บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

สาหร่ายทะเลเป็นทรัพยากรที่มีคุณค่าซึ่งมนุษย์สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในหลายๆด้าน เช่น ใช้เป็นอาหาร ใช้เป็นอาหารสัตว์ ทำปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก และเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมบางอย่าง เช่น ใช้สกัดทำสารวุ้น (agar) คาราจิแนน (carrageenan) ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมทอผ้า อุตสาหกรรมสี อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมเวชภัณฑ์ เป็นต้น สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลเป็นสาหร่ายอีกชนิดหนึ่งที่มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้าง มีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล 2 ชนิด คือ *Dictyota dichotoma* และ *Padina gymnospora* ต่อการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าสาร fucoidan ที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 50-55 °C มีคุณสมบัติในการต้านการเจริญกลุ่ม gram positive bacteria เช่น *S. aureus* และ *Bacillus megatherium* แต่จะไม่ยับยั้งการเจริญในกลุ่ม gram negative bacteria (Rao *et al.*, 1981)

Takahashi และคณะ (1998) ศึกษาถึงผลของการใช้ fucoidan ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล *Cladosiphon okamuranus* ในการควบคุมโรคตัวแดงดวงขาว (White Sport Syndrome Virus) ในกุ้ง Kuruma (*Penaeus japonicus*) พบว่ากุ้งที่ได้รับสารดังกล่าวมีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น งานวิทยานิพนธ์ครั้งนี้จึงมุ่งเน้นถึงการศึกษาคุณสมบัติของสาร fucoidan ที่ได้จากสาหร่ายทะเลและแพลงค์ตอนพืชในประเทศไทยเพื่อเพิ่มศักยภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติในการควบคุมโรคที่เกิดขึ้นโดยเฉพาะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อลดปัญหาของมลภาวะของดินและน้ำที่เกิดขึ้นภายหลังกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื่องจากการใช้ยาและสารเคมีเป็นจำนวนมากในการป้องกันและแก้ไขโรคซึ่งผล

การทดลองจะเป็นแนวทางในการพัฒนางานทางด้านการเพาะเลี้ยงและการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมที่ประสบปัญหาและส่งผลกระทบอย่างมากมายอยู่ในปัจจุบันต่อไป

1.2 บทตรวจเอกสาร

1.2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับ fucoidan

fucoidan เป็น sulfate polysaccharide ที่สามารถละลายได้ในน้ำ พบได้ในสาหร่ายสีน้ำตาล (Phaeophyceae) ทั่วๆไป เช่น *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum* สารนี้จะอยู่ระหว่างชั้นของเนื้อเยื่อของผนังเซลล์และจะถูกขับออกมาภายนอกเซลล์ได้ ประมาณ 4 % ของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสีน้ำตาล เช่น Kombu พบว่าเป็นองค์ประกอบของ polysaccharide ที่เรียกว่า fucoidan ที่มีองค์ประกอบหลักเป็น L-fucose(6-deoxy-L-galactose) เป็นส่วนใหญ่และยังมีองค์ประกอบอื่นๆ (Heteropolymer) เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เช่น xylose, galactose, และ glucuronic acid สาร fucoidanที่พบในสาหร่ายสีน้ำตาลส่วนใหญ่นั้นเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็น hygroscopic สามารถจะคงความชุ่มชื้นและป้องกันการระเหยของน้ำออกจากพืชได้เมื่อเผชิญกับอากาศแห้งแล้งเป็นระยะเวลานานซึ่งเป็นสาเหตุให้สาหร่ายกลุ่มที่เจริญในเขตร้อน เช่น *A. nodusum, Macrocystis pyrifera* มี fucoidan เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูงกว่าสาหร่ายกลุ่มที่เจริญในเขตอบอุ่น นอกจากนี้ฤดูกาลยังมีผลต่อปริมาณสาร fucoidan ในสาหร่ายสีน้ำตาลด้วย ตัวอย่างเช่น ใน *Laminaria, Fucaceae* และ *Chordana* จะมี fucoidan ประมาณ 5%-20% และจะมีมากที่สุดในฤดูใบไม้ร่วงและต้นฤดูหนาว เช่น British Columbia พบว่า *Laminaria* มี fucoidan มากที่สุดในเดือนมีนาคม (Doner and Whistler, 1973)

1.2.2 โครงสร้าง polymer ของ polysaccharide

รูปแบบของ polysaccharide ในสาหร่ายสีน้ำตาลโดยทั่วไป เช่น alginic acid, fucoidan , โดย alginic จะประกอบด้วย mannuronic acid และ glucuronic acid ใน

