

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการหาปริมาณแคโรทีนอยด์ ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเมทานอลจากสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Odontella* sp.

ขวัญชนวนวิศ มาชนะนา^{1,5*} อมรรัตน์ กนกรุ่ง² แคทรียา สุธานี³ กาญจนา ธรรมนุ⁴
อนุสรณ์ ธรรมพิทักษ์¹ ธีระ ฤทธิรอด^{3,5} ชลดา จัดประกอบ⁵ เมธิณ ผดุงกิจ⁵ จักรกฤษณ์ หงส์ทอง⁵
นัฏฐา แก้วนพรัตน์⁵

รับบทความ: 23 เมษายน พ.ศ. 2568/ แก้ไขบทความ: 12 มิถุนายน พ.ศ. 2568/ ตอรับบทความ: 18 มิถุนายน พ.ศ. 2568

บทคัดย่อ

สาหร่ายทะเลขนาดเล็กกลุ่มไดอะตอม (*Odontella* sp.) เป็นสาหร่ายสีน้ำตาล จัดอยู่ในกลุ่ม Bacillariophyta ที่พบกระจายในทะเลทางฝั่งตะวันออกของประเทศไทย มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและสุขภาพ เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิด ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในสารสกัดเมทานอลของสาหร่ายทะเล *Odontella* sp. ด้วยเทคนิค HPLC รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) และฟลาโวนอยด์รวม (TFC) ต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเมทานอลของสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Odontella* sp. มีค่า IC₅₀ จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ 0.910 ± 0.04 และ 0.057 ± 0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบปริมาณของ TPC และ TFC เท่ากับ 18.9 ± 0.7 กรัม GAE ต่อ 100 กรัมสารสกัด และ 17.5 ± 0.6 กรัม QE ต่อ 100 กรัมสารสกัด ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC พบสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แอสตาแซนธิน (astaxanthin) แคนทาแซนธิน (canthaxanthin) และฟูโคแซนทิน (fucoxanthin) แต่ไม่พบซีแซนทิน (zeaxanthin) สารประกอบทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ดังนั้นจากผลการวิจัยนี้สนับสนุนว่าสารสกัดจาก *Odontella* sp. มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือใช้ประโยชน์ในเชิงโภชนาการและเวชศาสตร์ชะลอวัยได้ในอนาคต

คำสำคัญ : *Odontella* sp., ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, แคโรทีนอยด์, ฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์

¹ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

² สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

³ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

⁴ สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน)

⁵ คณะเภสัชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

* ผู้รับผิดชอบบทความ email : kwanchaya.m@nmc.ac.th เบอร์โทร 0969197760

Antioxidant Activities and Quantification of Carotenoids, Phenolics, and Flavonoids in the Methanolic Extract of the Marine Microalga *Odontella* sp.

Kwanchayanawish Machana^{1,5*} Amonrat Kanokrun² Khaetthareeya Sutthanut³
Kanjana Thumanu⁴ Anusorn Thampithak¹ Theera Rittirod^{3,5} Chonlada Judprakob⁵
Methin Phadungkit⁵ Charkkrit Hongthong⁵ Nattha Kaewnopparat⁵

Received: 23 April 2025/ Revised: 12 June 2025/ Accepted: 18 June 2025

Abstract

The marine microalgae group diatoms (*Odontella* sp.) are brown microalgae belonging to the Bacillariophyta, found in the sea along the eastern coast of Thailand. They have the potential to be developed as components of dietary supplements and health products due to their various important chemical constituents. Therefore, this research investigates the antioxidant activities and quantifies the carotenoid compounds in the methanol extract of the marine algae *Odontella* sp. using HPLC techniques. Additionally, the total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) were analyzed to evaluate their correlation with antioxidant activities. The study found that the methanol extract of the marine microalgae *Odontella* sp. had IC₅₀ values from antioxidant activity tests using the DPPH and ABTS methods of 0.910 ± 0.04 µg/ml and 0.057 ± 0.04 µg/ml, respectively. Additionally, the TPC and TFC were found to be 18.9 ± 0.7 gram GAE per 100 gram extract and 17.5 ± 0.6 gram QE per 100 gram extract, respectively. HPLC analysis revealed the presence of carotenoid compounds, including astaxanthin, canthaxanthin, and fucoxanthin, but zeaxanthin was not detected. All the compounds are associated with the antioxidant activities of the extract. Therefore, the results of this study support that the extract from *Odontella* sp. has the potential to be developed into dietary supplements or utilized in nutrition and anti-aging applications in the future.

Keywords: *Odontella* sp., Antioxidant activity, Carotenoids, Phenolics, Flavonoids

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Burapha University

² Institute of Marine Science, Burapha University

³ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

⁴ Synchrotron Light Research Institute (Public Organization)

