

บทที่ 1 บทนำ

สาหร่ายทะเล เป็นพืชชั้นต่ำ ไม่มีระบบท่อลำเลียงอาหารจากรากสู่ลำต้นและใบแบบพืชชั้นสูงเช่น กล้วยาทะเล แต่จะใช้วิธีดูดซับน้ำและแร่ธาตุจากน้ำทะเลสู่เซลล์ต่าง ๆ โดยตรง พืชกลุ่มนี้ไม่มีดอกและผล แต่แพร่กระจายพันธุ์ด้วยการสร้างสปอร์และแบ่งตัว สาหร่ายทะเลมีลักษณะมากมายหลายแบบ ตั้งแต่แบบที่เป็นแพลงก์ตอนลอยไปมาในน้ำ ซึ่งมีขนาดเล็กมากมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า บางชนิดเป็นเซลล์เดี่ยว บางชนิดจับตัวกันเป็นกลุ่มเซลล์ หรือเป็นสาย จนถึงชนิดที่เป็นต้นตุลคล้ายพืชชั้นสูง

สาหร่ายทะเล แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ตามโครงสร้างและสีของสารสังเคราะห์แสง ได้เป็น 4 กลุ่ม คือ

-สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae)

- สาหร่ายสีเขียว (green algae)

-สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae)

-สาหร่ายสีแดง (red algae)

โดยทั่วไป เราสามารถจำแนกกลุ่มสาหร่ายได้จากสีที่เห็น แต่ในประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อนซึ่งมีแสงจัด บางครั้งสาหร่ายจะมีสีเปลี่ยนไปจากที่ควรจะเป็น

1. ลักษณะของสาหร่ายทะเล

1.1 สาหร่าย *Sargassum* sp.

สาหร่าย *Sargassum* sp. มีชื่อไทยว่า สาหร่ายใบ หรือ สาหร่ายพุง เป็นสาหร่ายสีน้ำตาลขนาดใหญ่ มีลำต้นที่มีลักษณะเหมือนพืชชั้นสูงเรียกว่าทลัสส์ ส่วนที่เป็นรากสำหรับยึดเกาะ (hold fast) ต้นตั้งตรงบางชนิดอาจแตกแขนงมากจนเป็นพุ่ม แกนของต้นมีลักษณะกลมหรือแบน เบลด (blade) มีลักษณะเหมือนใบไม้ ขอบใบมีจักรแหลมและมีแกนกลางใบ โคนใบมีถุงลม (air bladder หรือ pneumatocyst) เล็กๆ เกิดอยู่ช่วยพยุงให้ลอยตัวในน้ำ พบได้ในบริเวณเขตร้อน และ เขตอบอุ่น ตามแนวเขตปะการัง และ ก้อนหิน ในระดับน้ำขึ้นน้ำลงหรือ ต่ำกว่าระดับน้ำลงต่ำสุดในบริเวณที่น้ำใส การสืบพันธุ์ สาหร่าย *Sargassum* sp. จะสร้างรีเซปตาเคิล (receptacle) เป็นกระจุกอยู่ที่ปลายแขนง บนรีเซปตาเคิลมีถุงหรือ แอ่งฝังอยู่เรียกว่าคอนเซปตาเคิล (conceptacle) มีอวัยวะสืบพันธุ์แบบยูนิลอคูลาร์ โดยผสมพันธุ์กัน ภายนอก เมื่อได้ไซโกตแล้วจะงอกไปเป็นต้นสปอโรไฟต์ (sporophyte) (กาญจนภาชน์, 2527)

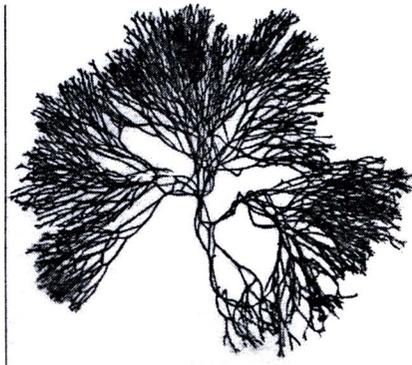


ภาพที่ 1 สาหร่าย *Sargassum* sp.

ที่มา : http://www.igetweb.com/www/phowiset/private_folder/sargassum.jpg

1.2 สาหร่าย *Gracilaria* sp.

