ฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นเพื่อการพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ

สิทธิกรณ์ อยู่แจ่ม

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2566

ฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นเพื่อการพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ

สิทธิกรณ์ อยู่แจ่ม

ดุษฎีนิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นเพื่อการพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ

สิทธิกรณ์ อยู่แจ่ม

ดุษฎีนิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศรา ไล้เลิศ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชนกันต์ จิตมนัส)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รองอธิการบดี
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง ฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายพวงองุ่นเพื่อการพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ
ชื่อผู้เขียน นายสิทธิกรณ์ อยู่แจ่ม
ชื่อปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล

บทคัดย่อ

สาหร่ายพวงองุ่นเป็นสาหร่ายทะเลสีเขียวที่พบมากในภาคใต้และผู้บริโภคนิยมนำมารับประทานสดเป็นอาหารสุขภาพ แต่พบว่ามีเศษเหลือจากการตัดแต่งหรือตกเกรดซึ่งคิดเป็นปริมาณมากถึง 70-80% ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มมูลค่าสาหร่ายพวงองุ่นตกเกรดเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ โดยนำสาหร่ายมาสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทานอล เอททิลอะซิเตด และเฮกเซน ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสำคัญและทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ ผลการทดลองพบว่า น้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ปริมาณผลผลิตและสารสำคัญในปริมาณสูง มีค่าใช้จ่ายในการสกัดต่ำที่สุด และมีความปลอดภัยกับผู้บริโภค โดยพบว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นมีสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ และสารกลุ่มฟีโนลิกเป็นสารสำคัญหลัก นอกจากนี้ยังพบกรดอะมิโนหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนให้กับผิวหนัง จึงมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นสารสกัดในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อลดริ้วรอยได้อย่างเหมาะสม ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังพบว่า สารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์น้อยกว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ นอกจากนี้สารสกัดด้วยน้ำยังมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน และช่วยเพิ่มการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ดีในการทดสอบการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว จากนั้นได้นำสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นไปทดสอบฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ในเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) ในสภาวะที่เซลล์มาโครฟาจปกติ และภาวะเซลล์อักเสบด้วยการกระตุ้นด้วยสารไลโปโพลีแซกคาไรด์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อประเมินผลต่อการอักเสบและการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน พบว่าสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นสามารถลดการแสดงออกของยีนและลดการสร้างสารไซโตไคร์ที่ทำให้เกิดการอักเสบชนิด interleukin-6 และ tumor necrosis factor alpha ได้ ช่วยยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 รวมทั้งสารตัวกลาง nitric oxide และ prostaglandin E2 นอกจากนี้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นยังช่วยกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโดยไปเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ได้แก่ p27, p53 และเพิ่มการแสดงออกของ Cyclin D2 และ Cyclin E2 โดยสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นยังมีคุณสมบัติในการป้องกันการทำลาย DNA ของเซลล์มาโครฟาจน์ และไม่พบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในหนูขาวอีกด้วย

จากผลการวิจัยข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า สาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ชีวภาพและมีคุณสมบัติในการเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ รวมทั้งมีความปลอดภัยในการบริโภค จึงมีศักยภาพในการนำไปเพิ่มมูลค่าในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอางได้ต่อไป

คำสำคัญ : สาหร่ายพวงองุ่น, สารประกอบเชิงหน้าที่, สารฟีโนลิก, พอลิแซ็กคาไรด์, ฤทธิ์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

Title BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Caulerpa lentillifera* FOR DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL FOOD

Author Mr. Sittikorn Yoojam

Degree Doctor of Philosophy in Fisheries Technology and Aquatic Resources

Advisory Committee Chairperson Associate Professor Dr. Doungporn Amornlerdpison

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 biological activities were tested. The results showed that water is 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 contains polysaccharides and phenolic compounds which are 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. This study examined the effect of CLE on the inflammatory status and immune response of lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 cells and the mechanisms involved therein. RAW264.7 cells were treated with different concentrations of CLE with or without LPS for 24 h. CLE

suppressed expression and production of the pro-inflammatory cytokines IL-6 and TNF-α. Moreover, CLE inhibited expression and secretion of the inflammatory enzyme COX-2 and the mediators PGE2 and NO. CLE also reduced DNA damage. Furthermore, CLE stimulated the immune response by decrease of the cell cycle regulators p27, p53 and increase of cyclin D2, and cyclin E2. Moreover, the CLE prevented DNA deterioration in macrophages, and showed no acute toxicity in rats. According to the mentioned study's findings, *Caulerpa lentillifera* shows bioactive activities and the potential to serve as functional ingredient. It includes being suitable for consumption. Therefore, it be utilized to dietary supplements and cosmeceutical products.

Keywords : Caulerpa lentillifera, functional ingredient, phenolic compound, polysaccharide, biological activities

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณประธานที่ปรึกษาดุษฎีนิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล ที่ให้คำปรึกษาและความอนุเคราะห์ในทุกๆ ด้านโดยให้ความช่วยเหลือในเรื่องของแหล่งทุนสำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนเรื่องแผนการนำเสนอผลงาน ช่วยเสนอแนะงานวิจัยและตรวจแก้ไขงานวิจัยดุษฎีนิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ และท่านคอยช่วยเหลือให้คำแนะนำในการดำเนินงาน ให้กำลังใจ ชี้แนะในการแก้ไขและอุปสรรคต่างๆในชีวิต ตลอดการศึกษาและงานวิจัยในครั้งนี้

กราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน กรรมการที่ปรึกษาดุษฎีนิพนธ์ในการให้คำแนะนำ และช่วยตรวจดุษฎีนิพนธ์เล่มนี้ให้ดีและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศรา ไล้เลิศ กรรมการที่ปรึกษาดุษฎีนิพนธ์ และทีมงานที่ช่วยเรื่องการทดสอบวิจัย รวมถึงการให้คำแนะนำ และช่วยตรวจดุษฎีนิพนธ์เล่มนี้ให้ดีและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉราภรณ์ อ่อนตะวงศ์ ประธานกรรมการสอบดุษฎีนิพนธ์ และทีมงานที่ช่วยเรื่องการทดสอบวิจัย รวมถึงการให้คำแนะนำ และช่วยตรวจดุษฎีนิพนธ์เล่มนี้ให้ดีและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณสำหรับทุนสนับสนุนการวิจัยระดับปริญญาเอกภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) รหัสโครงการ PHD60I0083 ร่วมกับบริษัท เอส.ที.ดี เมติกส์ จำกัด ขอบคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางการเกษตรสำหรับบัณฑิตผู้ประกอบการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และคณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สำหรับการสนับสนุนด้านสถานที่และอุปกรณ์ในการวิจัย

ขอขอบคุณบุคลากรจากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รวมถึงอีกหลายท่านที่มิสามารถเอ่ยนามได้ทั้งหมดที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ จนกระทั่งงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้ากราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องที่คอยช่วยเหลือในด้านทุนการศึกษาและเป็นกำลังใจมาโดยตลอดระยะเวลาในการศึกษา

สิทธิกรณ์ อยู่แจ่ม

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

บทที่ 2 การตรวจเอกสาร 5

ลักษณะทั่วไป 7

อนุมูลอิสระ 13

สารต้านอนุมูลอิสระ 14

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ 15

สารประกอบฟีโนลิก 15

โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีโนลิก 16

คุณสมบัติของสารประกอบฟีโนลิก 16

โพลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) 17

การอักเสบ (Inflammation) 19

กระบวนการอักเสบเฉียบพลัน 21

ระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system) 22

คุณสมบัติไซโตไคน์ (Cytokines) 23

ภาวะเบาหวาน 25
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 27
การเตรียมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 27
การวิเคราะห์สารสำคัญจากสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 27
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง 28
การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์เพาะเลี้ยง 29
การวัดการอยู่รอดชีวิตของเซลล์เคอราติโนไซค์จากมนุษย์ 29
การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Nitric oxide (NO) ที่เกิดขึ้นในเซลล์เคอราติโนไซค์จากมนุษย์ 29
การประเมินฤทธิ์การพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 30
การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 30
การประเมินพิษเฉียบพลันของสารสกัดน้ำสาหร่ายพวงองุ่นในหนูขาว (Acute toxicity) 31
การเพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ 31
การศึกษาผลของสาหร่ายพวงองุ่นต่อความเป็นพิษของเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ 32
การวิเคราะห์ ELISA 32
การศึกษาผลของสาหร่ายพวงองุ่นต่อการสร้าง Nitric oxide (NO) ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ 32
การวิเคราะห์ความเสียหายของ DNA 33
การย้อมสี 33342 33
การวิเคราะห์ Real-time PCR 33
การวิเคราะห์ทางสถิติ 34
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล 35
สาหร่ายพวงองุ่น 35
สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 36

สารสำคัญที่พบในสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 36
ปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีโนลิก 36
ปริมาณโพลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น 38
ปริมาณกรดอะมิโนในสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น 38
ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังด้วยสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 39
ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการอยู่รอดชีวิตของเซลล์เคอราติโนไซค์จากการฉายรังสียูวีบี ... 40
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ NO ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อเซลล์เคอราติโนไซค์จากการฉายรังสียูวีบี 41
ผลของสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นต่อการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว ... 42
การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity) ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นและการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาว 44
การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity) 48
ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการหลั่ง Pro-Inflammatory Cytokine ในเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) 49
ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการแสดงออกของยีน Pro-Inflammatory Cytokine ในเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) 50
ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อโมเลกุลตัวส่งสัญญาณการอักเสบ 52
ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อความเสียหายของ DNA 53
ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน 55
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 57
บรรณานุกรม 62
ประวัติผู้วิจัย 69

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของสาหร่าย C. lentillifera 12
ตารางที่ 2 ลำดับไพรเมอร์ของยีน 34
ตารางที่ 3 คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายพวงองุ่น 35
ตารางที่ 4 ปริมาณฟีโนลิกรวมในสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 36
ตารางที่ 5 ปริมาณกรดอะมิโนของสารสกัดน้ำสาหร่ายพวงองุ่น 38
ตารางที่ 6 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่สกัดด้วยน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ 40
ตารางที่ 7 แสดงลักษณะและพฤติกรรมของหนูขาวกลุ่มควบคุม 44
ตารางที่ 8 แสดงลักษณะและพฤติกรรมของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นขนาด 2 g/kg BW 45
ตารางที่ 9 แสดงลักษณะและพฤติกรรมของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นขนาด 5 g/kg BW 47
ตารางที่ 10 แสดงน้ำหนักตัวและอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวของหนูขาว 48
ตารางที่ 11 Certificate of Analysis : Caulerpa lentillifera extract 59

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ขอบเขตการวิจัย 4
ภาพที่ 2 สาหร่ายพวงองุ่น 5
ภาพที่ 3 ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นในบ่อดิน 8
ภาพที่ 4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นในบ่อคอนกรีต 10
ภาพที่ 5 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นแบบแผงแขวน 10
ภาพที่ 6 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีโนลิก 16
ภาพที่ 7 แสดงผลที่เกิดขึ้นภายหลังการเกิดกระบวนการอักเสบเฉียบพลัน 22
ภาพที่ 8 ปริมาณสาระสำคัญกลุ่มฟีโนลิกในสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS.. 37
ภาพที่ 9 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการอยู่รอดชีวิตของเซลล์เคอราติโนไซค์จากการฉายรังสียูวีบี 41
ภาพที่ 10 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในการผลิต NO เซลล์เคอราติโนไซค์ 42
ภาพที่ 11 ผลการทดลองการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมซึ่งเป็นกล้ามเนื้อลายของหนูขาว... 43
ภาพที่ 12 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการหลั่งสารไซโตไคน์ในเซลล์มาโครฟาจ RAW 264.7 50
ภาพที่ 13 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการแสดงออกของยีน inflammatory cytokine ในเซลล์ RAW 264.7 51
ภาพที่ 14 แสดงผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการผลิต nitric oxide (NO) การแสดงออกของยีน COX2 และการผลิต PGE2 ในเซลล์ RAW 264.7 52
ภาพที่ 15 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อความเสียหายของ DNA ในเซลล์แมคโครฟาจ..... 54
ภาพที่ 16 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในเซลล์ RAW 264.7 ... 56
ภาพที่ 17 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสาหร่ายพวงองุ่น 58

