วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ปีที่ 32, ฉบับที่ 4 ต.ค.–ธ.ค. 2565
The Journal of KMUTNB., Vol. 32, No. 4, Oct.–Dec. 2022

บทความวิจัย

การนำไปใช้ทางชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นในทางเดินอาหารจำลองของมนุษย์

น้ำฝน ไทยวงษ์
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตรและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน
นัฏฐา คเชนทร์ภักดี* และ ดารารัตน์ บัวเพ็ชร
สาขาวิชาอุตสาหกรรมอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 09 5259 6136 อีเมล: n.kachenpukdee@yahoo.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2022.04.006
รับเมื่อ 4 พฤศจิกายน 2563 แก้ไขเมื่อ 14 ธันวาคม 2563 ตอบรับเมื่อ 18 ธันวาคม 2563 เผยแพร่ออนไลน์ 27 เมษายน 2565
© 2022 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการนำไปใช้ทางชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นในแบบจำลองกระบวนการย่อยในทางเดินอาหารของมนุษย์ แบบจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลองเป็นการทดสอบเสถียรภาพของสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และสารต้านออกซิเดชันในสาหร่ายพวงองุ่นเมื่อผ่านกระบวนย่อย โดยศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณฟีนอลทั้งหมด ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสาหร่ายพวงองุ่นสดและแห้ง และศึกษาการนำไปใช้ทางชีวภาพในสาหร่ายพวงองุ่นสดจากปริมาณฟีนอลทั้งหมด และฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายพวงองุ่นสดมีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เท่ากับ 82.63%, 3.89%, 1.27% และ 12.21% ตามลำดับ และสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้งมีค่าเท่ากับ 2.29%, 19.76%, 0.63% และ 31.48% ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสาหร่ายสด และสาหร่ายที่ผ่านการอบแห้ง มีค่าเท่ากับ 38.10 ± 3.00 mg GAE/g sample และ 3.50 ± 0.51 mg GAE/g sample ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสาหร่ายพวงองุ่นสดโดยวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ 5.90 ± 0.82% และ 13.82 ± 0.22% ตามลำดับ ขณะที่สาหร่ายพวงองุ่นแห้งมีค่าเท่ากับ 1.93 ± 0.31% และ 2.11 ± 0.13% ตามลำดับ การประเมินการนำไปใช้ทางชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นสดในทางเดินอาหารจำลองของมนุษย์ แสดงให้เห็นว่า เสถียรภาพของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อปริมาณตัวอย่างเพิ่มขึ้นในระดับ 2–8 กรัม

คำสำคัญ: สาหร่ายพวงองุ่น แบบจำลองกระบวนการย่อยในทางเดินอาหารของมนุษย์ เสถียรภาพ การนำไปใช้ทางชีวภาพ

การอ้างอิงบทความ: น้ำฝน ไทยวงษ์, นัฏฐา คเชนทร์ภักดี และ ดารารัตน์ บัวเพ็ชร, "การนำไปใช้ทางชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นในทางเดินอาหารจำลองของมนุษย์," *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, ปีที่ 32, ฉบับที่ 4, หน้า 966–977, ต.ค.–ธ.ค. 2565.

Research Article

Bioaccessibility of Sea Grape (*Caulerpa lentillifera*) in Simulated Human Digestive System *in vitro* Digestion Model

Numphon Thaiwong
School of Agricultural Technology and Environmental, Faculty of Sciences and Liberal Arts, Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasima, Thailand
Natta Kachenpukdee* and Dararat Buaphet
Department of Aquaculture and Fisheries Product Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 09 5259 6136, E–mail: n.kachenpukdee@yahoo.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2022.04.006
Received 4 November 2020; Revised 14 December 2020; Accepted 18 December 2020; Published online: 27 April 2022
© 2022 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

The objective of this study was to determine the bioaccessibility of *C. lentillifera* (sea grapes) *in vitro* digestion model. *In vitro* simulated digestion model was examined for the stability of total phenolic contents and antioxidant activity after *C. lentillifera* digestion. The proximate analysis, total phenolic content and antioxidant activity of fresh- and dried sea grapes were considered in this study. The bioaccessibility of fresh sea grapes was evaluated from total phenolic content and antioxidant activities. The results showed that the moisture, crude protein, fat and ash were about 82.63, 3.89, 1.27 and 12.21%, respectively. The dried sea grape was reported by 2.29% of moisture, 19.76% of crude protein, 0.63% of fat, and 31.48% of ash. The total phenolic contents of fresh and dried sea grapes were indicated about 38.10 ± 3.00 mg GAE/g sample and 3.50 ± 0.51 mg GAE/g sample, respectively. The antioxidant activity of fresh sea grapes was about 5.90 ± 0.82% by DPPH method and 13.82 ± 0.22% of ABTS method. The antioxidant values by DPPH and ABTS methods were shown at 1.93 ± 0.31% and 2.11 ± 0.13%, respectively. The evaluation of bioaccessibility of *C. lentillifera* in Simulated Human Digestive System *in vitro* digestion model revealed that the stability of total phenolic contents and antioxidant activities decreased significantly ($p < 0.05$) in relation to the increase of *C. lentillifera* contents in the range of 2–8 g.

Keywords: *C. Lentillifera*, *in vitro* Digestion Model, Stability, Bioaccessibility

Please cite this article as: N. Thaiwong, N. Kachenpukdee, and D. Buaphet, "Bioaccessibility of sea grape (*Caulerpa lentillifera*) in simulated human digestive system *in vitro* digestion model," *The Journal of KMUTNB*, vol. 32, no. 4, pp. 966–977, Oct.–Dec. 2022 (in Thai).

