย อาจเติมเครื่องเทศ น้ำตาล หรือน้ำมันด้วยก็ได้ การดองอาจอาศัยเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปช่วย ถ้าดองในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ เช่น แตงกวาดอง กระเทียมดอง ขิง ดอง เป็นต้น หรืออาจดองโดยไม่ต้องอาศัยเชื้อจุลินทรีย์เลย ซึ่งมักใช้กับผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว หรือที่มีความเป็นกรดสูง และใช้น้ำเกลือที่เค็มจัด เช่น มะม่วงดอง เป็นต้น

การดองมีหลายวิธีดังนี้

1. การดองเปรี้ยว ผักที่นิยมนำมาดอง เช่น ผักกาดเขียว กะหล่ำปลี ผักเสี้ยน ถั่วงอก เป็นต้น วิธีทำคือนำเอาผักมาเคล้ากับเกลือ โดยผสมน้ำเกลือกับน้ำส้มต้มให้เดือด ทิ้งไว้ให้เย็น นำมาเทราดลงบนผักที่เรียงไว้ในภาชนะ เทให้ท่วมผักปิดฝาภาชนะไม่ให้ลมเข้า หมักทิ้งไว้ 4-7 วัน ก็นำมารับประทานได้

2. การดอง 3 รส คือ รสเปรี้ยว เค็ม หวาน ผักที่นิยมดองแบบนี้คือ ขิงดอง กระเทียมสด ผักกาดเขียน การดองชนิดนี้คือ นำเอาผักมาเคล้ากับเกลือแล้วผสมน้ำส้ม น้ำตาล เกลือ ต้มให้เดือด ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาเทราดลงบนผักปิดฝาทิ้งไว้ประมาณ 2-3 วัน ก็นำมารับประทานได้

3. การดองหวาน ผักและผลไม้ที่นิยมนำมาดอง เช่น มะละกอ หัวผักกาด กะหล่ำปลี เป็นต้น โดยต้มน้ำตาล น้ำส้มสายชู เกลือ ให้ออกรสหวานนำให้เดือดทิ้งไว้ให้เย็น เทราดลงบนผักผลไม้ทิ้งไว้ 2-3 วัน ก็นำมารับประทานได้

4. การดองเค็ม อาหารที่นิยมส่วนใหญ่จะเป็นพวกเนื้อสัตว์และผัก เช่น ปูเค็ม ปลาเค็ม กะปิ หัวผักกาดเค็ม ไข่เค็ม เป็นต้น ต้มน้ำส้มสายชูและเกลือให้ออกรสเค็มจัดเล็กน้อยให้เดือดทิ้งไว้ให้เย็น กรองใส่ภาชนะที่จะบรรจุอาหารดอง แล้วหมักทิ้งไว้ 4-9 เดือนจึงนำมารับประทาน

5. การหมักดองที่ทำให้เกิดแอลกอฮอล์ คือการหมักอาหารพวกแป้ง น้ำตาล โดยใช้ยีสต์เป็นตัวช่วยให้เกิดแอลกอฮอล์ เช่น ข้าวหมาก ไวน์ เป็นต้น

การหมักเกลือ จะเกิดการออสโมซิส (osmosis) เนื่องจากความเข้มข้นที่แตกต่างกันระหว่างเกลือที่ใช้หมัก และภายชิ้นอาหารที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ทำให้น้ำในวัตถุดิบจะเคลื่อนออกมาภายนอก ในขณะที่เกลือส่วนผสมหรือเครื่องปรุง เคลื่อนที่เข้าไปในวัตถุดิบ มีผลทำให้อาหารมีความชื้น และค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ (water activity) ลดลง มีส่วนสำคัญที่ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็น

สาเหตุการเสื่อมเสียของอาหาร (microbial spoilage) และจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) รวมทั้งปรสิต (parasite) ซึ่งเป็นอันตรายในอาหาร (food hazard) ทำให้เกิดความปลอดภัย อาหารมีอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น นอกจากนี้การหมักเกลือ ยังทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ อาหารมีกลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสที่แตกต่าง และได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เพิ่มมูลค่าให้กับวัตถุดิบ

การใช้เกลือในรูปสารละลายที่ความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 4 จะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) ได้เกือบทุกชนิด แต่ยังมีแบคทีเรียที่ทนเกลือ (halophilic bacteria) บางชนิด ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหาร ยังเจริญได้อยู่

การใช้เกลือเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ทุกชนิดอย่างสมบูรณ์ ต้องการความเข้มข้น ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 17 แต่อาจทำให้อาหารมีรสเค็มจัดเกินไป ดังนั้นการหมักเกลือจึงอาจใช้การร่วมกับการถนอมอาหารวิธีอื่น เช่น การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (cold storage) การพาสเจอไรซ์ (pasteurization) การใช้วัตถุกันเสีย (preservative) การทำแห้ง (dehydration) การหมัก (fermentation) การรมควัน (smoking) เป็นต้น

เกลือที่ใช้หมัก อาจมีการผสมเกลือของกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) เช่น โซเดียมแอสคอร์เบต (sodium ascorbate) เพื่อเร่งการรีดิวซ์ ไนเทรตเป็นไนไทรต์ให้หมด เพื่อไม่ให้ตกค้างเป็นสารไนโทรซามีน (nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งและกรดแอสคอร์บิกที่เหลือ ยังช่วยป้องกันการเกิดกลิ่นหืน (rancidity) จากปฏิกิริยา lipid oxidation อีกด้วย

กรรมวิธีการหมักเกลืออาจใช้วิธีการ ดังนี้

1. การหมักแห้ง (dry curing) เป็นการใช้เกลือ และส่วนผสมอื่น เช่น เครื่องเทศ น้ำตาลผสมกัน ในรูปผงแห้ง แล้วทาส่วนผสมที่ผิวนอกหรือคลุกให้ทั่ววัตถุดิบ ทั่วไปจะใช้เกลือประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัตถุดิบ

2. การหมักด้วยน้ำเกลือ หรือการหมักดอง (wet curing, wet immersion brining, pickle curing) เป็นการหมัก โดยการเตรียมเกลือให้อยู่ ในรูปของสารละลาย หรือน้ำเกลือก่อน มีความเข้มข้นของเกลือระหว่าง 15-25 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงนำวัตถุดิบที่ต้องการหมักมาแช่ให้น้ำเกลือท่วมวัตถุดิบ

3. การฉีดน้ำเกลือ โดยวิธีฉีดน้ำเกลือเป็นการเตรียมส่วนผสมในรูปน้ำเกลือหรือน้ำปรุง จากนั้นจึงฉีดเข้าไปในวัตถุดิบที่ต้องการหมัก เพื่อช่วยให้น้ำเกลือเข้าไปในชิ้นอาหารได้สม่ำเสมอและรวดเร็ว

การทำแห้ง

เป็นกระบวนการแปรรูปเพื่อเก็บรักษาอาหาร โดยการใช้ความร้อนภายใต้สภาวะควบคุม เพื่อกำจัดน้ำส่วนใหญ่ที่มีอยู่ในอาหารโดยการระเหย การระเหิด หรือการสกัดน้ำออกด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม อาจใช้กระบวนการออสโมติคด้วยน้ำตาลหรือเกลือแกง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร จากการลดค่า Aw (Water activity) มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และการทำงานของเอนไซม์

การทำแห้งโดยการเคลื่อนย้ายน้ำออกจากอาหาร มีปัจจัยที่ส่งผลต่อการเคลื่อนย้ายน้ำ ได้แก่ ธรรมชาติของอาหาร ขนาดและรูปร่าง พื้นที่ผิวสัมผัสกับอากาศ ตำแหน่งของอาหารในเตาอบ อุณหภูมิของอากาศร้อน และความเร็วของลมร้อน เป็นต้น

กระบวนการอบแห้ง แบ่งได้เป็น 3 แบบ ได้แก่

1. การตากแห้ง (sun drying) การตากแห้งเป็นการทำแห้งโดยวิธีธรรมชาติที่ง่ายที่สุด โดยใช้พลังงานความร้อนจากแสงอาทิตย์ และกระแสลมที่พัดผ่านอาหารทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของไอน้ำ

2. การทำแห้งแบบบรรยากาศ (atmospheric dehydration process) แบบไม่ต่อเนื่อง (stationary หรือ batch process) เช่น klin,tower และ cabinet dryer และแบบต่อเนื่อง (continuous process) เช่น continuous belt,fluidized bed,spray dryer และ drum dryer

3. การทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum dehydration process) เป็นการทำแห้งโดยใช้อุณหภูมิต่ำ (ใช้อุณหภูมิได้ต่ำกว่าปกติ) และทำภายใต้ระบบสุญญากาศ เช่น vacuum shelf และ freeze dryer

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุภาจรี (2542) กล่าวถึงการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายทะเลชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในภาคใต้ของไทยว่า ได้มีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ทั้งแบบการใช้บริโภคเป็นอาหารเป็นสมุนไพร สกัดวุ้น หรือใช้เลี้ยงสัตว์ เช่น สาหร่ายผมนาง (*Gracilaria* sp.) สาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora* sp.) สาหร่ายพวงองุ่น (*Caularpa* sp.), สาหร่ายทุ่น (*Sargassum* sp.) และสาหร่ายใบ (*Ulva* sp.) แต่การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายเหล่านี้ยังอยู่ในแวดวงที่จำกัดและยังขึ้นกับฤดูกาล

นัสราภรณ์ (2554) ศึกษาปริมาณความชื้นในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์โดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ และน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน คือมีค่าระหว่าง 92.8-97.0% และ 92.4-97.8% ตามลำดับ ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 54.05-78.15% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์โดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ และ 54.67-79.49% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา ปริมาณไขมันมีค่าอยู่ระหว่าง 0.12-1.59% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์โดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ และ 0.35-1.16% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา ปริมาณโปรตีน มีค่าอยู่ระหว่าง 0.51-0.93% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์โดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ และ 0.61-1.73% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา ปริมาณโปรตีนในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา มีค่าสูงกว่าปริมาณโปรตีนในสาหร่ายพวงองุ่นในน้ำทะเลธรรมชาติ ปริมาณเส้นใยในสาหร่ายมีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 3.50-10.21% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์โดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ และ 54.67-79.49% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา ปริมาณเถ้า ในสาหร่ายมีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 12.21-38.80% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์โดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ และ 7.61-37.54% ในสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา และปริมาณฟอสฟอรัส ในเนื้อเยื่อสาหร่ายที่เลี้ยงใน น้ำทะเลธรรมชาติและในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา มีอยู่ปริมาณน้อย ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.045-0.093% และ 0.075-0.142% ตามลำดับ ดังนั้น องค์ประกอบส่วนใหญ่ของสาหร่ายพวงองุ่นเป็นความชื้นและคาร์โบไฮเดรต ส่วนโปรตีน ไขมัน เถ้า และเส้นใย มีอยู่ในปริมาณน้อย สอดคล้องกับองค์ประกอบส่วนใหญ่ที่พบในสาหร่าย *Caulerpa taxifolia* ซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 65.8

(Hasni *et al*., 1986) สำหรับปริมาณโปรตีนมีความสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวงองุ่น และปริมาณโปรตีนของสาหร่ายเป็นสัดส่วนกับปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Smith *et al*., (1997) พบว่าสาหร่าย *Gracilaria gracilis* ที่เลี้ยงในถังกลางแจ้งในประเทศแอฟริกาใต้ เมื่อเพิ่มสารอาหารประเภท NH_4-N เป็น 2 ครั้งต่อสัปดาห์ ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ทั้งนี้สาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติมีปริมาณไขมันสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา เนื่องจากปริมาณไขมันเป็นปฏิภาคผกผันกับปริมาณไนโตรเจน ส่วนปริมาณเส้นใยใน สาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลามีปริมาณเส้นใยสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติ

ปริมาณโลหะหนักในเนื้อเยื่อสาหร่ายพวงองุ่นที่ตรวจสอบ (ตะกั่ว ปรอท และแคดเมียม) พบว่าปริมาณของตะกั่วในปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ แคดเมียมและปรอท ตามลำดับ ปริมาณตะกั่วในเนื้อเยื่อสาหร่ายพวงองุ่นที่เลี้ยงโดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ มีมากกว่าในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งทะเล ($p<0.05$) ส่วนปริมาณปรอท และแคดเมียมในเนื้อเยื่อสาหร่ายพบไม่แตกต่างกัน การที่เนื้อเยื่อสาหร่ายพวงองุ่นมีการสะสมของโลหะหนักโดยเฉพาะตะกั่วได้มากที่สุด อาจเพราะแหล่งน้ำที่นำมาใช้เลี้ยงสาหร่ายอยู่ในบริเวณพื้นทำเกษตรกรรมและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง และเป็นแหล่งน้ำใกล้ชุมชนจึงมีการปนเปื้อนน้ำทิ้งปริมาณสูง (ปิยวรรณ และกานดา, 2548)