⁵ Faculty of Pharmacy, Nakhon Ratchasima College

* Corresponding Author email : kwanchaya.m@nmc.ac.th Tel: 0969197760

บทนำ

ในปัจจุบัน สาหร่ายทะเลขนาดเล็ก (microalgae) ได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายในฐานะแหล่งทรัพยากรชีวภาพทางทะเลที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) และองค์ประกอบเชิงหน้าที่ (functional ingredients) สำหรับอุตสาหกรรมยา อาหาร และเครื่องสำอาง (Chew et al., 2017) โดยเฉพาะสาหร่ายทะเลกลุ่มไดอะตอม (Bacillariophyta) ซึ่งเป็นกลุ่มสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีความหลากหลายทางชีวภาพและสามารถพบได้ทั่วไปในระบบนิเวศทางทะเล สาหร่ายทะเลขนาดเล็กในกลุ่มนี้สามารถสังเคราะห์สารที่มีประโยชน์ทางสุขภาพ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านการอักเสบ รวมถึงสารที่ส่งเสริมการทำงานของระบบเผาผลาญ (สุนทรต์ ชูลักษณ์ และคณะ, 2564) และสามารถสังเคราะห์สารชีวภาพได้หลากหลายชนิด อาทิ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน สารประกอบฟีนอลิก วิตามิน รงควัตถุธรรมชาติ เช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิโปรตีน (phycobiliproteins) ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพได้อย่างกว้างขวาง นอกจากนี้ สาหร่ายยังสามารถเพาะเลี้ยงได้ในพื้นที่จำกัด ใช้ทรัพยากรในการผลิตต่ำ และให้ผลผลิตที่คงที่ตลอดปี จึงเป็นทางเลือกที่ยั่งยืนสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากธรรมชาติ จากคุณสมบัติดังกล่าวส่งผลให้สาหร่ายทะเลขนาดเล็กบางชนิดจึงได้รับการรับรองให้ใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารประเภทปลอดภัยต่อมนุษย์ (Generally Recognized as Safe: GRAS) หรืออาหารสมัยใหม่ (Novel Food) องค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกา (FDA) และหน่วยงานความปลอดภัยด้านอาหารแห่งสหภาพยุโรป (EFSA) เช่น *Haematococcus pluvialis*, *Chlorella* sp., *Dunaliella* sp., *Schizochytrium* sp. และ *Tetraselmis chuii* (Gouveia and Castilho, 2017; EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies [NDA], 2014)

สารแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งเป็นรงควัตถุธรรมชาติชนิดหนึ่งที่พบได้ในสาหร่ายทะเลหลายชนิด มีบทบาทสำคัญในฐานะสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกี่ยวข้องกับโรคเรื้อรัง รวมถึงการชะลอความเสื่อมของเซลล์ (NDA, 2014; Mohamed et al., 2012) ตัวอย่างสารแคโรทีนอยด์ที่สำคัญในสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ แอสตาแซนธิน (astaxanthin) จาก *Haematococcus pluvialis*, เบต้าแคโรทีน (β -carotene) จาก *Dunaliella salina*, ลูทีน (lutein) และซีแซนธิน (zeaxanthin) จาก *Chlorella* sp. และ *Tetraselmis* sp., รวมถึง fucoxanthin จาก *Phaeodactylum tricornutum* ซึ่งแสดงศักยภาพในการป้องกันเซลล์ประสาทผ่านกลไกต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และชะลอความเสื่อมของเซลล์ (Chuyen and Eun, 2017; Goiris et al., 2012) สาหร่ายทะเลชนิด *Odontella aurita* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มไดอะตอมทะเล (marine diatoms) เป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิต fucoxanthin ในปริมาณสูง (มากกว่า 20 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง) โดย มีรายงานว่า fucoxanthin จาก *O. aurita* แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และยับยั้งเอนไซม์ AChE ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Rammuni et al., 2019; Zhao et al., 2022; Cuong et al., 2024) ซึ่งบ่งชี้ถึงศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นสารต้นแบบเพื่อป้องกันหรือบรรเทาภาวะเสื่อมของระบบประสาท นอกจากนี้ An et al. (2023) ได้ทำการศึกษาปริมาณของสารสีแคโรทีนอยด์และกรดไขมันในสารสกัดเมทานอลของ *O. aurita* ที่พบแถบชายฝั่งทะเลฝั่งตะวันออกของในประเทศเกาหลีใต้ พบว่ามีกรดไขมันชนิด eicosapentaenoic acid (EPA) เท่ากับ 1.1 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ fucoxanthin เท่ากับ 7.1 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ทางสิ่งแวดล้อม เช่น ตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ ฤดูกาล

รวมถึงอุณหภูมิ ความเค็ม ความเข้มข้นของแสง และความเข้มข้นของสารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง สาหร่ายขนาดเล็กมีผลต่อการสังเคราะห์สารทุติยภูมิที่ต่างกัน รวมถึงกรรมวิธีการสกัดยังส่งผลต่อ องค์ประกอบและปริมาณของกรดไขมันและสารสีแคโรทีนอยด์อีกด้วย (Ren et al., 2021) ซึ่ง ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาลงของปัจจัยดังกล่าวต่อการกระตุ้นการสังเคราะห์สารสีแคโรทีนอยด์และ กรดไขมันที่สำคัญใน *Odontella aurita* อย่างแพร่หลาย

อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังมีข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ ของสาหร่ายทะเลขนาดเล็กโดยเฉพาะสายพันธุ์ *Odontella* sp. ค่อนข้างจำกัด อีกทั้งปริมาณของ รังควัตถุต่าง ๆ ในสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก เช่น fucoxanthin และ carotenoids อื่น ๆ สะท้อนถึง ความแตกต่างของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม และคุณค่าธาตุอาหารในทะเลชายฝั่งภาค ตะวันออกของประเทศไทยจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ วิเคราะห์องค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารแคโรทีนอยด์ สารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ จากสารสกัดหยาบเมทานอลของ *Odontella* sp. ที่เก็บตัวอย่างจากทะเลภาคตะวันออกของ ประเทศไทย พร้อมทั้งประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อสนับสนุนการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริม อาหารหรือสารออกฤทธิ์ทางยาในอนาคต

วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ที่เก็บจาก ชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยวิธี DPPH และ ABTS
2. เพื่อหาปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในสาร สกัดเมทานอลโดยใช้เทคนิค HPLC

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดแยกและเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้รับตัวอย่างสาหร่ายจากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพาซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็กชนิด *Odontella* sp. ในพื้นที่ริมชายฝั่งทะเลบางแสน จังหวัดชลบุรีที่ผ่านการศึกษาสภาวะที่มีความเค็ม 30 ppt ในอาหาร F/2 ของ Guillard (1975) และ เพิ่มปริมาณสาหร่ายที่ระยะการเจริญเติบโตที่ระยะต่าง ๆ โดยท่านอาจารย์ ดร.อมรรัตน์ กนกรุ่งและ ทีมวิจัย (อมรรัตน์ กนกรุ่งและคณะ, 2563)

2. การเตรียมสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp.

นำสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Odontella* sp. ที่ระยะการเจริญเติบโตที่ระยะ stationary มา ล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อล้างผลึกเกลือออกให้หมด จากนั้นนำมาสกัดหยาบด้วยเมทานอลอัตราส่วน (1:25) และนำไปสกัดในเครื่องอัลตราโซนิก (sonicator) นาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g นาน 5 นาที เพื่อแยกสารสกัดเมทานอล ซ้ำ 3 รอบ หรือ จนกว่าสารสกัดจะใส นำส่วนของสารสกัดเมทานอลที่ได้รวมกันแล้วนำมาระเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator จนได้สารสกัดหยาบเมทานอลของ *Odontella* sp. และสารสกัดจะถูกเก็บไว้ในตู้เย็นที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในภาชนะที่ปิดสนิท เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของสารสกัดจนกว่าจะนำ ออกมาวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ของสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp.

1. วิธี DPPH free radical scavenging activity เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วง เมื่อ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจน จะเปลี่ยนเป็น DPPH:H เกิดเป็นสารไม่มีสี โดยทำการทดสอบตามวิธีของ Zhang et al. (2013) และ Vongsak et al. (2013) โดยใช้ 1 mM 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในสารละลายเมทานอลเป็นสารทดสอบ และใช้สารมาตรฐานเป็นอนุพันธ์ของวิตามินซี (Trolox) เป็นสารมาตรฐาน เตรียมสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน และสารละลายอนุพันธ์ของวิตามินซี หรือ Trolox (10-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ผสม 20 ไมโครลิตร ของสารละลายมาตรฐาน trolox กับ 180 ไมโครลิตร ของ 1.0 mM DPPH ใน methanol solution ลงใน 96-well plate ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหา % radical scavenging activity ตามสมการ % DPPH scavenging activity = $A_{\text{control}} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}) / A_{\text{control}} \times 100$ (Vongsak et al., 2013) จากนั้นเปรียบเทียบ % DPPH scavenging activity ของสารละลายตัวอย่างกับกราฟสารละลายมาตรฐาน Trolox เพื่อหาความเข้มข้นที่ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ 50% (IC_{50}) จากสมการเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน Trolox

2. วิธี ABTS free radical-scavenging activity เป็นการทดสอบโดย ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt) จะถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวกด้วยการเติมโปแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นไม่มีสี โดยใช้วิธีทดสอบตามวิธีของ Rahim et al. (2008) เตรียมสารละลาย ABTS ผสม 7 mM ABTS กับ 2.45 mM $K_2S_2O_8$ (Dipotassium peroxodisulphate) ให้เข้ากัน แล้วเจือจางด้วยสารละลายเมทานอล ในอัตราส่วน ABTS ต่อสารละลายเมทานอล เท่ากับ 1 ต่อ 4 วัดค่าการดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง 0.7-0.9 ที่ความยาว คลื่น 734 nm และเตรียมสารสกัดตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยตัวทำละลาย ผสมสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้วกับสารสกัดตัวอย่างผสมให้เข้ากัน โดยให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 200 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณหา ABTS scavenging activity (%) (Vongsak et al., 2013) จากนั้นนำสารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูล อิสระ ABTS ได้ดีที่สุด ไปทดสอบหา IC_{50} ที่ความเข้มข้นระหว่าง 3-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงจาก Vongsak et al. (2013) นำตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเติม 7.5% (w/v) Na_2CO_3 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้ง ไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ Microplate reader ที่ ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของ gallic acid นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ไปเปรียบเทียบกับกราฟ

มาตรฐาน gallic acid ที่ได้โดยแสดงปริมาณฟีนอลิกรวม gallic acid equivalent (GAE) เป็นหน่วย กรัม GAE ต่อ 100 กรัมสารสกัด (g GAE/ 100 g extract)

5. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Total Flavonoid Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content) ด้วย aluminum chloride colorimetric method มาจากการศึกษาของ Chang et al. (2002) เตรียมสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับ 100 ไมโครลิตร ของ aluminum chloride ($AlCl_3$) solution ที่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน quercetin solution (1-1000 μ g/ml) ที่ได้ โดยแสดงปริมาณ quercetin equivalent (QE) เป็นหน่วย กรัม QE ต่อ 100 กรัมสารสกัด (g QE/ 100 g extract)

6. การวิเคราะห์สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน astaxanthin, fucoxanthin, canthaxanthin และ zeaxanthin ซึ่งน้ำหนักสารมาตรฐาน 2 มิลลิกรัม ละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 2 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (stock solution) เตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อฉีด HPLC ด้วยตัวทำละลายเดียวกันที่ความเข้มข้น 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ละลายสารสกัดด้วยตัวทำละลาย methanol 1 มิลลิลิตร และเตรียมเตรียมสารสกัดหยาบ *Odontella* sp. ที่ระยะต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กรองสารละลายที่ทำการวิเคราะห์ด้วย syringe microfilter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ดัดแปลงตามวิธี Straiti et al. (2012) ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานทุกครั้งก่อนเริ่มทำการวิเคราะห์ โดยเครื่องตรวจวัดชนิด photodiode array detector ที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะ : คอลัมน์ C_{18} Hypersil BDS (ขนาด 4.6 X 300 มิลลิเมตร, I.D., 5 ไมโครเมตร) สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกสาร โดยเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย Methanol: Acetonitrile : Dichloromethane: DI water (82:7.5:6.5:4.0) ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรที่ฉีด 20 ไมโครลิตร วิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในสารสกัดหยาบเมทานอลของ *Odontella* sp. เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน astaxanthin, fucoxanthin, canthaxanthin และ zeaxanthin จากกราฟสารละลายมาตรฐาน

7. สถิติการในการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ S.D.) โดยทุกการทดลองจะทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง ($n=3$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกลุ่มข้อมูลโดยใช้สถิติ two-tailed Student's *t*-test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปวิเคราะห์ผลทางสถิติ SPSS 21 (IBM, USA) พิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะของสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Odontella* sp. ที่ใช้ในการศึกษา

สาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Odontella* sp. จัดอยู่ในกลุ่ม Bacillariophyta ได้รับตัวอย่างจากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพาซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มไดอะตอม ที่ทำการสำรวจและแยกจากพื้นที่ริมชายฝั่งทะเลบางแสน จังหวัดชลบุรี สาหร่ายขนาดเล็กนี้มีสีน้ำตาล ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมื่อทำการส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสดงดังภาพประกอบที่ 1 โดยเซลล์มีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้ายาว และที่ปลายสองข้างมีส่วนที่ยื่น (processes) 2-3 เส้น เซลล์มีความยาวประมาณ 70-100 ไมโครเมตร ที่ด้านข้างเซลล์มีผนังซิลิกาบาง ๆ โดยในประเทศไทยมีรายงานการพบสาหร่ายทะเลขนาดเล็กสกุลนี้ได้แก่ *Odontella aurita*, *O. sinensis*, *O. mobiliensis* และ *O. rhombus* เป็นต้น ในบริเวณระบบนิเวศแนวปะการังของเกาะสีชังและแสมสาร และเกาะช้างเคียงอื่น ๆ (อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์, 2557)



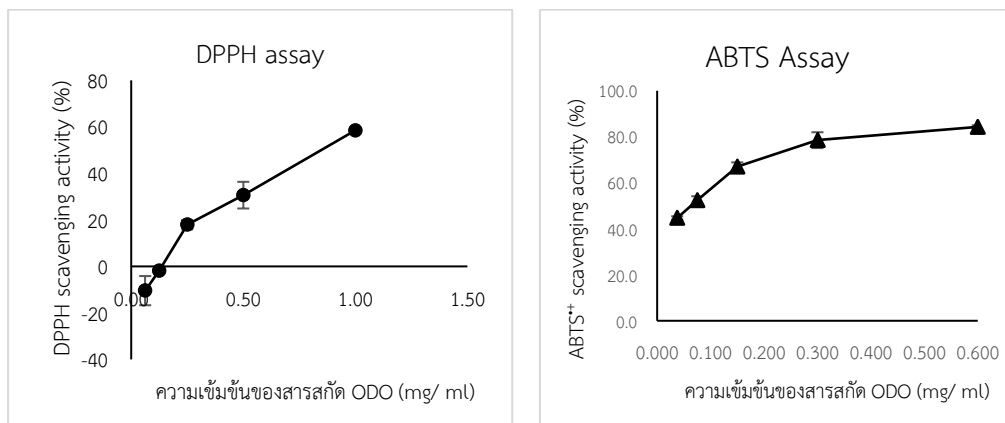
ภาพประกอบที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Odontella* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. ผลของการสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp.

การสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ด้วยเครื่องอัลตราโซนิก ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator โดยอาศัยหลักการระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัดเพื่อให้ตัวทำละลายเมทานอลระเหยออกไปในรูปแบบก๊าซและจะถูกทำให้เย็นลงในคอนเดนเซอร์เป็นของเหลวกลับคืนมา ได้ปริมาณสารสกัดหยาบคิดเป็นร้อยละของผลผลิต (%Yield) เท่ากับ 3.03 ± 0.23 ของน้ำหนักสด โดยสารสกัดมีสีเขียวอมน้ำตาลเข้ม ลักษณะเหนียวข้นหนืด

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และยังสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ได้ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2 และตารางที่ 1



ภาพประกอบที่ 2 กราฟแสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• และ ABTS• ของสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. (ODO) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (n=3)

ตารางที่ 1ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ด้วยวิธี DPPH, ABTS

สารทดสอบ	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	
	DPPH (IC ₅₀ mg/ml)	ABTS (IC ₅₀ mg/ml)
<i>Odontella</i> sp.	0.910 $\pm$ 0.04	0.057 $\pm$ 0.04
Trolox	0.048 $\pm$ 0.01*	0.020 $\pm$ 0.00 *

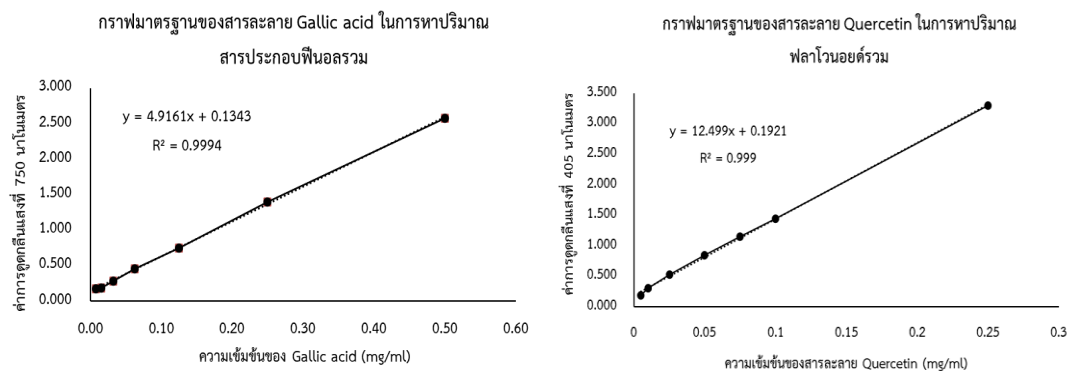
* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับสารทดสอบที่ p-value < 0.05