1. บทนำ

สาหร่ายพวงองุ่น (*C. lentilifer*) หรือ Sea Grapes หรือ Green Caviar เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียว (Green Algae) สารสีที่เป็นส่วนประกอบสาหร่ายสีเขียวสด ได้แก่ คลอโรฟิล เอ คลอโรฟิล บี บีตาแคโรทีน และแซนโทฟิลล์ [1] สาหร่ายพวงองุ่นเป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางโภชนการ และมีหลักฐานข้อมูลงานวิจัยมากมายสนับสนุน [2] ผู้บริโภคบางกลุ่มจึงนิยมบริโภคเพื่อวัตถุประสงค์ทางการแพทย์ โดยสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและให้ผลดีต่อผู้บริโภคที่เป็นโรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง หรือผู้บริโภคที่มีหนอนหรือพยาธิอยู่ในร่างกาย รวมทั้งผู้บริโภคที่มีอาการติดเชื้อจากรา [3] อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสาหร่ายมีความแตกต่างกันที่ชนิดของสาหร่าย โดยสาหร่ายแต่ละชนิดมีสารประกอบฟีนอลทั้งหมด พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน ชนิดของคลอโรฟิลล์ และชนิดของแคโรทีนอยด์ ที่แตกต่างด้วยเช่นกัน [4] อาหารที่มีส่วนประกอบของสารประกอบฟีนอลมีบทบาทสำคัญต่อกลไกการต้านออกซิเดชันในร่างกายของมนุษย์หรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม [5] ปัจจุบันการบริโภคสาหร่ายพวงองุ่นนิยมบริโภคแบบสด ซึ่งการบริโภคแบบสดทำให้ผู้บริโภคได้รับสารพฤกษเคมีที่มีในผักและผลไม้ได้มากกว่าอาหารแปรรูป [6] อย่างไรก็ตาม ร่างกายไม่สามารถรับสารอาหารทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารจากการบริโภคได้ เนื่องจากเกิดการสูญเสียสารอาหารบางส่วนในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ การสูญเสียเหล่านี้เกิดขึ้นจากปริมาณสารอาหารที่ออกจากอาหาร และความคงตัวของสารอาหารหลังการย่อย รวมทั้งปริมาณสารอาหารที่ร่างกายสามารถดูดซึมผ่านเซลล์ลำไส้ได้ การศึกษาการนำไปใช้ทางชีวภาพ (Bioaccessibility) โดยใช้แบบจำลองระบบการย่อยอาหารของมนุษย์ในหลอดทดลอง (*in vitro* Simulated Digestion Model) จึงเป็นการเพิ่มเติมข้อมูลหรือหลักฐานที่แสดงปริมาณสารอาหารหรือสารสำคัญที่ร่างกายสามารถดูดซึมได้อย่างใกล้เคียงความเป็นจริง แบบจำลองนี้เป็นการประยุกต์และเลียนแบบส่วนของเหลวต่างๆ ที่อยู่ในอวัยวะต่างๆ ในระบบทางเดินอาหาร จากปาก กระเพาะอาหาร และลำไส้เล็ก เช่น น้ำลาย น้ำย่อย ค่า pH และระยะเวลาที่อาหารอยู่ในแต่ละอวัยวะ [7] โดยมีคุณสมบัติเริ่มต้นของอาหาร การเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการย่อยอาหาร และกระบวนการทางเคมี เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อโครงสร้างหรือรูปแบบของสารอาหารที่ผ่านกระบวนย่อยอาหาร [8] การศึกษานำไปใช้ทางชีวภาพของสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ ในแบบจำลองทางเดินอาหารพบว่า ความคงตัวของฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Pseudanabaena* sp., *Spirulina* sp. และ *Lyngbya* sp. ที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย มีค่า 36–70% [9] และสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Ascophyllum nodosum* มีความคงตัวของสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเท่ากับ 81.7% และ 79.5% ตามลำดับ [10] ขณะที่การศึกษาการย่อยได้ของโปรตีน (*in vitro* Protein Digestibility) ในสาหร่ายผง (*Palmaria palmata* หรือ Dulse) มีความคงตัวเท่ากับ 56% [11] และสาหร่าย *Porphyra columbina* มีค่าเท่ากับ 74.33 ± 3.0% [12] นอกจากนี้ สาหร่ายสายใบ (*P. tenera*) สาหร่ายวากาเมะ (*Undaria pinnatifida*) และสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva pertusa*) พบว่า ความคงตัวของโปรตีนหลังการย่อย มีค่า 78%, 87% และ 95% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเคซีนที่มีค่าเท่ากับ 100% [13] และอาหารประเภทธัญพืชมีค่า 69–84% พืชตระกูลถั่วมีค่า 72–92% ผลไม้มีค่า 72–92% และผักมีค่า 68–80% [14], [15] ดังนั้นการศึกษาการนำไปใช้ทางชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยแบบจำลองระบบการย่อยอาหารของมนุษย์จึงเป็นการวิเคราะห์ปริมาณสารและความคงตัวของสารต้านออกซิเดชันจากสาหร่ายพวงองุ่น เพื่อทราบถึงปริมาณสารต้านออกซิเดชันจากสาหร่ายพวงองุ่นที่ร่างกายมนุษย์ได้รับอย่างแน่นอนและใช้เป็นข้อมูลในการบริโภคที่เหมาะสม

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมสาหร่ายพวงองุ่นสด และสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้ง

2.1.1 การเตรียมสาหร่ายพวงองุ่นสด

เตรียมสาหร่ายพวงองุ่นสดที่เก็บได้ในเขตพื้นที่จังหวัดตรัง

ล้างทำความสะอาด พักให้สะเด็ดน้ำ บรรจุในถุงเย็น และเก็บที่ –20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2.1.2 การเตรียมสาหร่ายการพวงองุ่นอบแห้ง