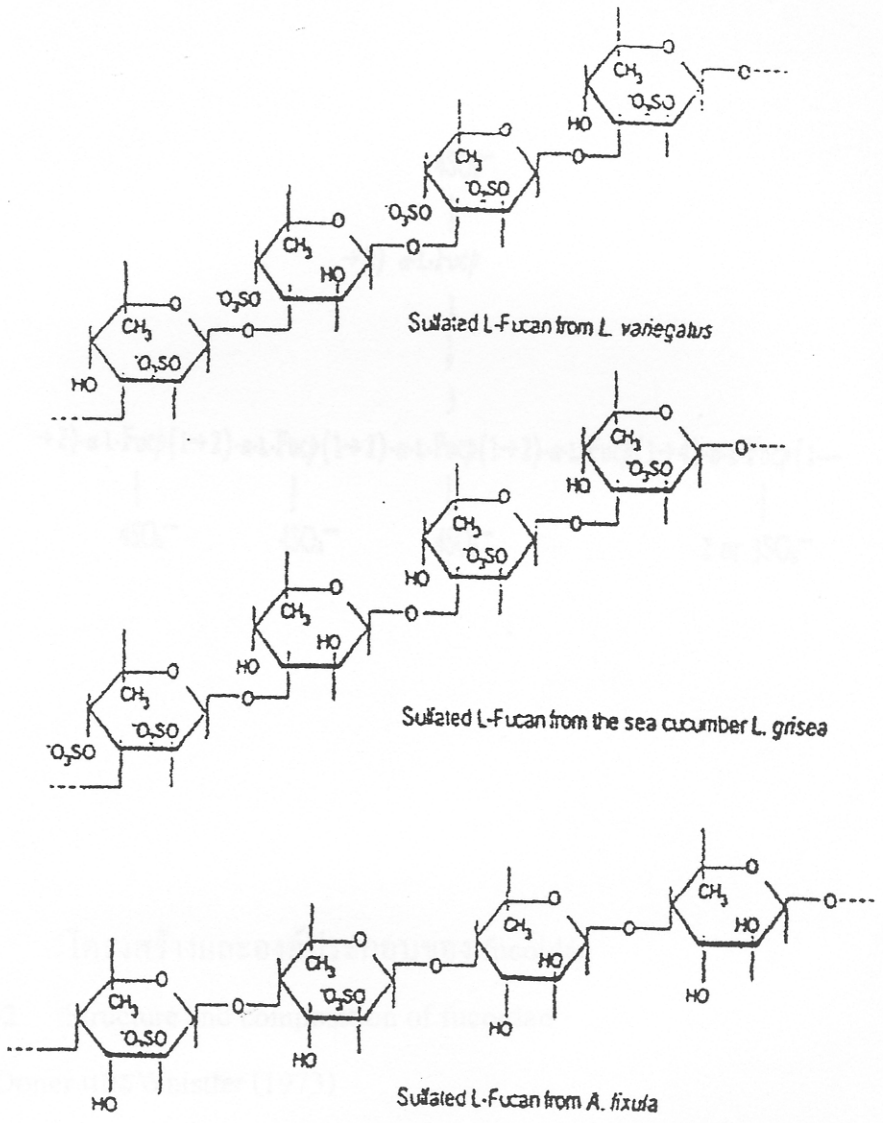
ส่วนของ fucoidan จะประกอบด้วยน้ำตาล fucose เป็นองค์ประกอบหลัก (Percival and McDowell, 1967 อ้างโดย Lobban, 1985) ซึ่งพบได้เป็นส่วนใหญ่ในกลุ่มของสาหร่ายสีน้ำตาลทั่วไปที่เรียกว่า fucan ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล fucose ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ glycosidic linkage ที่ตำแหน่ง 1-4, 1-2 และ1-3 และมีหมู่ซัลเฟตเป็นองค์ประกอบจำนวนมากส่วน alginic acid จะประกอบด้วย uronic acid จำนวน 2 ชนิดคือ mannuronic acid และ glucuronic acid ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมที่มีหมู่คาร์บอกซิลในตำแหน่งคาร์บอนที่ 6 (Lobban *et al*., 1985)

การศึกษาสาร fucoidan ในสาหร่าย Kombu สามารถแบ่งกลุ่มของสาร fucoidan ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ F- fucoidan และ U- fucoidan โดย F- fucoidan จะมี sulfate fucose เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วน U- fucoidan จะมี glucuronic acid เป็นองค์ประกอบประมาณ 20 % fucoidan เป็นกลุ่มของ sulfated polysaccharides ที่ได้มีการค้นพบในกลุ่มของสาหร่ายสีน้ำตาลมาเป็นระยะเวลากว่า 50 ปีแล้ว ในปัจจุบันได้มีผู้ทำการวิจัยและศึกษาถึงคุณสมบัติต่างๆของสารเพิ่มเติมรวมทั้งแหล่งของsulfated-polysaccharides จากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ ด้วย สาร fucoidan มีสูตรทั่วไปคือ $(C_6H_9O_3.SO_4.Ca_{1/2})_n$ โครงสร้างพื้นฐานของ sulfated polysaccharide ประกอบด้วย oligosaccharide ที่เรียกว่า α-L-fucopyranosyl-L-fucose เรียงต่อเป็นหน่วยที่ซ้ำๆ กัน ส่วนปลายของแกนหลักเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ glycosidic linkage ที่ตำแหน่งต่างๆ กัน และมีหมู่ซัลเฟตเป็นองค์ประกอบซึ่งในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีตำแหน่งของพันธะ glycosidic linkage และรูปแบบของ sulfation ที่แตกต่างกัน Pereira และคณะ (1999) ศึกษาถึงโครงสร้างของสาร fucoidan ที่สกัดได้จากเม่นทะเล 3 ชนิด คือ *Lytechinus variegatus, Arbacia lixula* และ *Ludwigothurea grisea* พบว่ามีโครงสร้างที่แตกต่างกันทั้ง 3 ชนิด คือ