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ที่เก็บตัวอย่างจากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย พบว่า สารสกัดดังกล่าวสามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งในระบบ ABTS• และ DPPH• โดยในการทดสอบด้วยวิธี ABTS• assay พบว่าค่า IC₅₀ ของสารสกัดเมทานอลเท่ากับ 0.057 $\pm$ 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารมาตรฐาน Trolox มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.020 $\pm$ 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า Trolox อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.05) ดังแสดงในตารางที่ 1 และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ DPPH• assay พบว่า สารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.910 $\pm$ 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารมาตรฐาน Trolox มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.048 $\pm$ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นผลเช่นเดียวกันว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่ต่ำกว่าสารมาตรฐาน Trolox อย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05) ผลการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า แม้สารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าสารมาตรฐาน แต่ยังถือว่ามีความน่าสนใจ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cuong et al. (2023) ซึ่งรายงานว่าสารสกัดจาก *Odontella aurita* ด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม:เมทานอล (CM) มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.821 $\pm$ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ ABTS• และ 5.463 $\pm$ 0.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ DPPH• ตามลำดับ การเปรียบเทียบผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยสารสกัดเมทานอลในงานวิจัยนี้มีค่า IC₅₀ ต่ำกว่าสารสกัดแบบ CM ใน

งานวิจัยของ Cuong et al. (2023) ซึ่งหมายถึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า งานวิจัยนี้ยืนยันแนวโน้มที่พบในงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ชี้ว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดสาหร่ายทะเลจะเปลี่ยนแปลงไปตามประเภทของตัวทำละลายที่ใช้ โดยมีผลต่อปริมาณสารสำคัญ เช่น แคโรทีนอยด์ และฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ (Hemalatha et al., 2015) อีกทั้งตามรายงานของ Ren et al. (2022) ยังพบว่าสาหร่ายทะเลขนาดเล็กนั้นมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงและกระตุ้นให้มีการสร้างสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่ต้องการได้ในสภาวะเครียดต่าง ๆ เช่น การเพาะเลี้ยงในสภาวะความเค็ม ปริมาณสารอาหาร (ไนโตรเจน ฟอสเฟต) หรืออุณหภูมิที่สูง เป็นต้น ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาปัจจัยการเพาะเลี้ยงที่อาจส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายทะเลขนาดเล็กอย่าง *Odontella* sp. ต่อไปในอนาคตอีกด้วย

4. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp.

ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ของสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 18.9 ± 0.7 กรัม GAE ต่อ 100 กรัมสารสกัด เมื่อเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพประกอบที่ 3 ส่วนผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminum Trichloride พบว่าสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 17.5 ± 0.6 กรัม QE ต่อ 100 กรัมสารสกัด เมื่อเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน Quercetin ดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพประกอบที่ 3 จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. จากแถบชายฝั่งทะเลทางภาคตะวันออกของประเทศไทย



ภาพประกอบที่ 3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid (A) กราฟมาตรฐานของสารละลาย Quercetin (B) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (n=3)

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัด

สารสกัด	ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (g GAE/ 100 g extract $\pm$ SD)	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม (g QE/ 100 g extract $\pm$ SD)
<i>Odontella</i> sp.	18.9 ± 0.7	17.5 ± 0.6

ผลลัพธ์ของการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า *Odontella* sp. ที่เก็บจากแหล่งธรรมชาติในประเทศไทยมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และอาจมีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดังกล่าว โดยสอดคล้องกับกลไกของสารฟีนอลิกที่สามารถให้