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

การระบาดของไวรัส COVID-19 ทำให้ผู้บริโภคทั่วโลกมองหาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเสริมสร้างภูมิคุ้มกันแทนการฉีดวัคซีน โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารอาหารและแร่ธาตุที่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ร่างกาย โดยมีการมองหาอาหารเสริมต่างๆ ที่นำเข้าจากต่างประเทศเป็นจำนวนมากทำให้ประชากรไทยต้องเสียค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมากในการดูแลสุขภาพ มีรายงานการวิจัยจำนวนมากพบว่า สารสกัดจากสาหร่ายทะเลมีกลุ่มสารสำคัญที่ออกฤทธิ์คือ กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และกลุ่มสารซัลเฟตโพลิแซ็กคาร์ไรด์ (sulfate polysaccharide) ซึ่งมีศักยภาพในการนำไปต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพได้ ในปี พ.ศ. 2556 กรมประมงเล็งเห็นถึงศักยภาพทางเศรษฐกิจของสาหร่ายทะเลในด้านเป็นอาหารสุขภาพ จึงริเริ่มให้มีการส่งเสริมการเลี้ยงสาหร่ายทะเลเชิงพาณิชย์ โดยมีสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentilliferra*) นำร่อง ปัจจุบันสาหร่ายชนิดนี้มีการกระจายตามชายฝั่งทะเลและมีแหล่งผลิตหลักคือ เพชรบุรี และกระบี่ ที่มีการเลี้ยงในบ่อดินแพร่หลาย ช่วยสร้างอาชีพและรายได้ เกิดห่วงโซ่การผลิตครบวงจร และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยมีผลผลิตจากการเลี้ยงระบบบ่อดิน 1 ตันต่อไร่ กำลังผลิตไม่น้อยกว่า 25 ตันต่อเดือน และ 350-500 ตันต่อปี สามารถนำไปแปรรูปในระดับอุตสาหกรรม

สาหร่ายพวงองุ่นเป็นสาหร่ายทะเลที่ประกอบด้วยสารสำคัญกลุ่มโพลิแซ็กคาไรด์ที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Maeda et al., 2012a) และมีคุณค่าทางโภชนาการสูงประกอบไปด้วย โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า คาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุ กากใย วิตามิน A วิตามิน C และกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Matanjun et al., 2009) นอกจากนี้ยังพบกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายพวงองุ่นอีกด้วย (มนต์สรวง ยางทอง และ นงพร โตวัฒนะ, 2557) รวมทั้งพบกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด โดยพบว่ามีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่เกือบ 40% โดยสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นมีสารต้านอนุมูลอิสระ (Nguyen et al., 2011) ที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Maeda et al., 2012b) และช่วยลดไขมัน (Matanjun et al., 2010) จากรายงานการวิจัยดังกล่าวทำให้สาหร่ายพวงองุ่นมีศักยภาพในการนำมารับประทานเป็นอาหารเสริมในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ นอกจากนี้ยังสามารถสกัดสารกลุ่มโอลิโกแซคคาร์ไรด์จากสาหร่ายพวงองุ่นที่มีฤทธิ์ต้านเซลมะเร็งเต้านมได้อีกด้วย (Maeda et al., 2012b) ปัจจุบันสาหร่ายพวงองุ่นได้รับความนิยมในการรับประทาน

จากผู้บริโภคในประเทศไทยเป็นอย่างมาก แต่กลับพบรายงานการวิจัยด้านฤทธิ์ชีวภาพในเชิงลึกน้อยมาก

การอักเสบเป็นการตอบสนองทางชีวภาพต่อสิ่งกระตุ้นหรือสิ่งแปลกปลอมที่เป็นอันตรายรวมถึงเชื้อโรค สารพิษ และสารระคายเคือง โดยจะมีการหลั่งสารไซโตไคน์ (cytokines) ที่ผลิตจากเซลล์แมคโครฟาจในระหว่างเกิดการอักเสบหลั่งออกมาเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอม (Zhu et al., 2013) เช่น interleukin (IL) -6, IL-1β, TNF-α และเอนไซม์ในการอักเสบ เช่น inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) ซึ่งมีส่วนร่วมในกระบวนการอักเสบ โดยพบว่า IL-6 มีผลต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันเนื่องจากการอักเสบแบบเฉียบพลัน (Simpson et al., 1997) ส่วน IL-1β มีความสำคัญในการตอบสนองการอักเสบต่อการติดเชื้อจุลินทรีย์ (Kim et al., 2008) และ TNF-α มีส่วนร่วมในกระบวนการพยาธิวิทยา (Zhang and An, 2007)

การตอบสนองของภูมิคุ้มกันเป็นกลไกการป้องกันของระบบภูมิคุ้มกันต่อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส และสิ่งแปลกปลอมที่เป็นอันตราย การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าตัวควบคุมวัฏจักรของเซลล์ p53, p27, cyclin D2 และ cyclin E2 มีส่วนร่วมในการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน โดยโปรตีน p53 เป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันและมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดโรค (Levine, 2020) ส่วน p27 มีบทบาทต้านการอักเสบที่เกิดจากภูมิคุ้มกันใน glomerulonephritis model (Ophascharoensuk et al., 1998) นอกจากนี้วัฏจักรของเซลล์โปรตีน (cyclin D และE) มีส่วนร่วมในสภาวะสมดุลและความสมบูรณ์ของระบบภูมิคุ้มกัน (Laphanuwat and Jirawatnotai, 2019)

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงนำสาหร่ายพวงองุ่นมาสกัดเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ (functional ingredient) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสำคัญ และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลกระทบต่อสุขภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน รวมทั้งฤทธิ์ชีวภาพอื่นๆ เพื่อสนับสนุนในการพัฒนาเป็นสารสกัดในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเวชสำอาง ซึ่งผลจากวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มมูลค่าสาหร่ายที่ตกเกรดและรองรับปริมาณผลผลิตสาหร่ายที่มีแนวโน้มผลผลิตล้นตลาด

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อเพิ่มมูลค่าสาหร่ายพวงองุ่นตกเกรดเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่

2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์เพิ่มการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน

3. เพื่อกำหนดคุณภาพของสารสกัดและออกใบรับรองคุณภาพ (Certificate of Analysis; COA)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับสาหร่ายพวงองุ่นที่ตกเกรด หรือที่เหลือจากการตัดแต่ง

2. ได้สารสกัดชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์เพิ่มการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์เพิ่มภูมิคุ้มกัน และนำไปใช้เป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ในผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง เช่น ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอาง

3. เป็นการสร้างโอกาส อาชีพ เพิ่มรายได้ให้แก่กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นโดยตรง และกระตุ้นเศรษฐกิจชีวภาพ หมุนเวียน และสีเขียว (Bio-Circular-Green economy)

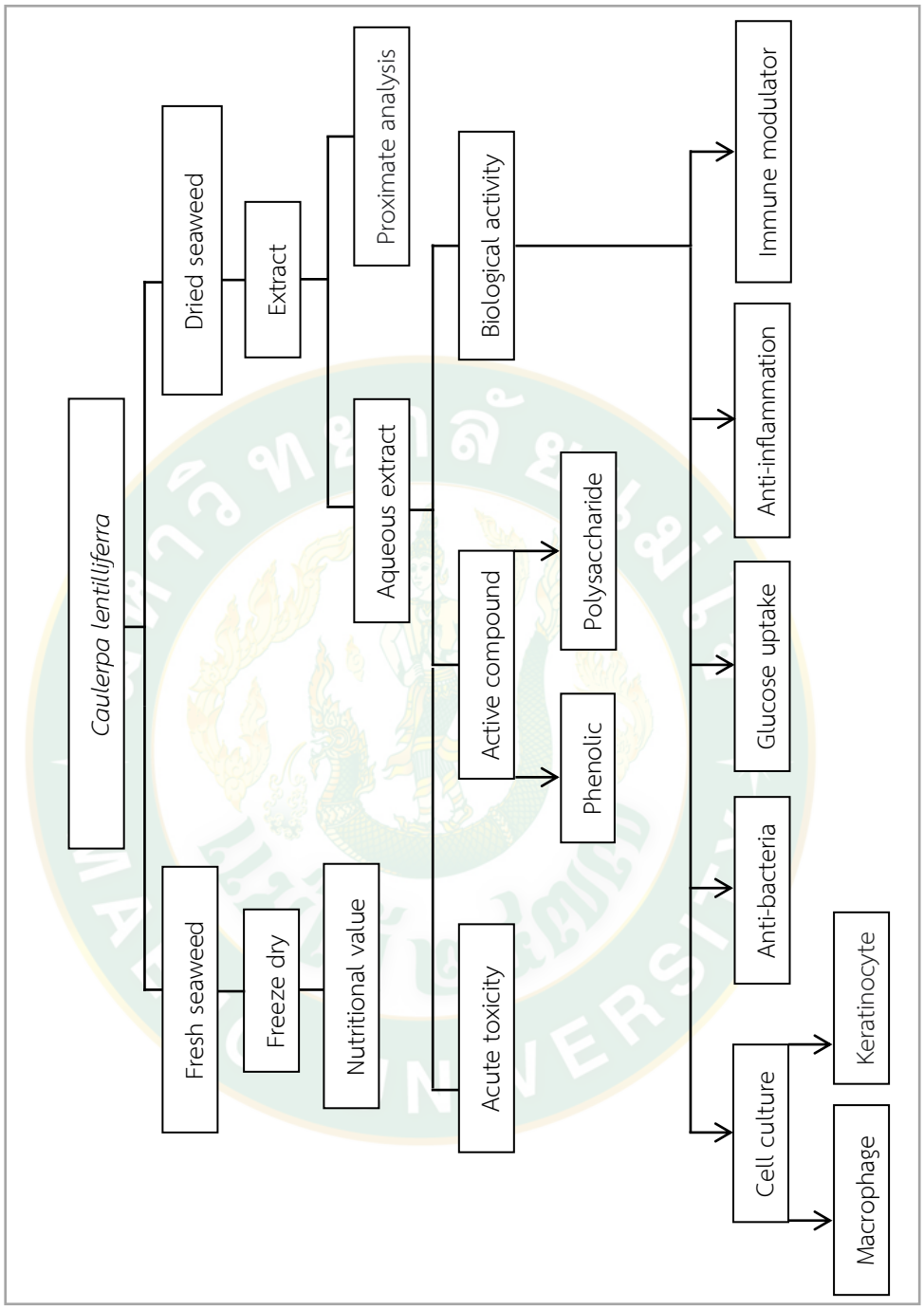
ขอบเขตการวิจัย

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายสดและสาหร่ายแห้ง

2. การเตรียมสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นโดยต้มในน้ำร้อน (aqueous extract) และทำแห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่มโพลีฟีนอล และโพลิแซ็กคาไรด์

3. การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง ฤทธิ์เพิ่มการนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์เพิ่มภูมิคุ้มกัน

4. การกำหนดคุณภาพหรือ Certificate of Analysis (COA) ของสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นในการเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ขอบเขตการวิจัย

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

สาหร่ายพวงองุ่น

สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียว (green algae) หรือมีชื่อสามัญว่า Sea Grapes หรือ Green Caviar เนื่องจากมีเม็ดกลมและเป็นช่อคล้ายพวงองุ่น หรือคล้ายไข่ปลาคาร์เวียร์ (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ยังมีชื่อเรียกว่า Lelato, Ararusip, Lato ชาวญี่ปุ่นเรียกสาหร่ายชนิดนี้ว่า umibudo เป็นสาหร่ายที่มีการแพร่กระจายอยู่ในเขต tropical และ subtropical พบได้ในประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย เวียดนามและญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังแพร่กระจายไปเขตร้อน ได้แก่ เคนยา มาดากัสการ์ มอริเชียส โมแซมบิก โซมาเลีย อาฟริกาใต้ แทนซาเนียและปาปัวนิวกินี เจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสารอาหารบริบูรณ์ และแสงแดด มีลักษณะคล้ายองุ่น สีเขียวสด มีคุณค่าทางอาหารสูง จัดเป็นอาหารทะเลที่สำคัญในญี่ปุ่นและฟิลิปปินส์ มีทั้งการเก็บเกี่ยวจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงในบ่อดิน การเลี้ยงแบบเชิงพาณิชย์ในจังหวัดโอกินาเริ่มต้นในปี 1986 (Aliya and Shameel, 1998)

