

สารประกอบเชิงหน้าที่ในการเพิ่มมูลค่าของสาหร่ายพวงองุ่น *Caulerpa lentillifera* Functional Ingredients on Creating Value Added in Sea Grape, *Caulerpa lentillifera*

สิทธิกรณ อยู่แจ่ม¹ เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน² นริศรา ไล่เลิศ³ และดวงพร อมรเลิศพิศาล^{1,2*}

Sittikorn Yoojam¹, Kriangsak Mengumphan², Narissara Lailerd⁴ and Dounporn Amornlerdpison^{1,2*}

¹คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

²ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางการเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

³ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

¹Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²Center of Excellence in Agricultural Innovation for Graduate Entrepreneur, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

³Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiangmai University, Chiang Mai, Thailand 50200

*Corresponding author: dounpornfishtech@gmail.com

Received: September 04, 2021

Revised: May 20, 2022

Accepted: June 15, 2022

Abstract

Caulerpa lentillifera is a green seaweed that is found mainly in southern Thailand and is consumed fresh as a healthy food. However, it was found that the residues from trimming or grading accounted for 70-80% of the amount. Therefore, the objective of this study was to increase the value of the seaweed as a functional ingredient. Extracts of *C. lentillifera* were obtained using solvents such as water, ethanol, ethyl acetate, and hexane. The composition of active substances and pharmacological activities were tested. The results showed that water was the most suitable solvent due to the high yield and high active compounds while showing the lowest extraction cost and safe for consumers. The aqueous extract of the alga contained polysaccharides and phenolic compounds which were the main important substances. In addition, many amino acids have been found to be beneficial in stimulating the production of collagen in human skin. The potential benefit was possible to be developed as an extract in cosmetic product for anti-aging. For the antibacterial activity that causes skin disease, it was found that the aqueous extract of the alga was less active than the extracts with other organic solvents. In addition, the aqueous extract also exhibited the effect of stimulating the secretion of insulin and increased glucose uptake in isolated rat diaphragm. The efficacy of hypoglycemic and lipid-lowering effects should be tested for diabetes in both animals and humans in further study.

Keyword: *Caulerpa lentillifera*, functional ingredient, phenolic compound, polysaccharide
glucose uptake

บทคัดย่อ

สาหร่ายพวงองุ่นเป็นสาหร่ายทะเลสีเขียวที่พบมากในภาคใต้และผู้บริโภคนิยมนำมารับประทานสดเป็นอาหารสุขภาพ แต่พบว่ามีเศษเหลือจากการตัดแต่งหรือตกเกรดซึ่งคิดเป็นปริมาณมากถึงร้อยละ 70-80 ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มมูลค่าสาหร่ายพวงองุ่นตกเกรดเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ โดยนำสาหร่ายมาสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทานอล เอทิลอะซิเตด และเฮกเซน ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสำคัญและทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ ผลการทดลองพบว่า น้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ปริมาณผลผลิตและสารสำคัญในปริมาณสูง มีค่าใช้จ่ายในการสกัดต่ำที่สุด และมีความปลอดภัยกับผู้บริโภค โดยพบว่าการสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นมีสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ และสารกลุ่มฟีนอลิกเป็นสารสำคัญหลัก นอกจากนี้ยังพบกรดอะมิโนหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนให้กับผิวหนัง จึงมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นสารสกัดในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อลดริ้วรอยได้อย่างเหมาะสม ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังพบว่า สารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์น้อยกว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ นอกจากนี้สารสกัดด้วยน้ำยังมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน และช่วยเพิ่มการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ดีในการทดสอบการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว ซึ่งควรจะมีการทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ลดน้ำตาลและไขมันเพื่อควบคุมโรคเบาหวานทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ตามลำดับต่อไป

คำสำคัญ: สาหร่ายพวงองุ่น สารประกอบเชิงหน้าที่ สารฟีนอลิก พอลิแซ็กคาไรด์ ฤทธิ์เพิ่มการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่เซลล์

