

ผลของความเครียดจากออกซิเดชันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิก ของสาหร่ายสีเขียวคลาโดฟลอร่า

Effect of Oxidation Stresses on Chlorophyll and Phenolic Compound Contents of Green Algae *Cladophora* sp.

สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ¹ ปิยะวดี ไกรกิจราษฎร์¹ รินทร์ลิตา รัตนธานีพัฒน์¹ ทรงกลด ไบยา²

อาภรณ์ บัวหลวง³ และ บงกช บุญบุรพงค์^{1*}

Surasak Laloknam¹ Piyawadee graikitrag¹ Rinlita Rattanathaniphat¹ Songklod Baiya²

Aporn Bualuang³ and Bongkoj Boonburapong^{1*}

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร 10110

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร 10110

³วิทยาลัยแพทยศาสตร์นานาชาติจุฬาภรณ์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12120

¹Department of General Science, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok, 10110

²Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok, 10110

³Department 3Chulabhorn International College of Medicine, Thammasat University, Pathumthani, 12120

*Corresponding author E-mail: bongkoj@g.swu.ac.th

Received 10 May 2022, Accepted 23 December 2022, Published 27 December 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเครียดจากออกซิเดชันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และ สารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายสีเขียวคลาโดฟลอร่า โดยนำสาหร่ายสีเขียวคลาโดฟลอร่าบ่มในภาวะที่มีความเครียดจากออกซิเดชันในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เข้มข้น 0, 1, 10, 25, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิกที่เวลา 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 100 มิลลิโมลาร์ ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงครั้งหนึ่ง ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง และให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 255.63 mg/ml จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าภายใต้ภาวะที่มีความเครียดจากออกซิเดชันสาหร่ายสีเขียวคลาโดฟลอร่าสามารถเจริญได้เนื่องจากการผลิตสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: ความเครียดจากออกซิเดชัน คลอโรฟิลล์ สารประกอบฟีนอลิก คลาโดฟลอร่า

ABSTRACT

This objective of this research was to study the effect of oxidative stresses using hydrogen peroxide on chlorophyll and phenolic compound contents of green algae *Cladophora* sp.. The green algae were incubated in medium various hydrogen peroxide concentration ranged of 0, 1, 10, 25, 50 and 100 mM,

respectively, at room temperature under continuing white light. Chlorophyll and phenolic compound contents were determined at interval times, 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 24 hours, respectively. The results showed that the *Cladophora* sp. had reduced half chlorophyll contents at 100 mM hydrogen peroxide (12 hours) with phenolic compound content was 255.63 mg/ml. This finding conclude that green algae *Cladophora* sp. could grow under oxidative stress by using enhance phenolic compounds.

Keywords: Oxidative stress, Chlorophyll, Phenolic compound, *Cladophora* sp.