ภาพที่ 2 สาหร่ายพวงองุ่น

ในประเทศญี่ปุ่นที่เมือง Okinawa มีกลุ่มชาวประมงได้เพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้เพื่อจำหน่ายเป็นจำนวนมากเนื่องจากได้รับความนิยมจากชาวญี่ปุ่นในการนำมารับประทานเป็นอาหารสุขภาพแบบสด โดยมีรายงานการวิจัยของนักวิจัยจากมหาวิทยาลัย Osaka Prefecture University พบว่า สาหร่ายพวงองุ่นมีสารสำคัญกลุ่มโพลิแซ็กคาไรด์ที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของ

ร่างกาย (Maeda et al., 2012a) จึงมีศักยภาพในการนำมารับประทานเป็นอาหารเสริมในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ นอกจากนี้ยังสามารถสกัดสารกลุ่มโอลิโกแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายพวงองุ่นที่มีฤทธิ์ต้านเซลมะเร็งเต้านมได้อีกด้วย (Maeda et al., 2012b)

คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายพวงองุ่นมีค่าโดยประมาณของโปรตีน 10% ไขมัน 1% คาร์โบไฮเดรต 40% เส้นใยอาหาร 33% วิตามินซี วิตามินอี และเกลือแร่หลายชนิด ได้แก่ Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Se และ I โดยสาหร่ายพวงองุ่นประกอบไปด้วยกรดอะมิโน 16 ชนิด และกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3, 6 และ 9 ที่มีความสำคัญต่อสุขภาพ (Matanjun et al., 2009) ที่น่าสนใจคือในสาหร่ายชนิดนี้มีปริมาณสังกะสี หรือ Zinc ในปริมาณสูง โดยสาหร่ายพวงองุ่นสด 100 กรัมมีปริมาณ Zinc ถึง15 มิลลิกรัม (Indergaard M and Minsaas J, 1991) ซึ่งเป็นปริมาณที่แนะนำให้รับประทานในแต่ละวันสำหรับคนทั่วไปที่มีอายุมากกว่า 10 ปี ขึ้นไปคือประมาณ 15 มิลลิกรัม/วัน (King and Delurey, 2005) โดย Zinc เป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต้องใช้ในกระบวนการทางเคมีในร่างกาย ร่างกายต้องการในปริมาณน้อย แต่ก็จำเป็นและขาดไม่ได้ นำไปใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมกับเอนไซม์ต่างๆ ที่มีความสำคัญต่อการทำงานของอวัยวะในร่างกาย เช่น การมีส่วนเกี่ยวข้องกับขบวนการเจริญเติบโต การสร้างเนื้อเยื่อต่างๆ ระบบสืบพันธ์ ระบบภูมิคุ้มกัน การกำจัดสารพิษ ขบวนการในการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต เกี่ยวข้องกับการทำงานของต่อมลูกหมากในผู้ชาย เป็นต้น

มีรายงานการวิจัยเปรียบเทียบสาหร่ายในสกุล Caulerpa ระหว่าง *C. racemosa* (สาหร่ายขนนก) และ *C. lentillifera* (สาหร่ายพวงองุ่นหรือกรีนคาเวียร์) พบว่า สาหร่ายขนนกมีคุณค่าทางโภชนาการดีกว่าสาหร่ายพวงองุ่น โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acids ชนิด) กลุ่มโอเมก้า 3 และ 6 รวมทั้งรงควัตถุชนิด β-carotene สูงกว่าสาหร่ายพวงองุ่น อย่างไรก็ตามในสาหร่ายพวงองุ่นพบแร่ธาตุที่จำเป็นหลายชนิดในปริมาณสูงมากกว่าสาหร่ายขนนก เช่น สังกะสีและแมกนีเซียม โดยมีปริมาณสังกะสี 27.55 มิลลิกรัม/100 กรัม และปริมาณแมกนีเซียม 16,650.00 มิลลิกรัม/100 กรัม ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง ส่วนด้านการเพาะเลี้ยงพบว่าสาหร่ายพวงองุ่นให้ผลผลิตดีกว่าสาหร่ายขนนก

สาหร่ายพวงองุ่นนอกจากจะมีวิตามินและเกลือแร่ที่สำคัญต่อร่างกายแล้วยังมีสารสำคัญกลุ่ม polyphenols ที่มีฤทธิ์ในการช่วยป้องกันภาวะเบาหวานอีกด้วย (Matanjun et al., 2010; Nguyen et al., 2011) โดยสารสกัดเอทานอลของสาหร่ายพวงองุ่นสามารถช่วยเพิ่มการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน (insulin secretion) และช่วยเพิ่มการดูดซึมกลูโคสเข้าเซลได้ดีขึ้น (glucose uptake)

ลักษณะทั่วไป

ทัลลัส (thallus) ประกอบด้วยสโตลอน (stolon) ที่คืบคลานไปตามพื้นและแตกแขนงได้ แขนงตั้งตรงสูง 1-6 เซนติเมตร ประกอบด้วยรามูลัสที่เป็นเม็ดกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-2 มิลลิมิตร มีก้านสั้น ๆ เรียงกันคล้ายช่อพริกไทย แต่ละรามูลัสมีรอยคอดระหว่างก้านและส่วนที่เป็นเม็ดกลมสีเขียวใส ขึ้นบนก้อนหิน หรือพื้นทรายที่น้ำตื้น ๆ ใกล้แนวปะการัง (Lewmanomont and Ogawa, 1995) นอกจากนี้สามารถพบได้ในพื้นทรายปนโคลน และสามารถปรับสภาพให้เจริญเติบโตได้ดีในบ่อเลี้ยง แต่ไม่สามารถทนทานต่อน้ำจืด

การเลือกสถานที่เพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่น

การจัดการด้านปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อเจริญเติบโตของสาหร่ายพวงองุ่นต้องมีการหลีกเลี่ยงปัญหามลพิษน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชนและโรงงานอุตสาหกรรมเนื่องจากเป็นการเลี้ยงเพื่อนำไปบริโภค และสามารถควบคุมความเค็มน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ลักษณะพื้นที่โดยทั่วไปของดินควรเป็นดินเหนียวหรือดินเหนียวปนทรายเพื่อให้สามารถกักเก็บน้ำได้ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

ปัจจัยแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

1. ระดับความเค็ม ระหว่าง 27-33 ส่วนในพันส่วน
2. ระดับความลึกของบ่อประมาณ 100 เซนติเมตร ระดับความลึกน้ำขึ้นกับระดับที่แสงส่องถึงสาหร่าย กรณีเลี้ยงแบบแผงควรปรับระดับความลึกของแผงให้ต่ำกว่าผิวน้ำประมาณ 30 เซนติเมตร ทั้งนี้ขึ้นกับฤดูกาลหากเป็นฤดูร้อนที่มีแสงแดดจัด ควรเพิ่มระดับความลึกของแผงสาหร่าย
3. อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส
4. ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ในช่วง 8-9
5. ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) ในช่วง 120-140 มิลลิกรัม/ลิตร ถ้าความเป็นด่างต่ำจะส่งผลให้สาหร่ายขาดธาตุอาหาร
6. ค่าความขุ่นใส (Transparency) ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 30-60 เซนติเมตร ความขุ่นที่เกิดจากตะกอนมีผลต่อสาหร่าย โดยตะกอนจะเข้าไปเกาะที่ตัวสาหร่ายและมีผลต่อการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ยังบดบังแสงที่ส่องลงไปในน้ำทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายลดลง

7. แอมโมเนีย (NH4+) ไม่ควรต่ำกว่า 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

8. ฟอสเฟต (Orthophosphate) ควรมีค่าไม่น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร และในน้ำที่มี pH อยู่ในช่วงที่เหมาะสม 6.3-8.9 จะเป็นช่วงที่มีสารฟอสเฟตอยู่ในรูปที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด

การเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่น (กรมประมง, 2560)

ระบบการเลี้ยงในบ่อดิน

จำเป็นต้องมีการเตรียมบ่อเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นเพื่อการปรับสภาพพื้นบ่อ เช่น ความเป็นกรดเป็นด่าง ความสะอาดของก้นบ่อ ภายในบ่อเลี้ยงให้สามารถใช้เลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นได้โดยมีผลผลิตตอบแทนสูงสุดต่อหน่วยพื้นที่บ่อ ดังนี้

1. หากเป็นบ่อเก่า ควรมีการตากบ่อ ใส่ปูนขาวเพื่อปรับสภาพพื้นบ่อ การตากบ่อให้พื้นบ่อมีโอกาสได้รับแสงแดดและออกซิเจน จะช่วยให้อินทรียวัตถุมีการย่อยสลายตัวได้ดีขึ้นทำให้อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวงองุ่นดีขึ้น

2. เพิ่มเนื้อที่ของบ่อให้มากขึ้นจากการลอกก้นบ่อและกำจัดวัชพืชต่างๆ ทำให้มีพื้นที่เลี้ยงสาหร่ายได้มากขึ้น และป้องกันการแย่งสารอาหารของสาหร่ายโดยวัชพืช

3. เพิ่มการเคลื่อนของน้ำและจัดระบบให้อากาศบริเวณที่ปลูกเลี้ยงสาหร่าย โดยติดตั้งระบบให้อากาศพื้นบ่อของแผงแขวนสาหร่าย โดยบ่อขนาด 1 ไร่ ปักไม้ไผ่แบบแขวน 5 แถว เพื่อผูกแผงสาหร่ายแถวละ 20 แผง

ภาพที่ 3 ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นในบ่อดิน

ขั้นตอนในการปลูกและการจัดการสาหร่ายในบ่อดิน

1. การปลูกสาหร่าย ปลูกได้ทั้งแบบหว่านและแบบปักชา โดยในช่วงเริ่มต้นปลูกครั้งแรกเติมน้ำความเค็ม 27–30 พีพีที ประมาณ 40 เซนติเมตร เมื่อปลูกแล้วประมาณ 1 สัปดาห์จึงค่อยเพิ่มระดับน้ำให้อยู่ในระดับที่แสงส่องถึงขึ้นกับความโปร่งแสงของน้ำ โดยมากรักษาระดับน้ำให้มีความลึกประมาณ 60-100 เซนติเมตร แบบปักชำมีข้อดีกว่าแบบหว่านเนื่องจากสาหร่ายจะมีอัตราความหนาแน่นที่ใกล้เคียงกันและควบคุมความหนาแน่นได้ ทำให้สาหร่ายที่โตมีแขนงที่ยาวและมีขนาดสม่ำเสมอ นอกจากนี้สามารถปลูกสาหร่ายบนแผงอวนหรือตาข่ายได้ทำให้สาหร่ายมีความสะอาดและมีคุณลักษณะดี

2. หลังจากการปลูกประมาณ 1-2 เดือน จะสามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายได้ และความถี่ในการเก็บเกี่ยว 2 สัปดาห์ต่อครั้ง

3. การจัดการระบบน้ำควรมีการสูบน้ำเข้าบ่อเลี้ยงประมาณ 2 ครั้งต่อสัปดาห์หรือดัดแปลงบ่อด้วยการติดตั้งท่อน้ำเข้าออกแบบมีลิ้นปิดเปิดตามระดับน้ำธรรมชาติ นอกจากนี้ความถี่ในการสูบน้าเข้ายังขึ้นกับอายุการเลี้ยงและความหนาแน่นของสาหร่ายเพื่อเพิ่มสารอาหารธรรมชาติ การหมุนเวียนน้ำ และการรักษาระดับน้ำในบ่อเลี้ยง

4. อาจติดตั้งเครื่องตีน้ำรอบช้าหรือระบบยกน้ำเพื่อเพิ่มการหมุนเวียนน้าและป้องกันการแบ่งชั้นของน้ำ และติดตั้งท่อระบายน้ำผิวบนออกในฤดูฝน