Lytechinus variegatus จะมีโครงสร้างเป็น $[3\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-2}(OSO_3)\text{-}1\rightarrow 3\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-4}(OSO_3)\text{-}1\rightarrow 3\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-2,4}(OSO_3)\text{-}1\rightarrow 3\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-2}(OSO_3)\text{-}1]_n$

Arbacia lixula ประกอบด้วย [4-α-L-Fucp-2(OSO_3)-1⟶4-α-L-Fucp-2 (OSO_3)-1⟶4⟶α-L-Fucp-1⟶4-α-L-Fucp-1]$_n$

Ludwigothurea grisea ประกอบด้วย [3-α-L-Fucp-2, 4 (OSO_3)-1⟶3-α-L-Fucp-1 ⟶3-α-L-Fcup-2(OSO_3)-1⟶3-α-L-Fucp-2(OSO_3)-1]$_n$ ดังแสดงในรูปที่ 1 ที่มี tetrasaccharide เป็นแกนหลัก เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่งต่างๆ มี 4 residues ของ sulfation ที่แตกต่างกันในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

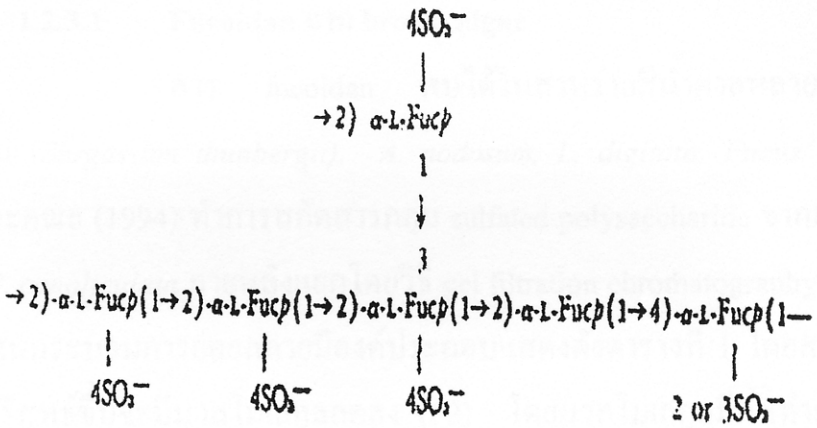


รูปที่ 1 โครงสร้าง fucoidan ของ *L. variegatus, L. grisea* และ *A. lixula*

Figure1 Structure of fucoidan from *L. variegatus, L. grisea* and *A. lixula*

ที่มา : Pereira และคณะ (1999)

จากการทดลองของ Doner และ Whistler (1973) ที่ศึกษาโครงสร้างและองค์ประกอบของ fucoidan พบว่ามีโครงสร้างหลักดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 โครงสร้างและองค์ประกอบของ fucoidan

Figure2 Structure and composition of fucoidan

ที่มา : Doner และWhistler (1973)

จากโครงสร้างของ fucoidan จะเห็นได้ว่าประกอบด้วยแขนงข้าง 1 แขนง ต่อสายหลักที่ประกอบด้วย fucopyranosyl-L-fucose จำนวน 5 ตัว เมื่อผ่านกระบวนการ methylation และ hydrolysis พบว่าจะให้ 3-O-methyl-L-fucose จำนวน 60% ของน้ำตาลทั้งหมด องค์ประกอบของน้ำตาลใน fucoidan จะมี L-fucose เป็นองค์ประกอบที่มีประมาณมากที่สุด คือ 31-72% รองลงมา คือ galactose (5-3%), mannose (4-20%), xylose (3-29%) และ arabinose (0-25%) (Doner and Whistler, 1973) น้ำหนักโมเลกุล

ของ fucoidan จากการศึกษาสาหร่ายกลุ่ม *Pelvetia canaliculata* ที่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์มีค่าเท่ากับ 30 kDa (Colliec *et al.*, 1994)

1.2.3 แหล่งของ fucoidan

1.2.3.1 Fucoidan จาก brown algae

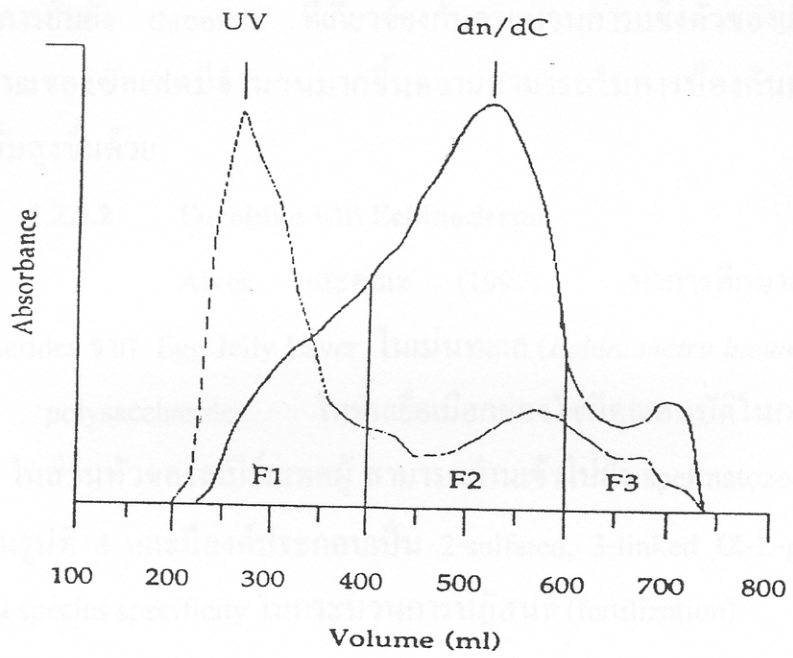
สาร fucoidan พบได้ในสาหร่ายสีน้ำตาลหลายชนิด เช่น สาหร่ายทุ่น (*Sargassum thunbergii), A. nodosum, L. digitata, Fucus vesiculosus,* Colliec และคณะ (1994) ทำการสกัดสารกลุ่ม sulfated polysaccharide จากสาหร่ายสีน้ำตาลกลุ่ม *P. canaliculata* ภายหลังแยกโดยวิธี gel filtration chromatography แสดงดังรูปที่ 3 เมื่อผ่านกระบวนการย่อยสลายมีองค์ประกอบแสดงดังตารางที่ 1 โดยสาร fucoidan ที่มีความบริสุทธิ์ขึ้นจะมีมวลโมเลกุลลดลง (F2) โดยมวลโมเลกุลมีค่าเท่ากับ 30 kDa ปริมาณของ fucose และซัลเฟตในโมเลกุลของสารมีปริมาณที่สูงกว่า crude fucoidan (F1, F3) แต่มีปริมาณของกรด uronic acid และโปรตีนน้อยกว่า crude fucoidan (F1, F3)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของ fucoidan ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาลผ่านกระบวนการย่อยสลาย