คำนำ

สาหร่ายสีเขียวสกุล *Caulerpa* ที่พบได้มากในภาคใต้ของประเทศไทยได้แก่ *Caulerpa lentillifera*, *C. racemosa* และ *C. macrophysa* ในปี พ.ศ. 2556 กรมประมงมีการส่งเสริมการเลี้ยงสาหร่ายทะเลเชิงพาณิชย์ โดยมีสาหร่ายพวงองุ่นหรือกรีนคาร์เวียร์ (*C. lentillifera*) เป็นโครงการนำร่องการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเลเพื่อเป็นอาหารสุขภาพ ปัจจุบันสาหร่ายชนิดนี้มีการกระจายตามชายฝั่งทะเลและมีแหล่งผลิตหลัก คือ เพชรบุรี กระบี่ ภูเก็ต และพังงา ซึ่งมีการเลี้ยงในบ่อดินอย่างแพร่หลาย ช่วยสร้างอาชีพและรายได้ เกิดห่วงโซ่การผลิตครบวงจร และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเรื่องรสชาติ รูปลักษณะที่สวยงาม และเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ จากการสัมภาษณ์ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจังหวัดเพชรบุรี ได้ให้ข้อมูลการผลิตสาหร่ายพวงองุ่นที่ส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะเลี้ยงในช่วงปี พ.ศ. 2560-2564 พบว่า มีผลผลิตจากการเลี้ยงระบบบ่อดิน 1 ตันต่อไร่ กำลังผลิตไม่น้อยกว่า 25 ตันต่อเดือน และ 350-500 ตันต่อปี ซึ่งมีปริมาณเพียงพอสำหรับการขยายผล การแปรรูปในระดับอุตสาหกรรมได้

ในช่วงการระบาดของไวรัสโควิด 19 เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงประสบปัญหาด้านผลผลิตสาหร่ายล้นตลาดและขาดการแปรรูปเพิ่มมูลค่า เนื่องจากผู้บริโภคนิยมนำมารับประทานสด อีกทั้งสาหร่ายสดมีอายุการเก็บรักษาสั้นควรบริโภคให้หมดภายใน 3-7 วัน และยังประสบกับปัญหาระบบการขนส่งหยุดกิจการ รวมทั้งขาดแรงงานในการตัดแต่งซอสสาหร่ายให้มีรูปร่างสวยงามตามความต้องการของผู้บริโภค ดังนั้นผลผลิตที่จำหน่ายได้จึงมีเพียงร้อยละ 20-30 เท่านั้น เกิดเศษเหลือหรือผลพลอยได้จากการตัดแต่ง ไม่เป็นข้อ มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 70-80 ของผลผลิตทั้งหมด หากจำหน่ายไม่ทันจะกลายเป็นของเหลือทิ้งและกำลังเป็นปัญหาของเกษตรกรในการกำจัด

เศษเหลือดังกล่าวอีกด้วย ดังนั้นที่มิวิจัยจึงมีแนวทางในการแปรรูปเพิ่มมูลค่าสาหร่ายสกุลนี้เป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ (Functional ingredient) เพื่อนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพและเวชสำอางต่อไป

สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) เป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบไปด้วยแร่ธาตุ คาร์โบไฮเดรต วิตามินเอ วิตามินซี และกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน รวมทั้งพบกรดอะมิโนจำเป็นอีกหลายชนิด (Matanjun *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระชนิด DPPH ในสาหร่ายพวงองุ่น (Yangthong and Towatanam, 2014) พบสารสำคัญกลุ่มโพลีฟีนอลที่มีฤทธิ์ในการช่วยป้องกันภาวะเบาหวานอีกด้วย (Matanjun *et al.*, 2010; Nguyen *et al.*, 2011) โดยสารสกัดเอทานอลของสาหร่ายพวงองุ่นสามารถช่วยเพิ่มการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน และช่วยเพิ่มการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้น และยังมีรายงานการวิจัยพบว่า สาหร่ายพวงองุ่นมีสารสำคัญกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Maeda *et al.*, 2012a) จึงมีศักยภาพในการนำมารับประทานเป็นอาหารเสริมในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าสารกลุ่มโพลีแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมได้อีกด้วย (Maeda *et al.*, 2012b)

จากฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นข้างต้นในการศึกษาครั้งนี้จึงนำสาหร่ายพวงองุ่นที่ตกเกรดหรือเศษเหลือจากการตัดแต่งมาสกัดเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ (Functional ingredient) แล้วนำไปวิเคราะห์สารสำคัญและฤทธิ์ชีวภาพเพื่อการขยายผลเชิงอุตสาหกรรม ผลการวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มมูลค่าสาหร่ายพวงองุ่นที่มีการเพาะเลี้ยงเพิ่มมากขึ้นในหลายจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย โดยนำสารสกัดไปเป็นส่วนผสมสำคัญในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเครื่องสำอางที่มีมูลค่าสูง ซึ่งนอกจากจะช่วยรองรับปริมาณผลผลิตสาหร่ายสดที่มีมากเกินไปเกินความต้องการของผู้บริโภคแล้ว

ยังช่วยเพิ่มมูลค่าสาหร่ายที่ตกเกรดที่ต้องทิ้งในแต่ละรอบของการผลิตได้อีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

นำสาหร่ายพวงองุ่นสดตกเกรดที่เก็บมาจากโครงการฟาร์มทะเลตัวอย่าง และศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งเพชรบุรี ตำบลแหลมผักเบี้ย อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี มาล้างด้วยน้ำประปาหลาย ๆ ครั้ง จนสะอาด จากนั้นนำมาทำแห้งด้วยการอบลมร้อนด้วยอุณหภูมิหลายชั้นเพื่อช่วยเร่งอัตราการถ่ายเทมวลความชื้นออกจากสาหร่ายสด ด้วยการใช้อุณหภูมิที่ 70°C. ในช่วงที่การอบแห้งที่ 1 ชั่วโมง และลดอุณหภูมิเหลือ 60°C. อบต่อจนแห้งที่ความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 ซึ่งสามารถรักษาสสมบัติทางกายภาพ เคมี และคุณค่าทางโภชนาการไว้ใกล้เคียงกับผลผลิตสด จากนั้นสกัดสาหร่ายด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ น้ำ เอทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน ในอัตราส่วนสาหร่ายแห้ง 50 กรัม นำมาแช่ในตัวทำละลายแต่ละชนิดปริมาตร 500 มิลลิลิตร ทำการสกัดโดยทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน และทำการเขย่าทุกวัน เมื่อครบกำหนดนำตัวทำละลายไปแยกตะกอนสาหร่ายออกโดยผ่านกระดาษกรอง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ส่วนสารสกัดก็นำไปทำแห้งต่อด้วยเครื่อง Freeze dry

การวิเคราะห์สารสำคัญจากสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

1) การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก

ตามวิธีการดัดแปลงจาก Hammerschmidt and Pratt (1978) โดยผสม Folin-ciocalteu ร้อยละ 10 ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร สารละลาย Na_2CO_3 ร้อยละ 7.5 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร และสารทดสอบปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดความยาวคลื่นที่ 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกโดยเทียบกับสารมาตรฐานกรด

แกลลิก (Gallic acid) ต่อน้ำหนักสารสกัดปริมาณ 1 กรัม โดยรายงานผลเป็น มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

2) วิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Paradossi *et al* (1999) ดังนี้ นำสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายมาตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วนสารสกัดต่อเอทานอล 1:2 โดยปริมาตร แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 55°ซ. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ที่ 4°ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำตะกอนที่ได้ออกให้แห้งที่ 55°ซ. คำนวณหาร้อยละของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้

3) การวิเคราะห์กรดอะมิโนในสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น โดยส่งตัวอย่างสารสกัดไปวิเคราะห์ ณ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) สาขาเชียงใหม่ โดยใช้ Gas Chromatography–Mass Spectroscopy (GC-MS) ซึ่งใช้วิธีทดสอบอ้างอิงจาก AOAC official method 994.12,988.15 (2000)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง

โดยวิธี Agar disc diffusion method ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคบริเวณผิวหนัง *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes* ในอาหาร Nutrient broth ปริมาตร 5 มล. ที่อุณหภูมิ 37°ซ. นาน 24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. acnes* ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะสภาวะอากาศโดยใช้ภาชนะที่มีฝาปิดสนิททำการบ่มนาน 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำมาปรับความขุ่นให้เทียบเท่ากับ MaFarland standard No.0.5 (เซลล์ประมาณ 10^8 เซลล์/มล.) นำไม้พันทันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงใน

หลอดเพาะเชื้อแล้วนำมาเกลี่ยบนผิวหน้าอาหาร Nutrient agar นำตัวอย่างสารสกัดสาหร่าย หยดลงบนกระดาศกรองปริมาตร 30 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวางบนผิวหน้าอาหาร โดยใช้ตัวทำละลายที่ทำการสกัดเป็น Negative control และใช้ยาปฏิชีวนะ Tetracycline ความเข้มข้น 5 มก./มล. เป็น Positive control และตัวทำละลายจะใช้ Dimethyl sulfoxide (DMSO) ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อช่วยให้สารสกัดและตัวทำละลายละลายได้ดีขึ้น นำจานอาหารบ่มที่ 37°ซ. นาน 24 ชั่วโมง (ยกเว้น *P. acnes* บ่มนาน 72 ชั่วโมง ในกล่องสุญญากาศ) เมื่อครบกำหนดเวลานำมาบันทึกผล โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ Tetracycline

การประเมินฤทธิ์การพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

ดัดแปลงจากวิธีการของ Thabet *et al.* (2008) ดังนี้ ทำการเลาะกล้ามเนื้อกระบังลม (Hemi-diaphragm) อย่างรวดเร็วและแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ล้างกล้ามเนื้อกระบังลมด้วยสารละลาย Balanced salt solution (BSS) จากนั้นกล้ามเนื้อกระบังลมจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ใส่ในขวดรูปชมพู่ (Conical flask) ที่บรรจุด้วยส่วนสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น ในสารละลาย BSS และกลูโคส ทั้งในสภาวะที่ไม่มีและมียินซูลิน เพื่อประเมินการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมในภาวะพัก (Basal glucose uptake) และภาวะที่กระตุ้นด้วยอินซูลิน (Insulin-stimulated glucose uptake) ตามลำดับ กล้ามเนื้อกระบังลมจะถูกบ่มเพาะด้วย CO₂ ร้อยละ 5 และ O₂ ร้อยละ 95 ใน Shaking water bath เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นคำนวณหาค่าการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลม จากสูตร

$$\text{Glucose uptake} = \frac{[\text{Glucose concentration before incubation} - \text{Glucose concentration after incubation}]}{\text{Weight of diaphragm (g)}}$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD.) ในการทดสอบหาปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกใช้สถิติ Pair t-test ค่า $p<0.05$ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และฤทธิ์ชีวภาพข้อมูลถูกเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง 3-5 กลุ่มทดลอง ใช้สถิติ Analysis of Variance (ANOVA) ตามด้วยการเปรียบเทียบภายหลังหรือ Post hoc test ด้วยวิธีสถิติของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ค่า $p<0.05$ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัยและวิจารณ์

สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

จากการสกัดสาหร่ายพวงองุ่นด้วยน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน พบว่าได้ปริมาณสารสกัด หรือ %yield คิดเป็น 24.72, 19.60, 15.24 และ 11.68% ตามลำดับ โดยสารสกัดน้ำ (Aqueous extract) มีสีเขียวอมเหลือง เป็นผงแห้ง ส่วนสารสกัดเอทานอลมีสีเขียวเข้มและเหนียวข้น

จึงได้คัดเลือกเฉพาะสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเปรียบเทียบกันเพื่อใช้ในการพิจารณาการนำไปใช้เป็น Functional extract ในอาหาร ส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตตและเฮกเซน ได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในผิวหนังเพื่อนำไปประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ผลของสารสำคัญจากสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

1) ปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ และเอทานอล โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรด Gallic พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดน้ำจากสาหร่ายพวงองุ่นมีค่าสูงกว่าสารสกัดเอทานอล (Table 1) ซึ่งจากระดับความเข้มข้นที่ต่างกันของตัวทำละลายจะส่งผลต่อการละลายหรือการสกัดสารที่มีองค์ประกอบทางเคมีประเภทต่าง ๆ รวมถึงสารประกอบฟีนอลิกออกมาจากตัวอย่างสาหร่าย ดังนั้นในการสกัดตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นด้วยน้ำที่มีความเข้มข้นสูงจะให้สารชีวภาพกลุ่มฟีนอลิกรวมในปริมาณสูง ซึ่งนอกจากจะปลอดภัยแล้วยังมีต้นทุนในการสกัดต่ำกว่าตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ อีกด้วย

Table 1 Comparison of phenolic content in various types of *Caulerpa lentillifera* extraction

Type of extraction	mgGAE/g extract
Aqueous extract	5.18±0.06 ^a
Ethanol extract	3.44±0.06 ^b

Values are expressed as means±standard deviation (n=3).

a, b values with different superscript annotations show significantly different ($p<0.05$).

2) ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น

สารสกัดด้วยน้ำหรือ Aqueous extract ของสาหร่ายพวงองุ่น พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ร้อยละ 84.10 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Maeda *et al* (2012a; 2012b) ที่พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย และฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมได้อีกด้วย ดังนั้นสารสกัดน้ำสามารถนำไปเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดน้ำนี้ไปใช้ประโยชน์ดังกล่าวจะได้มีการศึกษาการประเมินความปลอดภัยในการบริโภคและทดสอบทางคลินิกต่อไป

3) ปริมาณกรดอะมิโนในสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน 20 ชนิดพบว่า สารสกัดน้ำสาหร่ายพวงองุ่นมีกรดอะมิโนปริมาณเรียงจากมากไปน้อยดังนี้ Phenylalanine, Leucine, Lysine, Tyrosine, Glutamic acid, Isoleucine และ Aspartic acid แสดงรายละเอียดใน Table 2

Table 2 Amino acid profile of aqueous extract of *Caulerpa lentillifera*

Amino acid	mg/100 g	Amino acid	mg/100 g
Alanine	565	Leucine ²	1,912
Arginine	<5.00	Lysine ³	1,746
Aspartic acid	1,005 ⁷	Methionine	314
Cystine	420	Phenylalanine ¹	2,274
Glutamic acid	1,184 ⁵	Proline	518
Glycine	425	Serine	295
Histidine	546	Threonine	376
Hydroxylysine	<5.00	Tryptophen	115
Hydroxyproline	<5.00	Tyrosine ⁴	1,205
Isoleucine	1,163 ⁶	Valine	836

¹⁻⁶express high to low amounts of amino acid, respectively

กรดอะมิโนมีความสำคัญต่อมนุษย์โดยเป็นทั้งโครงสร้างของผิวหนังและยังควบคุมเมแทบอลิซึมหรือการเผาผลาญของโปรตีนในร่างกาย การเกิดริ้วรอยของผิวที่มีอายุมากขึ้นโดยเฉพาะรอยเหี่ยวย่นและหย่อนคล้อยของผิวเกิดมาจากปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ รังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) การถูกกระตุ้นด้วยสารเคมี การได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ และการได้รับอนุมูลอิสระที่มากเกินไปจนสมดุล โดยเฉพาะ UV ที่ส่งผลทำลายโปรตีนและคอลลาเจน

ที่ผิวหนังทำให้เกิดริ้วรอยหรือผิวหนังเหี่ยวย่น มีรายงานว่า Glutamine และ Proline เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างคอลลาเจน โดยไปเพิ่มการสังเคราะห์คอลลาเจนใน Fibroblast cells สามารถช่วยฟื้นฟูการสร้างคอลลาเจนของผิวหนังที่ถูกทำลายด้วยแสง UV ได้ (Hitoshi *et al*, 2012) นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยพบว่า Arginine, Ornithine และ Leucine เป็นกรดอะมิโนที่ช่วยกระตุ้นการหายของแผลอีกด้วย (Shi *et al*, 2002; Shi *et al*,