บทนำ

สาหร่าย (algae) จัดเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประเภท เช่น บังชี้คุณภาพแหล่งน้ำ บำบัดน้ำเสีย อาหารคนและสัตว์ ปุ๋ยชีวภาพ ยารักษาโรค จึงมีการพัฒนานำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมต่างๆ (ยุวดี, 2558; อารณ, สมบัติ และสุรศักดิ์, 2556; ยุวดี และคณะ, 2552) สาหร่ายสามารถพบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำ เช่น ทางภาคเหนือและภาคอีสาน มีการนำสาหร่ายมาบริโภค เรียกว่า สาหร่ายเตา (*Spirogyra* sp.) และ สาหร่ายไก่อ (*Cladophora* sp.) และ มีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภทเนื่องจากสาหร่ายมีคุณค่าทางโภชนาการอุดมไปด้วยสารอาหารประเภทโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมันจำเป็น วิตามิน และ แร่ธาตุ และ มีสารต้านอนุมูลอิสระ (วสันต์ และคณะ, 2556; จันทนา และอนงค์, 2555; ปริญญญา และอมรรัตน์, 2556) ปัจจุบันมนุษย์ดำรงอยู่ภายใต้ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) มากมาย เช่น แสงอัลตราไวโอเล็ต มลพิษสิ่งแวดล้อมจากควันเสีย และการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศของโลก ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radicle) ในร่างกายทำให้เกิดผลกระทบต่อนสุขภาพของแต่ละคนที่แตกต่างกันไปรวมถึงการที่ร่างกายปรับตัวให้ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้ต่างกันด้วย (อนงนาฏ, 2560; Noori, 2012; Jebur, Mokhamer and Eldemerdash, 2016) ดังนั้นทางเลือกสำหรับผู้บริโภคคือต้องหาแหล่งอาหารเสริมเพื่อเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระให้ร่างกาย ทำให้สาหร่ายเป็นแหล่งทางเลือกหนึ่งในการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะสารประกอบพวกฟีนอลิก เนื่องจากมีรายงานที่สาหร่ายมีสารต้านอนุมูลอิสระ และ ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ โดยสาหร่ายจะผลิตสารต่างๆ ภายใต้ภาวะที่มีความเครียดแตกต่างกัน ได้แก่ สารอาหาร อากาศ แสง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส และ ความเค็ม ส่งผลให้สาหร่ายเจริญเติบโตลดลง บางชนิดมีการปรับตัวสามารถทนต่อสภาวะเหล่านั้นได้ด้วยการผลิตหรือสะสมสารที่จำเป็นที่ลดความเครียด เช่น ภายใต้สภาวะทนเค็มมีการสะสมสารพวกออสโมโพรเทคแทนต์ (osmoprotectant) ได้แก่ โปรลีน และ อนุพันธ์ของกรตอะมิโน ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อลดความเครียดจากแรงดันออสโมติกและความเป็นพิษจากเกลือ นอกจากนี้ยังมีผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้มากขึ้น (Idaira et al., 2017; Haq et al., 2019; Laloknam et al., 2014; Sitthiwong, 2019; ยุวดี, จิติกานต์ และดวงพร, 2555; รัตนภรณ์ และคณะ, 2555)

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาเกี่ยวกับตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวชนิดคลาโดพอรามีลักษณะเป็นเส้นสายสีเขียวและสามารถนำมาบริโภคได้เนื่องจากมีสารอาหารประเภทโปรตีน วิตามิน และ เกลือแร่ รวมถึงมีกากใยที่สูง (Michalak and Messyas, 2021; Nutautaitė et al., 2021) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการเพิ่มคุณค่าของสาหร่ายชนิดนี้ด้วยการกระตุ้นเพื่อให้มีการผลิตสารอนุมูลอิสระมากขึ้น เช่น สารกลุ่มฟีนอลิก โดยทำการบ่มสาหร่ายชนิดนี้ภายใต้สภาวะเครียดจากสารที่ให้อนุมูลอิสระโดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2) ซึ่งจะให้อนุมูลอิสระออกมา แล้วทำการติดตามการเจริญเติบโตในระยะสั้นด้วยการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ และ ติดตามการสร้างสารประกอบฟีนอลิก ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของความเครียดจากออกซิเดชันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิกในสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอร่า เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับเป็นแหล่งอาหารเสริมต้านอนุมูลอิสระต่อไป

วิธีการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวคลาโดฟอรา (*Cladophora* sp.)

นำสาหร่ายสีเขียวชนิดเส้นสายคลาโดฟอรา จากห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพาะเลี้ยงในอาหารชนิดบรีสตอล (Bristol medium) พีเอช 6.5 ในบ่อเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร โดยมีอาหารเลี้ยงสูงประมาณ 20 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงตามสภาพธรรมชาติ อุณหภูมิห้อง ได้รับแสงเฉลี่ยต่อวัน 12 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน ก่อนทำการทดลอง

การศึกษาผลของความเครียดออกซิเดชันกับสาหร่ายสีเขียวคลาโดฟอรา (*Cladophora* sp.)

เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงชนิดบรีสตอล ที่แปรผันความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 0, 1, 10, 25, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ จากนั้นชั่งสาหร่ายสด จำนวน 3 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์แตกต่างกัน ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง ให้ได้รับแสงธรรมชาติตลอดเวลา จากนั้นทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิกที่เวลา 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ ดัดแปลงจากวิธีของ Phetprom (Phetprom et al., 2021) โดยชั่งสาหร่ายสดปริมาณ 0.1 กรัม นำไปสกัดคลอโรฟิลล์โดยใช้เอทานอลเข้มข้น จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟกำลัง 400 วัตต์ ระยะเวลา 15 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสเก็บไว้สังเกตสีที่ได้ ทำการวัดและคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธีของ Wellburn (Wellburn, 1994)

การวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ดัดแปลงจากวิธีของ ปริญญ์ มุลสิน และคณะ (สุทธวรรณ และคณะ, 2564) ซึ่งสาหร่ายคลาโดฟอราสดปริมาณ 0.1 กรัม นำไปสกัดหยาบโดยใช้เอทานอลเข้มข้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำส่วนใสปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Folin – Ciocalteu Reagent ปริมาตร 250 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง spectrophotometer นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกและคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วย mg GAE/g ผงสาหร่าย

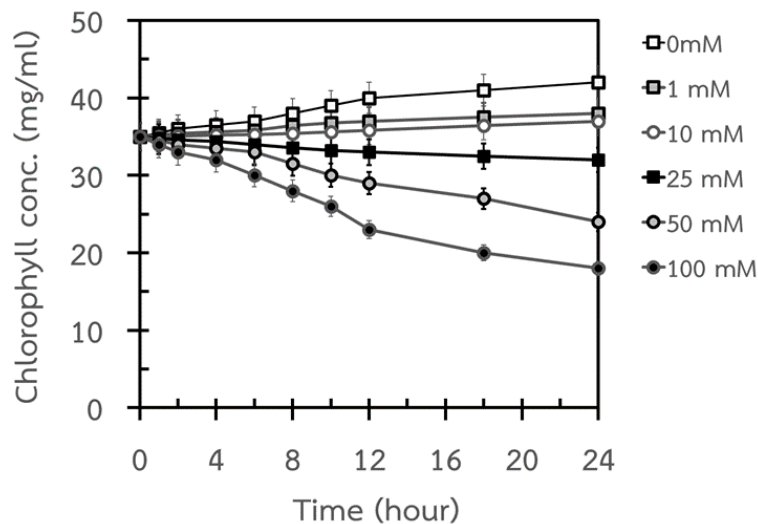
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย และวิจารณ์ผลการวิจัย

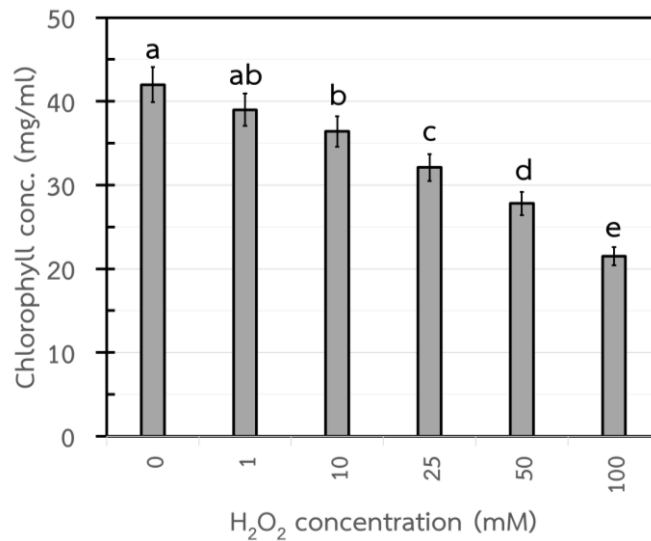
ผลของความเครียดออกซิเดชันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลรา

เมื่อนำสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลราทดลองภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันจากการเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในอาหารเหลวชนิดบิสต์ลที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 10, 25, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสาหร่ายคลาโดพอลราทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ แสดงผลดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลของความเครียดออกซิเดชันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลรา (n = 3)