5. เพื่อป้องกันการบังแสงและแก่งแย่งสารอาหาร ควรสุ่มตรวจความหนาแน่นของสาหร่ายโดยอัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมประมาณ 1 กิโลกรัม/ตารางเมตร ทยอยเก็บเกี่ยวทุก 2 สัปดาห์และคงปริมาณไว้ประมาณ 25% ของปริมาณตั้งต้นหากสาหร่ายแน่นเกินไป ให้นำไปหว่านบริเวณอื่น

6. การกำจัดและป้องกันศัตรูของสาหร่าย หมั่นเก็บสาหร่ายชนิดอื่นหรือ epiphyte ที่เกิดขึ้นในบ่อเมื่อน้ำตื้นเกินไป ดังนั้นการรักษาระดับน้ำเพื่อให้แสงส่องถึงในระดับที่เหมาะสมจึงเป็นสิ่งสำคัญ

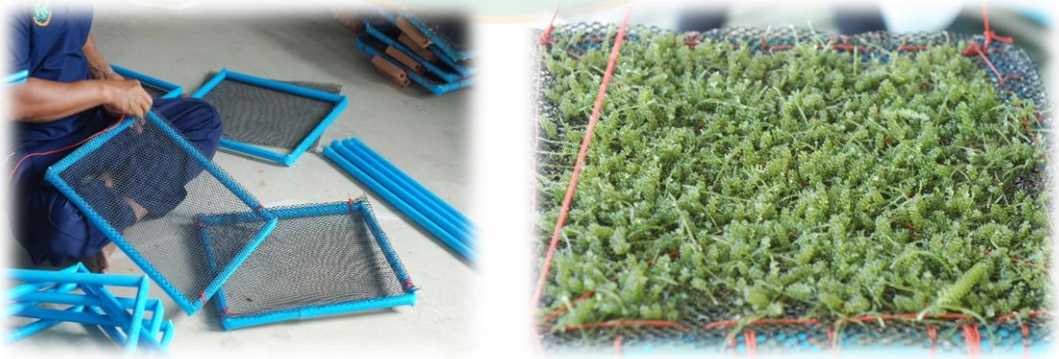
ระบบการเลี้ยงในบ่อคอนกรีต

โดยสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เป็นระยะๆ ประมาณเดือนละ 1-2 ครั้ง ซึ่งจะขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโต ทั้งนี้สาหร่ายที่เลี้ยงหากสาหร่ายมีความหนาแน่นมากเกินไป อาจเกิดการบังแสงกัน ส่งผลต่อการสังเคราะห์แสงอีกทั้งปริมาณสารอาหารในน้ำไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ทำให้ผลผลิตและคุณภาพของสาหร่ายพวงองุ่นต่ำลงได้

ภาพที่ 4 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นในบ่อคอนกรีต

วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นแบบแผงแขวน

ประกอบโครงแผงสาหร่าย ขนาด 0.5×0.5 ตารางเมตร โดยใช้ท่อพีวีซีและใช้ตาข่ายพลาสติกขนาดตา 1 เซนติเมตร ขึงให้เต็มกรอบเพื่อใส่ต้นพันธุ์สาหร่ายน้ำหนักเริ่มต้น 500 กรัมให้กระจายทั่วทั้งแผงพร้อมนำตาข่ายขนาดตา 1 เซนติเมตร ประกบด้านบนแล้วตรึงด้วยสายรัดเพื่อยึดตาข่ายให้ติดกับกรอบ นำไปแขวนในบ่อเลี้ยงลึกจากผิวน้ำ 30 เซนติเมตร หรือระดับที่แสงส่องถึง เมื่อปลูกแล้วประมาณ 1 สัปดาห์จึงค่อยเพิ่มระดับน้ำให้อยู่ในระดับที่แสงส่องถึงขึ้นกับความโปร่งแสงของน้ำระดับความลึกของน้ำประมาณ 60-100 เซนติเมตร



ภาพที่ 5 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นแบบแผงแขวน

การตรวจสอบการเจริญเติบโต

โดยทั่วไปหากสาหร่ายสามารถปรับตัวได้จะเห็นยอดอ่อนภายในเวลา 3-7 วัน โดยระหว่างนี้มีการสุ่มมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาว ทุกสัปดาห์ เมื่อครบ 1 เดือน ถึง 2 เดือน เริ่มเก็บเกี่ยวผลผลิต

การจัดการระหว่างการเลี้ยง

การเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นควรมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำอย่างน้อย 1 ครั้งต่อสัปดาห์ ประมาณ 30% เพื่อให้เกิดน้ำหมุนเวียนและสาหร่ายได้รับแร่ธาตุสารอาหารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต หรือติดตั้งท่อน้ำเข้าออกแบบมีลิ้นปิดเปิดตามระดับน้ำธรรมชาติความถี่ในการสูบน้ำเข้าขึ้นกับอายุการเลี้ยงและความหนาแน่นของสาหร่าย เพื่อเพิ่มสารอาหารธรรมชาติการหมุนเวียนน้ำและรักษาระดับน้ำในบ่อเลี้ยง หรือหากกรณีจำเป็นอาจมีการใส่ปุ๋ยเคมีสูตร (16-20-0) : ปุ๋ยยูเรีย สูตร (46-0-0) อัตราส่วน 500 : 250 กรัมต่อไร่ สัปดาห์ละ 2 ครั้ง หรือใช้อามิ 20 – 40 ลิตรต่อไร่ สัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในฤดูฝนควรติดตั้งท่อระบายน้ำผิวบนออก หรือช่วงอากาศร้อนจัดควรติดตั้งเครื่องตีน้ำรอบช้าหรือระบบยกน้ำเพื่อเพิ่มป้องกันการแบ่งชั้นของน้ำ

การเก็บเกี่ยวผลผลิตและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว

การเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นระบบการเลี้ยงในบ่อดินสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ 5 กิโลกรัมต่อแผงจากน้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 10 กิโลกรัมต่อแผง ภายในระยะเวลา 1 เดือน สามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายได้ 2 สัปดาห์ต่อครั้ง หลังจากนำมาเก็บเกี่ยวผลผลิตส่วนที่เหลือของสาหร่ายคงติดแผงไว้ปริมาณ 25% เพื่อนำไปเลี้ยงต่อและเก็บเกี่ยวครั้งต่อไป

การจัดการหลังการเก็บเกี่ยวโดยการนาสาหร่ายที่ผ่านการคัดแยกไปพักทาความสะอาดในถังสกิมเมอร์ที่บรรจุน้ำเค็มสะอาด 300 ลิตร อัตรา 5 กิโลกรัมต่อถังเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่ปนเปื้อนมากับสาหร่ายและย้ายไปทำความสะอาดครั้งสุดท้ายก่อนบรรจุในถังพักที่ติดตั้งระบบหมุนเวียนน้ำ และมีระบบอัลตราไวโอเลต (UV) และโอโซนเพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

คุณค่าทางโภชนาการ

กรมประมง (2560) ได้นำสาหร่ายพวงองุ่นแห้งไปวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของสาหร่าย *C. lentillifera*

องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบ	**กรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง**
โปรตีน	8.55
ไขมัน	1.92
เยื่อใย	3.87
เถ้า	56.84
คาร์โบไฮเดรต	32.69
ความชื้น	25.31
พลังงานรวม (Kcal / 100 กรัม)	182
น้ำหนักแห้ง (กรัม / 100 กรัมสด)	4.68
เกลือแร่	**มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง**
ฟอสฟอรัส	106
โปแตสเซียม	855.6
แคลเซียม	748.4
แมกนีเซียม	1,505
สังกะสี	5.66
แมงกานีส	56.879
เหล็ก	5.627
โลหะหนัก	**มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง**
อาร์เซนิก	<0.01
แคดเมียม	<0.001
ตะกั่ว	<0.01
วิตามิน	**มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักสด**
E	0.13
C	1.00

Thaimin (B1)	0.03
Riboflavin (B2)	0.02
β-carotene (A)	0.035

ที่มา: (กรมประมง, 2560)

อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่เมื่อมีอิเล็กตรอน ไม่เป็นคู่จึงทำให้โมเลกุลนั้นไมเสถียรจึงพยายามจับอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงให้มีอิเล็กตรอนครบคู่เพื่อความเสถียรเมื่อโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงถูกดึงอิเล็กตรอนออกไปต้องไปจับเอาอิเล็กตรอนจากอะตอมหรือโมเลกุลข้างเคียงตัวอื่นต่อๆ ไปเป็นอย่างนี้ต่อเนื่องไปเป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่โดยไม่มีที่สิ้นสุดเพื่อให้ตัวอะตอมหรือโมเลกุลมีความเสถียร และถ้าหากอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ 2 ตัวจับคู่กันพอดีจะเปลี่ยนเป็นมีโมเลกุลที่เสถียรเช่น hydrogen radical,hydroxyl radical และ superoxide anion radical อนุมูลอิสระเกิดได้ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย ถ้าอนุมูลอิสระมีมากทำให้เกิดสภาวะเสื่อมระดับเซลล์เสียหายได้หลายรูปแบบ เช่น การเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อ ตลอดจนอาจทำลายโครงสร้างทางเคมีของ DNA หรือ โครโมโซม อนุมูลอิสระสร้างความเสียหายต่อชีวโมเลกุลมากโดยเฉพาะการออกซิไดซ์ ไขมันซึ่งเป็น ส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพได้

สิ่งมีชีวิตจะมีระบบป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระอยู่ปริมาณหนึ่ง ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติในร่างกายมีหลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) เอนไซม์ catalase (CAT) ในเซลล์ และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ แต่สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีปริมาณจำกัด เมื่อร่างกายมีอนุมูลอิสระมากขึ้น จะเกิดการขาดความสมดุลระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระในร่างกาย ดังนั้นจึงควรหาแหล่งอาหารหรือสิ่งที่ช่วยเพิ่มเสริมให้ร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น เช่น วิตามิน ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน เกลือแร่ ได้แก่ ทองแดงและสังกะสี ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ SOD และซีลีเนียมเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ glutathioneperoxidase (GSH) สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ได้แก่ โคเอนไซม์เอนไซม์คิวเทน สารสกัดจากเมล็ดองุ่น สารสกัดจากเปลือกสน และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ซึ่งเป็นสารประกอบที่หาได้จากการเมทาบอไลท์ในพืชทั่วไปประกอบด้วยสารประกอบสำคัญได้แก่ โปรแอนโทไซยานิดินส์ (proanthocyanidins) อนุพันธ์ของกรดแกลลิก (gallic acids) และอนุพันธ์ของกรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิกส์(hexahydroxydiphenic acid) โดย

สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญคือ ฟลาโวนอยด์ประกอบด้วย catechin, proanthocyanins, anthocyanidins, flavone, flavonols และ glycosides (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระได้ (Halliwell, 2009) สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบเช่นดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรงยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ (Sies et al., 1992)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในเซลล์ (Chattopadhyay and Chattopadhyay, 2008) โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิดเช่นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (catotinoid) (Velioglu et al., 1998) บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ของมนุษย์ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหารปัจจุบันองค์กรที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยาได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติเช่นสาหร่ายทะเลแบคทีเรียเชื้อราและพืชชั้นสูง (Chattopadhyay and Chattopadhyay, 2008) อย่างไรก็ตามในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วนคือส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุลและส่วนที่สองคือกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอซีอีหรือเบต้าแคโรทีน (β-carotenoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอลซึ่งเป็นพฤกษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น (Shapoval and Gromovaia, 2003)

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายในกลุ่มเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์คะตะเลส (catalase) กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) และซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) ส่วนกลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ สารประกอบ/โปรตีนบางอย่างเช่น อัลบูมิน (albumin) บิลิรูบิน (bilirubin) เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) กลูตาไธโอน (glutathione) ทรานสเฟอริน (transferrin) ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆให้อยู่ในระดับพอเหมาะแต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมดจะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “ภาวะเครียดออกซิเดชั่น”