ล้างและทำความสะอาดสาหร่ายพวงองุ่น อบที่ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 5–6 ชั่วโมง บดให้ละเอียด บรรจุในถุงพลาสติก เพื่อวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่นสดและผ่านการอบแห้ง

นำสาหร่ายพวงองุ่นสดและผ่านการอบแห้งที่เตรียมได้จากข้อ 2.1 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดังนี้

วิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธี Dry Ashing (AOAC Method 900.02A)

วิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธี Soxhlet Method (AOAC Method)

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธี AOAC Method 925.10

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธี AOAC (2000)

2.3 การเตรียมสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น

เตรียมสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่นโดยดัดแปลงวิธีของ [8] กำหนดอุณหภูมิในการสกัดที่ 25 องศาเซลเซียส ชั่งตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นสดและอบแห้งอย่างละ 10 กรัม ผสมกับเอทานอลในอัตราส่วน 1 : 10 (กรัม/มล.) เขย่าตัวอย่างต่อเนื่อง (Orbital Shaker) 2 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 บรรจุสารละลายที่ได้จากการกรองในหลอดทดลอง ปิดฝาให้แน่นและหุ้มด้วยพาราฟิล์ม เก็บให้พ้นแสงโดยการห่อด้วยกระดาษฟอยล์ เก็บที่ –20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลทั้งหมด (Total Phenolic Content) ด้วยวิธี Folin Ciocalteu

ดัดแปลงจากวิธีของ [16] โดยเตรียมตัวอย่างปริมาตร 1 มล. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.5 มล. และเติมสารละลาย 1% Folin Ciocalteu Reagent ปริมาตร 0.5 มล. ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเติม 7.5% Na_2CO_3 ปริมาตร 1 มล. และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน (กรดแกลลิก) ในการคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

2.5 การวิเคราะห์ฤทธิ์การเป็นสารต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (DPPH Radical Scavenging Activity)

วิเคราะห์ตามวิธีของ [16] กำหนดปริมาตรตัวอย่างปริมาตร 0.2 มล. ในการวิเคราะห์ นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน (กรดแกลลิก) ในการคำนวณฤทธิ์การเป็นสารต้านออกซิเดชันเป็นค่าร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) ดังสมการที่ (1)

$$\%\ inhibition = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม
A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์การเป็นสารต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี ABTS (ABTS Radical Scavenging Activity)

ดัดแปลงจากวิธีของ [17] โดยเตรียม 75 มิลลิโมลาร์ 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic Acid (ABTS) และ 1.225 มิลลิโมลาร์ $K_2S_2O_8$ ในน้ำกลั่น บ่มที่อุณหภูมิห้อง 16 ชั่วโมง และเจือจางด้วยเมทานอลที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยให้สารละลายมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.7 จากนั้นปิเปตตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างกันจากการเจือจางด้วยสารละลายเมทานอล ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 300 ไมโครลิตร บ่ม 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน (กรดแกลลิก) ในการคำนวณฤทธิ์การเป็นสารต้านออกซิเดชันเป็นค่าร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) ดังสมการที่ (1)

2.7 การศึกษาการนำไปใช้ทางชีวภาพของสารต้านออกซิเดชันจากสาหร่ายพวงองุ่นโดยใช้แบบจำลองทางเดินอาหารของมนุษย์ (*in vitro* Digestion Model)

2.7.1 แบบจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง

1) Gastric Phase วิเคราะห์ตามวิธีของ [18] เตรียมตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นบดละเอียด 5 กรัม เติม 120 มิลลิโมลาร์ NaCl ปริมาตร 20 มล. ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer OV5, VELP Scientifica, Italy) และปรับค่า pH 2.0 ± 0.1 ด้วย 1 โมลาร์ HCl และเติม Pepsin ปริมาตร 2 มล. ปรับปริมาตรเป็น 40 มล. ด้วย 120 มิลลิโมลาร์ NaCl ไล่ออกซิเจนด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดฝาให้แน่นและหุ้มด้วยพาราฟิล์ม บ่มในอ่างน้ำแบบเขย่า ที่ 37 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง

2) Small Intestinal Phase วิเคราะห์ตามวิธีของ [14] ปรับค่า pH ของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยจาก ข้อ 1) ให้มีค่า pH 6.0 ± 0.1 ด้วย 1 M $NaHCO_3$ และเติม Crude Bile Extract จากนั้นเติม Pancreatin ปริมาตร 2 มล. และ β-glucosidase ปริมาตร 2 มล. ปรับค่า pH 6.5 ± 0.01 ด้วย 1 M $NaHCO_3$ ไล่ออกซิเจนด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดฝาให้แน่นและหุ้มด้วยพาราฟิล์ม บ่มในอ่างน้ำแบบเขย่าที่ 37 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ส่วนที่ได้นี้ คือ Digesta ปิเปต Digesta ปริมาตร 10 มล. ไล่ออกซิเจนด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดฝาให้แน่นและหุ้มด้วยพาราฟิล์ม เก็บที่ –20 องศาเซลเซียส เพื่อการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

นำส่วน Digesta ปริมาตร 12 มล. ปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบ 90 นาที แยกส่วนใสออก กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร ไล่ออกซิเจนออกจากสารละลายด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดฝาให้แน่นและหุ้มด้วยพาราฟิล์ม เก็บที่ –20 องศาเซลเซียส ส่วนใสที่ได้นี้คือ Aqueous นำตัวอย่าง Aqueous และ Digesta วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และการนำไปใช้ทางชีวภาพ ดังสมการที่ (2)

$$Bioaccessibility\ (\%) = \frac{Conc.\ in\ A}{Conc.\ in\ D} \times 100 \qquad (2)$$