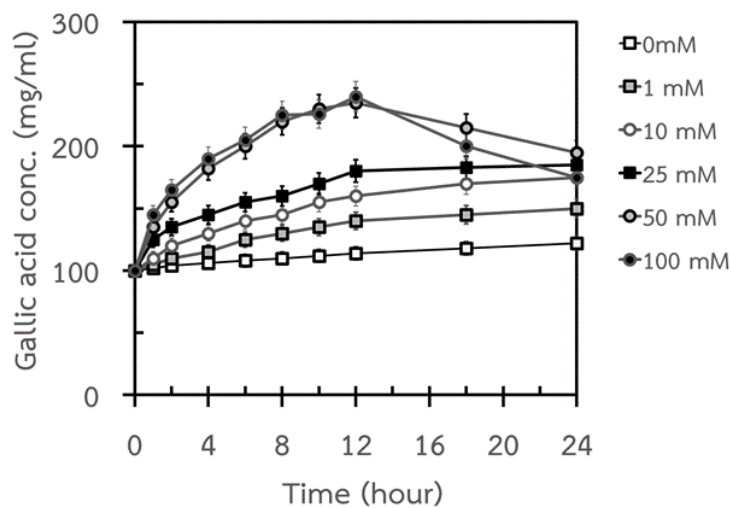
จากภาพที่ 1 พบว่า สาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลราที่ทำการศึกษาภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันเมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงขึ้นแนวโน้มปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง เมื่อระยะเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง แนวโน้มของปริมาณคลอโรฟิลล์คงที่ และระยะเวลาสูงมากขึ้นปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง โดยคลาโดพอลราที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงครึ่งหนึ่งจากภาวะปกติ ณ เวลา 12 ชั่วโมง ดังนั้นเมื่อพิจารณาปริมาณคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 100 มิลลิโมลาร์ ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงมากที่สุด รองลงมา คือ 50 และ 25 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0, 1 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีแนวโน้มปริมาณไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษานี้ภาวะเครียดจากออกซิเดชันที่ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงครึ่งจากภาวะปกติ คือ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ผลของความเครียดออกซิเดชันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลราที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง (n = 3)

ผลของความเครียดออกซิเดชันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลรา

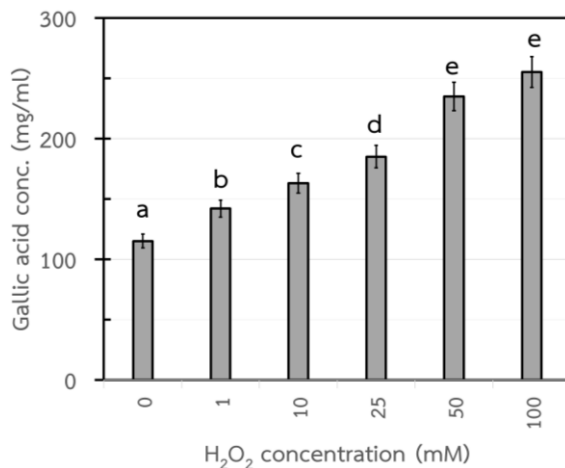
เมื่อนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลราที่ทดลองภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันจากสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0, 1, 10, 25, 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ ระยะเวลา 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 24 ชั่วโมง วัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน แสดงผลดังภาพที่ 3



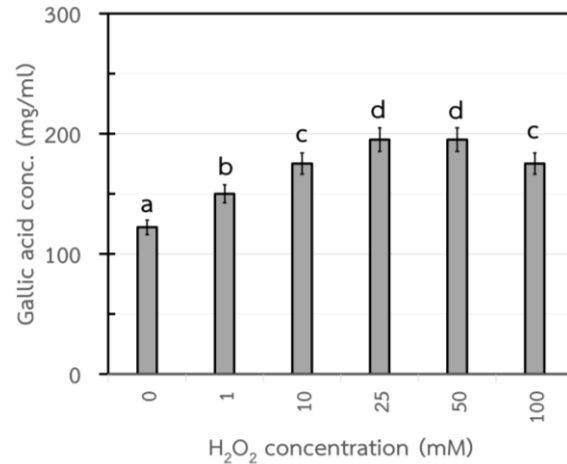
ภาพที่ 3 ผลของความเครียดออกซิเดชันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลรา (n = 3)

จากภาพที่ 3 พบว่า สารสกัดหยาบสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลราที่ทำการศึกษายภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีความสัมพันธ์กันระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์สูงขึ้นแนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงขึ้น เมื่อระยะเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง แนวโน้มของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ที่ระดับความเข้มข้น 0 – 25 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิโมลาร์มีแนวโน้มลดลง ดังนั้นเมื่อพิจารณาปริมาณฟีนอลิกรวมชั่วโมงที่ 12 พบว่า ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 100 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีการผลิต

สารประกอบรวมสูงสุด รองลงมา คือ 50, 25, 10, 1 และ 0 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ โดยให้ปริมาณฟีนอลิกรวม เท่ากับ 255.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4ก) เมื่อพิจารณาปริมาณฟีนอลิกที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมลดลง (ภาพที่ 4ข)



(ก) สารสกัดหยาบที่เวลา 12 ชั่วโมง

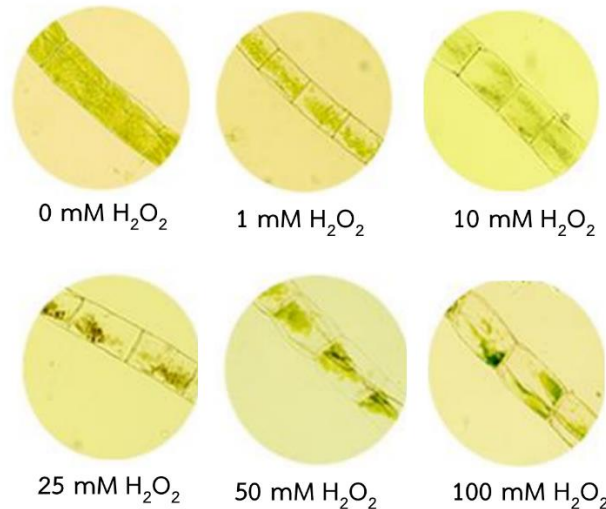


(ข) สารสกัดหยาบที่เวลา 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 4 ผลของความเครียดออกซิเดชันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลราที่แตกต่างกัน (n = 3)

(ก) สารสกัดหยาบที่เวลา 12 ชั่วโมง และ (ข) สารสกัดหยาบที่เวลา 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาผลของความเครียดออกซิเดชันต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และสารประกอบฟีนอลิกรวม จากภาพที่ 1 และ 2 พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น แต่ที่ระดับความเข้มข้นในภาวะปกติและระดับความเข้มข้นน้อยๆ มีแนวโน้มที่ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นน้อยแต่มีความต่อเนื่องในระยะเวลาที่ทำการศึกษา 24 ชั่วโมง และ ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงเมื่อถึงระดับความเข้มข้นหนึ่ง และที่ระดับความเข้มข้นที่ทำให้ลดลงจากภาวะปกติ เรียกว่า ภาวะเครียดจากออกซิเดชันที่สนใจ ทั้งนี้การเจริญเติบโตของเซลล์จะมากขึ้นหรือลดลงต้องอยู่กับการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตด้วยกลไกที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 3 และ 4 ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง เซลล์น่าจะมีกลไกในการรักษาสมดุลไว้ด้วยการสร้างสารประกอบฟีนอลิกรวมเนื่องจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์สูงขึ้นภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง ด้วยระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไป ที่ระดับ 50 และ 100 มิลลิโมลาร์ เซลล์อาจจะทนสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ไม่ได้ซึ่งอาจเกิดจากความผิดปกติเกิดกับเซลล์ ผู้วิจัยทำการศึกษายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เซลล์สาหร่ายสีเขียวคลาโดพอลราเกิดความผิดปกติและผนังเซลล์ถูกทำลายจึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่สาหร่ายไม่สามารถทนภาวะความเครียดออกซิเดชันที่สูงได้ แสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ความสามารถในการทนต่อความเครียดจากออกซิเดชันของสาหร่ายสีเขียวคลาโดฟลอร่า
ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

