

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลการต้านแบคทีเรียและอนุมูลอิสระของสารสกัดสาหร่ายเกลียวทอง

ผู้เขียน นางสาวณิษฐา คงยอด

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยิ่งมณี ตระกูลพั้ว ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี พิรพรพิศาล กรรมการ

บทคัดย่อ

Spirulina platensis หรือสาหร่ายเกลียวทองจัดเป็นไซยาโนแบคทีเรีย พบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม เจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีความเป็นด่างสูง เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้อุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายจึงถูกนำมาใช้ผลิตเป็นอาหารเสริมของคนและสัตว์ นอกจากนี้ยังมีการนำมาผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหลากหลายชนิด การวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลการยับยั้งของสารสกัดสาหร่าย *Spirulina platensis* ต่อแบคทีเรีย methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* และ *Shigella flexneri* และศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาหร่าย *Spirulina platensis* จากการสกัดสาหร่ายด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ hexane, dichloromethane, methanol, ethanol และน้ำ พบว่าปริมาณสารสกัดของสาหร่ายที่สกัดด้วย methanol มีปริมาณ % yield มากที่สุด รองลงมาคือ น้ำ, ethanol, dichloromethane และ hexane เมื่อทดสอบยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย พบว่า สารสกัดสาหร่าย ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical cation decolorization assay พบว่าสารสกัด methanol ของสาหร่ายมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัด ethanol, hexane, dichloromethane และน้ำ โดยมีค่าเท่ากับ 0.074 ± 0.003 , 0.044 ± 0.002 , 0.026 ± 0.001 , 0.025 ± 0.001 และ 0.010 ± 0.001 TE mmol/g ของสารสกัด ตามลำดับ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัด methanol ของสาหร่ายมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัด ethanol, dichloromethane, hexane และน้ำ โดยมีค่าเท่ากับ 0.103 ± 0.034 , 0.080 ± 0.012 , 0.061 ± 0.003 , 0.049 ± 0.003 และ 0.043 ± 0.002 TE mmol/g ของสารสกัด ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต้าน oxidative protein damage ของสารสกัดสาหร่ายโดยวิธี SDS polyacrylamide gel electrophoresis พบว่าสารสกัดทั้งหมดมีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน โดยที่สารสกัด methanol ของสาหร่ายที่มีความเข้มข้น 10 mg/ml ให้ผลการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดีที่สุด สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัด methanol ของสาหร่ายมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด และการวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุของสารสกัดสาหร่าย พบว่าสารสกัด methanol ของสาหร่ายมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ มากที่สุด สารสกัด hexane ของสาหร่ายมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด และสารสกัดน้ำของสาหร่ายมีปริมาณไฟโค ไซยานินมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 169.71 ± 3.17 , 2.19 ± 0.04 และ 42.78 ± 1.89 mg/g สารสกัด ตามลำดับ ส่วนการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสาหร่ายต่อเซลล์เพาะเลี้ยง Green monkey kidney cell ด้วยวิธี MTT assay พบว่าสารสกัดของสาหร่ายที่มีค่าความเป็นพิษต่ำที่สุด คือ สารสกัด dichloromethane รองลงมาคือ สารสกัด hexane, น้ำ, ethanol และ methanol ซึ่งมีค่า CD_{50} เท่ากับ 3.69 ± 0.73 , 3.40 ± 0.09 , 3.23 ± 0.58 , 2.68 ± 0.53 และ 2.31 ± 0.18 mg/ml ตามลำดับ จากผลการทดลองเนื่องจากสารสกัด methanol ของสาหร่ายมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดจึงนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจล หลังจากทดสอบความคงตัวของเจล โดยเก็บเจลไว้ที่อุณหภูมิ 4, 25, 45 °C และทดสอบ heating-cooling cycle พบว่าเจลค่อนข้างมีความคงตัวสูง และเมื่อทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง พบว่าไม่เกิดอาการแพ้ในอาสาสมัคร

Thesis Title	Anti-Bacterial and Anti-Free Radical Effects of <i>Spirulina platensis</i> Extracts		
Author	Miss Khanittha Kongyod		
Degree	Master of Science (Biology)		
Thesis Advisory Committee	Assistant Professor Dr. Yingmanee Tragoolpua		Chairperson
	Associate Professor Dr. Yuwadee Peerapornpisal		Member

Abstract

Spirulina platensis is a cyanobacteria. It was found in fresh water, brackish water and sea water, especially in the highly alkaline water. It is used as a human and animal food supplements due to the excellent nutritional profile. Moreover, *Spirulina platensis* is applied as ingredients to diversified produce natural cosmetics. The aims of the present work were to study the antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* and *Shigella flexneri* and anti-free radical activities of extracts from *Spirulina platensis*. *Spirulina platensis* was extracted by various solvents. The highest yield of extract was obtained from methanol extraction followed by water, ethanol, dichloromethane and hexane extraction. The crude extracts did not show any antibacterial activity whereas anti-free radical activities were shown. After determination anti-free radical activity by ABTS radical cation decolorization assay, methanol extract showed highest anti-free radical activity followed by ethanol extract, hexane extract, dichloromethane extract and water extract, which demonstrated anti-free radical activities of 0.073 ± 0.002 , 0.043 ± 0.002 , 0.026 ± 0.001 , 0.025 ± 0.001 and 0.011 ± 0.001 TE mmol/g of

extract, respectively. When using DPPH radical scavenging assay, methanol extract showed highest activity followed by ethanol extract, dichloromethane extract, hexane extract, and water extract, which showed 0.103 ± 0.034 , 0.080 ± 0.012 , 0.061 ± 0.003 , 0.049 ± 0.003 and 0.043 ± 0.002 TE mmol/g of extract respectively. The protection against oxidative protein damage, the results were analyzed by SDS polyacrylamide gel electrophoresis. It was found that all extracts possess antioxidative activity and methanol extract at 15 mg/ml showed highest inhibitory activity on protein degradation. The phenolic contents of *Spirulina platensis* extracts were evaluated using the Folin-Ciocalteu method. The methanol extract showed highest phenolic content when compared with other extracts. The methanol extract contained highest chlorophyll a, whereas the hexane and water extracts contained highest carotenoid and phycocyanin, which were 169.71 ± 3.17 , 2.19 ± 0.04 and 42.78 ± 1.89 mg/g extract, respectively. Cytotoxicity of extracts were tested on Green Monkey Kidney Cells. It was found that dichloromethane extract showed highest toxicity followed by hexane extract, water extract, ethanol extract and methanol extract, with 50% cytotoxic doses of 3.70 ± 0.73 , 3.40 ± 0.09 , 3.23 ± 0.58 , 2.68 ± 0.53 and 2.31 ± 0.18 mg/ml, respectively. Thus, *S. platensis* gel was produced and the stability was shown after tested at 4, 25 and 45 °C with heating-cooling cycle. *S. platensis* gel was tested on skin of ten volunteers for 24 hours and skin irritation was not observed around tested area.