เมื่อ $Conc.in\ A$ คือ ความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด หรือฤทธิ์การต้านออกซิเดชันใน Aqueous

$Conc.\ in\ D$ คือ ความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด หรือฤทธิ์การต้านออกซิเดชันใน Digesta

2.8 วิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้วิธี t-test for Independent Samples (Separate Variance t-test) และ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT)

3. ผลการทดลอง

3.1 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่นสด และสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้ง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่นสด และสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้งแสดงดังตารางที่ 1 พบว่า การอบแห้งส่งผลให้ปริมาณไขมัน และเถ้ามีค่าสูงขึ้นจากสาหร่ายพวงองุ่นสด เนื่องจากการอบแห้งเป็นกระบวนการดึงน้ำออกจากวัตถุดิบทำให้ปริมาณน้ำในวัตถุดิบลดลง เมื่อคำนวนร้อยละองค์ประกอบทางเคมีจึงทำให้ปริมาณร้อยละขององค์ประกอบอื่นๆ มีค่าสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม ปริมาณไขมันที่ได้วัดค่าได้จากสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้งมีค่าลดลงอาจเป็นผลมาจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (Enzyme Hydrolysis) ที่เกิดขึ้นในช่วงแรกของกระบวนการอบแห้งหรือเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในระหว่างการให้ความร้อน [19] ขณะที่ [20] รายงานปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่นสดและสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้ง

Composition	Fresh (%)	Dried (%)
Moisture	82.63 ± 0.07	2.29 ± 0.05
Protein	3.89 ± 0.96	19.76 ± 2.26
Fat	1.27 ± 7.69	0.63 ± 0.31
Ash	12.21 ± 0.01	31.4 ± 6.16

และเถ้า ของสาหร่ายพวงองุ่นสดมีค่าเท่ากับ 95.01 ± 0.17%, 0.43 ± 0.01%, 0.79 ± 0.00% และ 3.41 ± 0.16% ตามลำดับ และสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้งมีค่าเท่ากับ 5.40%, 14.40%, 0.85% และ 41.85% ตามลำดับ [21] ทั้งนี้ งานวิจัยสาหร่ายพวงองุ่นของ [20] และ [21] เป็นสาหร่ายที่เจริญในพื้นที่ประเทศอินโดนีเซีย แต่อยู่ในเขตชายฝั่งต่างกัน คือ ชายฝั่ง Kabupaten Natuna และชายฝั่ง Takalar ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลดังกล่าวกับองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายพวงองุ่นในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า แหล่งเพาะเลี้ยงหรือพื้นที่ที่แตกต่างกันส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมี ดังนั้นการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจึงการวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อพิจารณาความคลาดเคลื่อน และเปรียบเทียบผลการทดลองจากงานวิจัยที่ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายพวงองุ่นแห้งที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าใกล้เคียงกับสาหร่ายขนนก (*C. racemose*) และสาหร่ายหนาม (*Acanthopora spicefer*) ที่มีค่าเท่ากับ 18.3% และ 18.9% ของตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ [22] ขณะที่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวบางชนิด เช่น สาหร่ายใบมะกรูด (*Genus Halimeda*) มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสาหร่ายพวงองุ่นในงานวิจัยนี้ โดยสาหร่าย *Halimeda macroloba* มีค่า 28.94 ± 0.68% ของตัวอย่างแห้ง และสาหร่าย *H. tuna* มีค่า 23.12 ± 0.86% ของตัวอย่างแห้ง [23]

3.2 ปริมาณสารต้านออกซิเดชันและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสาหร่ายพวงองุ่น

3.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

การศึกษาปริมาณฟีนอลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นสดและผ่านการอบแห้ง พบว่า สาหร่ายพวงองุ่นสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดรวมมากกว่าสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีค่าเท่ากับ 38.10 ± 3.00 และ 3.50 ± 0.51 มิลลิกรัม GAE/g Dry Sample ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นลดลงเมื่อผ่านการอบแห้ง [24] ทั้งนี้ คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และโปรตีนเป็นสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่พบในสาหร่ายพวงองุ่น ซึ่งคลอโรฟิลล์มีค่าลดลงเมื่อผ่านการอบแห้ง เนื่องจากคลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุที่ไม่ทนความร้อน [25] แต่ไม่ส่งผลกระทบต่อแคโรทีนอยด์ [26] โดยทั่วไปการใช้ความร้อนในการแปรรูปวัตถุดิบที่อุณหภูมิสูงเกินไปและ/หรือใช้ระยะเวลานานเกินไปส่งผลให้ฤทธิ์ของสารต้านออกซิเดชันมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยสาหร่ายพวงองุ่นที่เจริญในพื้นที่ Penghu Hsien ประเทศไต้หวัน ที่มีค่าประมาณ 1.30–2.04 มิลลิกรัม GAE/g Dry Sample [27] ขณะที่ [20] รายงานฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นแห้งและสดที่ใช้ระบบอิมัลชันของกรดไลโนเลอิกมีเท่ากับ 54.23 ± 2.28% และ 79.09 ± 0.78% ตามลำดับ ขณะที่การใช้วิตามินซีมีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเท่ากับ 81.78 ± 0.78% นอกจากนี้ สาหร่าย *U. lactuca* (L.) *Enteromorpha intestinalis* (L.-Ness) และ *Cladophora vagabunda* (L.-C Hoek) อบแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลทั้งหมดในช่วง 268.8 ± 0.7 ถึง 365.8 ± 0.3 มิลลิกรัม GAE/g Sample [28] จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลทั้งหมดในงานวิจัยของ [27] และ [28] แสดงให้เห็นว่า แหล่งเจริญหรือเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นมีผลต่อปริมาณฟีนอลทั้งหมด เช่นเดียวกับองค์ประกอบทางเคมี อย่างไรก็ตาม สาหร่ายสีน้ำตาลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมากกว่าสาหร่ายทะเลสีเขียวและสาหร่ายทะเลสีแดง เนื่องจากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลมีฟลอโรแทนนิน (Phlorotannin) เป็นส่วนประกอบในปริมาณมาก โดยทั่วไปฟลอโรแทนนินมีสารประกอบฟีนอลทั้งหมดประมาณ 1–14% ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง [29]