Table 1 Composition of hydrolysed fucoidan from brown algae

Name	%Yield	Mr x10^4	%S	%Na	%N	%Fucose	%Uronic acid	%Protein	%SO^{2-}_4
F1	23	9	9	6	0.3	60	2	0.6	32
F2	40	3	11	7	0.08	78	0	<0.01	40
F3	<10	<1	8	6	0.7	50	4	0.6	30

ที่มา: Colliec และคณะ (1994)



รูปที่ 3 แสดงการแยก fucoidan จากสาหร่ายสีน้ำตาล *P. canaliculata* โดยวิธี gel filtration chromatography ขนาดคอลัมน์ 4.8 x40 cm, Sephacyl S–200, ความเข้มข้นของ fucoidan 10 mg/ml^{-1} ปริมาตร 5 ml, ใช้ 0.2 M NaCl เป็นตัวชะด้วยอัตรา 1 ml/min^{-1}

Figure 3 Gel filtration chromatography of hydrolysed fucoidan, condition: column 4.8 x40 cm of Sephacryl S-200; fucoidan concentration at 10 mg/ml in 0.2 M NaCl; sample volumn= 5ml; flow rate= 1 ml/min

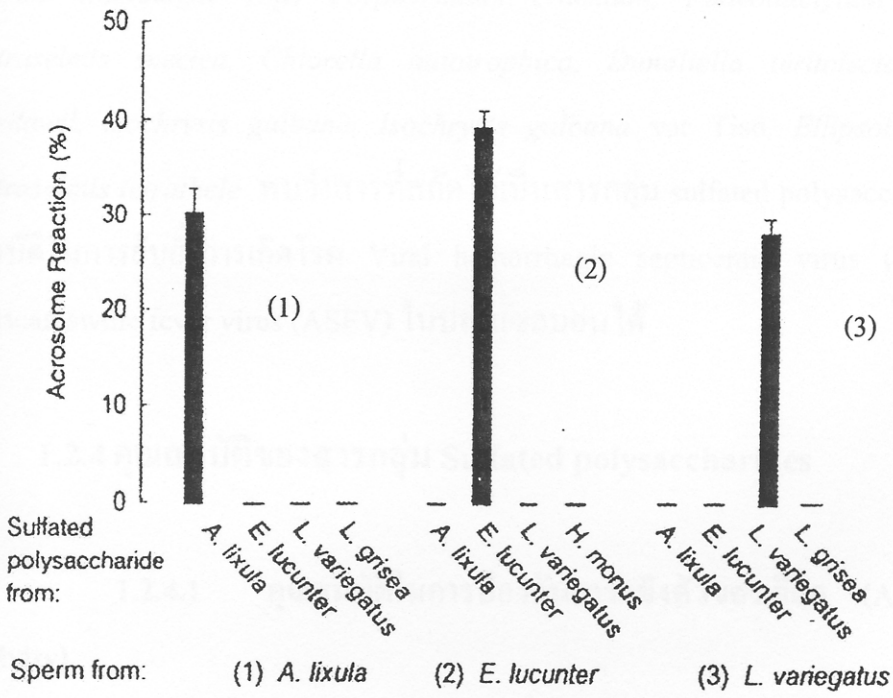
ที่มา: Colliec และคณะ (1994)

Zhuang และคณะ (1995) ได้ศึกษา fucoidan ที่ได้จาก *S. thunbergii* พบว่า มีคุณสมบัติเป็นสารต้านมะเร็ง (antitumor activity) สามารถต่อต้านการเกิดมะเร็ง (tumor) ในหนูทดลองและมีคุณสมบัติในการยับยั้งการแข็งตัวของเลือดคล้าย heparin (heparin like anticoagulant activity) นอกจากนี้ Pereira และคณะ (1999) ได้สกัดและทำบริสุทธิ์สาร fucoidanจากสาหร่ายสีน้ำตาลกลุ่มอื่นๆอีก เช่น *F. vesiculosus, L. brasiliensis* และ *A. nodusum* เพื่อศึกษาถึงโครงสร้างและคุณสมบัติในการป้องกันการแข็งตัวของเลือด