รายงานของ Hanaa (Hanaa et al., 2009) ศึกษาการเพิ่มการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายเกลียวทอง ภายใต้ความเครียดออกซิเดชัน พบว่า สาหร่ายมีการตอบสนองต่อความเครียดจากออกซิเดชันที่ความเข้มข้นไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่าง ๆ โดยการเพิ่มการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระหรือกิจกรรมด้วยเอนไซม์เพื่อป้องกันเซลล์ ในกรณีสาหร่ายคลาโดฟลอร่า ภายใต้ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในระยะเวลาที่สูงขึ้นพบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง โดยที่เวลา 2-12 ชั่วโมง ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงไม่มากนักเนื่องจากมีความพยายามปรับตัว โดยการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระประเภทสารประกอบฟีนอลิก การปรับตัวเพื่อความอยู่รอด คือ การเร่งผลิตสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันอันตรายที่ได้รับ จากอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ วิเคราะห์จากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้สาหร่ายมีการตอบสนองต่อความเครียดจากออกซิเดชันอาจเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ทั้งนี้ สารประกอบฟีนอลิกมีหมู่ฟีนอลบนวงเบนซีน ซึ่งสามารถให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ สามารถทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยการให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระและความสามารถในการรีดิวซ์กรดเฟอริก ทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (Noori, 2012; Jebur, Mokhamer and Eldemerdash, 2016; Idaira et al., 2017) สอดคล้องกับผลการศึกษา เมื่อสาหร่ายสไปโรไจราและคลาโดฟลอร่าอยู่ภายใต้ภาวะเครียดจากความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในระยะเวลาที่สูงขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น สัมพันธ์กับร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยดังกล่าว ดังนั้น สาหร่ายสีเขียวคลาโดฟลอร่า เมื่ออยู่ภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ภายใต้ระยะเวลาที่สูงขึ้นมีการปรับตัวเพื่อ ความอยู่รอดโดยการเร่งสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ให้มีปริมาณสูงขึ้น เพื่อยับยั้ง อนุมูลอิสระโดยการให้อิเล็กตรอนรวมถึงสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (ยุวดี, ฐิติกานต์ และดวงพร, 2555; รัตนารักษ์ และคณะ, 2555; Michalak and Messyas, 2021; Nutautaitė et al., 2021)

สรุปผลการวิจัย

1. ระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงขึ้นทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่ายสีเขียวชนิดเส้นสายคลาโดฟอรอลดลง โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 100 มิลลิโมลาร์ ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงครึ่งหนึ่งจากภาวะปกติใช้เวลา 12 ชั่วโมง
2. ระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงขึ้นทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสาหร่ายคลาโดฟอร่าเพิ่มสูงขึ้นที่เวลา 12 ชั่วโมง สาหร่ายคลาโดฟอร่าที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 100 มิลลิโมลาร์ ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 255.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นโดยทำการศึกษากับสาหร่ายสีเขียวคลาโดฟอร่าภายใต้ภาวะเครียดจากออกซิเดชันโดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้นจึงสามารถพัฒนาติดตามการเจริญเติบโตของสาหร่ายในระยะเวลาที่มากขึ้น และ ทำการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดอื่นๆ เพื่อให้เห็นความสัมพันธ์ของการปรับตัวภายใต้ภาวะเครียดของสิ่งมีชีวิต ศึกษาสารชนิดอื่นๆ เช่น สารออสโมโพรเทคแทนต์ รวมถึงการเปรียบเทียบความสามารถกับสาหร่ายชนิดอื่นๆ เช่น สาหร่ายเซลล์เดี่ยว ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ รวมถึงสถานที่ที่ใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จันทนา ไพรบูรณ์, และอนงค์ จีระภัทร. (2555). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปริญญญา มูลสิน, และอมรรรัตน์ วงษ์กลม. (2556). การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากสาหร่ายเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. อุดรราชธานี: สาขาวิชาชีววิทยา และสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรราชธานี.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. (2558). สาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย (พิมพ์ครั้งที่ 3). เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยุวดี พิรพรพิศาล, ญาณิ พงษ์ไพบูลย์, ดวงตา กาญจนโพธิ์, ธวัช แด่โสตะถิกุล, ดวงพร อมรเลิศพิศาล, และสุดาพร ตงศิริ. (2552). ศักยภาพของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอาง รายงานฉบับสมบูรณ์. เชียงใหม่: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยุวดี พิรพรพิศาล, วิฑิตกานต์ ปัญญาใหญ่, และดวงพร อมรเลิศพิศาล. (2555). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบของสาหร่ายเตา. วารสารวิทยาศาสตร์ ขอนแก่น, 40(1), 238-235.