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นสดและแห้ง

Sample	Total phenolic (mg GAE/g DW)	t	Sig.
Fresh	38.10 ± 3.00	19.72*	<0.0001
Dried	3.50 ± 0.51		

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2.2 ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสาหร่ายสดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH มีค่าสูงกว่าวิธี ABTS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีค่าเท่ากับ 13.82 ± 0.22% และ 5.90 ± 0.82% ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 3 ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้งที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH (1.93 ± 0.31%) และวิธี ABTS (2.11 ± 0.13%) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 3 ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH และ ABTS ของสาหร่ายพวงองุ่นแบบสดและแห้ง

Sample (Radical Scavenging Activity)	% inhibition	t	Sig.
Fresh (DPPH) Fresh (ABTS)	5.90 ± 0.82 13.82 ± 0.22	16.25*	<0.0001
Dried (DPPH) Dried (ABTS)	1.93 ± 0.31 2.11 ± 0.13	0.97*	0.39

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ทั้งนี้ การรายงานฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS มีค่าสูงกว่าวิธี DPPH เนื่องจากวิธี ABTS มีจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาที่เร็วกว่าและมีการตอบสนองต่อสารต้านออกซิเดชันสูงกว่าวิธี DPPH [30] อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจากผลการทดลองนี้มีค่าใกล้เคียงกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและแอซีโทนที่มีค่าเท่ากับ 5.89 ± 0.46% [31]

กลไกการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายพวงองุ่นส่วนหนึ่งเกิดจากการที่แคโรทีนอยด์ถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้กับอะตอมของไฮโดรเจน หรือจับกับอนุมูลอิสระ และสามารถเปลี่ยนซิงเกล็ทออกซิเจน (Singlet Oxygen) ให้อยู่ในรูปทริปเปร็ท (Triplet Oxygen) [32] ขณะที่คลอโรฟิลล์สามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนอิสระให้กับอนุมูลอิสระ ทำให้โครงสร้างของอนุมูลอิสระมีเสถียรภาพมากขึ้น [33] นอกจากนี้ ตัวทำละลายในการสกัดสารสามารถส่งผลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน เนื่องจากสภาพขั้วโมเลกุลที่ต่างกันอาจส่งผลกระทบต่อความสามารถในการให้โปรตอน (Hydrogen Atom Transfer Reaction) และการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเดี่ยว (Single Electron Transfer Reaction) อย่างชัดเจน ซึ่งสารต้านออกซิเดชันมีความสามารถในการละลายที่แตกต่างกัน [34] เมื่อพิจารณาดัชนีความมีขั้ว (Polarity Index) เมทานอลและแอซีโทนมีค่าเท่ากัน (5.1) ขณะที่เฮกเซนมีค่าเท่ากับ 0.1 ดังนั้น การเปรียบเทียบดัชนีความมีขั้วระหว่างเมทานอลแลพแอซีโทนจึงมีความใกล้เคียงกัน [34] รายงานปริมาณฟีนอลทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH (EC_{50}) ของสารสกัดจากสาหร่ายสีแดง (*Gracilaria changii*) ที่ใช้เมทานอลและแอซีโทนเป็นตัวทำละลายไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ขณะที่การใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสาหร่ายไก (*C. patentiramea*) ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียว ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน (วิธี DPPH) มีค่าสูงกว่าการใช้เฮกเซน แต่ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดสาหร่ายทุ่น (*S. baccularia*) ซึ่งเป็นสาหร่ายสีน้ำตาลที่สกัดด้วยเฮกเซนมีค่าสูงกว่าการใช้เมทานอล [35] งานวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า เมทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสาหร่ายสีเขียวเพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน

3.3 การนำไปใช้ทางชีวภาพของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจากสาหร่ายพวงองุ่นสดจากแบบจำลองทางเดินอาหารของมนุษย์

ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และความคงตัวในกระบวนการย่อย แสดงดังตารางที่ 4 และ 5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ได้ใน Digesta และ Aqueous เพิ่มขึ้นตามปริมาณสาหร่ายพวงองุ่นที่เพิ่มขึ้นในทุกระดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ความคงตัวในกระบวนการย่อยของสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันลดลงสวนทางกับปริมาณสาหร่ายพวงองุ่นที่เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบการนำไปใช้ทางชีวภาพของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายพวงองุ่น พบว่าทั้งสองค่าจากสารละลาย Digesta มีค่ามากกว่าค่าที่ได้จากสารละลาย Aqueous

ตารางที่ 4 การนำไปใช้ทางชีวภาพของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจากสาหร่ายพวงองุ่นสดเมื่อผ่านแบบจำลองทางเดินอาหารของมนุษย์

Sample (g)	Total phenolic (mg GAE/g RM)		Bioaccessibility (%)
	Digesta	Aqueous	
0	0^{e}	0^{e}	0^{e}
2	1.41 ± 0.03^{d}	1.32 ± 0.01^{d}	93.61 ± 2.56^{a}
4	2.06 ± 0.03^{c}	1.79 ± 0.01^{c}	86.89 ± 1.01^{b}
6	2.98 ± 0.10^{b}	2.13 ± 0.02^{b}	71.47 ± 1.19^{c}
8	3.51 ± 0.05^{a}	2.41 ± 0.01^{a}	68.66 ± 1.28^{d}