งานวิจัยนี้ เป็นแนวทางการวิจัยเพื่อพัฒนาการแปรรูปสาหร่ายพวงองุ่น *C. lentillifera* เพื่อให้คงคุณค่าทางโภชนาการและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้ได้นานที่สุดก่อนการนำไปใช้ประโยชน์หรือการแปรรูป โดยใช้สภาวะการเก็บรักษาสาหร่ายที่แตกต่างกัน 4 วิธีการ ที่สามารถทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้เครื่องมือชั้นสูง เพื่อช่วยเกษตรกรในการยืดอายุสาหร่ายพวงองุ่นระหว่างรอการจำหน่าย และยังคงคุณค่าทางโภชนาการที่เทียบเท่าสาหร่ายเก็บสด ซึ่งเป็นการวิจัยการใช้ทรัพยากรสาหร่ายเพื่อใช้เป็นอาหารในระบบเกษตรกรรมที่มีศักยภาพในท้องถิ่น และเป็นการเพิ่มศักยภาพการนำใช้ผลผลิตจากทะเล หรือจากการเพาะเลี้ยงในบ่อทิ้งร้าง ในรายงานการทดลองที่ผ่านมา พบว่า สาหร่ายสีเขียวทั้งน้ำจืดและน้ำเค็ม มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณแตกต่างกัน โดยพบว่า สาหร่ายเตามีสารสำคัญที่ประกอบด้วย คลอโรฟิลล์ สารเบต้าแคโรทีนและแซนโทฟิล สารประกอบฟิอลิก โพลีแซคคาไรด์ สารต้านอนุมูลอิสระ และสาหร่ายบางชนิดอาจมีสารกลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ (ดวงพร, 2553 อ้างโดย ปริญญา และอมรรัตน์, 2556) ส่วนงานทดลองของรติพรรณและคณะ 2560 (อ้างโดย ปริญญา และอมรรัตน์, 2556) พบว่า สารสกัดอะซิเตทของสาหร่ายน้ำจืดสีเขียว *Cladophoro glomerata* Kutzing มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในช่องปาก และงานวิจัยของ Matsukawa *et al*. (1997) ศึกษาเอนไซม์จากสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า *chlorella* สามารยับยั้งการสร้าง oxidizing enzymes, lipoxygenase และ tyrosinase จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นประโยชน์จากสาหร่ายกลุ่มสีเขียว โดยเฉพาะสาหร่ายพวงองุ่น *C. lentillifera* ให้เพิ่มมากขึ้นด้วย เพราะมีคุณค่าทางโภชการสูง สามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย โดยเฉพาะพื้นที่จังหวัดตรัง มีบ่อทิ้งร้างจากการเลิกทำนากุ้งจำนวนมาก การหันมาเพาะเลี้ยงสาหร่ายของเกษตรกรจึงมีความเป็นไปได้สูง การวิจัยในครั้งนี้จึง มีวัตถุประสงค์ในการหาสภาวะวิธีการแปรรูปเพื่อการเก็บรักษาที่เหมาะสม ต่อการคงคุณค่าทางโภชนาการ สารอาหาร และ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่าย เพื่อช่วยให้ประโยชน์ของเกษตรกรในการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษาสาหร่ายก่อนการจำหน่ายสู่ผู้บริโภค ทั้งนี้จะได้ข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายพวงองุ่นต่อไป รวมถึงเผยแพร่แก่นักศึกษา นักวิชาการและบุคคลทั่วไป อันจะก่อให้เกิดประโยชนต่อเกษตรกรอยางยั่งยืนในอนาคต เพื่อรองรับนโยบายประเทศไทย 4.0 ส่งผลให้ผลผลิตสาหร่ายที่ไดมีคุณภาพผลผลิตที่ดี

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันสาหร่ายเป็นพืชน้ำที่มีความสำคัญทางต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องเพราะสาหร่ายประกอบด้วยคุณค่าสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อมมนุษย์ โดยเฉพาะโปรตีนและเยื่อใยสูง แต่มีไขมันต่ำ ซึ่งชาวจีนเลือกใช้ประโยชน์จากสาหร่ายเป็นยาและอาหาร (กาญจนภาชน์, 2527) ชาวญี่ปุ่นใช้สาหร่ายทะเลเป็นอาหาร เครื่องปรุงรส เครื่องเคียงในการทำซูชิ รวมถึงอุตสาหกรรมอาหาร ยา เครื่องสำอาง ฯลฯ (Burtin, 2003) การบริโภคสาหร่ายจึงมีแนวโน้มในการให้ผลที่ดีด้านสุขภาพ จากการสำรวจ พบว่าประเทศไทยมีสาหร่ายหลากหลายชนิด ทั้งภาคใต้ชายฝั่งทะเลอ่าวไทยและอันดามัน สาหร่ายมีสัดส่วนของคุณค่าทางอาหารแตกต่างกันไปในแต่ละกลุ่ม มีสารอาหารสำคัญ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโนจำเป็น กรดไขมันจำเป็น เยื่อใย วิตามินและแร่ธาตุ ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าพืชบก (Burtin, 2003) โดยกลุ่มสาหร่ายสีเขียวสกุล *Caulerpa* เช่น สาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* และ สาหร่ายขนนก *(C. racemosa)* มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น กลุ่มรงควัตถุคาโรทีนอยด์ สารโพลีแซคคาไรด์ และ สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น การบริโภคสาหร่ายในรูปสด หรือการใช้ความร้อนในการแปรรูปอาหาร อาจทำให้ผู้บริโภคได้รับสารอาหารที่มีในสาหร่ายแตกต่างกันไป ดังนั้นการแปรรูปสาหร่าย และการเก็บรักษาที่สภาวะแตกต่างกัน เช่น การเก็บรักษาสาหร่ายก่อนการบริโภคในอุณหภูมิห้อง อุณหภูมิตู้เย็น การแช่แข็ง การผลิตสาหร่ายแผ่น การรักษาคุณภาพสาหร่ายโดยการใช้สารละลายเกลือ (การดองน้ำเกลือ) อาจส่งผลต่อการสูญเสียคุณค่าทางอาหารสำคัญรวมถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายได้ต่างกันด้วย แต่กระบวนการแปรรูปและเก็บรักษาบางสภาวะอาจจะทำให้ได้สารอาหารที่มีประโยชน์ในสาหร่ายเพิ่มขึ้น เช่น โปรตีน เปปไทด์ กรดอะมิโนจำเป็น และแร่ธาตุ

สาหร่ายพวงองุ่น (*C. lentillifera*) จึงเป็นสาหร่ายทะเลอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาศึกษากระบวนการเก็บรักษาก่อนการนำไปแปรรูป หรือการรับประทานสด ทั้งนี้เพราะสาหร่ายชนิดนี้เป็นสาหร่ายที่นำมาเพาะเลี้ยงในบ่อเพื่อเพิ่มปริมาณได้ง่าย มีราคาจำหน่ายที่ดี และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในอาหารได้หลากหลาย ทั้งนี้การเก็บรักษาเพื่อคงคุณค่าสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ยังมีการศึกษาไม่มากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการเก็บรักษาสาหร่ายที่สภาวะแตกต่างกัน 5 วิธีการ และนำมาศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ยังคงหลงเหลืออยู่ภายหลังการเก็บรักษา ซึ่งข้อมูลพื้นฐานนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาและส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายพวงองุ่นของประเทศไทย ตลอดจนคาดหวังว่าผลการวิจัยจะนำไปสู่การพัฒนาการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายชนิดนี้ในอาหารมนุษย์ เพิ่มมากขึ้น ก่อให้เกิดการส่งเสริมอาชีพการเลี้ยงสาหร่ายและการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ได้อย่างกว้างขวางกว่าเดิม

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ในสาหร่ายพวงองุ่น *C.lentillifera* ก่อนและภายหลังการแปรรูปที่แตกต่างกัน 4 วิธี
2. ศึกษาและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่น *C.lentillifera* ก่อนและภายหลังการแปรรูปที่แตกต่างกัน 4 วิธี

ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ ศึกษาผลของการแปรรูปสาหร่ายพวงองุ่น *C.lentillifera* ที่สภาวะแตกต่างกัน 5 วิธี ทั้งนี้เพราะสาหร่ายชนิดนี้มีปริมาณน้ำมาก ย่อยสลายตัวเองได้ง่าย การนำไปใช้ประโยชน์จึงมีเวลาจำกัดและส่งผลคุณภาพของสารอาหาร ดังนั้นการทดลองนี้จึงเน้นการแปรรูปสาหร่ายสดที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ในสภาวะที่แตกต่างกัน 4 รูปแบบ ได้แก่ การแช่เย็นในอุณหภูมิตู้เย็น การแช่อุณหภูมิแช่แข็ง การทำแห้ง และการดองเกลือ เพื่อให้ทราบถึงผลการแปรรูปต่อการคงคุณค่าของสารอาหาร องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ในสาหร่าย ประกอบด้วย ปริมาณโปรตีน เส้นใย ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟินอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อให้มีการใช้ประโยชน์ของสาหร่ายพวงองุ่นให้หลากหลายยิ่งขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

\

วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง /เก็บข้อมูล

การศึกษาเรื่องผลของการแปรรูป ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) มีวิธีการดำเนินการวิจัย ดังนี้

1.1 การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย

นำสาหร่ายพวงองุ่นสด จากบ่อเพาะเลี้ยงที่ได้มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา แล้วตั้งวางเรียงกันไว้ในถาดสแตนเลสให้สะเด็ดน้ำ นำมาชั่งน้ำหนักในรูปน้ำหนักสด 10 กิโลกรัม แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียด ด้วยเครื่องบดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมซ จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายก่อนการทดลอง ดังนี้ ความชื้น โปรตีน เถ้า เยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2000) และสารอออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลสารอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay ตามวิธีของ Fenglin (2004) ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และ บี ตามวิธีการ Nayek (2014) ปริมาณสารประกอบฟินอลิก ตามวิธีการ Folin-Ciocalteu phenol test (AOAC, 1990) ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ดัดแปลงตามวิธีของ Jia *et al*. (1999) และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ดัดแปลงจากวิธีการของ Rangkadilok *et,al,* (2007)

1.2 การวางแผนการทดลอง

นำสาหร่ายพวงองุ่นสดที่สะเด็ดน้ำแล้ว จากข้อ 1.1 มาชั่งน้ำหนักในรูปน้ำหนักสด อย่างละ 10 กิโลกรัม เพื่อเตรียมการแบ่งชุดการทดลอง ให้เป็น 4 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 นำสาหร่ายใส่ถุงพลาสติกหนา และวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2, 4 และ 6 วัน

ชุดการทดลองที่ 2 นำสาหร่ายใส่ถุงพลาสติกหนา และวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิแช่แข็ง (- 20 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน

ชุดการทดลองที่ 3 นำสาหร่ายไปอบแห้ง ด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน

ชุดการทดลองที่ 4 นำสาหร่ายใส่ขวดโหล ทำการดองเกลือ โดยใช้น้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 15 และ 25 ให้น้ำเกลือท่วมวัตถุดิบ แช่สาหร่ายในน้ำเกลือ สภาพภาชนะปิดเป็นเวลา 10 วัน

เมื่อครบเวลาตามกำหนด นำสาหร่ายแต่ละชุดการทดลองไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียด ด้วยเครื่องบด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมซ จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายก่อนการทดลอง ดังนี้ ความชื้น โปรตีน เถ้า เยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2000) และสารอออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลสารอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay ตามวิธีของ Fenglin (2004) ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และ บี ตามวิธีการ Nayek (2014) ปริมาณสารประกอบฟินอลิก ตามวิธีการ Folin-Ciocalteu phenol test (AOAC, 1990) ปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณสารประกอบฟลาโว

นอยด์ ดัดแปลงตามวิธีของ Jia *et al*. (1999) และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ดัดแปลงจากวิธีการของ Rangkadilok *et al*. (2007) เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ กับตัวอย่างสาหร่ายแบบสด ในข้อ 1.1

1.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance : ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของข้อมูลระหว่าง treatment ด้วยวิธี Duncan's New multiple range test: DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลอง ณ สาขาอุตสาหกรรมอาหารและผลิตภัณฑ์ประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง อ. สิเกา จ.ตรัง ในปีงบประมาณ 2561

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่นจากบ่อเพาะเลี้ยง

การหาอัตราส่วนน้ำหนักของสาหร่ายสดกับสาหร่ายแห้ง

เมื่อนำสาหร่ายพวงองุ่นที่เพาะเลี้ยงในบ่อเลี้ยง วิเคราะห์หาปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (ภาพผนวกที่ 1) หลังการอบแห้ง (ความชื้นที่ร้อยละ 9.09) โดยการชั่งน้ำหนักของสาหร่ายแห้งที่ได้ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง พบว่า น้ำหนักของสาหร่ายสด 1,000.00 กรัม ได้สาหร่ายแห้งเฉลี่ย 10.00 กรัม ทั้งนี้ลักษณะสาหร่ายสดจะมีรูปลักษณะเป็นพวงเม็ดกลม คล้ายพวงองุ่น ภายในมีสารเมือกเหนียวลื่น มีสีเขียวโปร่ง เปราะแตกง่าย ดังแสดงในภาพที่ 1 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำหนักแห้งจากสาหร่ายสดพวงองุ่น ต่างจากการทดลองของอุไรวรรณ และคณะ (2557) พบว่าน้ำหนักของสาหร่ายสด *Nostoc commune* 155.16 กรัม ได้สาหร่ายแห้งเฉลี่ย 30.16 กรัม ทั้งนี้สาหร่ายทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายที่มีศักยภาพและบริโภคได้ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งเพชรบุรี. (2558) รายงานว่า น้ำหนักสาหร่ายพวงองุ่นสด 100 กรัม ได้สาหร่ายแห้ง 4.68 กรัม

ภาพที่ 1 สาหร่ายทะเล *Caulerpa lentilifera* ทั้งในรูปแบบสดและแห้ง

องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่นก่อนการทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีในสาหร่าย *C. lentilifera* รูปแบบสาหร่ายแห้ง เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน และเยื่อใย ได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2 พบว่า สาหร่ายแห้งมีค่าความชื้นร้อยละ 9.09 ส่วนปริมาณโปรตีน เถ้า และเยื่อใย มีค่าเท่ากับร้อยละ 24.84, 6.43 และ 16.13 ตามลำดับ ใกล้เคียงกับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในสาหร่าย *C. racemosa* ของชาญยุทธ (2551) พบว่า คุณค่าทางโภชนาการในสาหร่ายแห้ง *C. racemosa* มีปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับร้อยละ 9.57, 17.18, 18.5, 5.26 และ 49.49 ตามลำดับ คุณค่าทางโภชนาการที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Sanford (1958) กล่าวว่าคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายพวงองุ่น มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นความชื้นและคาร์โบไฮเดรต ส่วนโปรตีน ไขมัน เถ้า และเส้นใยมีอยู่ในปริมาณน้อย ความชื้นในสาหร่ายพวงองุ่นมีค่าค่อนข้างสูง โดยมีค่าสูงสุดถึงร้อยละ 97.8