Gracilaria หรือ สาหร่ายผมนาง คือสาหร่ายทะเลสีแดง ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายผมนาง มีทลัสต์ตั้งตรงเป็นรูปเรียวยาวทรงกระบอกกลมหรือแบน ลักษณะของทลัสต์มีตั้งแต่บอบบาง อ่อนนุ่ม หักง่าย ไปจนกระทั่งเหนียวเหมือนผืนผ้า สามารถเจริญเติบโตได้ 2 ทาง คือการเจริญเติบโตที่เซลล์ปลายยอด และการแตกแขนงด้านข้าง ความยาวของทลัสต์มีตั้งแต่ 4 ซม.-3.5 ม. เส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 0.5-4.0 มม. สารสีของสาหร่ายผมนาง ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ ดี ไฟโคบิลิน เช่น อาร์ไฟโคอิริทริน อาร์ไฟโคไซยานิน ซี-อัลไฟโคไซยานิน คาร์โรทีนอยด์ เช่น เบต้าแคโรทีน แอนเทอราแซนติน เป็นต้น ในประเทศไทยสามารถพบสาหร่ายผมนาง ได้ทั่วไปบริเวณน้ำตื้นหรือชายฝั่งที่ลมพัดไม่แรงมากนัก พฤติกรรมของกรสปีพันธุ์แบบมีเพศเป็น 3 ลักษณะประกอบด้วย gametophyte, sporophyte และ Corposporophyte stages โดยสลับกันไปสามารถรวบรวมสปอร์ได้จากการวางวัสดุสปอร์ในแหล่งน้ำที่มีสาหร่ายชุกชุม จากผลการศึกษาทดลองของไพโรจน์และสุชาติ (2532) พบว่าคาร์โปสปอร์ (carpospore) หรือ สปอร์ของสาหร่ายผมนางตกและเคลื่อนออกจากกระเปาะหุ้มสปอร์สู่ภายนอกได้ดีในน้ำที่มีความเค็ม 30 ppt. Gavino (1986) กล่าวว่าสาหร่ายทะเลในสกุลกราซิลารียา สามารถเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำกร่อยที่มีความเค็ม 15-24 ppt.



ภาพที่ 2 สาหร่าย *Gracilaria* sp.

ที่มา :http://www.hawaii.edu/reefalgae/invasive_algae/rhodo/grac%20tikva20herb20sht.jpg

1.3 สาหร่าย *Caulerpa* sp.

สาหร่ายชนิดนี้มองคล้ายพวงองุ่นที่ขึ้นเป็นกระจุก จึงมีชื่อสามัญที่เรียกว่า สาหร่ายพวงองุ่น (seagrapes) ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวอยู่ในสกุล *Caulerpa* ขึ้นอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลเขตร้อน เป็นสาหร่ายที่มีพิษน้อยและมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีลักษณะทลัสต์เป็นท่อนติดต่อกันตลอด มีรากเป็นฝอยทำหน้าที่ยึดเกาะกับพื้น และทอดแขนง ซึ่งมีลักษณะคล้ายไรโซม (rhizome) ออกเป็นระยะ ส่วนที่ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงมีลักษณะคล้ายใบ เรียกว่า รามูรัส (ramulus) มีรูปร่างต่างกัน อาจจะเป็นก้านยาวรี กลมแบน หรือเป็นเส้นเหมือนขนนก ส่วนนี้มีสีเขียว สาหร่ายสกุลนี้ มักขึ้นอยู่ตามพื้นทรายปนโคลน หรือขึ้นเกาะตามซากปะการัง บนก้อนหินในเขตชายฝั่ง นำมารับประทานเป็นผักสดหรือผักจิ้มน้ำพริก



ภาพที่ 3 สาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

ที่มา : <http://www.reefcorner.com/images/GrapeCaulerpa.jpg>

2. การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายทะเล

ความสำคัญของสาหร่ายทะเลในแง่ของระบบนิเวศน์ เป็นกลุ่มพืชที่ผลิตออกซิเจน และใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำเหมือนพืชอื่นๆทั่วไป ในแง่ของสิ่งแวดล้อม สาหร่ายทะเลช่วยดูดซับสารอินทรีย์แร่ธาตุในน้ำ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งร่มเงา และหลบภัยของสัตว์น้ำ ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจในพื้นที่ ภาคใต้ฝั่งตะวันออก คือ จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส การใช้ประโยชน์ในประเทศไทยเพื่อการบริโภคโดยตรง แปรรูปเพื่อสกัดสารจำพวกวุ้น หรือสารที่มีลักษณะคล้ายวุ้น หรือนำมาเป็นส่วนผสมในยารักษาโรค ยาสมานแผล เป็นอาหารสัตว์บก และสัตว์น้ำ ทำปุ๋ย สาหร่ายที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมสกัดวุ้น อการ์ คาราจีแนน อาจเรียกว่าเป็น คาร์ราจ่า (carragar)