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5 การนำไปใช้ทางชีวภาพในการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายพวงองุ่นสดด้วยวิธี DPPH เมื่อผ่านแบบจำลองทางเดินอาหารของมนุษย์

Sample (g)	% Inhibition		Bioaccessibility (%)
	Digesta	Aqueous	
0	0^{e}	0^{e}	0^{e}
2	17.48 ± 0.23^{d}	15.70 ± 1.95^{d}	89.82 ± 2.06^{a}
4	21.65 ± 0.33^{c}	17.64 ± 1.50^{c}	81.47 ± 2.11^{b}
6	34.75 ± 0.20^{b}	25.57 ± 3.79^{b}	73.58 ± 1.16^{c}
8	45.97 ± 0.55^{a}	31.56 ± 2.97^{a}	68.65 ± 1.68^{d}

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เนื่องจากสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ของสาหร่าย [36] เมื่อสาหร่ายพวงองุ่นสดผ่านการย่อยในระบบทางเดินอาหารจำลองทำให้สารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์สาหร่ายพวงองุ่นสดแตกตัว หรือหลุดออกมาจากโครงสร้างหลัก และกระจายตัวอยู่ในส่วนของ Digesta และ Aqueous การนำไปใช้ทางชีวภาพที่วิเคราะห์ได้จาก Aqueous เป็นปริมาณที่ร่างกายมนุษย์ได้รับอย่างแท้จริง [8] เนื่องจากสารละลายจาก Aqueous เป็นสารละลายที่ได้จากการย่อยสารหลังทางเดินอาหาร [37] โดยทั่วไปการย่อยอาหารเกิดขึ้นที่กระเพาะอาหารและดูดซึมในลำไส้เล็ก [38] มีเพียงสารที่ละลายได้ในไขมัน เช่น แอลกอฮอล์ และแอสไพริน ที่ดูดซึมในกระเพาะอาหาร [39] ขณะที่พอลิฟีนอลทั้งหมด (100%) ดูดซึมได้ในลำไส้เล็ก 5–10% (เช่น โครงสร้างมอนอเมอร์ โครงสร้างไดเมอร์ และ Aglycones) และพอลิฟีนอลที่เหลือ 90–95% อยู่ในลูเมนของลำไส้ใหญ่ (Large Intestine Lumen) โดยจับอยู่กับสารอื่นๆ ที่ขับออกทางน้ำดี ทำให้พอลิฟีนอลเหล่านี้สัมผัสกับเอนไซม์และจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ โดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ (Colonic Microbiota) ทำลายโครงสร้างของพอลิฟีนอลลิกให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงเพื่อให้ร่างกายสามารถดูดซึมได้ง่ายขึ้น [40] การนำไปใช้ทางชีวภาพของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสาหร่ายพวงองุ่นที่วิเคราะห์ได้จาก Digesta จึงมีค่ามากกว่าค่าที่ได้จากสารละลาย Aqueous อย่างไรก็ตาม ในระบบทางเดินอาหารจำลองมีการกำหนดปริมาณเอนไซม์และสภาวะในการทดลองที่คงที่ อัตราของการย่อยจึงมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณสาหร่ายพวงองุ่นในระบบ จึงส่งผลให้ความคงตัวในการย่อยของสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันมีค่าลดลง ทั้งนี้ ค่า pH ส่วนใหญ่ที่ใช้ในการศึกษาระบบทางเดินอาหารจำลองมีค่าต่ำกว่า 2.5 ค่าดังกล่าวนี้เป็นค่าที่อยู่ในสภาวะการอดอาหารของมนุษย์ ขณะที่การย่อยอาหารทั่วไปมีค่า pH สูงกว่า 4.5 นอกจากนี้ค่า pH จะขึ้นอยู่กับสมบัติการเป็นการบัฟเฟอร์ของอาหารแต่ละชนิดด้วยเช่นกัน [41] ค่า pH เป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลกระทบอย่างชัดเจนต่อสารต้านออกซิเดชันและกิจกรรมที่เกิดขึ้นจากสารที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Pro-oxidant) ค่า pH สูงส่งผลให้สารกลุ่มฟีนอลเพิ่มฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน ในทางกลับกันการที่ระบบมีค่า pH สูงกลับเหนี่ยวนำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันจากกลุ่มโลหะแทรนซิชัน (Metal-catalyzed Oxidation) [8] นอกจากนี้ ปัจจัยที่ส่งผลต่อการศึกษาชีวปริมาณออกฤทธิ์ของแคโรทีนอยด์ ได้แก่ โครงสร้างอาหาร เมทริกซ์อาหาร และคุณสมบัติการแปรรูป สรีรวิทยา และลักษณะทางพันธุกรรม และปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง [42]

4. สรุป

ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การเป็นสารต้านออกซิเดชันในสาหร่ายพวงองุ่นสดมีค่าสูงกว่าสาหร่ายพวงองุ่นอบแห้ง ดังนั้นการบริโภคสาหร่ายพวงองุ่นแบบสดจึงมีประโยชน์ต่อผู้บริโภคมากกว่าการอบแห้ง โดยที่การศึกษาการนำไปใช้ทางชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นสดในทางเดินอาหารจำลองของมนุษย์เป็นการแสดงปริมาณฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันที่ร่างกายมนุษย์ได้รับอย่างแท้จริง ผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลในการบริโภคสาหร่ายพวงองุ่นซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่มีประโยชน์และได้รับความนิยมในการบริโภคในปัจจุบัน

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

เอกสารอ้างอิง

[1] S. U. Kadam, B. K. Tiwari, and C. P. O'Donnell, "Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 61, pp. 4667–4675, 2013.