(Anticoagulant activity) พบว่าส่วนของ sulfate ที่เป็นแขนงข้างของ fucoidan มีคุณสมบัติในการยับยั้ง thrombin ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือดได้โดยตรง หากปริมาณของซัลเฟตมีจำนวนมากขึ้นความสามารถในการป้องกันการแข็งตัวของเลือดจะเพิ่มสูงขึ้นด้วย

1.2.3.2 Fucoidan จาก Echinoderms

Alves และคณะ (1997) ทำการศึกษาสาร sulfated polysaccharides จาก Egg Jelly Layer ในเม่นทะเล (*Echinometra lucunter*) พบว่า สาร sulfated polysaccharides ในชั้นเยื่อเมือกของไข่มีคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำให้ acrosome ในส่วนหัวของสเปิร์มเพศผู้ สามารถผ่านเข้าไปยัง spermatozoa ในเพศเมียได้ ดังแสดงในรูปที่ 4 และมีองค์ประกอบเป็น 2-sulfated, 3-linked α-L-galactan มีคุณสมบัติเป็น species specificity ในกระบวนการปฏิสนธิ (fertilization)



รูปที่ 4 ผลของสาร sulfated polysaccharide ต่อการเหนี่ยวนำ acrosome

Figure 4 Effect of sulfated polysaccharide to induced of the acrosome reaction

ที่มา : Alves และคณะ (1997)

1.2.3.3 Fucoidan จาก red seaweed

Sulfated polysaccharide ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีแดง ในกลุ่ม *Rhodomela larix* ประกอบด้วย agaroid และคาราจีแนนมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี (Takano *et al.*, 1999)

1.2.3.4 Fucoidan จาก microorganisms

Matsuda และคณะ (1999) ได้ศึกษาคุณสมบัติของ sulfated polysaccharide ที่สกัดได้จาก Marine *Pseudomonas* สายพันธุ์ WAK-1 พบว่า สามารถผลิต extracellular glycosaminoglycan และ sulfated polysaccharide ที่มีคุณสมบัติยับยั้งไวรัสได้

1.2.3.5 Fucoidan จาก marine microalgae

Fabregas และคณะ (1999) ทำการสกัดสาร fucoidan จาก marine microalgae กลุ่ม *Porphyridium cruentum, Phaeodactylum tricornutum, Tetraselmis suecica, Chlorella autotrophica, Dunaliella tertiolecta, Dunaliella bardawil, Isochrysis galbana, Isochrysis galbana* var Tiso, *Ellipsoidon* sp. และ *Tetraselmis tetrathele* พบว่าสารที่สกัดได้เป็นสารกลุ่ม sulfated polysaccharides มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดโรค Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) และ African swine fever virus (ASFV) ในปลาแซลมอนได้

1.2.4 คุณสมบัติของสารกลุ่ม Sulfated polysaccharides

1.2.4.1 คุณสมบัติในการป้องกันการแข็งตัวของเลือด (Anticoagulant activity)

Pereira และคณะ (1999) ทำการศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการแข็งตัวของเลือดโดยใช้สาร fucoidan ที่สกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล 3 ชนิด คือ *F. vesiculosus, L. brasiliensis* และ *A. nodusum* และจากเม่นทะเล 2 ชนิด คือ *L. variegatus* และ *A. lixula* พบว่าส่วนที่เป็นแขนงข้างของสาหร่ายสีน้ำตาลจะมีส่วนในการยับยั้ง

thrombin ได้โดยตรงในขณะที่ linear fucans จาก เม่นทะเลจะต้องอาศัย antithrombin หรือ heparin cofactor II สำหรับการยับยั้ง thrombin เพื่อให้เกิดการแข็งตัวของเลือดเช่นเดียวกับสาร glycosaminoglycans ที่ใช้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและเมื่อผ่านกระบวนการทำบริสุทธ์จะเกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้นดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลของสาร sulfated polysaccharide จาก Echinoderm, สาหร่ายสีน้ำตาล เปรียบเทียบกับ glycosaminoglycan ในการป้องกันการแข็งตัวของเลือด