2003; Stechmiller *et al*, 2005; Zhang *et al*, 2004) ดังนั้นสารสกัดด้วยน้ำจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวลดริ้วรอยได้

ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังด้วยสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* ด้วยวิธี Agar disc diffusion method โดยใช้สารสกัดสาหร่ายด้วยน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน

ที่ความเข้มข้น 50 มก./มล. ผลการทดลองแสดงใน Table 3 พบว่า สารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังทั้ง 3 ชนิด ไม่แตกต่างกัน ส่วนสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์น้อยที่สุด ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังได้ แต่ควรเลือกตัวทำละลายในการสกัดเป็นสารอินทรีย์ จากผลการทดลองในครั้งนี้ควรเลือกใช้ตัวทำละลายเอทานอลเนื่องจากมีราคาถูก สามารถกำจัดได้ง่าย และมีความปลอดภัยสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเอทิลอะซิเตตและเฮกเซน

Table 3 Effect of different extractions of *Caulerpa lentillifera* on antibacterial activity against skin pathogens

Type of extraction (50 mg/mL)	Clear zone (cm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. acnes</i>
Aqueous extract	0.67±0.058 ^c	0.63±0.058 ^c	0.63±0.057 ^c
Ethanol extract	0.80±0.000 ^b	0.70±0.000 ^b	0.68±0.115 ^b
Ethyl acetate extract	0.90±0.000 ^b	0.73±0.058 ^b	0.66±0.115 ^b
Hexane extract	0.87±0.115 ^b	0.77±0.058 ^b	0.63±0.057 ^b
Tetracycline (5 mg/mL)	2.77±0.115 ^a	2.77±0.265 ^a	2.87±0.152 ^a

Values are expressed as means±standard deviation (n=3).

a, b, c values with different superscript annotations show significantly different ($p<0.05$)

ผลของสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นต่อการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว

Figure 1 แสดงผลการทดลองการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมซึ่งเป็นกล้ามเนื้อลายของหนูขาว พบว่าในภาวะที่ไม่มีฮอร์โมนอินซูลิน ค่าของ Basal glucose uptake ในกลุ่มที่ให้สารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ร้อยละ 0.25-2.0 มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนในภาวะที่มีฮอร์โมนอินซูลิน ขนาด 25 ยูนิต/

มล. (IU/mL) พบว่าค่าของ Insulin-stimulated glucose uptake ในกลุ่มที่ให้สารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นความเข้มข้นร้อยละ 2 มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลของ Delta glucose uptake ที่บ่งบอกภาวะการกระตุ้นการทำงานของฮอร์โมนอินซูลิน จึงสรุปได้ว่าสารสกัดสาหร่ายมีผลเพิ่มการทำงานของฮอร์โมนอินซูลินในการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อลาย

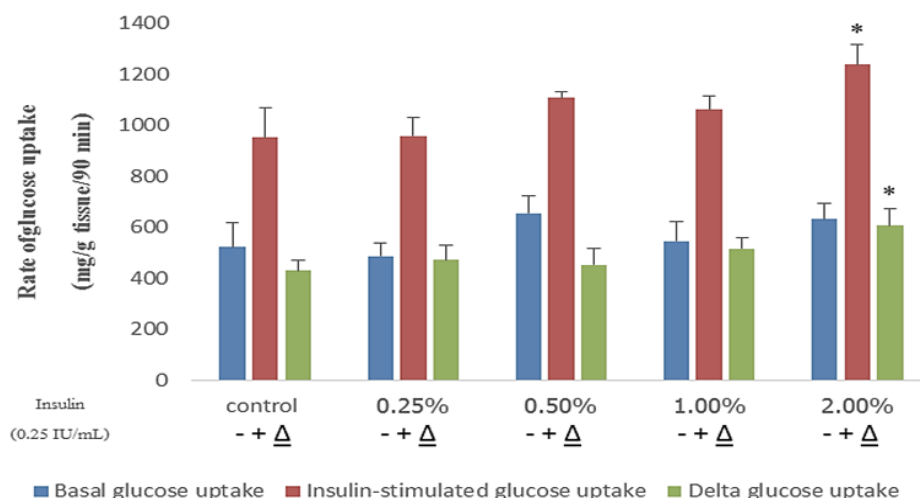


Figure 1 Effect of aqueous extract of *Caulerpa lentillifera* on glucose uptake and insulin sensitivity in rat diaphragm