ขึ้นภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกายซึ่งถ้าสะสมมากๆอาจนำไปสู่ความผิดปกติหลายอย่าง

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

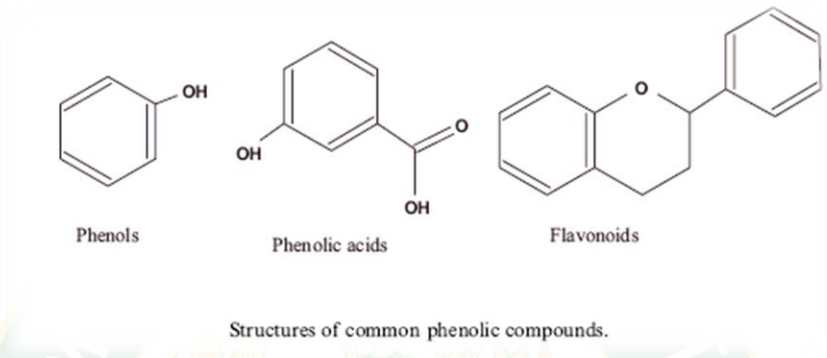
สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจากความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบได้ทั้งในจุลชีพสัตว์และพืชซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโร-ทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิคโดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไปหมู่ฟังก์ชั่น (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้โดยการให้อนุมูล $H^{\bullet}$ แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้นนอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล $OH^{\bullet}$ ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชั่นคือ Fe^{2+}และ Cu^{2+} เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับกับโลหะดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) (Sánchez-Moreno et al., 2000) สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาตินานาชนิดสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และในสิ่งมีชีวิต

สารประกอบฟีโนลิก

สารประกอบฟีโนลิก (phenolic compound) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น สาหร่าย ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืชซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีโนลิก มีโภชนาเภสัชที่มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ โดยมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีโนลิก

สารประกอบฟีโนลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล(-OH-group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ ต่ออยู่ สารฟีโนลิกพื้นฐาน คือ ฟีนอล (phenol) ประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ดังแสดงในภาพ 6



ภาพที่ 6 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีโนลิก
ที่มา: (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

คุณสมบัติของสารประกอบฟิโนลิก

สารประกอบฟีโนลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีโนลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) (โอภา วัชรคุปต์ และคณะ, 2550)

สารประกอบฟีโนลิกที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีโนลิก คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และ พบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

1. ประโยชน์ต่อสุขภาพ สารประกอบฟีโนลิกหลายตัวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagrns) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีโนลิก จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ของไขมัน และ

โมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระทำยับยั้ง ปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุแต่สารต้านอนุมูลอิสระก็ถูกทำลายไปด้วย

2. ใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชั่นของลิพิด (lipid oxidation)

โพลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide)

โพลิแซ็กคาไรด์ เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์ตั้งแต่ 10 โมเลกุล ถึงมากกว่า 3,000 โมเลกุล คาร์โบไฮเดรตพวกนี้ไม่มีรสหวาน ละลายน้ำได้ยากหรือไม่ละลายน้ำและไม่ตกผลึกหรือเป็นเกล็ด เมื่อย่อยหรือทำให้แตกตัวจนถึงขั้นสุดท้ายจะได้น้ำตาลมอโนแซ็กคาไรด์ สามารถแบ่งตามการย่อยในร่างกายได้ 2 ประเภท (อัจฉรา เพิ่ม, 2550) คือ

1. โพลิแซ็กคาไรด์ที่ร่างกายสามารถย่อยได้ (digestible polysaccharide) เป็นโพลิแซ็กคาไรด์ที่ร่างกายมีเอนไซม์ย่อยให้เป็นโมเลกุลเล็กและดูดซึมได้ ที่สำคัญต่อร่างกาย คือ

1.1 แป้ง (starch) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่พืชเก็บสะสมไว้ตามส่วนต่างๆของพืช เช่น เมล็ด ราก หัว ลำต้น เป็นต้น ในรูปของเม็ดแป้ง (starch granules) ประกอบด้วยกลูโคสเรียงต่อกันเป็นเส้นยาวและเป็นกิ่งก้าน แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ อะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกทิน (amylopectin)

1.2 ไกลโคเจน (glycogen) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เก็บสะสมในร่างกายของคนและสัตว์ ประกอบด้วยกลูโคสที่มีลักษณะโครงสร้างเหมือนอะไมโลเพกติน แต่มีการแตกกิ่งก้านสาขามากกว่า ร่างกายเก็บสะสมไกลโคเจนที่ตับประมาณ 1/3 ในกล้ามเนื้อ 2/3 ของคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายได้รับแต่ปริมาณที่สะสมไม่เกิน 400 กรัม เมื่อร่างกายต้องการใช้ พลังงานไกลโคเจนจะถูกดึงมาใช้เป็นพลังงาน

2. โพลิแซ็กคาไรด์ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ (indigestible polysaccharides) เป็นโพลิแซ็กคาไรด์ที่ร่างกายไม่มีเอนไซม์ย่อย และต้องขับออกทางอุจจาระ (นัยนา บุญทวียุวัฒน์, 2553) จึงไม่ให้พลังงานแก่ร่างกาย เรียกโพลิแซ็กคาไรด์ที่ร่างกายย่อยไม่ได้ว่า “ ใยอาหาร” (dietary fiber) แบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

2.1 ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble dietary fiber) ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ใยอาหารประเภทนี้มักเป็นส่วนประกอบโครงสร้างหลักของพืชมีลักษณะที่แตกต่างกัน ดังนี้

ก. เซลลูโลส (cellulose) เป็นส่วนของผนังเซลล์ของพืชแต่ละโมเลกุลประกอบด้วยกลูโคสมากกว่า 3,000 หน่วย เกาะกันอยู่ด้วยพันธะบีตา 1-4 ไกลโคซิดิก ที่น้ำย่อยในร่างกายไม่

สามารถย่อยได้ ดังนั้นเมื่อร่างกายได้รับเซลลูโลส เซลลูโลสจะซับน้ำไว้ทำให้เกิดการพองตัวช่วยทำให้กากอาหารมีลักษณะนิ่ม จึงสามารถขับถ่ายได้สะดวกขึ้น ใยอาหารประเภทนี้พบมากในพืช ผักและผลไม้

ข. เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นส่วนของผนังเซลล์ของพืชเช่นเดียวกับเซลลูโลส แต่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดไม่ได้ประกอบด้วยกลูโคสอย่างเดียว การจับตัวของโมเลกุลจะน้อยกว่าเซลลูโลส

ค. ลิกนิน (lignin) เป็นสารเคมีที่สัตว์ไม่สามารถย่อยได้เลย ในพืชที่อ่อนจะมีปริมาณลิกนินไม่มากนัก แต่เมื่อพืชเริ่มแก่ปริมาณลิกนินจะเพิ่มมากขึ้นโดยในเนื้อไม้แข็งจะพบลิกนินถึงร้อยละ 40-50 ลิกนินถูกพืชสร้างขึ้นแทรกอยู่ในชั้นของเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส

2.2 ใยอาหารที่ละลายน้ำ (soluble dietary fiber) ประกอบด้วย เพกทิน กัมและมิวซิเลจ ใยอาหารประเภทนี้มักอยู่รอบๆเซลล์พืช และในเซลล์พืช มีลักษณะที่แตกต่างกัน ไป ดังนี้

ก. เพกทิน (pactin substance) เป็นน้ำตาลหลายชั้นที่อยู่ส่วนกลางของผนังเซลล์ทำหน้าที่ยึดเซลล์ให้ติดกัน โครงสร้างของเพกทินไม่เรียงกันเป็นเส้นสาย โดยจะเรียงตัวกันเป็นตาข่ายแบบไม่เป็นระเบียบ ในทางอุตสาหกรรมอาหารใช้เพกทินเป็นโครงร่างให้วัตถุดิบที่ใช้ประกอบอาหารเกิดการจับตัวกันเกิดตาข่ายเจลทำให้อาหารมีลักษณะข้นขึ้น

ข. กัม (gum) เป็นส่วนของผนังเซลล์พืชที่มีลักษณะเหนียว หรือยางของต้นพืช กัมจัดเป็นน้ำตาลหลายชั้นโครงสร้างประกอบด้วย กลูโคส กาแล็กโทส แมนโนส และอะราบิโนส เป็นต้น

ค. มิวซิเลจ (mucilage) พบในส่วนของเมล็ดพืช และสาหร่ายทะเล มีความเหนียวหนืด มีสมบัติอุ้มน้ำได้มาก มิวซิเลจจะใช้ในการอุตสาหกรรมยาเพื่อช่วยเพิ่มเนื้ออุจจาระช่วยในการระบาย

โพลิแซ็กคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทหนึ่งที่ประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์หรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมากกว่า 10 โมเลกุล เชื่อมต่อด้วยพันธะกลูโคไซดิก (glucosidic bond) ซึ่งการเชื่อมต่อของโมเลกุลโมโนแซ็กคาไรด์และจำนวนกิ่งก้านจะต่างกันไปตามชนิดโครงสร้างของโพลิแซ็กคาไรด์ (Zhang, 2008) (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2553) กล่าวว่า โพลิแซ็กคาไรด์ที่พบในธรรมชาติมีโมเลกุลขนาดใหญ่และมีน้ำหนักโมเลกุลสูง เป็นสารประกอบที่มีรูปร่างไม่แน่นอน (amorphous) ไม่มีสีและส่วนใหญ่ไม่มีรสชาติ เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายคอลลอยด์และสกัดแยกออกมาทำให้บริสุทธิ์ได้ยาก โพลิแซ็กคาไรด์ส่วนใหญ่มีหน้าที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโครงสร้างของเซลล์พืชและสัตว์ ตัวอย่างเช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพกทิน เป็นองค์ประกอบอยู่ในผนังเซลล์ของพืช ไคตินเป็นองค์ประกอบในเปลือกของสัตว์น้ำ เช่น กุ้ง และปู ส่วนกรดมิวรามิก (muramic acid) เป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์แบคทีเรีย

โพลิแซ็กคาไรด์สามารถจำแนกได้หลายแบบ หากจำแนกออกตามลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลได้เป็น 3 กลุ่ม (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2553) ได้แก่

1. โฮโมโพลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide) เป็นโพลิแซ็กคาไรด์ที่ในโมเลกุลประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์เพียงชนิดเดียวเท่านั้น เช่น แป้ง ไกลโคเจน เซลลูโลส และอินนูลิน

2. เฮเตอโรโพลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) เป็นโพลิแซ็กคาไรด์ที่ในโมเลกุลประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์ตั้งแต่ 2 หรือมากกว่า 2 ชนิดขึ้นไป เช่น เพกทิน กัม มิวซิเลจ เฮมิเซลลูโลส และเรซิน (resin)

3. สารประกอบคอนจูเกต (conjugated compounds) เป็นโพลิแซ็กคาไรด์บางชนิดที่เกาะรวมอยู่กับสารอื่น เช่น รวมกับลิพิดเป็นไกลโคลิพิด หรือรวมกับโปรตีนเป็นไกลโคโปรตีน เป็นต้น

การอักเสบ (Inflammation)