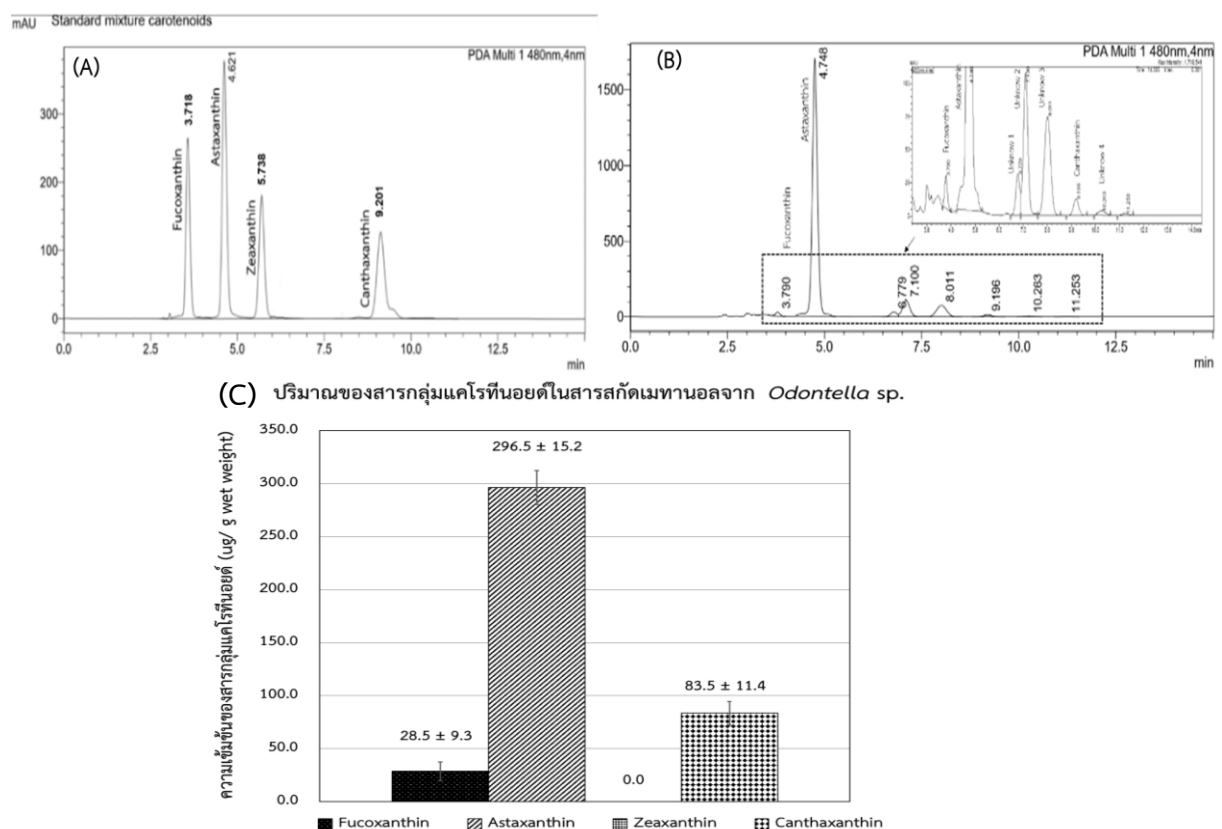
ไฮโดรเจนแก๊วอนุมูลอิสระได้ และอนุมูลอิสระของสารฟีนอลิกที่เกิดขึ้นมักมีความเสถียร จึงไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่เพิ่มเติม นอกจากนี้ สารฟีนอลิกบางชนิดยังสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Goiris et al., 2012; Zhao et al., 2022) ในด้านเปรียบเทียบเชิงปริมาณ เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Hemalatha et al. (2015) พบว่าสารสกัดเมทานอลของ *Odontella aurita* มีปริมาณฟีนอลิกรวมเพียง 0.55 ± 0.031 กรัม GAE ต่อ 100 กรัมสารสกัด พบว่างานวิจัยในครั้งนี้มีค่าปริมาณฟีนอลิกที่สูงกว่าหลายเท่าตัว โดยความแตกต่างดังกล่าวอาจเกิดจากวิธีการเตรียมสารสกัดที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะการใช้เทคนิค sonication ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์จากเซลล์สาหร่ายอย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ สารฟลาโวนอยด์เป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกที่มีโครงสร้างสำคัญต่อการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีวงโครมาโฟร์และหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพโดยรวมในการต้านออกซิเดชัน (Oliveira et al., 2017) นอกจากฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังมีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สามารถแสดง ฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ชะลอความแก่ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการพัฒนาไกลในการบำบัดโรคอัลไซเมอร์ เป็นต้น (An et al., 2023; Elombo et al., 2021) ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Odontella* sp. มีแนวโน้มที่น่าสนใจในการศึกษาเพื่อสนับสนุนการประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับโรคอัลไซเมอร์จากสารสกัดดังกล่าวได้ ซึ่งควรมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ต่อไปในอนาคต

5. ปริมาณสารสำคัญกลุ่มแคโรทีนอยด์ในสารสกัดเมทานอลจาก *Odontella* sp.

จากการศึกษาชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ด้วยระบบของเครื่องโครมาโตกราฟ ชนิดของเหลวความดันสูง (HPLC) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกลุ่มแคโรทีนอยด์จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารมาตรฐาน fucoxanthin (R_t 3.7 min) astaxanthin (R_t 4.6 min) zeaxanthin (R_t 5.7 min) และ canthaxanthin (R_t 9.2 min) เปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. ดังภาพประกอบที่ 4 พบว่าในสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. มีสารสี astaxanthin อยู่มีปริมาณสูงสุดที่ 296.5 ± 15.2 $\mu\text{g/g}$ รองลงมาพบสาร canthaxanthin 83.5 ± 11.4 $\mu\text{g/g}$ และ fucoxanthin 28.50 $\mu\text{g/g}$ น้ำหนักสด ตามลำดับ ทั้งนี้ จากผลการวิเคราะห์ดังกล่าวไม่พบโครมาโตแกรมของสาร zeaxanthin ในสารสกัดหยาบเมทานอลของ *Odontella* sp. ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณ zeaxanthin ในสาหร่ายทะเลขนาดเล็กสีน้ำตาลนั้นมีปริมาณที่น้อยมากและอาจเกิดจากประสิทธิภาพของกระบวนการสกัดหรือตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดไม่เหมาะสมในการสกัดสารดังกล่าว ทั้งนี้สาร zeaxanthin สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายระหว่างเฮกเซนต่อเมทานอล ที่อัตราส่วน 3:2 (Ren et al., 2021) โดยอาจพิจารณาในการศึกษารั้งต่อไป

งานวิจัยของ Cuong et al. (2024) พบว่าสารสกัดจากคลอโรฟอร์มเมทานอลของสาหร่าย *Odontella aurita* มีปริมาณสาร fucoxanthin อยู่ 51.75 ± 3.1 $\mu\text{g/mg}$ dry weight ซึ่งพบมากกว่าการศึกษารั้งนี้ อย่างไรก็ตามการศึกษารั้งนี้ ทั้งนี้การศึกษารั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดเมทานอลของ *Odontella* sp. มีปริมาณสาร astaxanthin และ canthaxanthin ที่สูงกว่า fucoxanthin ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาสาร astaxanthin และ canthaxanthin ในสาหร่ายทะเล *Odontella*