สาหร่ายทะเลหลายชนิด นำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยปล่อยให้สาหร่ายทะเลเจริญเติบโตในบ่อพักน้ำทิ้ง เพื่อเป็นการบำบัดคุณภาพน้ำให้ดีขึ้นก่อนปล่อยออกสู่ธรรมชาติ เนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการสะสมโลหะหนักได้แตกต่างกัน จึงมีการนำสาหร่ายไปใช้เป็นตัวขี้นิวตมลภาวะในทะเล เช่น *Padina*, *Dictyota*, *Acanthophora*, *Gracilaria* และ *Laurencia*

สาหร่ายทะเลมีวิตามินเอ บี2 บี3 บี6 บี12 วิตามินซี และกรดโฟลิก เฉพาะวิตามินเอนั้นสาหร่ายทะเลมีอยู่มากมาย สาหร่ายทะเล 100 มิลลิกรัม (ถ้าบดเป็นผงประมาณ 1 ช้อนชา) มีปริมาณวิตามินเอถึง 44,500 หน่วยสากล มากกว่าวิตามินเออย่าง เป็นแคปซูลสกัดมาขายเกือบ 5 เท่า คือ วิตามินเอ 1 แคปซูลมีเพียง 10,000 หน่วยสากล วิตามินต่างๆที่พบในสาหร่ายช่วยในการสมานแผล และเชื่อมประสานเส้นเลือดที่แตก นอกจากสารต่าง ๆ ข้างต้น สาหร่ายยังมีแร่ธาตุอีกหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม ไนโตรเจน กำมะถัน โคบอลต์ นิกเกิล ทองแดง เหล็ก สังกะสี เป็นต้น

นอกจากนั้นแล้วสาหร่ายทะเลยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่โดดเด่นอีกอย่างหนึ่งของสาหร่ายทะเล เนื่องจากมีสารโพลีฟีนอล ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเกิด lipid peroxidation (การหืนของไขมัน) เนื่องจากสารโพลีฟีนอลจะมีวงแหวนฟีนอล ที่สามารถไปจับอิเล็กตรอนที่อิสระของพวก เปอร์ออกไซด์ ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และ ไฮดรอกซีแรดดิคัล นอกจากโพลีฟีนอลแล้ว สารในกลุ่มซัลเฟต โพลีแซคคาไรด์ รังควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ เช่น แอสตาแซนทิน ฟิวโคแซนทิน ก็สามารถต้านอนุมูลอิสระได้เช่นกัน

3. อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระ (unpaired electron) อยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุล ในวงจรดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนอย่างเช่น hydroxyl radical , superoxide anion , hydroperoxyl radical เป็นต้น ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่างๆ ของเซลล์เกิดขึ้นตลอดเวลา นอกจากนี้ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ รังสียูวี (UV-ray) โอโซน (ozone) ควันทจากท่อไอเสียรถยนต์ และควันทบุหรี่ เป็นต้น ยังสามารถเหนี่ยวนำให้มีการก่อตัวของอนุมูลอิสระเหล่านี้เพิ่มขึ้นได้อีกด้วย อนุมูลอิสระส่วนใหญ่มีความไม่คงตัว และไวต่อการทำปฏิกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) ซึ่งจัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูง (reactive oxygen species, ROS) ที่มีความว่องไวสูงสุด (Halliwell, 1999) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ยังผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนแปลงสภาพโปรตีนตลอดจนไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับโปรตีน หรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์นั้นๆ ผิดปกติไป เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นพืชหรือสัตว์ต่างก็มีระบบที่เรียกว่า antioxidant defense system เพื่ออ้าวงไว้ซึ่งสมดุลของอนุมูลอิสระภายในร่างกายทั้งสิ้น ระบบกำจัดอนุมูลอิสระดังกล่าวเกิดจากการทำงานของสารต่างๆ ที่รวมเรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ catalase, glutathione peroxidase และ superoxide dismutase หรือสารประกอบโปรตีนบางอย่างเช่น glutathione, urate, bilirubin, ubiquinol, albumin, ceruloplasmin และ transferrin เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินไปที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้น ภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระส่วนที่ยังหลงเหลืออยู่อาจไปทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสมมากๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง เช่น โรคมะเร็ง, โรคหลอดเลือดหัวใจ, โรค Parkinson, โรค Alzheimer, ไชข้ออักเสบ และต้อกระจก เป็นต้น (Ames et al.,1993) ดังนั้น การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกจึงน่าจะเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยเสริมการควบคุมและป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้ เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์นั้นถึงแม้จะมีประสิทธิภาพสูง แต่มีข้อจำกัดของการใช้ และมีปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค จึงทำให้การเสาะแสวงหาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในปัจจุบัน

4. สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระคือ สารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกัน หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ได้ (Halliwell,1995) สารเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับเหล็ก (Fe^{2+}) ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น ปกติร่างกายคนเรานั้นจะมีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติหลากหลายชนิดทั้งที่เป็นเอนไซม์ เช่น superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น urate, bilirubin และ transferrin เป็นต้น เนื่องจากสารเหล่านี้มีจำนวนจำกัด ดังนั้นเมื่อใดก็ตามที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเกินกว่าจะกำจัดได้หมด อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ ดังที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้พวกวิตามินบาง

ชนิด เช่น เบต้า-แคโรทีน (β -carotene), วิตามินซี (vitamin C), วิตามินอี (vitamin E) รวมทั้ง สารประกอบกลุ่ม polyphenols ต่างๆ ซึ่งมีรายงานพบมากในพืช ผัก ผลไม้ ทั่วไปยังจัดเป็นสารออกฤทธิ์ ด้านอนุมูลอิสระจากแหล่งธรรมชาติที่ดีอีกกลุ่มหนึ่ง (Sies,1991)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะการออกฤทธิ์ (Sherwin,1990) คือ

4.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ

เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ โดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น สารออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าว ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoids, eugenol และ vanillin เป็นต้น มีรายงานว่าสารต้านอนุมูลอิสระชนิดนี้จะทำหน้าที่ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำๆ แต่เมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นไปอาจกลายเป็นสารเสริมฤทธิ์ออกซิเดชันได้

4.2 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ

สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ แต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับ Fe^{2+} ดักจับออกซิเจน ดูดซับรังสียูวีไว้ เป็นต้น (Gordon, 2001)

5. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีที่นิยมทั่วไปมี 3 วิธีคือ (1) Antioxidant activity ซึ่งการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนอิก (2) Reducing power เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ และ(3) Scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง โดยได้อธิบายรายละเอียดของแต่ละวิธีดังนี้

5.1 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของกรดลิโนลีนอิก (Antioxidant activity)

กรดลิโนลีนอิกเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้กรดนี้สามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบ ทำให้กลายเป็นอนุมูลอิสระ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น conjugated diene ที่เสถียร สารต้านอนุมูลอิสระมีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้สารต้านนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนอิกได้ ด้วยเหตุนี้ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนอิกจึงวัดโดยเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลีนอิกผสมอยู่ ทั้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นใช้เครื่อง UV Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร ค่าที่ได้นี้แปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นดังนั้นการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้ (ปวิชนันท์, 2546)

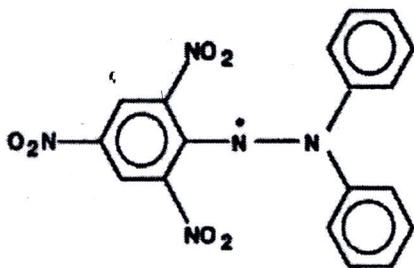
5.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (Reducing power)

สารที่เป็น reducing agent สามารถจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอะตอมหรือ โมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น) เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ในด้านชีวเคมี อนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด ROS

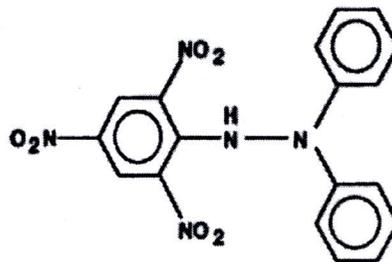
เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ อนุมูลไฮดรอกซิล เป็นต้นเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของแต่ละสารที่สกัดได้ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริคไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่ และค่าของการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่มีความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากเครื่องมือวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการทางสเปคโตรสโคป (UV Spectrophotometer) จะมีค่าแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอร์ริคไอออนที่เกิดขึ้น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนคลื่นแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็น reduce agent (ปวิชนันท์, 2546)

5.3 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (Scavenging effect on 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH))

DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)



2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

ภาพที่ 4 อนุภาคอิสระที่เสถียรสามารถรับอิเล็กตรอนได้เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ
ที่มา : pirun.ku.ac.th/~b4755242/7.htm

ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรที่อยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้ DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (ปวิชนันท์, 2546)

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ เช่น สาหร่าย *Sargassum* sp., สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* และ สาหร่าย *Gracilaria* sp. เป็นต้น ซึ่งสาหร่ายเหล่านี้พบมากในธรรมชาติ โดยการวิเคราะห์จะมีอยู่ 3 วิธีคือ (1) ความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH หรือ 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (2) การหาปริมาณฟีนอล (Total phenolic content ,TPC) และ (3) Reducing power หรือ ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ทั้ง 3 วิธีนี้ สามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่