การอักเสบ (Inflammation) เป็นปฏิกิริยาของร่างกาย ที่ทำการตอบโต้ตอบสนอง หรือผ่อนคลายความรุนแรงของอันตราย ที่กำลังกระทำต่อร่างกาย การอักเสบ เป็นกระบวนการปกป้อง ตั้งแต่ระดับเซลล์ จนถึงชีวิตมนุษย์ การอักเสบมีสาเหตุจากการติดเชื้อ (infection) และสาเหตุที่ไม่ใช่การติดเชื้อ เช่น สารเคมี หรือ ปฏิกิริยาของภูมิคุ้มกันของร่างกาย เป็นต้น ในขณะที่มีการอักเสบจะมีการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดขยายตัวและมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด จึงเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านหลอดเลือด เป็นผลให้สารน้ำและเซลล์เม็ดเลือดขาว ออกจากหลอดเลือดมายังบริเวณที่มีการอักเสบ เป็นผลให้เกิดการบวมแดง ร้อนของบริเวณที่มีการอักเสบ เม็ดเลือดขาวที่ออกมานอกหลอดเลือด เช่น นิวโทรฟิล และแมคโครฟาจจะถูกกระตุ้นโดยสิ่งแปลกปลอมที่รุกรานทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี หลั่งสารสื่อกลางในการอักเสบ (Pro-inflammatory mediators) ชนิดต่างๆ เช่น แบรดดีไคนิน (bradykinin), ฮีสตามีน (histamine), ไนตริกออกไซด์ และ พรอสตาแกลนดิน เป็นต้น รวมทั้ง pro-inflammatory cytokines เช่น tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β) และ interleukin-6 (IL-6) ออกจากเซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์แมคโครฟาจ (Kumar et al., 2007) ซึ่งสาร pro-inflammatory mediators และ pro-inflammatory cytokines เหล่านี้ที่ถูกหลั่งมากเกินไป หรือหลั่งต่อเนื่องในระยะเวลานานๆ จะทำให้เกิดการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ มีรายงานว่าการอักเสบเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบต่างๆ

ไนตริกออกไซด์ เป็นอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์จาก L-arginine เร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) มีโมเลกุลของออกซิเจนเป็นสารตั้งต้นร่วม เกิด five-

electron oxidation ขึ้นที่อะตอมของไนโตรเจนที่อยู่ในกลุ่มกัวนิดิน (guanidine) ของ L-arginine ได้เป็นไนตริกออกไซด์รวมทั้งได้ L-citrulline เป็นผลผลิตร่วม โดยในปฏิกิริยานี้จะอาศัย flavin adenine dinucleotide (FAD), flavin mononucleotide (FMN), heme, calmodulin (CaM) และ tetrahydrobiopterin (BH4) เป็นโคแฟกเตอร์ร่วม เอนไซม์ NOS มีทั้งหมด 3 ไอโซฟอร์ม คือ neuronal nitric oxide synthase (nNOS) และ endothelial nitric oxide synthase (eNOS) ซึ่งมีการแสดงออกตลอดเวลา (constitutive isoforms) ผลิตไนตริกออกไซด์ในปริมาณต่ำ และ iNOS ซึ่งจะมีการแสดงออกของยีนเมื่อถูกกระตุ้นโดยสิ่งเร้าต่างๆ (MacMicking et al., 1997) (Alderton et al., 2001) ไนตริกออกไซด์มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ ในร่างกาย เช่น การสื่อสัญญาณประสาท (neurotransmission) ควบคุมความดันโลหิตโดยทำให้หลอดเลือดขยายตัว (vascular relaxation) ป้องกันการเกาะตัวของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) และการจับตัวกันของเม็ดเลือดขาว (leukocyte adhesion) รวมทั้งยังเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันแบบมีมาแต่กำเนิด (innate immunity) แมคโครฟาจทำหน้าที่กำจัดจุลชีพที่บุกรุก โดยผลิตไนตริกออกไซด์ในปริมาณมากจากเอนไซม์ iNOS ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของยีนเมื่อมีการสัมผัสกับ cytokine, endotoxin ของแบคทีเรีย หรือไลโพลิแซกคาร์ไรด์ lipopolysaccharide (LPS) จากแบคทีเรีย (Coleman, 2001) การกระตุ้นการแสดงออกของยีน iNOS ส่งผลให้มีการผลิตไนตริกออกไซด์ในปริมาณมาก โดยไนตริกออกไซด์ทำหน้าที่เป็นสารสื่อกลางของการอักเสบที่สำคัญที่ถูกผลิตขึ้นโดยเซลล์แมคโครฟาจ ถึงแม้ว่าไนตริกออกไซด์จะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดจุลชีพที่รุกรานร่างกายมนุษย์ แต่ไนตริกออกไซด์ที่ถูกผลิตขึ้นในปริมาณที่มากเกินไปจาก iNOS พบว่ามีส่วนร่วมในการเกิดอาการของโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบต่างๆ

กระบวนการอักเสบสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ การอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammation) และการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) การอักเสบแบบเฉียบพลันจะเกิดขึ้นรวดเร็ว ภายในระยะเวลาเป็นวินาทีหรือเป็นนาที หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและคงอยู่ประมาณ 2 ถึง 3 วัน แต่มักไม่เกิน 1 สัปดาห์ ลักษณะสำคัญของการอักเสบเฉียบพลัน คือ การบวมของเนื้อเยื่อ (edema) มีสารน้ำซึ่งมีโปรตีน (exudate) ภายในเนื้อเยื่อ และพบเซลล์อักเสบชนิด neutrophils ส่วนการอักเสบแบบเรื้อรังนั้นจะเกิดนานกว่า อาจเกิดตามหลังการอักเสบแบบเฉียบพลันหรือเกิดจากร่างกายตอบสนองต่อสิ่ง แปลกปลอมบางชนิดก็ได้ ขึ้นกับปัจจัยหลาย ๆ ด้าน ลักษณะสำคัญของการอักเสบเรื้อรัง คือ มีการสร้างเนื้อเยื่อพังผืดขึ้น (fibrosis) มีการสร้างหลอดเลือดขึ้นจำนวนมาก และพบเซลล์อักเสบชนิด macrophages และ lymphocytes (Murphy et al., 2005)

กระบวนการอักเสบเฉียบพลันมีลักษณะสำคัญ 3 ประการ คือ

1.การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด ทำให้เกิดการไหลเวียนของเลือดมายังบริเวณที่ได้รับบาดเจ็บมากขึ้น

2.การเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของ หลอดเลือดขนาดเล็ก ทำให้สารน้ำ โปรตีน และ เซลล์เม็ดเลือดขาวรั่วออกมาภายนอกหลอดเลือด

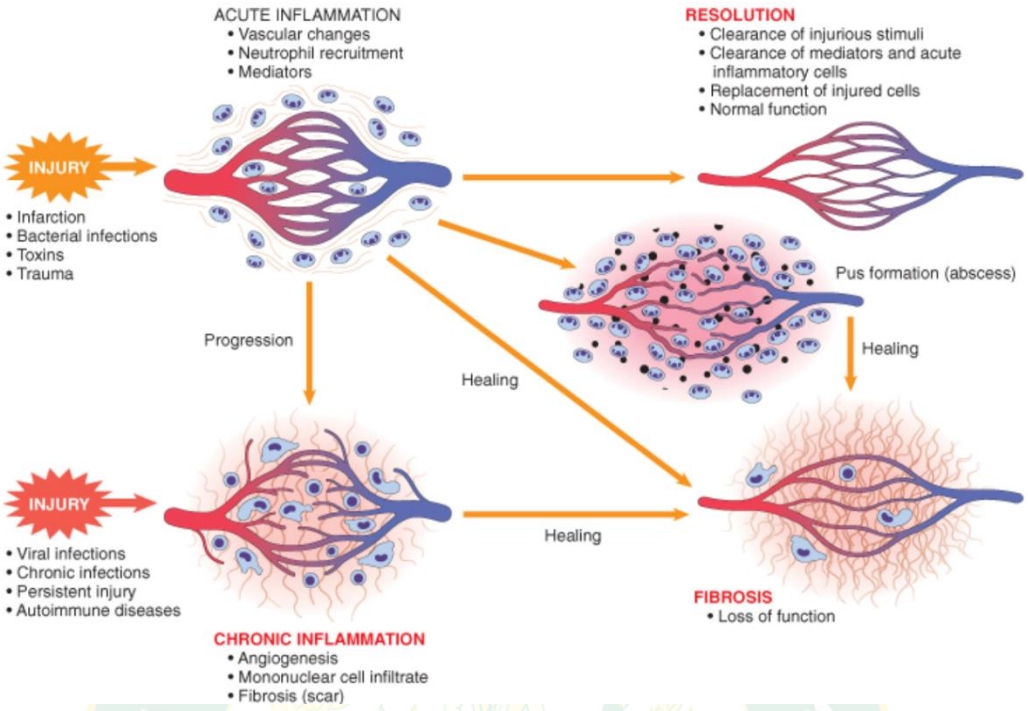
3.การเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาว มายังบริเวณที่ได้รับบาดเจ็บ และได้รับการกระตุ้น เพื่อให้สามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ ได้

จากผลที่เกิดขึ้นจะทำให้ permeability ของหลอดเลือดสูงขึ้น สารน้ำและโปรตีนจึงรั่ว ออกมาในช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular space) และช่องว่างต่าง ๆ ในร่างกาย ได้แก่ ช่องใน เยื่อหุ้มหัวใจ (pericardial cavity) ช่องปอด (pleural cavity) และช่องท้อง (peritoneal cavity) ได้ง่าย สารน้ำที่มีโปรตีนปริมาณสูงดังกล่าว เรียกว่าexudate ซึ่งexudate ที่มีเซลล์เม็ดเลือดหลังจากเกิดกระบวนการอักเสบเฉียบพลันอย่างสมบูรณ์เนื้อเยื่อนั้น ๆ สามารถแบ่ง ได้ 3 ชนิด คือ

1.เนื้อเยื่อกลับมาเป็นปกติ หลังจากได้กำจัดเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมนั้นออกไปแล้ว (complete resolution) มักพบในกรณีที่มีการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อปริมาณน้อย หรือเกิดการบาดเจ็บในช่วง ระยะเวลาสั้น ๆ โดยหลังจากกำจัดสาเหตุออกไป permeability ของหลอดเลือดจะกลับมาเป็น ปกติ เซลล์ neutrophils จะเกิดการตายแบบ apoptosis สารน้ำและโปรตีนที่รั่วออกมาจะถูกดูด ซึมกลับทางหลอดน้ำเหลืองเซลล์macrophagesทำหน้าที่เก็บกิน สิ่งแปลกปลอมและเซลล์ตาย

2. การถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อพังผืด (healing by connective tissue replacement or fibrosis) เกิดใน กรณีที่มีการบาดเจ็บรุนแรง มีการทำลายโครงสร้างพื้นฐานของเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดหนองซึ่งมี ไฟบริน (fibrin) อยู่จำนวนมาก ร่างกายจะไม่สามารถกำจัดสารดังกล่าวออกไปได้ เนื้อเยื่อ เกี่ยวพันจึงเข้าไปแทนที่

3.เกิดกระบวนการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) เกิดขึ้นในกรณีที่ร่างกายไม่สามารถกำจัด สิ่งแปลกปลอมนั้นให้ออกไปจากร่างกายได้หมด



ภาพที่ 7 แสดงผลที่เกิดขึ้นภายหลังการเกิดกระบวนการอักเสบเฉียบพลัน
ที่มา: Kumar et al. (2014)

โดยทั่วไปในกระบวนการอักเสบเฉียบพลัน จะพบพยาธิสภาพหลัก คือ การเปลี่ยนแปลงของหลอด เลือด และพบเซลล์เม็ดเลือดขาวแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อนั้น อย่างไรก็ตาม รายละเอียดส่วนอื่น ๆ อาจมีความ แตกต่างกันบ้างขึ้นกับสาเหตุ ลักษณะเนื้อเยื่อ และอาการทางคลินิก

ระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system)

ระบบภูมิคุ้มกันคือระบบที่คอยปกป้องร่างกายจากสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ ที่อาจเข้ามาทำอันตรายร่างกาย ได้แก่ แบคทีเรีย ไวรัส ปรสิต รา พยาธิ รวมถึงสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ เช่น เซลล์ที่กำลังเจริญเติบโตไปเป็นมะเร็ง อวัยวะอื่นที่ปลูกถ่ายเข้ามาในร่างกาย การได้รับเลือดผิดหมู่ สารก่อภูมิแพ้ ฯลฯ สิ่งต่าง ๆ เหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสิ่งแปลกปลอมที่ร่างกายยังไม่รู้จัก เรียกว่า antigen เพื่อที่จะป้องกันการติดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพการสร้างภูมิคุ้มกันจำเป็นต้องอาศัยการสร้างเซลล์ภูมิคุ้มกันจำนวนมากผ่านโมเลกุล ซิกเนลลิ่งเพื่อเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันหลักเริ่มต้นภายในระยะ มหภาคจึงเป็นเป้าหมายแรกของเครื่องกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