[2] X. Chen, Y. Sun, H. Liu, S. Liu, Y. Qin, and P. Li. (2019). Advances in cultivation, wastewater treatment application, bioactive components of *Caulerpa lentillifera* and their biotechnological applications. *PeerJ*. 7:e6118, 2019. [Online]. Available: http://doi.org/10.7717/peerj.6118.

[3] R. Syamsuddin, H. Y. Azis, Badraeni, and Rustam, "Comparative study on the growth, carotenoid, fibre and mineral content of the seaweed *Caulerpa lentillifera* cultivated indoors and in the sea," in *Proceedings Syamsuddin 2019 Comparative SO*, 2019.

[4] N. A. Paul, N. Neveux, M. Magnusson, and R. de Nys, "Comparative production and nutritional value of "sea grapes" — the tropical green seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *C. racemose*," *Journal of Applied Phycology*, vol. 26, pp. 1833–1844, 2014.

[5] M. Hayes and D. Flower, "Bioactive peptides from marine processing byproducts" in *Bioactive Compounds from Marine Foods: Plant and Animal Sources*, B. Hernandez-Ledesma and M. Herrero, Eds., UK: John Wiley & Sons, 2014, pp. 57-71.

[6] M. Blasa, L. Gennari, D. Angelino, and P. Ninfali, "Fruit and vegetable antioxidants in health," in *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*, R. R. Watson and V. R. Preedy, San Diego, CA: Academic Press, 2010, pp. 37–58.

[7] K. Wojtunik-Kulesza, A. Oniszczuk, T. Oniszczuk, M. Combrzynski, D. Nowakowska, and A. Matwijczuk, "Influence of *in vitro* digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols—A non-systematic review," *Nutrients*, vol. 12, no. 5, pp. 1401, 2020.

[8] G. M. Bornhorst, O. Gouseti, M. S. J. Wickham, and S. Bakalis, "Engineering digestion: Multiscale processes of food digestion," *Journal of Food Science*, vol. 81, no. 3, pp. R534–R543, 2016.

[9] C. Paliwal, T. Ghosh, K. Bhayani, R. Maurya, and S. Mishra, "Antioxidant, anti-nephrolithe activities and *in vitro* digestibility studies of three different cyanobacterial pigment extracts," *Mar Drugs*., vol. 13, no. 8, pp. 5384–5401, 2015.

[10] G. Corona, M. M. Coman, Y. Guo, S. Hotchkiss, C. Gill, P. Yaqoob, J. P. E. Spencer, and I. Rowland, "Effect of simulated gastrointestinal digestion

and fermentation on polyphenolic content and bioactivity of brown seaweed phlorotannin-rich extracts," *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 61, no. 11, 2017.

[11] A. Galland-Irmouli, J. Fleurence, R. Lamghari, M. Lucon, C. Rouxel, O. Barbaroux, J. Bronowicki, C. Villaume, and J. Gueant, "Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (Dulse)," *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 10, pp. 353–359, 1999.

[12] R. E. Cian, M. A. Fajardo, M. Alaiz, J. Vioque, R. J. Gonzalez, and S. R. Drago, "Chemical composition, and antioxidant properties of the red edible seaweed Porphyra columbina," *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 65, no. 3, pp. 299–305, 2014.

[13] S. Vladimir-Kneževic, B. Blažekovi´c, M. Bival Štefan, and M. Babac, "Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health," in *Phytochemicals as Nutraceuticals—Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*, UK: In Tech: London, 2012, pp. 155–177.

[14] P. Košinová, F. Di Meo, E. H. Anouar, J. L. Auroux, and P. Trouillas, "H-atom acceptor capacity of free radicals used in antioxidant measurements," *International Journal of Quantum Chemistry*, vol. 111, pp. 1131–1142, 2011.

[15] S. Bleakey and M. Hayes, "Algal proteins: Extraction, application, and challenges concerning production," *Foods*, vol. 6, no. 33, 2017.

[16] P. A. Tenorio-Rodriguez, J. I. Murillo-A´ lvarez, A. I. Campa-Cordova, and C. Angulo, "Antioxidant screening and phenolic content of ethanol extracts of selected Baja California Peninsula macroalgae," *Journal of Food Science and Technology*, vol. 54, no. 2, pp. 422–429, 2017.

[17] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Y. M. Pannala, and C. Rice-Evans, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorizing assay," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 26, no. 9–10, pp. 1231–1237, 1999.

[18] M. G. Ferruzzi, M. L. Failla, and S. J. Schwartz, "Assessment of degradation and intestinal cell uptake of carotenoids and chlorophylls derivatives from Spinach Puree using an *in vitro* digestion and Caco-2 human intestinal cells model," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, no. 4, pp. 2082–2089, 2001.

[19] M. Miranda, A. Vega-Gálvez, J. López, G. Parada, M. Sanders, M. Aranda, E. Uribe, and K. D. Scala, "Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.)," *Industrial Crops and Products*, vol. 32, no. 3 pp. 258–263, 2010.

[20] R. Nofiani, S. Hertanto, T. A. Zaharah, and S. Gafur, "Proximate compositions and biological activities of *caulerpa lentillifera*," *Molekul*, vol. 13, no. 2, pp. 141–147, 2018.

[21] E. Sinurat and S. Fadjriah, "The chemical properties of seaweed *Caulerpa lentifera* from Takalar, South Sulawesi," *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*, vol. 546, 2019.