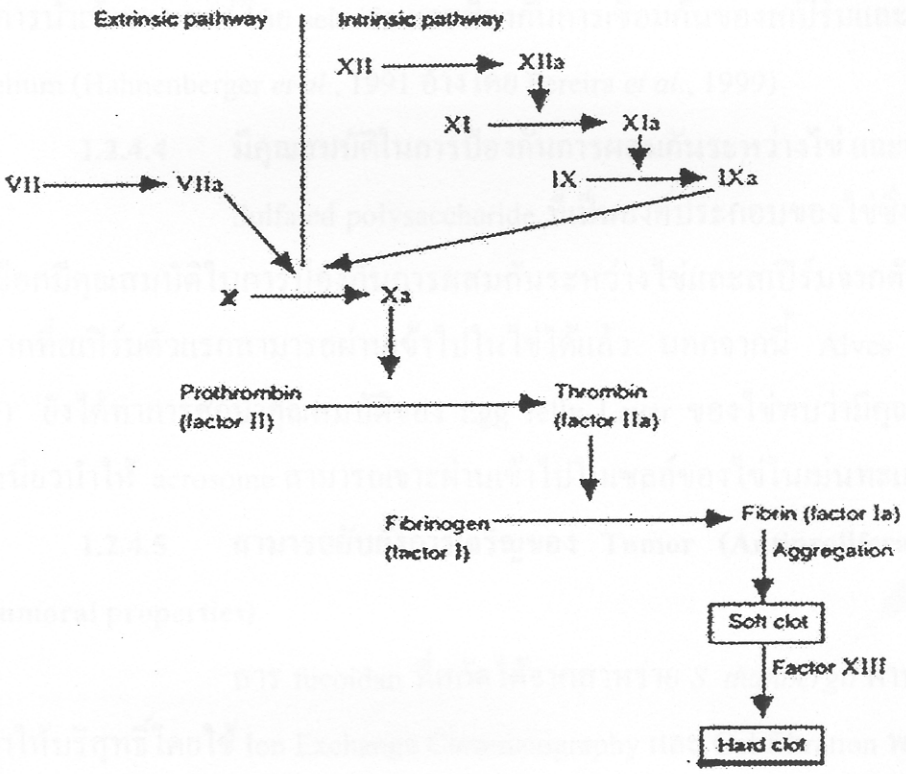
Table 2 Anticoagulant potencies of sulfated fucans from echinoderms and brown algae and of standard vertebrate glycosaminoglycans

Source	Species	Polysaccharide	APTT
			IU/mg
Echinoderm	*L. variegatus*	a sulfated fucan	8
	L. grisea	b sulfated fucan	2
	A. lixula	c sulfated fucan	<1
Browm algae	*L. brasiliensis*	d crude sulfate polysaccharide	10
		e. purified sulfated fucan	30
		f desulfated fucan	<1
	F. vesiculosus	g crude sulfate polysaccharide	7
		h purified sulfated fucan	16
	A. nodosum	i crude sulfate polysaccharide	6
		j purified sulfated fucan F1	14
		k purified sulfated fucan F2	16
Vertebrates		l unfractionated heparin[b]	193
		m. low molecular weight heparin[b]	30
		n dermatan sulfate from porcine mucosa[b]	4

[b]International standards

ที่มา: Pereira และคณะ (1999)

สำหรับกลไกในการป้องกันการแข็งตัวของเลือดเกิดโดยสาร sulfated polysaccharide จะไปยับยั้ง thrombin (anti thrombin) และยับยั้ง factor Xa (antifactor Xa) ในกระบวนการแข็งตัวของเลือดโดยปกติ (รูปที่ 5) เกิดปฏิกิริยาที่เรียกว่า amydolytic activity ทำให้กระบวนการต่างๆในการแข็งตัวของเลือดผิดปกติไป



รูปที่ 5 กระบวนการในการแข็งตัวของเลือด

Figture 5 Coagulation pathways

ที่มา: Pallister (1994)

1.2.4.2 สามารถยับยั้งการบุกรุกของ erythrocytes โดยเชื้อ *Plasmodium falciparum* ในระยะ merozoites

สาร fucoidan สามารถยับยั้งการบุกรุกของ erythrocytes โดยเชื้อ *Plasmodium falciparum* ในระยะ merozoites และการเกาะติดของ parasite erythrocytes ต่อ endothelial cell ได้ (Xiao *et al.*, 1996 อ้างโดย Pereira *et al.*, 1999)

1.2.4.3 มีคุณสมบัติเป็น Anti-angiogenic agent

สาร fucoidan มีคุณสมบัติเป็น Anti-angiogenic agent คือ ขัด-ขวางการนำเข้าของเซลล์โดย selectin และป้องกันการเชื่อมกันของสเปิร์มและ aviductal epithelium (Hahnenberger *et al.*, 1991 อ้างโดย Pereira *et al.*, 1999)

1.2.4.4 มีคุณสมบัติในการป้องกันการผสมกันระหว่างไข่ และสเปิร์ม

Sulfated polysaccharide ที่เป็นองค์ประกอบของไข่ซึ่งมีลักษณะเป็นเมือกมีคุณสมบัติในการป้องกันการผสมกันระหว่างไข่และสเปิร์มจากตัวอื่นๆภายหลังจากที่สเปิร์มตัวแรกสามารถผ่านเข้าไปในไข่ได้แล้ว นอกจากนี้ Alves และคณะ (1997) ยังได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของ Egg Jelly Layer ของไข่พบว่ามีคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำให้ acrosome สามารถเจาะผ่านเข้าไปในเซลล์ของไข่ในเม่นทะเลได้

1.2.4.5 สามารถยับยั้งการเจริญของ Tumor (Antiproliferative and Antitumoral properties)