(น้ำหนักสด) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของสาหร่ายพวงองุ่น มีค่าสูงสุดอยู่ในช่วงร้อยละ 54.67-79.49% และส่วนน้อยเป็นพวกโปรตีน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุ โดยเฉพาะธาตุฟอสฟอรัสและโปแตสเซียมมีเป็นปริมาณสูง (Sanford., 1958) ใกล้เคียงกับ Dawes and Goddard (1978) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *C. racemosa* มีระดับเฉลี่ยของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน เถ้า และ โปรตีน เท่ากับ 42.5%, 5.3%, 14.9% และ 5.6% ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ ทั้งนี้ความผันแปรของปริมาณเถ้าสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของสาหร่ายและผลิตภัณฑ์ได้

โปรตีนในสาหร่ายพวงองุ่นแห้งที่วิเคราะห์ได้ มีค่าสูงกว่าโปรตีนในสาหร่ายน้ำจืด *N. commune* ซึ่งมีค่าร้อยละ 20.84 ที่ความชื้นร้อยละ 12.97 (อาภารัตน์, 2549) โดยค่าความชื้นในตัวอย่างที่สูงขึ้นมีผลต่อการลดลงของปริมาณโปรตีน ส่วนปริมาณเยื่อใยในสาหร่ายพวงองุ่นแห้งจากการทดลองครั้งนี้ ก็มีค่าสูงกว่าในสาหร่ายแห้ง *C. racemosa* (ร้อยละ 9.82) สาหร่ายแห้งจะให้องค์ประกอบทางเคมีสูงกว่าสาหร่ายสด ทั้งนี้โปรตีนและเยื่อใยในสาหร่าย จัดเป็นสารอาหารที่ส่งผลดีต่อสุขภาพ และมีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับสาหร่ายผมนาง (ร้อยละ 18.04) (อรพรรณ, 2553) อีกทั้งโปรตีนในสาหร่ายมักจะอุดมไปด้วยกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วน เหมาะในการนำไปใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพและลดน้ำหนัก

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* แห้ง

องค์ประกอบทางเคมี	สาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* แห้ง
ความชื้น (%)	9.09±0.02
โปรตีน (%)	24.84±0.65
เถ้า (%)	6.43±0.82
เยื่อใย (%)	16.13±0.26
คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g)	522.91±12.09
คลอโรฟิลล์ บี (mg/g)	488.89±8.68
ปริมาณฟินอลิก (mg GAE/g dry basis)	4.36±0.03
ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mgCAE/g)	28.13±1.46
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระDPPH IC_{50} (mg/ml)	0.145±0.03
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระABTS IC_{50} (mg/ml)	0.029±0.00
ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส IC_{50} (mg/ml)	0.059±0.00

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพ

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในสาหร่าย *C. lentilifera*

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่าย *C. lentilifera* ตรวจสอบโดยวิธี DPPH radical scavenging assay และ ABTS assay รายงานผลในหน่วยค่าความเข้มข้นที่ให้ผลต้านออกซิเดชันครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) หากมีค่าต่ำแสดงถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง (ตารางที่ 2) พบว่าสาหร่ายแห้งแสดง

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 0.145 และ 0.029 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงว่าสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี มีค่าต่ำ ซึ่งจากการทดลองครั้งพบว่าประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่าย *C. lentilifera* มีค่าสูงกว่าสาหร่าย *C. racemosa* (อุไรวรรณ และคณะ, 2558) แม้ว่าทั้งสองชนิดจะอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว อีกทั้งยังมีค่าการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจากการทดลองของรจนา และคณะ (2550) พบว่าสาหร่ายสไปรูลินามีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.552-2.045 mg/ml โดยจากหลายงานทดลอง พบว่าสาหร่ายส่วนใหญ่สามารถออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เช่น การทดลองของพันธุ์ทิพย์ และคณะฯ (2556) วิเคราะห์สารสกัดจากกลุ่มสาหร่ายสีเขียว ได้แก่ สาหร่าย *Neomeris vanbosseae* ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ถึงร้อยละ 49.62 นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายกลุ่มสีน้ำตาลออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีเช่นกัน โดยสารสกัดจากสาหร่าย *Lobophora variegata* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH คิดเป็นร้อยละ 73.13 ใกล้เคียงกับ BHT และกรดแอสคอร์บิค คิดเป็นร้อยละ 93.47 และ 95.13 ตามลำดับ ทั้งนี้ Zubia *et al*. (2007) พบว่าสาหร่าย *L. variegata* ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนั้นสาหร่าย *Turbinaria conoides* ก็พบว่าออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีคล้ายคลึงกับรายงานการศึกษาของ Boonchum *et al*., (2011) ที่พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจาก *T. conoides* ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.128 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน วสันต์และคณะ (2557) ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น (*C. lentilifera*) สาหร่ายทุ่น (*Sargassm oilgocystum*) และสาหร่ายเขากวาง (*Garcilaria chongii*) พบว่า สารสกัดหยาบด้วยน้ำร้อนและสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสาหร่ายทุ่นมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH (EC_{50}) เท่ากับ 118.24 และ 121.33 µg/ml ตามลำดับ ดีกว่าสาหร่ายพวงองุ่นและสาหร่ายเขากวาง

จากผลการทดลองจึงอาจกล่าวได้ว่า สาหร่ายมีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีสารกลุ่มหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ สารฟีนอล (Phenol) (Li *et al*., 2007; Zhang *et al*., 2007; Zubia *et al*. 2007; Kumar *et al*., 2008; Boonchum *et al*., 2011) มีรายงานการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่าสาหร่ายทะเลเป็นแหล่งที่สำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพในการพัฒนาใช้ในการรักษาสุขภาพของมนุษย์ อาหารเสริม เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมต่างๆ (Cornish and Garbary, 2010; Boonchum *et al*., 2011)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายพวงองุ่น *C. lentilifera*

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายพวงองุ่นที่วิเคราะห์ พบว่า สาหร่ายแห้งมีปริมาณคลอโรฟิลล์ A และคลอโรฟิลล์ B เท่ากับ 522.91 และ 488.89 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ทั้งนี้คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช (Gross, 1991) คลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อพืชจึงสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความสามารถในการสร้างอาหาร ตลอดจนการตอบสนองต่อปัจจัยด้านต่างๆ (วิรัตน์, 2539) โดยเฉพาะ สาหร่ายสีเขียวประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ชนิด เอ และ บี ซึ่งคลอโรฟิลล์ เอ จัดเป็น primary photosynthetic pigment ส่วนคลอโรฟิลล์ บีและคลอโรฟิลล์อื่นๆ จัดเป็น secondary Photosynthetic pigment พบปริมาณคลอโรฟิลล์เอในสาหร่ายประมาณ 0.1-2.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Stewart, 1974) ทั้งนี้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายชนิดต่างๆ จะ

เป็นปฏิภาคกลับกับความเข้มแสง ซึ่งแสงจะเป็นตัวกำหนดการสร้างคลอโรฟิลล์ ที่ความเข้มแสงต่ำปริมาณคลอฟิลล์จะสูง (Fogg, 1975)

ประโยชน์ที่ได้จากการรับประทานคลอโรฟิลล์ คือ ช่วยเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดงในร่างกาย ช่วยในผิวพรรณสดใส ลดปัญหากลิ่นตัว ช่วยให้ภูมิต้านทานร่างกายแข็งแรงขึ้น มีฤทธิ์ต้านสารพิษในการก่อมะเร็งต่างๆ เป็นโพรไบโอติกส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ช่วยให้ระบบขับถ่ายดีขึ้น ป้องกันหรือลดความรุนแรงของโรคติดเชื้อในทางเดินทางอาหาร ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมของร่างกาย ทำให้บาดแผลหายเร็ว เสริมสมรรถภาพการทำงานของตับ ควบคุมความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร ควบคุมการย่อยอาหาร ปรับระดับน้ำตาลในเลือดในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวาน และสำคัญคือมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Hayatsu *et al.,* (1993) ดังนั้นการที่สาหร่ายแห้งยังคงมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในระดับที่สูง ก็จะเป็นการดีต่อการนำสาหร่ายไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารส่งเสริมสุขภาพในอนาคต

ปริมาณฟินอลิกและฟลาโวนอยด์ในสาหร่ายพวงองุ่น *C. lentilifera*

ปริมาณฟลาโวนอยด์

โมเลกุลสารฟลาโวนอยด์ประกอบด้วย conjugate double bond หรือเป็นโมเลกุลไม่อิ่มตัว มีหมู่ฟังก์ชั่นไฮดรอกไซด์มากทำให้อิเลคตรอนเคลื่อนที่ผ่านพันธะคู่ เกิดเป็นประจุไฟจับกับอนุมูลอิสระ จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่มีข้อเสียคือสลายตัวง่ายในที่มีแสงและความร้อนสูงนานๆ ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสาหร่ายแห้ง (ตารางที่ 2) มีค่าเท่ากับ 28.13 มิลลิกรัมสมมูลเคทิชินต่อกรัม โดยการอบแห้งลดความชื้นในสาหร่ายจนเหลือร้อยละ 9.09 มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เพราะบางส่วนอาจถูกทำลายจากความร้อนขณะอบแห้ง ทั้งนี้ ฟลาโวนอยด์นั้นเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่ดี เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์สามารถให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่ อนุมูลอิสระทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระที่มีความคงตัวมากขึ้นจึงช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (จันทิมา, 2555) ทั้งนี้ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองครั้งนี้ มีปริมาณสูงกว่าสาหร่ายเตา (*Spirogyra*) สาหร่ายไก (*Cladophora*) และสาหร่ายเห็ดลาบ (*Nostoc comune*) ที่สกัดด้วยเอทานอลที่สกัดด้วยเอทานอลซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ รวมเท่ากับ 4.59, 4.99 และ 2.66 mg QE/g extract ตามลำดับ (ปริญญา และอมรรัตน์, 2556)

ปริมาณสารฟินอลิก

ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่นแห้ง ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (ตารางที่ 2) พบว่า มีค่าเท่ากับ 4.36 มก.สมมูลกรดแกลลิก/กรัม โดยปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่นแห้ง ใช้บ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ จากการศึกษาของ วสันต์และคณะ (2557) พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายที่ใช้เอทานอลในการสกัดให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าการใช้น้ำร้อนในการสกัด โดยสารสกัดเอทานอลจากสาหร่ายพวงองุ่นมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 75.37 mg GAE/g dry basis รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่ายทุ่นและสาหร่ายเขากวาง ซึ่งมี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 23.10 และ 5.00 mg GAE/g dry basis ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่สารสกัดจาก สาหร่ายที่ใช้น้ำร้อนในการสกัด พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายทุ่นมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมาก

ที่สุด มีค่าเท่ากับ 8.09 mg GAE/g dry basis ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นและสาหร่ายเขากวาง มีซึ่งปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดค่าเท่ากับ 0.22 และ 0.06 mg GAE/g dry basis ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาของวสันต์และคณะ (2557) ทำให้ทราบว่าการใช้เอทานอลมีความเหมาะสมในการสกัดมากที่สุด ขณะที่การทดลองครั้งนี้ ใช้การสกัดสาหร่ายพวงองุ่นด้วยเมทานอล ซึ่งให้ค่าปริมาณฟีนอลิกต่ำกว่า ความแตกต่างนี้ อาจเกิดขึ้นจากสมบัติทางกายภาพของตัวทำละลายที่มีความแตกต่างกันในด้านความมีขั้วของตัวทำละลายดังกล่าวข้างต้น ซึ่งความมีขั้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลายอาจส่งผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ออกมาจากตัวอย่าง (Dai and Mumper., 2010).ซึ่งจะส่งผลต่อการมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันด้วย

ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นแห้ง พบว่า สาหร่ายพวงองุ่นจะแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.059 มก./มล. เช่นเดียวกับการศึกษาของ ปริญญา และ อมรรัตน์ (2556) จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสาหร่ายเทา สาหร่ายไก และสาหร่ายเห็ดลาบจากจังหวัดอุบลราชธานีที่ไม่ผ่านการหมักด้วยแบคทีเรียแลคติก และสารสกัดสาหร่ายเทา สาหร่ายไกจากจังหวัดอุบลราชธานี และสาหร่ายไกจากจังหวัดน่านที่ผ่านการหมักด้วยแบคทีเรียแลคติก เปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสกับวิตามินซี พบว่าวิตามินซีจะแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 44.44 ในขณะที่สารสกัดสาหร่ายเทา สาหร่ายไก และสาหร่ายเห็ดลาบ ที่ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (เข้มข้น 0.3 หน่วยต่อมิลลิลิตร) ขณะที่ Matsukawa *et al*. (1997) ได้ศึกษาเอนไซม์จากสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสาหร่ายคลอเรลลา สามารถยับยั้งการสร้างเอนไซม์ได้แก่ oxidizing enzymes, lipoxygenase และ tyrosinase ได้ ส่วน Hye Sook Kang *et al*. (2004) ศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ที่แยกได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล *Ecklonia stolonifera* พบว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้

สาหร่ายพวงองุ่น วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 °C) เป็นเวลา 2, 4 และ 6 วัน

สาหร่ายพวงองุ่น วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิแช่แข็ง (- 20 °C) เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน

สาหร่ายพวงองุ่นอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน

สาหร่ายพวงองุ่นดองเกลือ น้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 15 และ 25 เป็นเวลา 10 วัน