มาก่อน จึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่ง ผลการวิเคราะห์ข้างต้นแสดงให้เห็นว่า *Odontella* sp. นอกจากจะเป็นแหล่งของ fucoxanthin ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์หลักที่พบได้ทั่วไปในสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก (Moreau et al., 2006; Xia et al., 2013) ยังสามารถสังเคราะห์และสะสมสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น astaxanthin และ canthaxanthin ได้อีกด้วย โดยมีรายงานก่อนหน้านี้ของ Zhao et al. (2022) ซึ่งได้แสดงให้เห็นว่าแคโรทีนอยด์ที่พบใน *Odontella aurita* มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญต่อสุขภาพ ได้แก่ ต้านมะเร็ง (anticancer), ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory), และต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Moreau et al., 2006; Zhao et al., 2022)



ภาพประกอบที่ 4 (A) HPLC โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน และ (B) โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบเมทานอลของ *Odontella* sp. (C) กราฟแท่งแสดงความเข้มข้นของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ในสารสกัด *Odontella* sp. (n=3)

นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Cuong et al. (2023) และ Cuong et al. (2024) ซึ่งใช้เทคนิค HPLC-UV วิเคราะห์ปริมาณ fucoxanthin ในสารสกัดคลอโรฟอร์ม:เมทานอล (CM extract) ของ *Odontella aurita* พบว่า CM extract มีปริมาณ fucoxanthin สูงสุดอยู่ที่ $51.75 \pm 3.1 \mu\text{g/mg}$ น้ำหนักแห้ง ซึ่งมีค่ามากกว่าสารสกัดเอทานอล ถึง 33.17 เท่า และไม่ตรวจพบ fucoxanthin ในสารสกัดน้ำร้อน (HW extract) ผลการศึกษาของ Cuong et al., (2023) ยังระบุว่า ชนิดของตัวทำละลายและกระบวนการสกัดมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณ fucoxanthin ที่สะสมได้ โดยพบความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง ปริมาณ fucoxanthin กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ ในขณะที่งานวิจัยนี้พบว่าแม้ปริมาณ fucoxanthin ในสารสกัดเมทา

นอลของ *Odontella* sp. จะอยู่ในระดับต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับ CM extract ของ Cuong et al., (2023) แต่กลับมี astaxanthin และ canthaxanthin ในปริมาณที่สูงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งถือเป็นการค้นพบที่สะท้อนถึงความหลากหลายขององค์ประกอบแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสกุล *Odontella* ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับสายพันธุ์เฉพาะและปัจจัยต่าง ๆ ทางสิ่งแวดล้อม เช่น ตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ ฤดูกาล รวมถึงอุณหภูมิ ความเค็ม ความเข้มข้นของแสง และความเข้มข้นของสารอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง สาหร่ายขนาดเล็ก รวมถึงวิธีการสกัดนั้นล้วนส่งผลต่อองค์ประกอบและปริมาณของกรดไขมันและสารสีแคโรทีนอยด์อีกด้วย ดังนั้นการศึกษาวิจัยในอนาคตควรคำนึงถึงการเพาะเลี้ยง *Odontella* sp. ในสภาวะอุณหภูมิ ความเค็ม หรือความเข้มข้นของสารอาหาร เช่น ไนเตรต ฟอสเฟต ที่ต่างกันซึ่งอาจมีผลทำให้ *Odontella* sp. มีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นได้ (Ren et al., 2021)

สรุปผลการทดลอง

สาหร่ายทะเลขนาดเล็กกลุ่มไดอะตอม *Odontella* sp. ที่เก็บจากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลโดยใช้เครื่องอัลตราโซนิก พบว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อประเมินด้วยวิธี ABTS assay และ DPPH assay โดยแสดงค่ากิจกรรมที่ชัดเจนในการดักจับอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมทานอลดังกล่าว พบว่ามีสารสำคัญในกลุ่ม ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแคโรทีนอยด์ โดยเฉพาะกลุ่มแคโรทีนอยด์ ได้แก่ fucoxanthin, astaxanthin และ canthaxanthin ซึ่งเป็นการค้นพบที่แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายขององค์ประกอบแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสกุล *Odontella* ซึ่งอาจแปรผันตามสายพันธุ์เฉพาะ รวมถึงปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมของแหล่งที่มา จากผลการวิจัยดังกล่าว ชี้ให้เห็นถึง ศักยภาพของ *Odontella* sp. ในการพัฒนาเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางธรรมชาติ ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเสริมเพื่อสุขภาพหรือเครื่องสำอางได้ในอนาคต อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีพื้นฐาน จึงควรมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นเพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ตลอดจนการประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ เพื่อยืนยันความปลอดภัยและประสิทธิภาพในการใช้งานเชิงพาณิชย์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ประเภเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 (งบบูรณาการวิจัยและนวัตกรรม) มหาวิทยาลัยบูรพา (สัญญาเลขที่ 1.1/2562)

บรรณานุกรม

- สุนทรต์ ชูลักษณ์, ปุริดา สุพิทธิย์, และวิชุดา จันทร์ข้างแรม. (2564). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 23(3), น. 97-111.
- อมรรัตน์ กนกรุ่ง, สุพัตรา ตะเหลบ, ณิชยา สิรินนท์ธนา, และคณางค์ รัตนานิคม. (2563). ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มไดอะตอม 3 ชนิด *Thalassiosira* sp., *Odontella*