จากการที่สารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ในการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อลาย ซึ่งจะส่งผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยในภาวะปกติเมื่อระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้นในภาวะหลังมื้ออาหาร ร่างกายจะมีกลไกที่สำคัญในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดให้อยู่ในระดับปกติหรือ Normal physiological level โดยการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินจากตับอ่อนออกมาสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้น ฮอร์โมนอินซูลินนี้จะช่วยลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด โดยกระตุ้นการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อลายหรือที่เรียกว่า Glucose uptake ซึ่งพบว่าร้อยละ 70 ของน้ำตาลกลูโคสในเลือดในภาวะหลังมื้ออาหารจะถูกนำเข้าสู่กล้ามเนื้อลาย ซึ่งผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่า สารสกัดเอทานอลของสาหร่ายพวงองุ่นสามารถช่วยเพิ่มการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin secretion) และช่วยเพิ่มการดูดซึมกลูโคสเข้าเซลล์ได้ดีขึ้น (Glucose uptake) จึงช่วยป้องกันภาวะเบาหวานได้ โดยฤทธิ์มาจากสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกที่พบมากในสาหร่ายชนิดนี้ (Matanjun *et al*, 2010; Nguyen *et al*, 2011) ผลจากการวิจัยในครั้งนี้ได้แสดงศักยภาพของสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น

ที่จะนำไปศึกษาต่อยอดเพื่อช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

สาหร่ายพวงองุ่นที่ตากแดดและเป็นเศษเหลือจากการตัดแต่งถูกนำมาเพิ่มมูลค่าเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน เพื่อคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม และนำไปขยายผลในระดับอุตสาหกรรม พบว่า น้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ปริมาณผลผลิตและสารสำคัญที่มีฤทธิ์ชีวภาพในปริมาณสูง อีกทั้งมีค่าใช้จ่ายในการสกัดต่ำที่สุด มีความปลอดภัยกับผู้บริโภคและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย โดยพบว่า สารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นให้สารสำคัญกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ และสารกลุ่มฟีนอลิก ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังพบกรดอะมิโนหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนให้กับผิวหนัง โดยพบกรดอะมิโนชนิด Phenylalanine, Leucine, Lysine, Tyrosine, Glutamic acid, Isoleucine และ Aspartic acid

สูงอีกด้วย ซึ่งมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นสารสกัดในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าเพื่อลดริ้วรอยได้อย่างเหมาะสม อีกทั้งมีชีวภาพที่น่าสนใจของสารสกัดน้ำจากสาหร่ายพวงองุ่น คือฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน และช่วยเพิ่มการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ดี ส่วนฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังพบว่า สารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์น้อยกว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ

จากการวิเคราะห์ตลาดธุรกิจอาหารเสริมในปัจจุบันพบว่า อาหารเสริมสำหรับผู้ที่ต้องการลดน้ำหนักหรือมีภาวะอ้วนลงพุง และอาหารเสริมเพื่อผิวสวยมีอัตราการเติบโตสูงมาก จึงเป็นโอกาสของสารสกัดชีวภาพจากสาหร่ายพวงองุ่นในการนำไปใช้เป็นส่วนผสมที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ซึ่งจะต้องมีการประเมินความปลอดภัยในระดับยีน และทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ลดน้ำตาลและไขมันเพื่อควบคุมโรคเบาหวานทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ตามลำดับต่อไป ซึ่งสาหร่ายชนิดนี้มีความพร้อมด้านผลผลิตมีเพียงพอที่จะขยายกำลังการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้โดยแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงในรูปแบบสารประกอบเชิงหน้าที่ (Functional ingredient) ผลจากงานวิจัยนี้นอกจากจะสร้างองค์ความรู้ด้านวิชาการด้านการใช้ประโยชน์สาหร่ายอย่างคุ้มค่าโดยไม่มีเศษเหลือยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับสาหร่ายทะเลแบบครบวงจรตามยุทธศาสตร์ BCG economy ของรัฐบาล ซึ่งส่งผลกระทบท่อเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อมได้อย่างยั่งยืนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ทีมวิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สำหรับทุนสนับสนุนการวิจัยระดับปริญญาเอก ภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) รหัสโครงการ PHD60I0083 ร่วมกับบริษัทเอส.ที.ดี เมดิกส์ จำกัด ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเภสัชกรรมสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำหรับการสนับสนุนด้านสถานที่และอุปกรณ์ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2000. **Official Method of Analytical Chemists**. 17th edition. Maryland: Association of Analytical Communities. 2200 p.
- Hammerschmidt, P.A. and D.E. Pratt. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **Journal of Food Science** 43(2): 556-559.
- Hitoshi, M., S. Kazutaka, I. Yoshiko, T. Yoshinobu, and K. Hisamine. 2012. Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthesis rates in UV-irradiated mice. **Amino Acids** 42: 2481-2489. DOI 10.1007/s00726-011-1059-z.
- Maeda, R., T. Ida, H. Ihara and T. Sakamoto. 2012a. Immunostimulatory activity of polysaccharides isolated from *Caulerpa lentillifera* on macrophage cells. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry** 1203012829-1203012829.
- _____. 2012b. Induction of apoptosis in MCF-7 cells by β -1, 3-xylooligosaccharides prepared from *Caulerpa lentillifera*. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry** 76(5): 1032-1034.
- Matanjun, P., S. Mohamed, K. Muhammad and N.M. Mustapha. 2010. Comparison of cardiovascular protective effects of tropical seaweeds, *Kappaphycus alvarezii*, *Caulerpa lentillifera*, and *Sargassum polycystum*, on high-cholesterol/high-fat diet in rats. **Journal of Medicinal Food** 13(4): 792-800.

- Nguyen, V.T., J.P. Ueng and G.J. Tsai. 2011. Proximate composition, total phenolic content, and antioxidant activity of seagrape (*Caulerpa lentillifera*). **Journal of Food Science** 76(7): C950-C958.
- Paradossi, G., F. Cavalieri, L. Pizzoferrato and A.M. Liquori. 1999. A physico-chemical study on the polysaccharide Ulvan from hot water extraction of the macroalga Ulva. **International Journal of Biological Macromolecule** 25(4): 309-315.
- Shi, H.P., R.S. Fishel, D.T. Efron, J.Z. Williams, M.H. Fishel and A. Barbul. 2002. Effect of supplemental ornithine on wound healing. **Journal of Surgical Research** 106(2): 299-302.
- Shi, H.P., D. Most, D.T. Efron, M.B. Witte and A. Barbul. 2003. Supplemental L-arginine enhances wound healing in diabetic rats. **Wound Repair and Regeneration** 11(3): 198-203.
- Stechmiller, J.K., B. Childress and L. Cowan. 2005. Arginine supplementation and wound healing. **Nutrition in Clinical Practice** 20(1): 52-61.
- Thabet, H.S., N.K. Saleh, S.S. Thabet, M. Abdel-Aziz and N.K. Kallen. 2008. Decreased basal non-insulin-stimulated glucose uptake by diaphragm in streptozotocin-induced diabetic mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Parasitology Research** 103(3): 595-601.
- Yangthong, M. and N. Towatana. 2014. Total phenolic contents, DPPH radical-scavenging activities of six seaweeds from the southern coast of Thailand. **Journal of Fisheries Technology Research** 8(1): 93-104. [in Thai]
- Zhang, X., D.L. Chinkes and R.R. Wolfe. 2004. Leucine supplementation has an anabolic effect on proteins in rabbit skin wound and muscle. **The Journal of Nutrition** 134(12): 3313-3318.