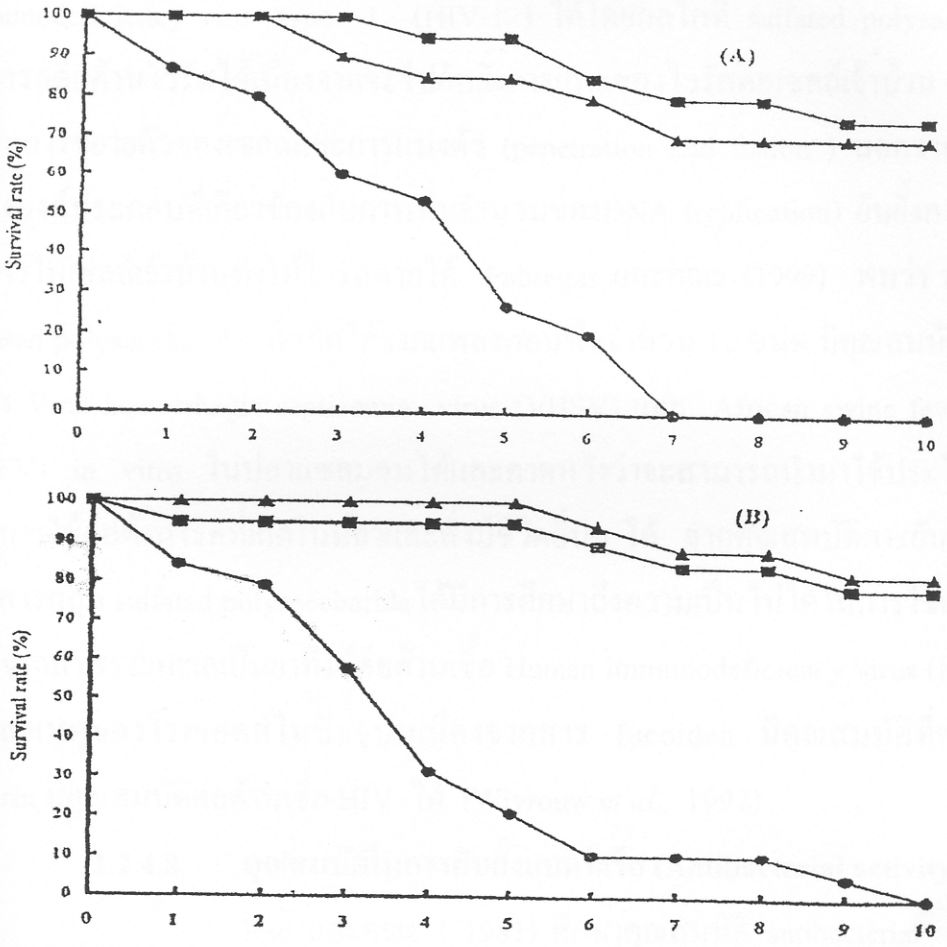
สาร fucoidan ที่สกัดได้จากสาหร่าย *S. thunbergii* ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ Ion Exchange Chromatography และ Gel filtration พบว่า มีคุณสมบัติในการต่อต้านการเกิด tumor จากโรค Ehrlich ascites carcinoma ในหนูทดลองได้ (Zhuang *et al.*, 1995)

1.2.4.6 ช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Inhibitors of vascular smooth muscle cell (SMC))

สาร fucoidan ที่สกัดได้จาก *A. nodusum* มีคุณสมบัติและกลไกการทำงานเช่นเดียวกับ heparin ในการเป็นตัวยับยั้งการเจริญของ smooth muscle cell (SMC) ได้ โดยสาร fucoidan จะมีคุณสมบัติเป็นตัวยับยั้งได้ดีกว่า heparin เนื่องจากลักษณะของโครงสร้างที่ไม่ได้เป็นเส้นตรงเพียงอย่างเดียวแต่มีลักษณะเป็นแขนงข้างซึ่งจะทำให้เกิดการยับยั้งได้ดีขึ้น (Logeart *et al.*, 1997)

1.2.4.7 คุณสมบัติในการยับยั้งไวรัส (Antiviral activity)

จากรายงานการวิจัยในหลายๆ เรื่อง แสดงให้เห็นว่าสารในกลุ่ม sulfated polysaccharide มีคุณสมบัติในการต่อต้านไวรัสได้ เช่น Matsuda และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษาและสกัดสาร polysaccharides จาก Marine *Pseudomonas* สายพันธุ์ WAK-1 พบว่า สามารถต่อต้าน HSV-1 ได้ที่ความเข้มข้น 1.4 mu g/ml นอกจากนี้ยังสามารถต้าน Influenza virus type A ได้ที่ความเข้มข้น 11.0 mu g/ml, สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ reverse transcriptase ของ Human immunodeficiency virus ในหลอดทดลองได้ (Mc Clure *et al.*, 1992 อ้างโดย Pereira *et al.*, 1999) นอกจากนี้ Takahashi และคณะ (1998) ศึกษาถึงประสิทธิภาพของ fucoidan ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล *Cladosiphon okamuranus* ต่อการควบคุมโรคจุดแดงดวงขาวใน Kuruma Shrimp (*Penaeus japonicus*)ในประเทศญี่ปุ่น พบว่าสารสกัดที่ได้จากสาหร่ายมีคุณสมบัติในการเป็นตัวยับยั้งการเกิดโรคตัวแดงดวงขาวและป้องกันการติดเชื้อจากไวรัสชนิดนี้ได้ โดยกุ้งน้ำหนัก 12.2 กรัม ที่ระดับความเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน มีอัตราการรอด 78.9%, ที่ระดับ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน จะมีอัตราการรอด 82.4% ในระยะเวลา 15 วัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (รูปที่ 6)โดยสารกลุ่ม sulfated polysaccharide (fucoidan และ dextran sulfate) จะไปยับยั้งการดูดซึมของ enveloped viruses เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน (host cell) เป็นการป้องกันการติดเชื้อจากไวรัสได้