[22] S. Rameshkumar, C. M. Ramakritinan, and M. Yokeshbabu, "Proximate composition of some selected seaweeds from Palk bay and Gulf of Mannar, Tamilnadu India," *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, vol. 3, no. 16, pp. 1–5, 2012.

[23] K. Manivannan, G. Thirumaran, G. Karthikai Devi, P. Anantharaman, and T. Balasubramanian, "Proximate composition of different group of seaweeds from vedalai coastal waters (Gulf of Mannar): Southeast Coast of India," *Middle East Journal of Scientific Research*, vol. 4, no. 2, pp. 72–77, 2009.

[24] S. Lapnitiporn, N. Laohakunjit, and O. Kerdchoechuen, "Physico-Chemical composition and antioxidant activity of cashew apple juice," *Journal of Agricultural Science*, vol. 43, no. 2 (Suppl.), pp. 409–412, 2012.

[25] M. Stramarkou, S. Papadaki, K. Kyriakopoulou, and M. Krokida, "Effect of drying and extraction conditions on the recovery of bioactive compounds from *Chlorella vulgaris*," *Journal of Applied Phycology*, vol. 29, no. 6, pp. 2947–2960, 2017.

[26] T. M. Rababah, M. Al-u'datt, M. Alhamad, M. Al-Mahasneh, K. Ereifej, J. Andrade, B. Altarifi, A. Almajwal, and W. Yang, "Effects of drying process on total phenolics, antioxidant activity and flavonoid contents of common Mediterranean herbs," *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, vol. 8, no. 2, pp. 145–150, 2015.

[27] V. T. Nguyen, J. Ueng, and G. Tsai, "Proximate composition, total phenolic content, and antioxidant activity of seagrape (*Caulerpa lentillifera*)," *Journal of Food Science*, vol. 76, no. 7, pp. C950–C958, 2011.

[28] R. Sirbu, T. Negreanu-Pirjol, M. Mirea, and B. S. Negreanu-Pirjol, "Bioactive compounds from three green algae species along Romanian black sea coast with therapeutically properties," *European Journal of Medicine and Natural Sciences*, vol. 3, no. 1, pp. 5–15, 2019.

[29] A. C. Guedes, H. M. Amaro, I. Sousa-Pinto, and F. X. Malcata, "Algal spent biomass—A pool of applications" in *Biofuels from Algae*, A. Pandey, J. Chang, C. R. Soccol, D. Lee, and Y. Chisti, Eds., UK: Elsevier, 2019, pp. 397–433.

[30] K. J. Lee, Y. C. Oh, W. K. Cho, and J. Y. Ma, "Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2015, 2015.

[31] P. Wisespongpand, P. Jitmitrsumphan, C. Kaewsuralikhit, and A. Kanthawong, "Antioxidant activities of extracts from seaweed," in *Proceedings 51st Kasetsart University Annual Conference: Veterinary Medicine, Fisheries*, Bangkok, Thailand, 5–7 Feb. 2013, pp. 414–421.

[32] L. Kang, Y. Huang, W. Lim, P. Hsu, and P. Hwang, "Growth, pigment content, antioxidant activity, and phytoene desaturase gene expression in *Caulerpa lentillifera* grown under different combinations of blue and red light-emitting diodes," *Journal of Applied Phycology*, vol. 32, pp. 1971–1982, 2020.

[33] O. Merhan. (2017). *The Biochemistry and Antioxidant Properties of Carotenoids*. [Online]. Available: Available: https://www.intechopen.com/books/carotenoids/the-biochemistry-and-antioxidant-properties-of-carotenoids.

[34] P. T. Chan, P. Matanjun, S. M. Yasir, and T. S. Tan, "Antioxidant activities and polyphenolics of various solvent extracts of red seaweed,

Gracilaria changii," *Journal of Applied Phycology*, vol. 27, pp. 2377–2386, 2015.

[35] T. Z. B. Sheikh, C. L. Yong, and M. S. Lian, "*In vitro* antioxidant activity of the hexane and methanolic extracts of *Sargassum baccularia* and *Cladophora Patentiramea*," *Journal of Applied Phycology*, vol. 9, no. 13, pp. 2490–2493, 2009.

[36] F. Firdiyanti, T. W. Agustini, and W. F. Ma'ruf, "Extraction of bioactive compounds as natural antioxidants from fresh *Spirulina* platensis using different solvents," *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, vol. 18, no. 1, pp. 28–37, 2015.

[37] L. Tesoriere, M. Fazzari, F. Angileri, C. Gentile, and M. A. Livrea, "*In vitro* digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digesta," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, no. 22, pp. 10487–10492, 2008.

[38] P. R. Kiela and F. K. Ghishan, "Physiology of intestinal absorption and secretion," *Best Practice & Research. Clinical gastroenterology*, vol. 30, no. 2, pp. 145–159, 2016.

[39] S. Wakim and M. Grewal. (2020, December) *Human Biology*. [Online]. Available: https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Human_Biology/Book%3A_Human_Biology_(Wakim_and_Grewal)

[40] M. S. Swallah, H. Fu, H. Sun, R. Affoh, and H. Yu, "The impact of polyphenol on general nutrient metabolism in the monogastric gastrointestinal tract," *Journal of Food Quality*, vol. 2020, pp. 1–12, 2020.

[41] L. Machu, L. Misurcova, J. V. Ambrozova, J. Orsavova, J. Mlcek, J. Sochor, and T. Jurikova, "Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products," *Molecules*, vol. 20, pp. 1118–1133, 2015.

[42] I. Viera, A. Pérez-Gálvez, and M. Roca, "Bioaccessibility of marine carotenoids," *Marine Drugs*, vol. 16, 397, 2018. [Online]. Available: http://doi/10.3390/md16100397.