- sp. และ *Chaetoceros* sp. เลี้ยงด้วยระดับความเค็มที่แตกต่างกัน. *แก่นเกษตร*, 48 (พิเศษ1). น. 975-982.
- อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์. (2557). ความหลากหลายของเซนทริคไดอะตอมบริเวณเกาะสีชังและเกาะเสม็ดสาร (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- An, S. M., Cho, K., Kim, E. S., Ki, H., Choi, G., and Kang, N. S. (2023). Description and characterization of the *Odontella aurita* OAOSH22, a marine diatom rich in eicosapentaenoic acid and fucoxanthin, Isolated from Osan Harbor, Korea. *Marine Drugs*, 21(11), 563. <https://doi.org/10.3390/md21110563>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., and Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chew, K. W., Chia, S. R., Show, P. L., Yap, Y. J., Ling, T. C., and Chang, J. S. (2017). Microalgae biorefinery: High value products perspectives. *Bioresource Technology*, 229, 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.006>
- Chuyen, H. V. and Eun, J. B. (2017). Marine carotenoids: Bioactivities and potential benefits to human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 57(12). 2600-2610. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1063477>. PMID: 26565683
- Cuong, D. M., Kim, D. K., Ediriweera, M. K., Park, J., Moon, J. Y., and Cho, S. K. (2023). Effects of the drying method and extraction solvent on antioxidant and anti-inflammatory activity of *Melosira nummuloides* bioproducts. *Applied Biological Chemistry*, 66(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13765-023-00817-y>
- Cuong, D. M., Yang, S. H., Kim, J. S., Moon J. Y., Choi, J., Go G. M., and Cho, S. K. (2024). Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity and identification of bioactive compound from the marine diatom, *Odontella aurita* extract. *Applied Biological Chemistry*, 67(46). 1-15. <https://doi.org/10.1186/s13765-024-00898-3>
- Elombo, F. K., Chan, Z. Y., Eto, B., Gressier, B., Njayou, F. N., and Moundipa, P. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Odontella aurita* aqueous extract. *Biochemistry and Physiology*, 10(9), 1-6.

- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2014). Scientific opinion on the safety of astaxanthin-rich ingredients from *Haematococcus pluvialis* as a novel food. *European Food Safety Authority Journal*, 12(7), 3757.
- Goiris, K., Muylaert, K., Fraeye, I., Foubert, I., de Brabanter, J., and de Cooman, L. (2012). Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *Journal of Applied Phycology*, 24, 1477–1486.
- Gouveia, L., and Castilho, P. C. (2017). Microalgae as a raw material for bioactive and functional ingredients. In I. C. R. Torres (Ed.), *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals* (pp. 1–27). Woodhead Publishing.
- Guillard, R.R. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In W.L. Smith, & M.H. Chanley (Eds.), *Culture of marine invertebrate animals* (pp. 296–360). Plenum: New York.
- Hemalatha, A., Parthiban, C., Saranya, C., Girija, K., and Anantharaman, P. (2015). Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of different solvent extracts of selected marine diatoms. *Indian Journal of Geo-Marine Science*, 44(10), 1630-1636.
- Mohamed, S., Hashim, S. N., and Rahman, H. A. (2012). Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science & Technology*, 23(2), 83–96. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.09.001>
- Moreau, D., Tomasoni, C., Jacquot, C., Kaas, R., Le Guedes, R., Cadoret, J.-P., Muller-Feuga, A., Kontiza, I., Vagias, C., Roussis, V., and Roussakis, C. (2006). Cultivated microalgae and the carotenoid fucoxanthin from *Odontella aurita* as potent anti-proliferative agents in bronchopulmonary and epithelial cell lines. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22(1), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2006.01.004>
- Oliveira, A. S., Cercato, L. M., de Santana Souza M. T., Melo A. J. O., Lima B. D. S., Duarte, M. C., Araujo, A. A. S., de Oliveira, E., Silva, A. M., and Camargo, E. A. (2017). The ethanol extract of *Leonurus sibiricus* L. induces antioxidant, antinociceptive and topical anti-inflammatory effects. *Journal of Ethnopharmacology*. 206, 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.029>

- Rahim, A. A., Rocca, E., Steinmetz, J., Kassim, M. J., Ibrahim, M. S., and Osman, H. (2008). Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts. *Food Chemistry*, 107(1), 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.005>
- Rammuni, M. N., Ariyadasa, T. U., Nimarshana, P. H. V., and Attalage, R. A. (2019). Comparative assessment on the extraction of carotenoids from microalgal sources: Astaxanthin from *H. pluvialis* and β -carotene from *D. salina*. *Food Chemistry*, 277, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.066>
- Ren, Y., Sun, H., Deng, J., Huang, J., and Chen, F. (2021). Carotenoid Production from Microalgae: Biosynthesis, Salinity Responses and Novel Biotechnologies. *Marine Drugs*, 19(12), 713. <https://doi.org/10.3390/md19120713>
- Strati, I. F., Sinanoglou, V. J., Kora, L., Miniadis-Meimaroglou, S., and Oreopoulou, V. (2012). Carotenoids from Foods of Plant, Animal and Marine Origin: An Efficient HPLC-DAD Separation Method. *Foods*, 1(1), 52-65. <https://doi.org/10.3390/foods1010052>
- Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., and Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, 44, 566–571. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.021>
- Xia, S., Wang, K., Wan, L., Li, A., Hu, Q., & Zhang, C. (2013). Production, Characterization, and Antioxidant Activity of Fucoxanthin from the Marine Diatom *Odontella aurita*. *Marine Drugs*, 11(7), 2667-2681. <https://doi.org/10.3390/md11072667>
- Zhang, Y., Li, Q., Xing, H., Lu, X., Zhao, L., Qu, K., and Bi, K. (2013). Evaluation of antioxidant activity of ten compounds in different tea samples by means of an on-line HPLC-DPPH assay. *Food Research International*, 53, 847–856. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.026>
- Zhao, W., Yao, R., He, X. S., Liao, Z. H., Liu, Y. T., Gao, B. Y., Zhang, C. W., and Niu, J. (2022). Beneficial contribution of the microalga *Odontella aurita* to the growth, immune response, antioxidant capacity, and hepatic health of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*). *Aquaculture*, 555, 738206. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738206>