- รัตนารณ จันทร์ทิพย์, ฐิติพรรณ นิมสุข, อรุณี คงดี, และดวงพร อมรเลิศพิศาล. (2555). พืชทะเลและผลของตัวทำลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายเตา (*Spirogyra* sp.). ใน การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ครั้งที่ 3, หน้า 15-22). เชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วสันต์ สุมินทิลี, ปณิดา บรรจงสินศิริ, จันทนา ไพรบูรณ์, และวรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์. (2556). กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) สาหร่ายทุ่น (*Sargassum oligocystum*) และสาหร่ายเขากวาง (*Gracilaria changii*). วารสารเทคโนโลยีการอาหารมหาวิทยาลัยสยาม, 9(1), 63-75.
- สุทธวรรณ สุพรรณ, พลอยไพลิน สดมณี, ปัทมาภรณ์ คุ่มกัน, ศราวุธ ราชสี, และประดัดรัฐ ประจันเขตต์. (2564).ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายเตา. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดร, 9(2), 49 – 67.
- อาภรณ์ บัวหลวง, สมบัติ คงวิทยา, และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. (2556). ประโยชน์ของสาหร่ายขนาดเล็ก. วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้, 4(1), 72-79.
- อนงนาฏ ไพนุงศ์. (2560). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. PKRU. SciTech J., 1(2), 20 – 27.
- Hanaa H., El-Baky A., El-Baz F. K., and El-Baroty G. S. (2009). Production of phenolic compounds from *Spirulina maxima* microalgae and its protective effects African. *Journal of Biotechnology*, 8(24), 7059-7067.
- Haq S. H., Al-Ruwaished G., Al-Mutlaq M. A., Naji S. A., Al-Mogren M., Al-Rashed S., Ain Q. T., Al-Amro A. A., and Al-Mussallam A. (2019). **Antioxidant, Anticancer Activity and Phytochemical Analysis of Green Algae, *Chaetomorpha*** Collected from the Arabian Gulf. *Sci Rep.* 9, 18906 (2019). Retrieved from <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55309-1> Retrieved from <https://www.nature.com/articles/s41598-019-55309-1#citeas>
- Idaira J. M., Sara G. P., Gara R. M., Milagros R., Cristina A. O., and Juan L. G. P. (2017). Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Crude Extracts from Microalgae and Cyanobacteria Strains. *Journal of Food Quality*. Retrieved from <https://downloads.hindawi.com/journals/jfq/2017/2924508.pdf>
- Jebur A. B., Mokhamer, M. H., and Eldemerdash F. M. (2016). A Review on Oxidative Stress and Role of Antioxidants in Diabetes Mellitus. *Austin Endocrinology and Diabetes Case*, 1(1), 1-6.
- Laloknam S., Kanchitanurak P., Boonburapong B., Rai V., and Kongvitthaya S. (2014). Inorganic and Organic Compounds of Freshwater Filamentous Cyanobacteria under Normal and Salt Stress Conditions. *J. Chem. Chem. Eng*, 8, 1059-1067.
- Michalak I., and Messyas B. (2021). Concise review of *Cladophora* spp.: macroalgae of commercial interest. *J. Appl. Phycol*, 33, 133-166.
- Noori, S. (2012). An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. *Open Access Scientific Reports*, 1(8), 2-9.
- Nutautaitė M., Vilien V., Raceviciūtė S. A., Bliznikas S., Karosienė J., and Koreivienė J. (2021). Freshwater *Cladophora glomerata* Biomass as Promising Protein and Other Essential Nutrients Source for High Quality and More Sustainable Feed Production. *Agriculture*, 11, 582.

- Phetprom, N., Charoenman, V., Boonburapong, B., Bualuang, A., and Laloknam. (2021). Cellulose extraction from cyanobacteria *Nostoc* sp. for alternative energy source. **Prawarun Agricultural Journal**, 18(2), 24–32.
- Sitthiwong N. (2019). Pigment and nutritional value of *Spirogyra* spp. in Sakon Nakhon, Nakhon Phanom and Mukdahan provinces. **Science and Technology RMUTT Journal**, 9(1), 10-21.
- Wellburn A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a & b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of plant physiology**, 144(3), 307–313