ภาพที่ 2 การเตรียมสาหร่ายพวงองุ่นที่ทำการแปรรูป และเก็บรักษาในรูปแบบแตกต่างกัน

สาหร่ายพวงองุ่นที่ทำการแปรรูป และเก็บรักษาในรูปแบบแตกต่างกัน

สาหร่ายพวงองุ่น *C. lentilifera* เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น (4°C)

จากการนำสาหร่ายพวงองุ่นสด เก็บรักษาในอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 2, 4 และ 6 วัน จากนั้นนำมาทำแห้ง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 3) พบว่าปริมาณความชื้นในสาหร่ายหลังอบแห้งมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยในช่วงความชื้นระหว่าง 12.96 – 15.38 ปริมาณโปรตีนมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 22.28 – 26.70 โดยโปรตีนในตัวอย่างที่เก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน ให้ค่าสูงที่สุด ($P \leq 0.05$) ปริมาณเถ้ามีค่าไม่แตกต่างกัน อยู่ในช่วงร้อยละ 12.89 – 14.89 ส่วนเยื่อใยมีค่าลดลงเมื่อเก็บรักษาถึงวันที่ 6 (ร้อยละ 9.78) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บี (ตารางที่ 3) มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น โดยการเก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 2, 4, และ 6 วัน ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ มีค่าเท่ากับ 217.71, 242.49 และ 163.52 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์บี มีค่าเท่ากับ 253.39, 281.96 และ 196.22 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

ปริมาณฟินอลิกทั้งหมดของสาหร่าย ที่เก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 2, 4, และ 6 วัน (ตารางที่ 3) มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 2.78, 1.62 และ 0.63 มก.สมมูลกรดแกลลิก/กรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ ที่เก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 2, 4, และ 6 วัน มีค่าไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 3) โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 23.76 ถึง 29.60 มิลลิกรัมสมมูลเคทชินต่อกรัม

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายพวงองุ่นที่เก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 6 วัน ตรวจสอบโดยวิธี DPPH radical scavenging assay (ตารางที่ 3) พบว่า สาหร่ายแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยที่ระยะเวลาการเก็บในตู้เย็น 2, 4 และ 6 วัน มีค่าเท่ากับ 0.256, 0.575 และ 0.653 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจสอบโดยวิธี ABTS assay พบว่าสาหร่ายแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้การเก็บสาหร่ายในตู้เย็นเป็นเวลา 2, 4 และ 6 วัน ให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 0.029, 0.050 และ 0.056 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสาหร่ายพวงองุ่นที่เก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 2, 4 และ 6 วัน พบว่า สาหร่ายพวงองุ่นแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า IC_{50} (ปริมาณที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50) เท่ากับ 0.114, 0.041 และ 0.028 มก./มล. ตามลำดับ ทั้งนี้สารมาตรฐาน Kojic acid แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.007 ดังนั้น สารสกัดหยาบจากเมทานอลในสาหร่ายพวงองุ่น สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้เช่นเดียวกับสารมาตรฐานกรดโคจิก ที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของสาหร่ายพวงองุ่น 0.01-0.1 มก./มล สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัด กับ % Inhibition และสามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ได้ ผลการวิจัยสอดคล้องกับรายงานวิจัยของยุวดี และคณะ (2552) กล่าวว่าพืชอาณาจักร Plantae มีศักยภาพเหมาะสมที่สุดในการนำมาทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิว เนื่องจากส่วนสกัดสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

และต้านเอนไซม์ไทโรสิเนสที่ช่วยป้องกันการเกิดฝ้าและจุดด่างดำ นอกจากนี้ยังไม่เกิดการระคายเคืองต่อผิวอีกด้วย

แม้ว่าองค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่นที่เก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 2, 4 และ 6 วัน จะมีค่าแตกต่างกัน แต่ยังคงอยู่ในช่วงใกล้เคียง ดังนั้น จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการเก็บสาหร่ายพวงองุ่นสดในตู้เย็นเป็นเวลา 2 วัน สามารถคงคุณค่าสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีที่สุด รองลงมาคือการเก็บเป็นเวลา 4 วัน และ 6 วัน ตามลำดับ

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น (4°C)

องค์ประกอบทางเคมี	สาหร่ายเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 °C)		
	2 วัน	4 วัน	6 วัน
ความชื้น (%)	15.38±0.80	13.96±1.77	12.96±0.81
โปรตีน (%)	23.17±0.32 [b]	22.28±0.61 [b]	26.70±0.86 [a]
เถ้า (%)	12.89±1.35	14.02±1.21	14.89±2.74
เยื่อใย (%)	11.19±0.32 [a]	10.71±0.29 [a]	9.78±0.55 [b]
คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g)	217.71±10.41 [a]	242.49±12.99 [a]	163.52±14.83 [b]
คลอโรฟิลล์ บี (mg/g)	253.39±14.97 [a]	281.96±4.10 [a]	196.22±30.30 [b]
ปริมาณฟินอลิก (mg GAE/g dry basis)	2.78±0.05 [a]	1.62±0.05 [b]	0.63±0.05 [c]
ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mgCAE/g)	23.76±6.43 [a]	29.60±5.39 [a]	24.83±3.24 [a]
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระDPPH IC_{50} (mg/ml)	0.256±0.02 [a]	0.575±0.01 [b]	0.653±0.03 [c]
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระABTS IC_{50} (mg/ml)	0.029±0.00 [a]	0.050±0.00 [b]	0.056±0.00 [c]
ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส IC_{50} (mg/ml)	0.114±0.16	0.041±0.01	0.028±0.01

หมายเหตุ* : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวนอนโดยใช้ตัวอักษร ถ้าตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$)

สาหร่ายพวงองุ่น *C. lentilifera* เก็บที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-20°C)

จากการนำสาหร่ายพวงองุ่นสด แช่ไว้ในอุณหภูมิแช่แข็ง เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน จากนั้นนำมาทำแห้ง วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ตารางที่ 4) พบว่าปริมาณความชื้นมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเก็บไว้นานขึ้น โดยที่ระยะเก็บ 21 วัน มีค่าความชื้นสูงที่สุด เท่ากับร้อยละ 9.29 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนปริมาณโปรตีน เถ้า และเยื่อใยที่ระยะการเก็บ 7, 14 และ 21 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งปริมาณเถ้ามีค่าในช่วงระหว่างร้อยละ 8.06 – 10.26 ปริมาณโปรตีนมีค่าอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 22.03– 24.62 ส่วนเยื่อใยมีค่าในช่วงระหว่างร้อยละ 13.33 – 15.16

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บีในสาหร่ายพวงองุ่นสด แช่ไว้ในอุณหภูมิแช่แข็ง เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน (ตารางที่ 4) พบว่า มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) การแช่สาหร่ายในอุณหภูมิแช่แข็ง เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ มีค่าอยู่ในช่วง

ระหว่าง 143.67 - 154.24 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์บี มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 164.51 - 179.04 มิลลิกรัมต่อกรัม

จากการวิเคราะห์หาปริมาณฟินอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ของสาหร่ายที่เก็บในอุณหภูมิแช่แข็ง เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน (ตารางที่ 4) พบว่าทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \geq 0.05$) โดยปริมาณฟินอลิกทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 15.82 - 16.49 มก.สมมูลกรดแกลลิก/กรัม ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 29.50 ถึง 31.23 มิลลิกรัมสมมูลเคทิชินต่อกรัม

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายพวงองุ่นที่เก็บในอุณหภูมิแช่แข็ง เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน (ตารางที่ 4) ตรวจสอบโดยวิธี DPPH assay พบว่า สาหร่ายแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยที่ระยะเวลาการแช่แข็ง 7, 14 และ 21 วัน มีค่าเท่ากับ 0.354, 0.719 และ 0.740 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจสอบโดยวิธี ABTS assay พบว่าสาหร่ายแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้การเก็บสาหร่ายแช่แข็งเป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน ให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 0.020, 0.025 และ 0.034 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในสาหร่ายพวงองุ่นที่แช่แข็งเป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน พบว่า สาหร่ายพวงองุ่นแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า IC_{50} (ปริมาณที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50) เท่ากับ 0.049, 0.015 และ 0.049 มก./มล. ตามลำดับ โดยสารมาตรฐานกรดโคจิก แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.007 ดังนั้น สารสกัดหยาบของสาหร่ายพวงองุ่นสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้เช่นเดียวกับสารมาตรฐานกรดโคจิก ที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของสาหร่ายพวงองุ่น 0.01-0.1 มก./มล สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ เช่นเดียวกับรายงานวิจัยของยุวดี และคณะ (2552) กล่าวว่าพืชอาณาจักร Plantae มีศักยภาพเหมาะสมที่สุดในการนำมาทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิว

ดังนั้น จากผลการทดลอง สามารถสรุปได้ว่าการเก็บสาหร่ายพวงองุ่นสดในตู้แช่แข็ง เป็นเวลา 21 วัน สามารถคงคุณค่าของโปรตีน เถ้า เยื่อใย คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์ บี ฟินอลิก และฟลาโวนอยด์ ส่วนฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ มีค่าลดลงตามระยะที่เก็บรักษานานขึ้น

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* เก็บที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-20°C)

องค์ประกอบทางเคมี	สาหร่ายเก็บที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-20 °C)		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
ความชื้น (%)	7.05±0.24[c]	8.32±0.50[b]	9.29±0.50[a]
โปรตีน (%)	24.62±1.12	22.84±2.79	22.03±0.28
เถ้า (%)	9.26±0.81	8.80±3.45	8.06±3.16
เยื่อใย (%)	15.16±1.20	13.33±1.22	14.53±2.46
คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g)	146.33±10.67	143.67±11.01	154.24±12.09
คลอโรฟิลล์ บี (mg/g)	179.04±11.14	175.77±10.58	164.51±4.98
ปริมาณฟินอลิก (mg GAE/g dry basis)	15.82±0.08	16.49±0.22	16.35±0.08
ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg GAE/g)	31.23±11.70	30.36±0.80	29.50±3.30
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระDPPH IC_{50} (mg/ml)	0.354±0.08[a]	0.719±0.01[b]	0.740±0.01[b]
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระABTS IC_{50} (mg/ml)	0.020±0.01[a]	0.025±0.01[ab]	0.034±0.01[b]
ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส IC_{50} (mg/ml)	0.049±0.00[b]	0.015±0.02[a]	0.049±0.00[b]

หมายเหตุ* : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวนอนโดยใช้ตัวอักษร ถ้าตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$)

สาหร่ายพวงองุ่น *C. lentilifera* อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

จากการนำสาหร่ายพวงองุ่นสด อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ตารางที่ 5) พบว่า ปริมาณความชื้นมีค่าลดลง เมื่อระยะเวลาการอบแห้งเพิ่มนานขึ้น ระยะเวลาการอบแห้ง 3 วัน จะมีค่าความชื้นลดเหลือเพียงร้อยละ 6.19 ขณะที่การอบแห้งเพียง 1 วัน ยังคงเหลือความชื้นในตัวอย่างเท่ากับร้อยละ 22.25 ($P \leq 0.05$) ส่วนปริมาณโปรตีน เถ้า และเยื่อใย แปรผกผันกับระยะเวลาการอบ คือ เมื่อระยะเวลาการอบนานขึ้น ความชื้นลดลง โปรตีน เถ้า และเยื่อใยจะมีค่าเพิ่มขึ้น โดยปริมาณเถ้ามีค่าในช่วงระหว่างร้อยละ 11.37 – 12.75 ปริมาณโปรตีนมีค่าอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 13.80–23.01 ส่วนเยื่อใยมีค่าในช่วงระหว่างร้อยละ 10.40 – 14.29 แสดงว่าการอบแห้งมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการในสาหร่าย

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บีในสาหร่ายพวงองุ่นสด อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน (ตารางที่ 5) พบว่า การอบแห้งเป็นเวลา 2 วัน มีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และบีคงเหลือมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 429.83 และ 324.66 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนการอบแห้งเป็นเวลา 3 วัน จะมีผลต่อการลดลงของคลอโรฟิลล์เอและบีมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 66.49 และ 70.09 มิลลิกรัมต่อกรัม แสดงว่าการอบแห้งมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีในสาหร่ายพวงองุ่น และระยะเวลาอบแห้งอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ที่เหมาะสม คือการอบเป็นเวลา 2 วัน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณฟินอลิกทั้งหมดของสาหร่ายที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน (ตารางที่ 5) พบว่าระยะเวลาการอบมีผลต่อการลดลงของปริมาณฟินอลิกทั้งหมด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยปริมาณฟินอลิกทั้งหมดในสาหร่ายพวงองุ่นที่อบแห้งเพียง 1 วันจะมีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 10.10 มก.สมมูลกรดแกลลิก/กรัม และสาหร่ายที่อบแห้งเป็นเวลา 3 วัน จะเหลือปริมาณฟินอลิกเพียง 7.78 มก.สมมูลกรดแกลลิก/กรัม ขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ มีค่าไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 57.52 ถึง 69.40 มิลลิกรัมสมมูลเคทิชินต่อกรัม แสดงว่าความร้อนและระยะเวลาการอบแห้งมีผลต่อปริมาณฟินอลิกทั้งหมด