รูปที่ 6 อัตราการรอดของกุ้ง (*Penaeus japonicus*) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในการใช้สาร fucoidan ควบคุมโรคจุดแดงดวงขาว (A) น.น 8.2 g, (B) น.น 12.2 g, ■ อัตราการใช้ 60 mg ต่อ kg, ▲ 100 mg ต่อ kg , • control group

Figure 6 Survival of shrimp fed with fucoidan compared with control shrimp after exposure to white spot syndrome virus (A) Survival of 8.2 g shrimp, (B) Survival of 12.2 g shrimp, ■ fed 60 mg fucoidan per kg, ▲ 100 mg fucoidan per kg , • control group

ที่มา : Takahashi (1998)

Hoshino และคณะ (1998) ทำการสกัดสาร sulfated polysaccharide จากสาหร่ายสีน้ำตาลกลุ่ม *Sargassum horneri* พบว่าสารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติในการต่อต้าน Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Human cytomegalovirus (HCMV) และ Human-

immunodeficiency virus type –1 (HIV-1) ได้โดยกลไกที่ sulfated polysaccharide สามารถต่อต้านไวรัสได้เนื่องจากจะไปยับยั้งการเกาะของไวรัสต่อเซลล์เจ้าบ้าน ซึ่งจะส่งผลต่อการขยายตัวของเซลล์และการแบ่งตัว (penetration and fusion) นอกจากนี้ยังไปยับยั้งองค์ประกอบที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของDNA (replication) ยับยั้งการดูดซึมอาหารในเซลล์เจ้าบ้านทำให้ไวรัสตายได้ Fabregas และคณะ (1999) พบว่า สารกลุ่ม sulfated polysaccharide ที่สกัดได้จากแพลงตอนพืชจำนวน 10 ชนิด มีคุณสมบัติในการยับยั้ง Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) และ African swine fever virus (ASFV) in vitro ในปลาแซลมอนได้และคาดหวังว่าจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการใช้ต่อต้านโรคที่เกิดในปลาและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ได้ จากคุณสมบัติการยับยั้งไวรัสของสารกลุ่ม sulfated polysaccharideได้มีการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดที่ได้จากสาหร่ายทะเลเป็นยาที่ใช้ต่อต้านเชื้อ Human immunodeficiency virus (HIV) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเอดส์ในปัจจุบันเนื่องจากสาร fucoidan มีคุณสมบัติที่คล้ายกับ heparin มีคุณสมบัติต่อต้านเชื้อ HIV ได้ (Wivrouw *et al.*, 1997)

1.2.4.8 คุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย (Antibacterial activity)

Rao และคณะ (1981) ศึกษาคุณสมบัติ antibacterial activity ของสาร fucoidan ที่สกัดจากสาหร่ายทะเลมีทั้งกลุ่ม Chlorophyceae (Green algae), Phaeophyceae (Brown algae), Rhodophyceae (Red algae) จำนวน 42 ชนิด ใช้ตัวอย่างของสาหร่ายสีน้ำตาลกลุ่ม *Padina gymnospora, Dictyota dichotoma, Spathoglossum variable, Sargassum tenerrimum, S. swatzii, Cystophyllum* sp. ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 7 ชนิด คือ *S. aureus, Bacillus megatherium, E. coli, Proteus vulgaris, Salmonella typhosa* Para A, *Pseudomonas aeruginosa*, และ *Shigella sonnei* และผลของการใช้ตัวสกัดที่ต่างชนิดกัน คือ acetone, diethyether, alcohol, Chloroform ผลปรากฏว่าสาหร่ายสีน้ำตาลกลุ่ม *D. dichotoma, Dictyota* sp, *P. gymnospora* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ได้ 2 ชนิดซึ่งได้ทำการทดสอบโดยวิธี agar plate diffusion test คือ *B. megatherium* และ *S. aureus* รวมทั้งสารที่ใช้สกัดแตกต่างกันจะให้ผลการยับยั้งแตกต่างกันด้วยดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลของสาร fucoidan จากสาหร่ายสีน้ำตาลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

Table 3 Effect of fucoidan from brown seaweed to antibacterial activity

Algal species	Test organisms*	Width of inhibition zone (mm) in different solvent use for extraction			
		Diethyl ether	Acetone	Alcohol	Chloroform
Dictyota dichotoma	*B. megatherium*	13	14	12	-
	S. aureus	20	14	15	11
Dictyota sp.	*B. megatherium*	18	14	19	T
	S. aureus	17	13	18	T
Padina gymnospora	*B. megatherium*	12	14	16	-
	S. aureus	11	7	10	-

* *E. coli, P. vulgaris, S. typhosa* Para A, *P. aeruginosa*, and *S. sonnei* were resistant to the crude extract of algae.

- = Negative test

T = Trace activity

ที่มา: Rao และคณะ (1981)

วัตถุประสงค์

1 ศึกษาคุณลักษณะของ fucoidan ที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลและแพลงค์ตอน

1.1 สกัดสาร fucoidanจากสาหร่ายทะเลและแพลงค์ตอน

1.2 การศึกษาองค์ประกอบของ fucoidan จากสาหร่ายทะเล

2 ศึกษาผลของสาร fucoidan ที่สกัดได้ต่อการป้องกันโรคไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ

3 ศึกษาผลของสาร fucoidan ที่ได้จากสาหร่ายทะเลและแพลงค์ตอนต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus, E. coli* และ *V. harveyi*