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายพวงองุ่นที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน (ตารางที่ 5) ตรวจสอบโดยวิธี DPPH assay พบว่า สาหร่ายแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง เมื่อใช้ระยะเวลาการอบแห้งที่นานขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ระยะเวลาการอบแห้ง 1, 2 และ 3 วัน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.157, 0.387 และ 0.438 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจสอบโดยวิธี ABTS assay พบว่าสาหร่ายแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้สาหร่ายพวงองุ่นที่อบแห้งอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน ให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 0.018, 0.023 และ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กรัม แสดงให้เห็นว่า ระยะเวลา และอุณหภูมิในการอบแห้งสาหร่ายย่อมมีผลต่อการแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้ การใช้เวลาน้อยที่สุดในการอบแห้ง จะทำให้การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในสาหร่ายพวงองุ่นที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน พบว่า สาหร่ายพวงองุ่นแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.054, 0.043 และ 0.070 มก./มล. ตามลำดับ โดยสารมาตรฐานกรดโคจิก แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.007 ดังนั้น สารสกัดหยาบของจากสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้ง สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้เช่นเดียวกับสารมาตรฐานกรดโคจิก โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้ง 0.01-0.1 มก./มล สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้

จากผลการทดลอง สามารถบ่งชี้ได้ว่า ความร้อนที่ใช้อบแห้งสาหร่ายที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่น โดยพบว่าการอบแห้งเป็นเวลานาน จะส่งผลให้มีการลดลงของสารกลุ่มดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 °C

องค์ประกอบทางเคมี	สาหร่ายอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 65 °C		
	1 วัน	2 วัน	3 วัน
ความชื้น (%)	22.25±0.90[a]	9.50±0.44[b]	6.12±0.12[c]
โปรตีน (%)	13.80±2.11[b]	21.11±0.05[a]	23.01±2.15[a]
เถ้า (%)	11.37±0.38[b]	11.94±0.01[b]	12.75±2.80[a]
เยื่อใย (%)	10.40±1.04[b]	12.81±1.39[a]	14.29±0.47[a]
คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g)	145.71±19.27[b]	129.83±41.65[a]	66.49±2.36[c]
คลอโรฟิลล์ บี (mg/g)	116.15±13.13[b]	124.66±3.72[a]	70.09±4.46[c]
ปริมาณฟินอลิก (mg GAE/g dry basis)	10.10±0.11[a]	9.71±0.04[b]	7.78±0.08[c]
ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mgCAE/g)	69.40±0.73[a]	57.52±6.21[a]	64.15±11.38[a]
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระDPPH IC_{50} (mg/ml)	0.157±0.01[a]	0.387±0.01[b]	0.438±0.00[c]
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระABTS IC_{50} (mg/ml)	0.018±0.00[a]	0.023±0.00[b]	0.025±0.00[b]
ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส IC_{50} (mg/ml)	0.054±0.01[a]	0.043±0.00[a]	0.070±0.00[b]

หมายเหตุ* : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวนอนโดยใช้ตัวอักษร ถ้าตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$)

สาหร่ายพวงองุ่น *C. lentilifera* ดองเกลือ เข้มข้นร้อยละ 15 และ 25

จากการนำสาหร่ายพวงองุ่นสดมาดองเกลือ 2 ระดับได้แก่ เข้มข้นร้อยละ 15 และ 25 จากนั้นนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ตารางที่ 6) พบว่าปริมาณความชื้นมีค่าลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของปริมาณเกลือ โดยที่ร้อยละ 25 มีค่าความชื้นเท่ากับร้อยละ 8.06 ($P \leq 0.05$) ขณะที่ปริมาณเถ้ากลับเป็นไปในทางตรงข้าม คือเมื่อเกลือเข้มข้นมากขึ้น ปริมาณเถ้าในตัวอย่างจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งค่าปริมาณเถ้าในสาหร่ายดองเกลือความเข้มข้น ร้อยละ 15 และ 25 มีค่าเท่ากับร้อยละ 15.58 และ 24.80 ส่วนปริมาณโปรตีน เยื่อใย คลอโรฟิลล์เอ และ คลอโรฟิลล์บี มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้โปรตีนมีค่าอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 28.29 – 28.91 ปริมาณเยื่อใยมีค่าในช่วงระหว่างร้อยละ 9.46 – 10.27 แสดงว่าการดองเกลือ ไม่มีผลต่อการลดลงหรือเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการในสาหร่าย

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บี ในสาหร่ายพวงองุ่นดองเกลือ (ตารางที่ 6) พบว่า มีค่าไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 87.19 – 89.34 และ 117.25 – 123.81 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ แสดงว่าการดองเกลือไม่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีในสาหร่ายพวงองุ่น

จากการวิเคราะห์หาปริมาณฟินอลิกทั้งหมดของสาหร่ายดองเกลือ 2 ระดับได้แก่ เข้มข้นร้อยละ 15 และ 25 (ตารางที่ 6) พบว่า การดองเกลือที่ใช้ความเข้มข้นสูงกว่า จะส่งผลให้สามารถรักษาปริมาณฟินอลิกทั้งหมดไว้ได้สูงกว่า โดยมีค่าเท่ากับ 2.41 มก.สมมูลกรดแกลลิก/กรัม เช่นเดียวกับปริมาณฟลาโวนอยด์ โดยที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 25 ส่งผลให้มีปริมาณฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้นจนได้ค่าเท่ากับ 47.35 มิลลิกรัมสมมูลเคทิชินต่อกรัม แสดงว่าการดองเกลือซึ่งมีส่วนช่วยในการถนอมอาหารสามารถเพิ่มปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ได้อีกด้วย

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายพวงองุ่นที่ดองเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 15 และ 25 (ตารางที่ 6) ตรวจสอบโดยวิธี DPPH assay พบว่า สาหร่ายแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง เมื่อร้อยละของปริมาณเกลือมีค่าต่ำกว่า แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.547, 0.388 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจสอบโดยวิธี ABTS assay พบว่าสาหร่ายแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงตามปริมาณความเข้มข้นของน้ำเกลือ ทั้งนี้สาหร่ายพวงองุ่นดองเกลือ ให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.047, และ 0.068 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กรัม แสดงให้เห็นว่าการดองเกลือ ย่อมมีผลต่อการแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้ การใช้ความเข้มข้นมากขึ้น จะส่งผลต่อปริมาณสารสกัดสาหร่าย ให้มีค่าการต้านอนุมูลอิสสระเพิ่มสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในสาหร่ายพวงองุ่นดองเกลือที่ร้อยละ 15 และ 25 พบว่า สาหร่ายพวงองุ่นแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.060 และ 0.043 มก./มล. ตามลำดับ ขณะที่สารมาตรฐานกรดโคจิก แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.007 ดังนั้น สารสกัดหยาบของจากสาหร่ายพวงองุ่นดองเกลือ จึงสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้เช่นเดียวกับสารมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid)

จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า การดองเกลือมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิด โดยพบว่าการดองเกลือที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 ให้ค่าต่างๆ ได้ดีกว่าที่ร้อยละ 15 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* ดองเกลือร้อยละ 15, 25

องค์ประกอบทางเคมี	สาหร่ายดองเกลือ	
	15 %	25 %
ความชื้น (%)	9.02±0.24[a]	8.06±0.24[b]
โปรตีน (%)	28.91±1.46	28.29±0.01
เถ้า (%)	15.58±0.33[b]	24.80±2.24[a]
เยื่อใย (%)	10.27±0.11	9.46±0.97
คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g)	87.19±7.00	89.34±10.31
คลอโรฟิลล์ บี (mg/g)	117.25±18.37	123.81±16.20
ปริมาณฟินอลิก (mg GAE/g dry basis)	2.26±0.05[b]	2.41±0.08[a]
ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mgCAE/g)	13.68±2.77[b]	47.35±5.36[a]
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระDPPH, IC_{50} (mg/ml)	0.547±0.00[b]	0.378±0.06[a]
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระABTS, IC_{50} (mg/ml)	0.068±0.00[b]	0.047±0.00[a]
ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, IC_{50} (mg/ml)	0.060±0.00[b]	0.043±0.00[a]

หมายเหตุ* : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวนอนโดยใช้ตัวอักษร ถ้าตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$)

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลอง เรื่อง ผลของการแปรรูป ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* สรุปได้ว่า

1. น้ำหนักของสาหร่ายสด 1,000.00 กรัม ได้สาหร่ายแห้งเฉลี่ย 10.00 กรัม ทำให้ทราบว่าสาหร่ายแห้ง 1 กรัม จะเท่ากับสาหร่ายสด 100 กรัม การอบแห้งจึงมีผลทำให้น้ำหนักลดลง 100 เท่า

2. องค์ประกอบทางเคมีในสาหร่าย *(C. lentillifera)* แต่ละสภาวะได้แก่ สาหร่ายแห้ง สาหร่ายเก็บในอุณหภูมิตู้เย็น สาหร่ายแช่แข็ง สาหร่ายดองเกลือ มีค่าความชื้นแตกต่างกัน จึงส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันด้วย โดยปริมาณความชื้นมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 6.12 – 22.25 ปริมาณโปรตีนมีค่าระหว่างร้อยละ 13.80- 28.91 ปริมาณเถ้ามีค่าระหว่างร้อยละ 6.43 -24.80 และปริมาณเยื่อใยมีค่าระหว่างร้อยละ 9.46- 16.13

3. ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี ในสาหร่าย *(C. lentillifera)* แต่ละสภาวะได้แก่ สาหร่ายแห้ง สาหร่ายเก็บในอุณหภูมิตู้เย็น สาหร่ายแช่แข็ง สาหร่ายดองเกลือ มีค่าแตกต่างกันโดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 66.49 – 522.91 และ 70.09 – 488.89 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

7. ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ตรวจสอบโดยวิธี DPPH assay และ ABTS assay ในสาหร่าย *(C. lentillifera)* แต่ละสภาวะได้แก่ สาหร่ายแห้ง สาหร่ายเก็บในอุณหภูมิตู้เย็น สาหร่ายแช่แข็ง สาหร่ายดองเกลือ มีค่าแตกต่างกัน โดยมีค่า IC_{50} อยู่ในช่วงระหว่าง 0.145 – 0.740 และ 0.018 – 0.068 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

8. ปริมาณฟินอลิกและฟลาโวนอยด์ในสาหร่าย *(C. lentillifera)* แต่ละสภาวะได้แก่ สาหร่ายแห้ง สาหร่ายเก็บในอุณหภูมิตู้เย็น สาหร่ายแช่แข็ง สาหร่ายดองเกลือ มีค่าแตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 063 – 16.35 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิคต่อกรัม ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์ มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 7.78 – 99.50 มิลลิกรัมสมมูลเคทิชินต่อกรัม

9. ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในสาหร่ายพวงองุ่น *(C. lentillifera)* แต่ละสภาวะได้แก่ สาหร่ายแห้ง สาหร่ายเก็บในอุณหภูมิตู้เย็น สาหร่ายแช่แข็ง สาหร่ายดองเกลือ มีค่าแตกต่างกัน โดยสาหร่ายพวงองุ่นสามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการนำสาหร่ายแห้ง สาหร่ายเก็บในอุณหภูมิตู้เย็น สาหร่ายแช่แข็ง สาหร่ายดองเกลือ ไปใช้ในผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดต่างๆ และคุณค่าทางโภชนาการที่คงเหลืออยู่หลังการแปรรูป

2. การแปรรูปสาหร่ายโดยความร้อน และการสัมผัสโดนแสงเป็นเวลายาวนาน ส่งผลให้สารฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลอื่นๆ สลายตัว มีผลทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงได้ จึงควรหาวิธีการลดปัจจัยเหล่านี้เพื่อให้ประสิทธิภาพของสารสำคัญไม่เปลี่ยนแปลง

บรรณานุกรม

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2519. พรรณสาหร่ายบริเวณป่าชายเลน, ใน รายงานการประชุมปฏิบัติการระบบนิเวศวิทยาทางทรัพยากรธรรมชาติชายเลนครั้งที่ 1 . สภาวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. น. 202-215.

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. สาหร่าย. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, บางเขน, กรุงเทพฯ. หน้า 129– 130.

จันทิมา นามโชติ. 2555. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบกิ่งมะขวิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์, ปทุมธานี

ชาญยุทธ สุดทองคง. 2551. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่น *(Caulerpa racemosa* var corynephora) เชิงพาณิชย์ในจังหวัดตรัง. *ใน* รายงานการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มทร.ศรีวิชัย, ตรัง.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2552. ศักยภาพของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอาง. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่:เชียงใหม่.

นัยนา เพชรแท้. 2529. อนุกรมวิธานของสาหร่ายทะเลที่เกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

นิสราภรณ์ ภักดีพันธ์. 2544. การเจริญเติบโตและคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายพวงองุ่น, *Caulerpa lentillifera* J. Agardh. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

ปริญญา มูลสิน และ อมรรัตน์ วงษ์กลม. 2556. การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากสาหร่ายเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. รายงานผลการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี. 101 หน้า.

ประสาร สวัสดิ์ชิตัง. 2547. การสำรวจความความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำผลไม้. ขอนแก่น: ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 92 น.

พ้วน เพ่งเช้ง. 2535. ศึกษาองค์ประกอบของชนิดของสาหร่ายทะเลที่พบในปัจจุบันที่พบในอดีตที่อ่าวเพ จ. ระยอง.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมปอง หิรัญวัฒน์. 2509. ชนิดและคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายทะเลที่พบในบริเวณอ่าวศรีราชา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุภาจรี นิยะมานนท์. 2542. การศึกษาสัณฐานวิทยากายวิภาคศาสตร์และการใช้ประโยชน์ของสาหร่ายทะเลในภาคใต้ของประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, ม.ทักษิณ. หน้า 6 – 15, 89 - 91.

ปิยวรรณ ศรีวิลาศ และกานดา ใจดี. 2548. สารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในดินตะกอนบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงถึงศรีราชา. วารสารการประมง, 58(1), 66-70.

พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์ พลชา จิตรมิตรสัมพันธ์ ชัชรี แก้วสุรลิขิต และอรรถวุฒิ กันทะวงศ์. 2556. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วสันต์ สุมินทิลี่ ปนิดา บรรจงสินศิริ จันทนา ไพรบูรณ์ และวรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์. 2557. กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น (*C. lintilliferra*) สาหร่ายทุ่น (*Sargassm oilgocystum*) และสาหร่ายเขากวาง (*Garcilaria chongii*). วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่ 9 ฉบับที่ 1 มิถุนายน 2556-พฤษภาคม 2557. กรุงเทพฯ.

วิรัตน์ ภูวิวัฒน์. 2539. การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอฟิลล์จากใบพืช. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า, กรุงเทพฯ. 14(3) น. 3-7.

อรพรรณ เสลามาศสกุล. 2553. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากสาหร่ายด้วยเอนไซม์เพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารและสารเสริมสุขภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี, คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, ม. เทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. กรุงเทพฯ.

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2546. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืด. ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 47 น.

อุไรวรรณ วัฒนกุล วัฒนา วัฒนกุล และ พีรพงษ์ พึ่งแย้ม. 2558. ผลิตภัณฑ์และคุณค่าทางโภชนาการที่ได้จากการแปรรูปสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ (*Caulerpa racemosa*). รายงานการวิจัยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, วิทยาเขตตรัง. ตรัง.

Ames, B.M., Shigena, M.K. and Hagen, T.M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90: 7915-7922.

AOAC (Association of official Analytical I Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical I Chemists, Arlington. VA. 1298 P.

AOAC (Association of official Analytical I Chemists). 2000. Official Methods of Analysis. Associationof official Analytical I Chemists, Washington D.C.

Boonchum, W., Peerapornpisal, Y., Vacharapiyasophon, P., Pekkoh, J., Pumas, C., Jamjai, U., Amornlerdpison, D., Noiraksar, T. and Kanjanapothi, D. 2011. Antioxidant activity of some seaweed from the gulf of Thailand. Int. J. Agric. Biol., 13: 95–99.

Burtin, P. 2003. Nutritional value of seaweeds. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Chemistry. Vol. 2, No. 4, pp. 498-503.

Cornish, M.L. and Garbary, D.J. 2010. Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. Algae 25(4): 000-000 DOI: 10.4490/algae.2010.25.4.000.

Dawson, E. Y. 1966. Marine Botany : An Introduction. Holt, Rinehart and Winston, New York. 371 p.

Dawes, C. J. and R. H. Goddard. 1978. Chemical composition of the wound plug and entire plants for species of the coenocytic green algae, *Caulerpa*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 35 : 259-263.

Dai, J. and Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 15: 7313-7352

Fenglin, H., Ruili, L., Bao, H. and Liang, M. 2004**.** Free radical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants. Fitoterapia 75: 14-23.

Fleurence, J. 1999. Seaweed proteins:biochemical, nutritional aspects and potential uses.Trends in Food Science and Technology 10:25-28.

Fogg, G.E. 1966. Algae Culture and and Phytoplankton Ecology. London : The University of Wisconsin Press.

Gross, J. 1991. Pigments in Vegetables : Chlorophylls and Carotenoid. Van Nostrand Reinhold. Newyork.

Hasni, S., P. B. Zahid and B. Bawani. 1986. Taxonmy and some biochemical values of *Caulerpa taxifolia* and *Hypnea musciformis* collected from Karachi coast. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research 29 (4) : 284-287.

Hayatsu, H., Negishi, T. & Arimoto, S. 1993. Porphyrins as potential inhibitors against exposure to carcinogens and mutagens. Journal of Mutation Research. 29: 79-85.

Jia, Z., Tang, M. and Wu, J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scarvenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64 : 555-559.

Kaliaperumal, N., S. Kalimuthu. and J. R. Ramalingam. 1995. Economically important seaweeds. special publication No. 62. Central Marine Fisheries Research Institute, Indian Council of Agricultural Research, India. pp. 28 - 29.

Kumar Chandini, S., Ganesan, P. and Bhaskar, N. 2008. *In vitro* antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. Food Chemistry. 107: 707-713.

Lahaye, M. and C. Rochas. 1991. Chemical structure and physico-chemical properties of agar.**Hydrobiologia** 221: 137-148.

Lahaye, M. and D. Jegou. 1993. Chemical and physical- chemical characteristics of dietary fibers from *Ulva lactuca* (L.) Thuret and *Enteromorpha compressa* (L.) Grev. J. Applied Phycol. 5(2) : 195-200.

Leong, L. P. and Shui, G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chemistry, 76: 69-75.

Lewmanomont, K. and H. Ogawa. 1995. Common seaweeds and seagrasses of Thailand. Integrated Promotion Technology Co. Ltd., Thailand. 163p.

Li, K., Li, X.-M., Ji, N.-Y. and Wang, B.-G. 2007. Natural bromophenols from the marine red alga *Polysiphonia urceolata* (Rhodomelaceae):structural elucidation and DPPH radical-scavenging activity. Bioorg. Med. Chem**.** 15: 6627–6631.

Lu, Y., Foo, L.Y., Molan, A.L., Wood ®eld, D.R., McNabb, W.C. 2000. The phenols and prodelphinidins of white clover towers. Phytochemistry 54, 539±548.

MacArtain, P., PhD, Gill, C.I.R., Brooks, M., Campbell, R. and Rowland, I.R., PhD,. 2007. Nutritional Value of Edible Seaweeds. Nutrition Reviews, Vol, 65. No.12, pp. 535-543.

Matsukawa, R., Dubinsky, Z., Kishimoto, E., Masaki, K., Musuda, Y., Takeuchi, T.,Chihara, M., Yamamoto, Y., Niki, E., and Karube, I. 1997. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. J. Appl. Phycol.,9: 29-35.

Morelli, A., and Chiellini, F. 2010. Ulvan as a new type of biomaterial from renewable resources: Functionalization and hydrogel preparation. Macromolecular Chemistry and Physics 211: 821–832.

Nayek Sumanta, Choudhury Imranul Haque, Jaishee Nishika and Roy Suprakash. 2014. Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. Research Journal of Chemical Sciences. Vol. 4(9), 63-69.

Niki, E. 1987. Antioxidants in relation tolipid peroxidation. Chem. and Phys. of Lipid. 44: 227-253.

Rangkadilok N, Sitthimonchai S, Worasuttayangkurn L, et al. Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract. Food ChemToxicol 2007;45:328-336.

Rattana-arporn and Chirapart. 2006. Nutritional evaluation tropical green seaweeds *C. lentillifera* and Ulva reticulate. Kasertsart J. (Nat. Sci.) 40 (Suppl): 75-83.

Ray, B. and Lahaye, M. 1995. Cell-wall polysaccharides from the marine green algae *Ulva rigida* (Ulvales, Chlorophyta) – 1.Extaction and chemical composition. Carbohydrate Research 274: 251–261.

Rice-Evans C.A., Miler N.J., Paganga G. (1996):Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology & Medicine, 20: 933–956.

Rice-Evans , C., 1999. Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as anti-oxidations in vitro for chemoprevention in humans. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 220, 262-266.

Sanford, F. B. 1958. Seaweed and their uses. FAO. World Fisheries Abstracts 10 (6) : 39 – 40.

Smith, A. J., B. L. Robertson and D. R. du Preez. 1997. Influence of ammonium – N pulse concentrations and frequency, tank condition and nitrogen starvation on growth rate and biochemical composition of *Gracilaria gracilis.* J. Applied Phycol. 8(6) : 473-481.

Stewart, W. D. P. 1974. Algae Physiology and Biochemistry. Blackwell Scientific Publication, Oxford. 989 p.

Suzuki, M., Y. EGAWA, and T. OKUDA . 1965. Studies on Streptomyces antibiotic, cycloheximide. XV. Hydroxycarbonylation of optically active 2,4-dimethylcyclohexanones with glutarimide-β-acetaldehyde. (Synthesis of isocycloheximide and its isomers.) Chem. Pharm. Bull. 11, 582-588 .

Toma, T. 1987. *Caulerpa lentillifera*, pp 45-55. In S. Shokito and M. Yamaguchi (eds.). Aquaculture in tropical area Midori Shobo, Japan.

Trono, G. C., Jr. and E. T. Ganzon-Fortes. 1988. Philippine Seaweed. National Bookstore Inc. Metro Manila, Philippines. 327 p.

Tuo, J. J., Guo, G. Q., Shen, W. Z. and Huang, R.M. 2007. The immune modulatory effect of the *Caulerpa racemosa* var peltata polysaccharides on T lymphocyte subgroup and Natural killer cell in mice. Journal of Jinan University (Medicine Edition). 28: 129-131.

Van Acker, B. A., Hulsewe, K. W., Wagenmakers, A. J., Von Meyenfeldt, M. F. & Soeters, P. B. (2000) Response of glutamine metabolism to glutaminesupplemented parenteral nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 72: 790–795.

Weber-van Bosse, A. 1898. Monographie des Caulerpales. Ann. Jard. Buitenzorg. 15 : 243-401.

Yang, C. Y., Hua, Q. H., Shimizu, K., 2000. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/ dark-heterotrophic conditions. Biochem. Eng. J. 6, 87-102.

Zhang, W-W, Duan, X.-J., Huang, H.-L., Zhang, Y. and Wang, B.-G. 2007. Evaluation of 28 marine algae from the Qingdao coast for antioxidantive capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions and subfractions derived from *Symphyocladia latiuscula* (Rhodomelaceae). J. Appl. Phycol. 19:97-108

Zhang, H. J., Mao, W. J., Fang, F., Li, H. Y., Sun, H. H., Ghen, Y., and Qi, X. H. 2008 .Chemical characteristics and anticoagulant activities of a sulfated polysaccharide and its fragments from Monostroma latissimum. Carbohydrate Polymers 71: 428–434.

Zubia, M., Robledo, D. and Freile-Pelegrin, Y. 2007. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. J. Appl. Phycol. 19: 449-458.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาพการวิเคราะห์ค่าต่างๆ

เก็บสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*)

สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* สด

เก็บสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*)

ล้างทำความสะอาดสาหร่าย

อบสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* แห้ง

ภาพผนวกที่ 1 การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย ***Caulerpa lentillifera***

สาหร่ายพวงองุ่น วางที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 °C)

สาหร่ายพวงองุ่น วางที่อุณหภูมิตู้เย็น (-20 °C)

สาหร่ายพวงองุ่นอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 65 °C

สาหร่ายพวงองุ่นอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 65 °C

สาหร่ายพวงองุ่นดองเกลือ ร้อยละ 15 , 25

สาหร่ายพวงองุ่นดองเกลือ ร้อยละ 15 , 25

ภาพผนวกที่ 2 การเตรียมสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) เพื่อศึกษาผลของการแปรรูป แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

ภาพผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

ภาพผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันในสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

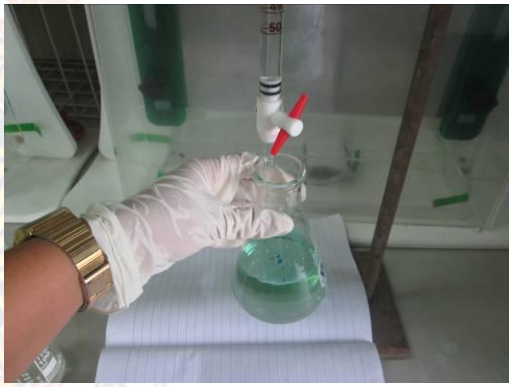
การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน



การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ภาพผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

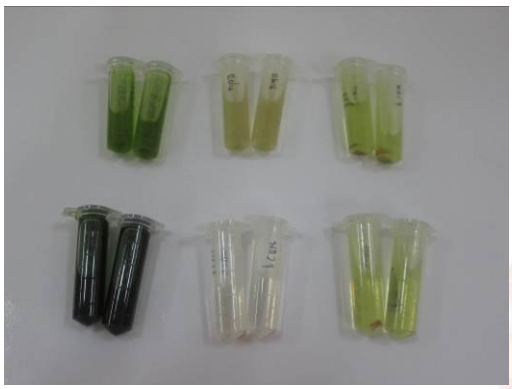
การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

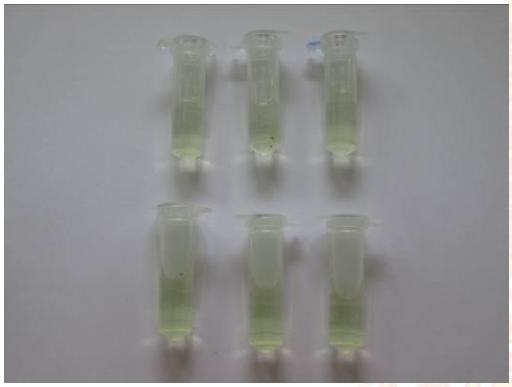
การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ภาพผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าและปริมาณความชื้นในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

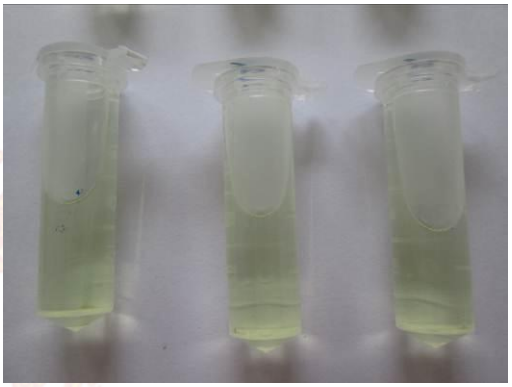


การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

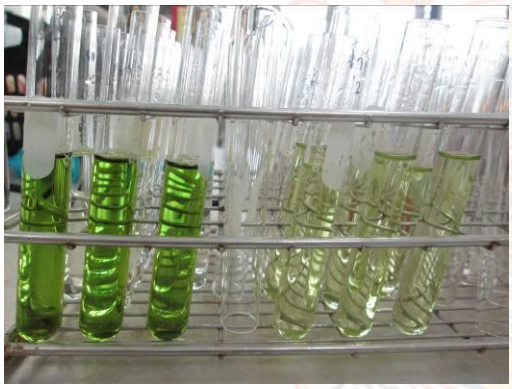
การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์



การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์



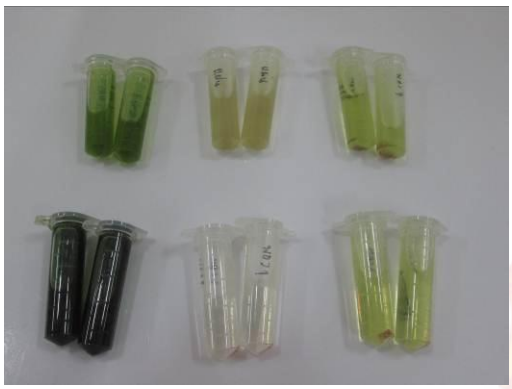
การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์



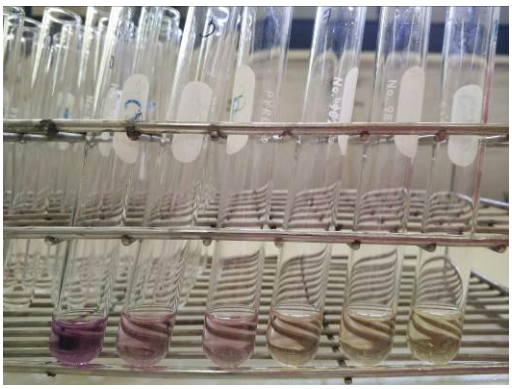
การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

ภาพผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

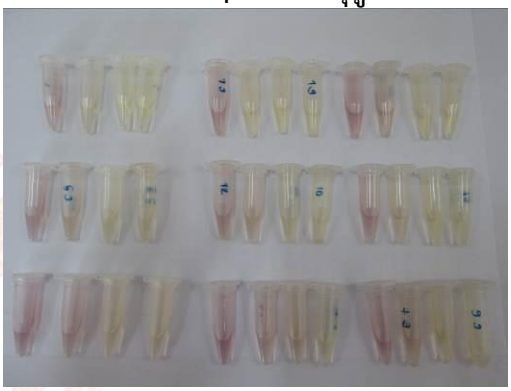


การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



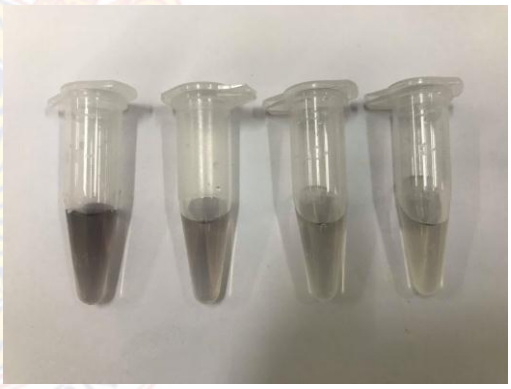
การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

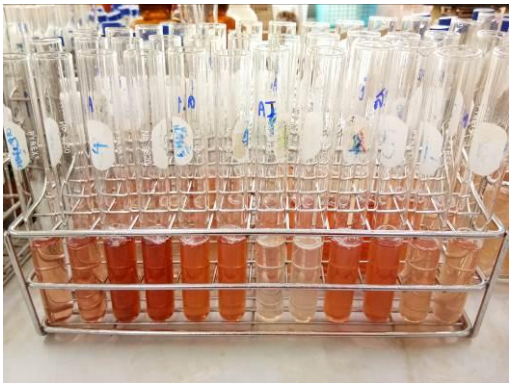
การวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส



การวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ภาพผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

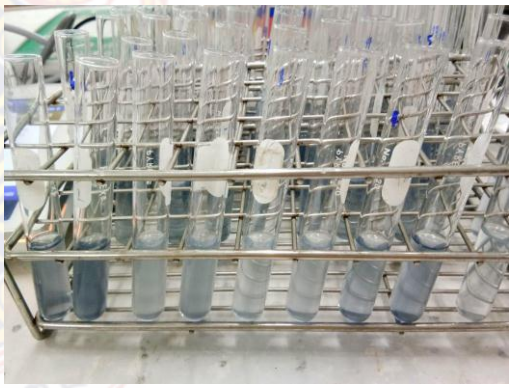


การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณฟินอลิก

การวิเคราะห์ปริมาณฟินอลิก



การวิเคราะห์ปริมาณฟินอลิก

ภาพผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ปริมาณฟินอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ในตัวอย่างสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ค่าต่างๆ

1. กำไรวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC , 1990)

อุปกรณ์เครื่องมือ

1. หลอดย่อยโปรตีน (kjeldalh flask)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. ชุดย่อยโปรตีน
4. ชุดกลั่นโปรตีน
5. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
6. ปิเปต ขนาด 25 มิลลิลิตร
7. บิวเรต (burret) ขนาด 25 มิลลิลิตร
8. กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid ,H_2SO_4) เข้มข้น 98%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 (Sodium hydroxide ,NaOH)
   - เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
3. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มัล
   - เตรียมโดยใช้ปิเปตดูดกรดเกลือ 8.28 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
4. สารเร่งรวม (catalyst mixture)
   - เตรียมโดยชั่ง คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 7 กรัม และ โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน
5. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 (boric acid , H_3BO_3)
   - เตรียมโดยต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อน ใส่กรดบอริกลงไป 4 กรัม คนจนละลายหมด เมื่อสารละลายเย็นลง แล้วจึงเติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร mixed indicator (methyl red 0.1 กรัม ผสมกับ bromocresol green 0.1 กรัม ละลายใน ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
6. อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator)
   - เตรียมโดย ละลาย methyl red 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลาย methylene blue 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลาย methyl red 2 ส่วน ผสมกับสารละลาย methylene blue 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

วิธีการวิเคราะห์

1. ขั้นตอนการย่อย (digestion)
   1.1 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.5 - 1 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน
   1.2 เติมสารเร่งปฏิกิริยา 3 กรัม และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

1.3 นำ insert rack ที่มีหลอดย่อยตัวอย่างวางครบทุกช่องวางประกอบเข้ากับเครื่องย่อย และเปิดเครื่องกำจัดไอกรด ตั้งอุณหภูมิในการย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 350 เซลเซียส ทำการย่อยตัวอย่างจนได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 90 นาที ทิ้งให้เย็น

2. ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

2.1 เมื่อสารละลายเย็นลง ต่อหลอดย่อยโปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดปากแคบวัดปริมาตร ซึ่งบรรจุสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และหยด mixed indicator 2 – 3 หยด โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มอยู่ในสารละลาย

2.2 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ลงไปในหลอดย่อยจนได้สารละลายสีดำ

2.3 ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมา ประมาณ 7 นาที

3. ขั้นตอนการไตเตรท (titrion)

3.1 นำสารละลายที่กลั่นได้ ไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอมชมพู (ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

3.2 บันทึกปริมาตรที่ได้ เพื่อใช้คำนวณต่อไป

3.3 ทำ blank ตามวิธีการในข้อ 2 - 10 โดยไม่ใส่ตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{(A-B) \times N\ HCL \times 1.4 \times 100}{W \times 100}$$

ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = ปริมาณไนโตรเจน x F

เมื่อ A = ปริมาณสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

Wt = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

F = 6.25

ตารางผนวก แฟกเตอร์ที่ใช้คำนวณปริมาณโปรตีนสำหรับอาหารชนิดต่างๆ

อาหาร	แฟกเตอร์
ธัญพืช	
แป้งสาลีจากข้าวทั้งเมล็ด	5.83
มักกะโรและสปาเก็ตตี้	5.70
ข้าวเจ้าและผลิตภัณฑ์	5.95
ข้าวไรน์และผลิตภัณฑ์	5.83
ข้าวบาเลย์และผลิตภัณฑ์	5.83
นัทและเมล็ดพืช	
ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์	5.71
แอลมอนด์	5.18
บราซิลนัท	5.46
มะพร้าว	5.30
เมล็ดงา ทานตะวัน คำฝอย และอื่นๆ	5.30
นมและผลิตภัณฑ์	6.38
อาหารอื่นๆ	6.25

2. **การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น** (A.O.A.C., 1990)

. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)
2) ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาปริมาณความชื้น (aluminium can/moisture can)
3) โถดูดความชื้น (desiccator)
4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1) อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา ในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 -105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง วางให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบซ้ำเป็นเวลา 30 นาที จนทราบน้ำหนักที่แน่นอน

2) ชั่งน้ำหนักให้ได้ตัวอย่างแน่นอนประมาณ 1 - 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมเกลี่ยตัวอย่างให้กระจาย

3) นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักที่แน่นอนชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001 - 0.003 มิลลิกรัม แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_1-W_2)\times 100}{W_2}$$

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

3. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) เตาเผา (muffle furnace)
2) ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3) โถดูดความชื้น (desiccator)
4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1) เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30 – 45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่โถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2) เผาซ้ำอีกครั้งละประมาณ 1 ชั่วโมงและกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งติดต่อกัน 2 ครั้ง ไม่เกิน 0.001 - 0.003 มิลลิกรัม

3) ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) ประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่รู้น้ำหนักแน่นอน แล้วนำไปเผาในตู้ดูดควันจนควันหมด แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส และกระทำซ้ำเช่นเดียวกันกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

4. **การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน** (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี

1) เครื่องวิเคราะห์ไขมัน
2) เครื่องทำความเย็น (cooling bath)
3) บีกเกอร์สาหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (glass extraction beader)
4) หลอดใส่ตัวอย่าง (thimble)
5) ตู้อบไฟฟ้าทศนิยม 4 ตาแหน่ง
6) โถดูดความชื้น (desiccator)

7) ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการวิเคราะห์

1) อบบีกเกอร์สาหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก และทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม บันทึกน้ำหนักที่ได้

2) ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งแล้ว 1-2 กรัม ลงบนกระดาษกรอง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน แล้วห่อใส่ใน ทิมเบิล (thimble) นาทิมเบิลใส่ลงในลวดรองแล้ววางลงในบีกเกอร์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 150 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

3) ประกอบบีกเกอร์เข้ากับตัวเครื่องวิเคราะห์ไขมัน ทำการสกัดเป็นเวลา 30 นาที และชะล้างเป็นเวลา 60 นาที

4) จากนั้นนำบีกเกอร์ไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วาง บีกเกอร์ให้เย็นในโถดูดความชื้นหรือจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณปริมาณไขมัน ดังสมการ

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยวิธีการคำนวณ (Calculation)

$$\text{คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)} = 100 - (\text{ความชื้น}+\text{โปรตีน}+\text{ไขมัน}+\text{เถ้า}+\text{เยื่อใย})$$

6. การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (AOAC, 2000)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดซัลฟูริกร้อยละ 1.25 เตรียมโดยตวงสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ปริมาตร 7.01 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.25 เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 12.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร
- แอลกอฮอล์ร้อยละ 95 เตรียมโดยละลายแอลกอฮอล์ 960 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างผงสาหร่าย 0.5 กรัม บันทึกน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน (w) เติมสารละลายกรดซัลฟูริกร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด เป็นเวลา 30 นาที กรองและล้างกากด้วยน้ำร้อน เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด เป็นเวลา 30 นาที กรองและล้างกากด้วยน้ำร้อน นำกรวยกรองอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เวลา 1 คืน นำมาวางให้เย็นใน desiccator และชั่งน้ำหนัก (w_1) และนำไปเผา ที่อุณหภูมิ

550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาวางให้เย็นใน desiccator และชั่งน้ำหนัก (w_2) คำนวณหาปริมาณเยื่อใยจากสูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณเยื่อใย (ร้อยละ)} = \frac{(w_2-w_1) \times 100}{w}$$

โดย w = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)
w_1 = น้ำหนักหลังจากอบแห้ง (กรัม)
w_2 = น้ำหนักหลังจากเผา (กรัม)

7. ปริมาณผลผลิต (% yield)

วิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของสาหร่าย โดยระเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ความดัน 50 มิลลิบาร์ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จนได้สารละลายข้นหนืด นำมาชั่งน้ำหนัก และคำนวณจากน้ำหนักของสารละลายข้นหนืดที่ได้เทียบกับน้ำหนักสาหร่ายเริ่มต้น ตามสูตร

$$\text{ปริมาณร้อยละผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนัก SWPH ข้นหนืด} \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}}$$

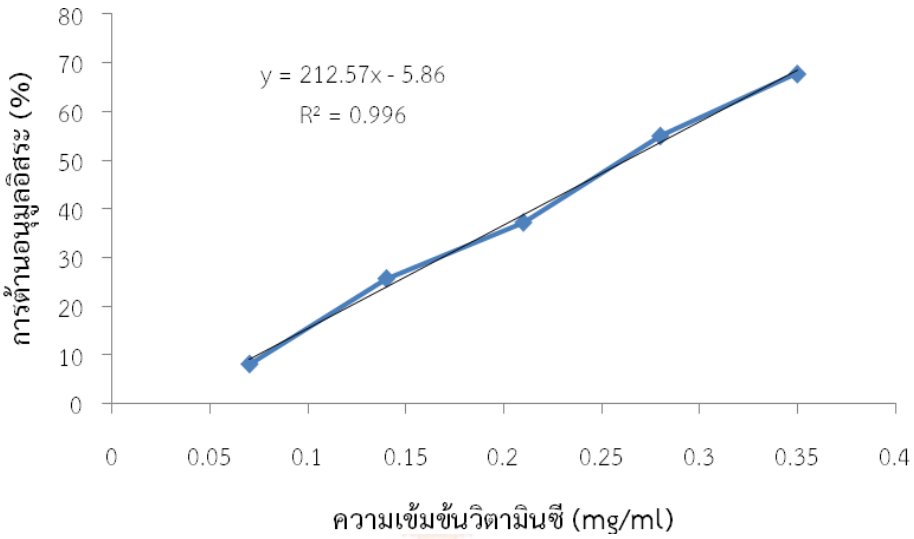
8. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH scavenging activity method)ดัดแปลงจาก Fengiln (2004)

วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยนำสารสกัดแต่ละชนิดในเมทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน ปริมาตร 100 ไมโครลิตรแล้วเติมสารละลาย 1 mM DPPH ในเมทานอลปริมาตร 900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่ง ใส่เมทานอลเท่านั้นแทนสารสกัดเป็น blank และสารละลาย 10 mM ascorbic acid เป็น positive control การทดลองทำซ้ำ 3 ชุดการทดลอง นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH° จากสมการ

$$\% \text{ scavenging} = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ
$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH° ได้ 50 เปอร์เซ็นต์) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % scavenging กับความเข้มข้นของสารละลาย



กราฟมาตรฐานสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH scavenging activity

9. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

วิเคราะห์คลอโรฟิลล์โดยการชั่งตัวอย่างสาหร่าย 0.5 กรัม บดละเอียดด้วยตัวทำละลาย 80% อะซีโตน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปเซนตริฟิวจ์ ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มา 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับตัวทำละลาย 80% อะซีโตน ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 663.2 nm และ 646.8 nm (ภาพผนวกที่ 11) นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ A และ คลอโรฟิลล์ B จากสมการ

คลอโรฟิลล์ A (มิลลิกรัม) = $12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8}$

คลอโรฟิลล์ B (มิลลิกรัม) = $21.52.79A_{646.8} - 5.1\ A_{663.2}$

คลอโรฟิลล์ A หรือ B (มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เมตร) = $\frac{C \times v}{dV}$

เมื่อ : $A_{663.2}$ = ค่า absorbance ที่คลื่นแสง 663.2 นาโนเมตร

$A_{646.8}$ = ค่า absorbance ที่คลื่นแสง 646.8 นาโนเมตร

C = ค่าคลอโรฟิลล์ A หรือ B หน่วยเป็นมิลลิกรัม

v = ปริมาตรของอะซีโตน หน่วยเป็นมิลลิลิตร

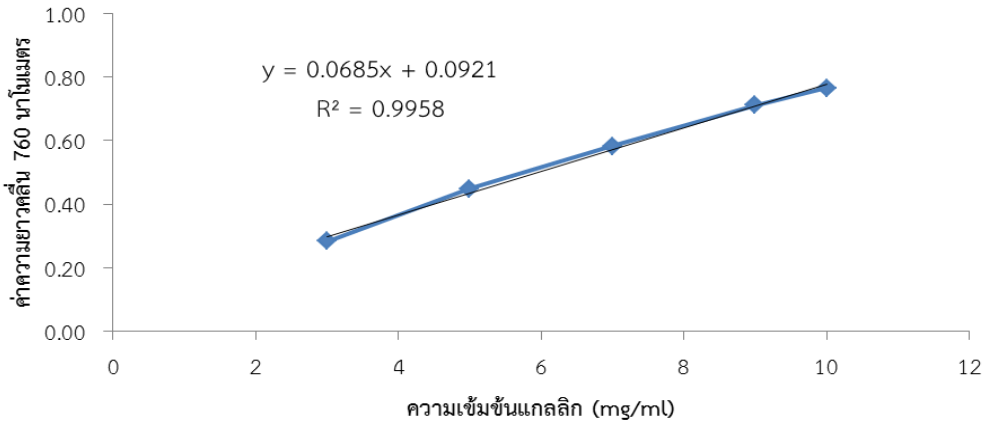
V = ปริมาตรของตัวอย่าง หน่วยเป็นลิตร

d = เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดที่ใช้วัดหาค่า absorbance หน่วยเป็นซม.

10. ปริมาณสารฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลิกโดยดัดแปลงวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ตามวิธีของ Wolfe *et al.*(2003) โดยนำตัวอย่างสารสกัดมา 125 ไมโครลิตร เติมลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ 500 ไมโครลิตร แล้วเติม Folin-Ciocalteu reagent 125 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืดนาน 6

นาที หลังจากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 7 ปริมาตร 1250 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 1000 ไมโครลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก



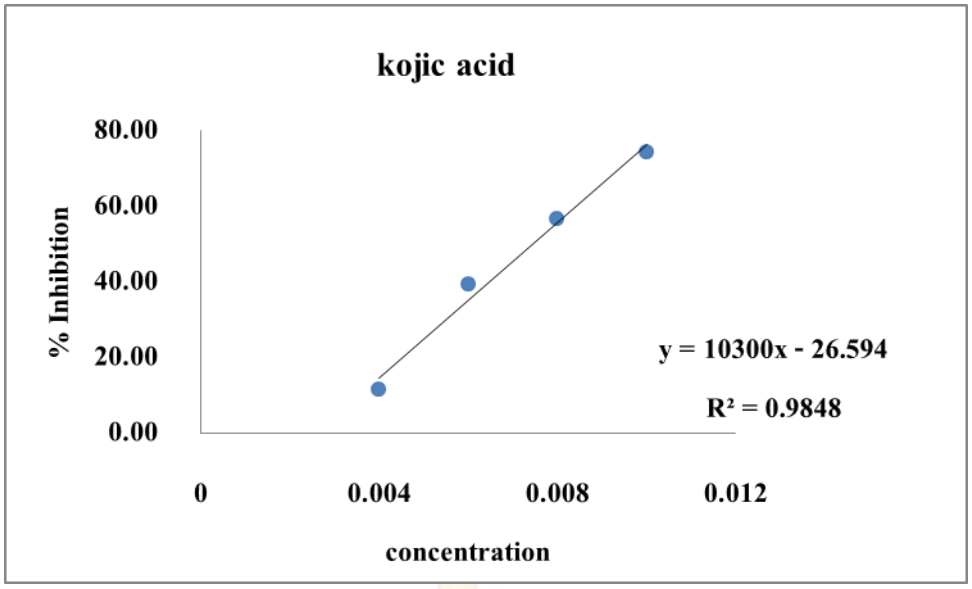
กราฟมาตรฐานปริมาณของสารฟีนอลิก

11. การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรสิเนส ดัดแปลงจากวิธีการของ Rangkadilok และคณะ (2007)

โดยเตรียม Tyrosine 1 mg /ml และ Tyrosinase 200 u/ml ใน phosphate buffer 0.1M (pH 6.8) เตรียมสารสกัดสาหร่ายที่ความเข้มข้นต่างๆ เติมสารละลายต่างๆ ลงใน 96-well microplate ตามตาราง ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 37 C จากนั้น วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรสิเนส เป็นร้อยละ และใช้ kojic acid เป็นสารมาตรฐาน

A	B	C	D
tyrosine 50µl methanol 100µl phosphate buffer 50µl phosphate buffer 50µl	tyrosine 50µl methanol 100µl phosphate buffer 50µl tyrosinase 50µl	tyrosine 50µl sample 100µl phosphate buffer 50µl phosphate buffer 50µl	tyrosine 50µl sample 100µl phosphate buffer 50µl tyrosinase 50µl

โดยที่ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ blank หลังจากบ่ม, B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ blank ก่อนบ่ม, C ค่าการดูดกลืนแสงของ sample หลังจากบ่ม, และ D ค่าการดูดกลืนแสงของ sample ก่อนบ่ม คำนวณค่า IC50 จากกราฟระหว่าง % Inhibition และค่าความเข้มข้น (mg/ml)



กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Kojic acid กับ % การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

12. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS ทำตามวิธี สุริสา และคณะ (2557)

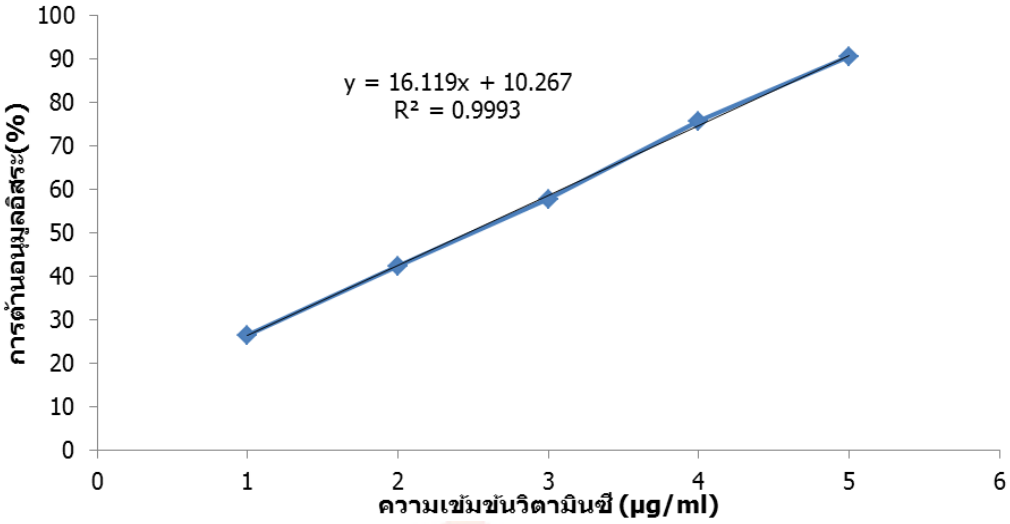
วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยนำสารสกัดแต่ละชนิดในเมทานอลที่มีความเข้มข้นที่ 200, 400, 600, 800, 1000 μg/ml อย่างละ 2 ml และละลาย Vitamin C เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานด้วยตัวทำละลายเมทานอล ให้มีความเข้มข้นที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6 μg/ml อย่างละ 2 ml ผสมสารละลายตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลาย ABTS cation radical ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำสารผสมที่ได้เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง จากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH° ได้ 50 เปอร์เซ็นต์) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % scavenging กับความเข้มข้นของสารละลาย



กราฟมาตรฐานสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS scavenging activity

13. การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ (Jia et al., 1999)

ก. การเตรียมสารเคมี

1) สารละลาย 80% เมทานอลผสมเมทานอล 800 มล. กับน้ำกลั่น 200 มล. คนให้เข้ากัน

2) สารละลาย 5% NaNO, ชั่ง NaNO, มา 5 กรัมละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ในขวดวัดปริมาตร

3) สารละลาย10% อะลูมิเนียมคลอไรด์ชั่งอะลูมิเนียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต 10 กรัมละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ในขวดวัดปริมาตร

4) สารละลายมาตรฐาน 0. 1 มก. / มล. catechin 3 catechin 0. 01 กรัมละลายในสารละลาย 80% เมทานอลและปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ในขวดวัดปริมาตร

5) สารละลาย I M โซเดียมไฮดรอกไซค์ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัมละลายในละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 250 มล. ในขวดวัดปริมาตร

ข. การเตรียมสารสกัดฟลาโวนอยด์

ชั่งตัวอย่าง 0. 5-5 กรัมใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มล. เติมสารละลาย 80% เมทานอล 50 มล, ปิดปากขวดด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยด์นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาทีกรองเก็บสารละลายส่วนใสด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

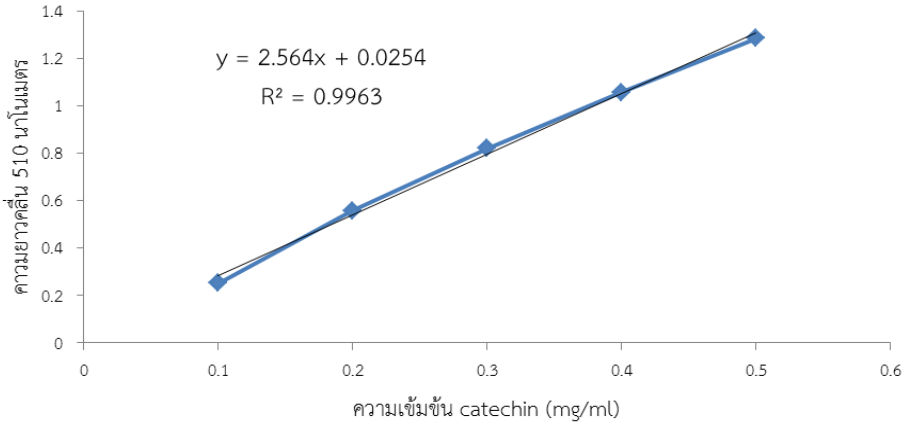
ค. การเตรียมกราฟมาตรฐานฟลาโวนอยด์

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน catechin ปริมาตร 0. 2, 0. 4, 0. 6, 0. 8 และ 1 มล. ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอดเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 5 มล. ส่วนหลอดควบคุมใช้น้ำกลั่น 5 มล. แทนแล้วเติมสารละลาย NaNO, ปริมาตร 0. 3 มล. ลงไปเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาทีจากนั้นเติมสารละลาย 10% อะลูมิเนียมคลอไรด์ 0. 3 มล. เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาทีนำมาเติมสารละลาย

1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 มล. เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรเทียบกับหลอดควบคุม (ทำการทดลองซ้ำรวม 3 ครั้ง)

ง. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

ปิเปตสารสกัดในปริมาตรที่เหมาะสมลงในหลอดทดลองปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 5 มล. เติมสารละลาย NaNO ปริมาตร 0. 3 มล. ลงไปเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาทีจากนั้นเติมสารละลาย 10% อะลูมิเนียมคลอไรด์ 0. 3 มล. เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาทีนำมาเติมสารละลาย 1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 มล. เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรเทียบกับหลอดควบคุมที่ใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐานฟลาโวนอยด์ (ทำการทดลองซ้ำรวม 3 ครั้ง)



กราฟมาตรฐานปริมาณฟลาโวนอยด์

ภาคผนวก ค

การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

(Proceeding)