เซลล์ภูมิคุ้มกันเช่น มาโครฟาจมีอยู่ในเนื้อเยื่อ และโพรงของร่างกายเกือบทั้งหมดรวมถึงช่องท้องด้วย มาโครฟาจซึ่งเป็นเซลล์ฟาโกไซต์ที่ได้จากโมโนไซต์มีบทบาทสำคัญในภูมิคุ้มกันโดยกำเนิดและปรับตัวได้ การทำงานของเซลล์ฟาโกไซติกของมาโครฟาจสามารถสะท้อนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ในระดับหนึ่ง (Geissmann et al., 2010)

เมื่อมีการอักเสบเกิดขึ้นในร่างกายจะพบ cytokines ชนิด TNF-α และ IL-1β ที่มีการตอบสนองต่อการอักเสบที่โดย cytokines ทั้ง 2 ชนิดนี้จะใช้เป็นดัชนีชี้วัดสำคัญที่บ่งบอกถึงสภาวะการอักเสบของเซลล์ และมีรายงานว่า reactive oxygen (RO) จะเหนี่ยวนำให้มีการสร้าง TNF ขึ้น จากนั้น TNF-α จะเป็นตัวส่งสัญญาณในการกระตุ้นการทำงานของภูมิคุ้มกันได้ โดยมีความสอดคล้องต่อบทบาทสำคัญต่อการทำหน้าที่รักษาภูมิคุ้มกันโรคด้วยเช่นกัน เมื่อเซลล์มีความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เกิดขึ้นจะพบปริมาณอนุมูลอิสระโดยเฉพาะ reactive oxygen species (ROS) ปริมาณมากขึ้นซึ่งมีผลไปกระตุ้นยีนที่ควบคุมการอักเสบและยีนด้านภูมิคุ้มกันด้วย (Johnson and Bradford, 2014)

คุณสมบัติไซโตไคน์ (Cytokines)

Cytokine เป็น polypeptide ซึ่งเป็นสารน้ำต่าง ๆ ที่สร้างและหลั่งโดยเซลล์ของร่างกาย มีบทบาทในภูมิคุ้มกันทั้ง non-specific immunity และ specific immunity cytokine ที่ช่วยใน specific immunity ส่วนใหญ่หลังมาจาก T lymphocyte และ cytokine ที่ช่วยใน non-specific immunity ส่วนใหญ่หลั่งมาจาก mononuclear phagocyte ที่พบสิ่งแปลกปลอม แต่ก็ได้รับการกระตุ้นจาก T lymphocyte ด้วยเช่นกันโดยสร้างขึ้นในระหว่างที่มีการสร้าง non-specific immunity และ specific immunity ทำหน้าที่ควบคุมการเกิดภูมิคุ้มกันดังกล่าวหลั่งออกมาจากเซลล์ที่สร้างเพียงชั่วระยะหนึ่งแล้วจะหยุดไปเอง cytokine ที่สร้างขึ้นจะหลั่งออกมาจนหมดสิ้นโดยมาเหลือเก็บไว้ในเซลล์ cytokine ชนิดหนึ่ง อาจสร้างขึ้นได้โดยเซลล์หลายชนิด และสามารถออกฤทธิ์ต่อเซลล์หลายชนิด (Pleotropism) cytokine ชนิดหนึ่งอาจมีบทบาทเพิ่มหรือลดการสร้าง cytokine ชนิดอื่น ๆ cytokine อาจมีฤทธิ์ต่อเซลล์ที่เป็นผู้สร้างมัน (autocrine action) ต่อเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงกับเซลล์ผู้สร้าง (paracrine action) หรือเข้าสู่กระแสเลือดไปออกฤทธิ์ต่อเซลล์ที่อยู่ห่างไกล (endocrine action) cytokine ออกฤทธิ์ผ่านทาง receptor จำเพาะบนผิวของ target organ Rp. ดังกล่าวส่วนใหญ่สามารถจับกับ cytokine จำเพาะได้ดีมากการปรากฏตัวของ receptor บนผิว target organ ควบคุมโดย cytokine อื่น หรือ cytokine นั้น ๆ เอง target organ ส่วนใหญ่ใช้เวลานานหลายชั่วโมงกว่าจะตอบสนองต่อ cytokine (Holdsworth and Gan, 2015)

Cytokine ที่มีบทบาทใน Innate immunity สร้างจาก macrophage กับ NK cell Type I IFN ประกอบด้วย IFN 2 พวก คือ IFN-α และ IFN-β ซึ่งมี antigenic determinant ต่างกัน แต่มี receptor เหมือนกัน type I IFN ส่วนใหญ่ใหญ่ร่างกายสร้างขึ้นเมื่อมีการติดเชื้อไวรัส นอกจากนี้ยังสร้างเมื่อมีการตอบสนองจำเพาะ โดย T lymphocyte ที่ถูกกระตุ้นจะไปกระตุ้นให้ mononuclear phagocyte สร้าง type I IFN หน้าที่หลักของ type I IFN คือขัดขวางการเพิ่มจำนวนของไวรัสภายในเซลล์ร่างกาย โดยการกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง enzyme ขึ้นมาหลายชนิด ซึ่งทำให้ RNA หรือ DNA ของไวรัสไม่เพิ่มจำนวน การทำงานของ type I IFN มักเป็นแบบ paracrine เพิ่มความสามารถของ NK cell ในการทำลายเซลล์แปลกปลอม โดยการออกฤทธิ์กระตุ้นให้ pre-NK cell แบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงเป็น NK cell รวมไปถึงเพิ่มการปรากฏของ class I MHC บนเซลล์แปลกปลอม รวมทั้งเซลล์ร่างกายที่ติดเชื้อไวรัสด้วย เป็นผลให้ cytotoxic T lymphocyte ทำงานได้ดี แต่พบว่า type I IFN จะลดการปรากฏของ class II MHC จึงทำให้การกระตุ้น helper T lymphocyte เกิดขึ้นได้ไม่ดี

Interleukin-1 (IL-1) มีรูปแบบที่สำคัญคือ IL-1α ซึ่งพบอยู่บนผิวของเซลล์ผู้สร้าง และ IL-1β ซึ่งพบอยู่ในสารน้ำของร่างกาย เซลล์สำคัญที่ทำหน้าที่สร้าง IL-1 คือ mononuclear phagocyte ที่ถูกกระตุ้นด้วยผลิตภัณฑ์จากแบคทีเรีย (Yan et al., 1992) นอกจากนี้ยังมีเซลล์อื่น ๆ สร้างด้วย คาดว่าเซลล์ทุกชนิดในร่างกายที่ทำหน้าที่เป็น APC จะสามารถสร้าง IL-1 ได้ ฤทธิ์ของ IL-1 คือ

1. กระตุ้น hypothalamus ให้สร้าง Prostaglandin E2 แล้วก่อให้เกิดไข้

2. กระตุ้น hepatocyte ให้สร้างสารกลุ่ม acute phase protein ซึ่งช่วยทำลายสารพิษและกำจัดจุลชีพ แต่อาจก่อให้เกิดโรค secondary amyloidosis ได้ (Copray et al., 2001)

3. เพิ่มความสามารถของ NK cell ในการสลายเนื้องอก โดยมี synergistic action กับ IL-2 และ Interferon และเป็น co-factor ของ IL-6 ในการส่งเสริมการแบ่งตัวของ thymocyte ที่กระตุ้นด้วย mitogen ชักนำให้ T lymphocyte หลั่ง IL-2, IL-4 และ IL-6เป็น co-factor ของ IL-4 หรือ IL-6 ในการส่งเสริมการพัฒนาการจาก B lymphocyte ไปเป็น plasma cell

4. ชักนำให้สร้าง และส่งเสริมการทำงานของ colony sytimulating factor (CSF) และป้องกันไม่ให้ hematopoietic stem cell ถูกทำลายโดยสารพิษ

5. มีฤทธิ์ต่อเซลล์หลายชนิดและอาจเป็นสาเหตุของโรคได้ เช่น มีฤทธิ์ต่อ synovial cell, osteoclast, osteoblast และ chondrocyte ซึ่งอาจนำไปสู่การเกิด arthritis และ bone resorption ฤทธิ์ต่อ islet of Langerhans อาจนำไปสู่การเกิดเบาหวานชนิดที่ 1 มีฤทธิ์ต่อไต อาจเกิด lupus nephritis และ immune complex glomerulonephritis มีฤทธิ์สลายโปรตีนใน

กล้ามเนื้อ ทำให้เกิด negative nitrogen balance ฤทธิ์ต่อ endothelial cell อาจก่อ vasculitis และ atherosclerosis

IL-1 receptor antagonist (IL-1 ra) มีโครงสร้างคล้าย IL-1 ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของ IL-1 ด้วยการแย่งจับกับ IL-1 receptor ถูกสร้างและหลั่งโดย mononuclear phagocyte ที่ถูกกระตุ้นโดย Ag-Ab complex Interleukin-6 (IL-6) เซลล์ที่มีบทบาทมากที่สุดในการสร้าง คือ macrophage มีฤทธิ์ ชักนำให้มีการสร้าง acute phase protein (Maier et al., 1993) โดย hepatocyte ซึ่งจะปรากฏในร่างกายพร้อม กับที่มี acute inflammation รวมไปถึงส่งเสริมการสร้าง Ab โดยออกฤทธิ์ในระยะท้ายของการเปลี่ยนแปลงจาก B lymphocyte ไปเป็น plasma cell อีกทั้งยังช่วยส่งเสริมการสร้าง cytotoxic T lymphocyte เพื่อตอบสนองต่อ alloantigen และยังมีบทบาทในการสร้างเม็ดเลือดหลายชนิด เช่น เสริมฤทธิ์ของ IL-3 ให้ hematopoietic stem cell แบ่งตัว เสริม M-CSF ในการสร้าง macrophage พบว่า IL-6 ชักนำให้ myeloid leukemic cell เปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น granulocyte ปกติ จึงอาจใช้รักษา myeloid leukemia ได้

Tumor necrosis factor (TNF) มี 2 ชนิด คือ TNF-α สร้างโดย mononuclear phagocyte และ TNF-β สร้างโดย T lymphocyte มีฤทธิ์ ส่งเสริมการเดินทางออกจากเส้นเลือดของเม็ดเลือดขาว นั่นคือ TNF ส่งเสริม inflammatory response ทำให้เกิดกระบวนการ phagocytosis ของ polymorphonuclear cell และส่งเสริมการสร้าง hydrogen peroxide ใน macrophage อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นเซลล์ต่าง ๆ ให้หลั่ง IL-1, IL-6, IL-8 และTNF เองเพื่อทำลายเซลล์เนื้องอกโดยทำให้เกิดอาการไข้ และมีการสร้าง acute phase protein จึงเกี่ยวกับ inflammation รวมไปถึงทำให้เกิด cachexia (การมีสุขภาพเสื่อมโทรม และอยู่ในภาวะขาดอาหารอย่างมาก

ภาวะเบาหวาน

เบาหวาน (Diabetes Mellitus: DM) เป็นภาวะที่ร่างกายมีน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ เนื่องจากการขาดฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin) หรือการดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน ส่งผลให้กระบวนการนำน้ำตาลในเลือดให้เป็นพลังงานของเซลล์ในร่างกายมีความผิดปกติหรือทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ จนเกิดน้ำตาลสะสมในเลือดปริมาณมาก และก่อให้เกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งส่งเสริมให้เซลล์ในร่างกายหลั่งสารอนุมูลอิสระหลายชนิด ที่ไปมีผลต่อการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อโดยเฉพาะบริเวณหลอดเลือด ทำให้เกิดการอักเสบและมีภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ในผู้ป่วยเบาหวาน

โรคเบาหวาน แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (type 1 diabetes) เกิดจากภาวะที่มีการทำลายเซลล์ที่สร้างฮอร์โมนอินซูลินคือ เบต้าเซลล์ (beta cell) ของตับอ่อน ทำให้ไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินได้ และเบาหวานชนิดที่ 2 (type 2 Diabetes) เกิดจากการที่ตับอ่อนผลิตฮอร์โมนอินซูลินได้ไม่เพียงพอต่อการใช้ หรือเกิดภาวะการดื้ออินซูลิน (Insulin Resistance) จากการศึกษาทางคลินิกพบว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยเบาหวานจะผลิตอนุมูลอิสระสูงกว่าคนที่มีระดับน้ำตาลในเลือดปกติ

การเกิดเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นความผิดปกติของการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดที่แย่ลงอย่างต่อเนื่องและการเสื่อมสภาพของการทำงานของ beta cell ในตับอ่อน ส่งผลให้เกิดการอักเสบเป็นเวลานานหรือเรื้อรังเกิดขึ้น ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจ (macrophage) และ ลิมโฟไซด์ (lymphocyte) ทำให้มีการหลั่งสารอักเสบ (inflammatory mediators) ออกมาอย่างต่อเนื่อง ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) พรอสตาแกลนดิน (prostaglandins) ไซโตไคน์ (cytokines) เช่น interlukin –1β, interlukin –6, interlukin –8, tumor necrosis factor alpha (TNF-α) เป็นต้น ซึ่งผู้ป่วยเบาหวานมีการแสดงออกของตัวชี้วัดเหล่านี้สูงกว่าคนปกติ

แนวทางการรักษาโรคเบาหวานคือ การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดเพื่อลดการลุกลามของภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน ตามมาตรฐานการดูแลทางการแพทย์สำหรับโรคเบาหวานของสมาคมโรคเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกาปี 2021 การปรับเปลี่ยนรูปแบบการใช้ชีวิต ได้แก่ การรับประทานอาหาร การออกกำลังกาย และการลดน้ำหนัก และยาต้านน้ำตาลในเลือดสูง เป็นการบำบัดเดี่ยวหรือใช้ร่วมกันได้รับการแนะนำสำหรับผู้ที่มีภาวะก่อนเป็นเบาหวาน (Association, 2021) ปัจจุบันยาลดน้ำตาลในเลือดประเภทต่าง ๆ ที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่าง ๆ ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน ยาทั่วไปที่สำคัญสำหรับเบาหวานชนิดที่ 2 ได้แก่ สารหลั่งอินซูลิน (sulfonylureas), สารยับยั้งการผลิตกลูโคสในตับ (biguanides, metformin), สารกระตุ้นอินซูลิน (thiazolidinedione, TZD), สารยับยั้งการดูดซึมกลูโคส นอกจากนี้ สารที่ใหม่กว่า เช่น สารยับยั้ง dipeptidyl peptidase (DPP) IV, สารยับยั้ง glucagon-like peptide-1 (GLP-1), สารยับยั้งโซเดียมกลูโคส co-transporter-2 (SGLT2) ได้รับการอนุมัติสำหรับการรักษาโรคเบาหวานในปัจจุบัน (Padhi et al., 2020)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

นำสาหร่ายพวงองุ่นสดตกเกรดที่เก็บมาจากโครงการฟาร์มทะเลตัวอย่าง และศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งเพชรบุรี ต.แหลมผักเบี้ย อ.บ้านแหลม จ.เพชรบุรี มาล้างด้วยน้ำประปาหลาย ๆ ครั้ง จนสะอาด แบ่งนำสาหร่ายสดไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการหลังจากทำแห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง (freeze dry) โดยส่งวิเคราะห์ ณ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) สาขาเชียงใหม่ จากนั้นนำสาหร่ายสดที่แบ่งไว้อีกส่วนมาทำแห้งด้วยการอบลมร้อนด้วยอุณหภูมิหลายขั้นเพื่อช่วยเร่งอัตราการถ่ายเทมวลความชื้นออกจากสาหร่ายสด ด้วยการใช้อุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส ในช่วงที่การอบแห้งที่ 1 ชั่วโมง และลดอุณหภูมิเหลือ 60 องศาเซลเซียส อบต่อจนแห้งที่ความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 ซึ่งสามารถรักษาสมบัติทางกายภาพ เคมี และคุณค่าทางโภชนาการไว้ใกล้เคียงกับผลผลิตสด จากนั้นสกัดสาหร่ายด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันดังนี้คือ น้ำ เอทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน ในอัตราส่วนสาหร่ายแห้ง 50 กรัม นำมาแช่ในตัวทำละลายแต่ละชนิดปริมาตร 500 มิลลิลิตร ทำการสกัดโดยทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน และทำการเขย่าทุกวัน เมื่อครบกำหนดนำแต่ตัวทำละลายไปแยกตะกอนสาหร่ายออกโดยผ่านกระดาษกรอง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ส่วนสารสกัดน้ำนำไปทำแห้งต่อด้วยเครื่อง freeze dry และวิเคราะห์กลุ่มสารสำคัญต่อไป

การวิเคราะห์สารสำคัญจากสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

1. การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก 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 คำนวณปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีโนลิกโดยเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) ต่อน้ำหนักสารสกัดปริมาณ 1 กรัม โดยรายงานผลเป็น มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

2. วิเคราะห์ปริมาณโพลิแซ็กคาไรด์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ (Paradossi et al., 1999) ดังนี้ นำสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายมาตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วนสารสกัดต่อเอทานอล 1 : 2 โดยปริมาตร แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตะกอนโพลิแซ็กคาไรด์โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำตะกอนที่ได้อบให้แห้งที่ 55 องศาเซลเซียส คำนวณหาร้อยละของโพลิแซ็กคาไรด์ที่ได้

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 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. acnes* ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะสุญญากาศโดยใช้ภาชนะที่มีฝาปิดสนิททำการบ่มนาน 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วจะนำมาปรับความขุ่นให้เทียบเท่ากับ MaFarland standard No.0.5 (เซลล์ประมาณ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร) นำไม้พันก้านสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงในหลอดเพาะเชื้อแล้วนำมาเกลี่ยบนผิวหน้าอาหาร Nutrient agar นำตัวอย่างสารสกัดสาหร่าย หยดลงบนกระดาษกรองปริมาตร 30 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวางบนผิวหน้าอาหาร โดยใช้ตัวทำละลายที่ทำการสกัดเป็น negative control และใช้ยาปฏิชีวนะ tetracycline ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็น positive control และตัวทำละลายจะใช้ dimethyl sulfoxide (DMSO) ในอัตราส่วน 1 : 1 เพื่อช่วยให้สารสกัดและตัวทำละลาย ละลายได้ดีขึ้น นำจานอาหารบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง (ยกเว้น *P. acnes* บ่มนาน 72 ชั่วโมง ในกล่องสูญญากาศ) เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำมาบันทึกผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ tetracycline

การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์เพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เคอราติโนไซค์จากมนุษย์ (human immortalized keratinocyte cell line) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) ซึ่งถูกผสมด้วย 10% fetal bovine serum ,1 mM nonessential amino acid และ 4 mM L-glutamine ใน plastic flasks เลี้ยงเซลล์ใน incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, 5% CO_2 และ 95 % air atmosphere

การวัดการอยู่รอดชีวิตของเซลล์เคอราติโนไซค์จากมนุษย์

การหาความเข้มข้นที่ไม่เกิดพิษต่อเซลล์เคอราติโนไซค์ ขั้นตอนของวิธีการนี้คือทำการเพาะเซลล์ จำนวน $4x10^4$ เซลล์ต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 well ทิ้งไว้ในตู้ incubator 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาผสมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ใส่ลงไปในเซลล์ บ่มต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือ ทำการทดสอบฤทธิ์ปกป้องเซลล์ของสารสกัด โดยเพาะเซลล์จำนวน $2x10^6$ เซลล์ต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงชนิด 6 well plate ทิ้งไว้ในตู้ incubator 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการผสมสารสกัดที่ระดับเข้มข้นที่เหมาะสม ใส่ลงไปในเซลล์ บ่มต่อเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วยการฉายรังสียูวีบี จากนั้นบ่มต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เมื่อครบเวลาเติม resazurin solution ปริมาตร 10% ต่อหลุม แล้วทำการบ่มต่อ 3 ชั่วโมง โดยสี resazurin เมื่อถูกเปลี่ยนโดย mitochondrial reductase ที่อยู่ในเซลล์ที่มีชีวิต จะเปลี่ยนเป็นสีชมพูของสี rezorufin ซึ่งเป็น fluorescent จากนั้นทำการวัดปริมาณแสง fluorescent ที่เกิดขึ้นที่ excitation 530 นาโนเมตร และ emission 590 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง automated microplate reader

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Nitric oxide (NO) ที่เกิดขึ้นในเซลล์เคอราติโนไซค์จากมนุษย์

ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ NO ของสารสกัด โดยใช้ griess reagent ซึ่งประกอบด้วย 1% sulfanilamide ใน 5% phosphoric acid และ 0.1% naphthyletylenediamine dihydrochloride (NED) ในน้ำ ขั้นตอนของวิธีการนี้คือ ทำการเพาะเซลล์จำนวน $2x10^6$ เซลล์ต่อหลุม ในจานเพาะเลี้ยงชนิด 6 well plate ทิ้งไว้ในตู้ incubator 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการผสมสารสกัดที่ระดับเข้มข้นเหมาะสม ใส่ลงไปในเซลล์ บ่มต่อเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วยการฉายรังสียูวีบี จากนั้นทิ้ง

ไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการดูด supernatant ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96 well plate โดยทำแบบ triplicate และตามด้วยการใส่ griess reagent ให้มีปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 10 นาทีในที่มืดจากนั้นนำไปวัดค่า absorbance ที่ค่าการดูดกลืนแสง 545 นาโนเมตร โดยค่าที่ได้จะทำการเทียบกับ standard sodium nitrite ($NaNO_2$)

การประเมินฤทธิ์การพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาวของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

โดยดัดแปลงจากวิธีการของ (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 ทั้งในสภาวะที่ไม่มีและมีอินซูลิน เพื่อประเมินการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมในภาวะพัก (basal glucose uptake) และภาวะที่กระตุ้นด้วยอินซูลิน (insulin-stimulated glucose uptake) ตามลำดับ กล้ามเนื้อกระบังลมจะถูกบ่มเพาะด้วย CO_2 ร้อยละ 5 และ O_2 ร้อยละ 95 ใน shaking water baht เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นคำนวณหาค่าการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลม จากสูตร

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

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาวสายพันธุ์ Sprague Dawley (SD) และ Spontaneously Diabetic Torii (SDT) เพศผู้ น้ำหนัก 180-220 กรัม จากบริษัทโนบุระสยาม อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด นำหนูขาวมาเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ที่หน่วยสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ปรับตัวคุ้นเคยกับสภาวะแวดล้อมก่อนการทดลอง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิตลอดเวลาที่ 25 + 2 องศาเซลเซียส เปิดและปิดไฟทุก 12 ชั่วโมง เปลี่ยนถาดรองปัสสาวะและอุจจาระวันเว้นวัน ให้อาหารเม็ดมาตรฐาน และน้ำตามต้องการ การใช้สัตว์ทดลองเพื่อการศึกษาใน

โครงการวิจัยนี้ได้รับอนุมัติความเห็นชอบจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การประเมินพิษเฉียบพลันของสารสกัดน้ำสาหร่ายพวงองุ่นในหนูขาว (Acute toxicity)

อ้างอิงวิธีการของ Organization for Economic Co-operation and Development การทดสอบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาว ทำการทดสอบโดยการป้อนสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในหนูขาวปกติ ขนาด 2 และ 5 g/kg BW โดยใช้หนูขาว 6 ตัว (เพศเมีย 3, เพศผู้ 3) ต่อแต่ละขนาดของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นและกลุ่มควบคุม 6 ตัว (เพศเมีย 3, เพศผู้ 3) ที่ได้รับการป้อนน้ำกลั่นทางปาก (gavage feeding) ในปริมาตรที่เท่ากัน สังเกตอาการหลังจากให้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 5, 15, 30 นาที และ 1, 2 และ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตอาการทุกวันเป็นเวลา 7 วัน เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาต่อไป

การประเมินพิษเฉียบพลัน โดยแบ่งหนูขาวเพศเมีย ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว รวม 10 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ได้รับน้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดสอบ ได้รับส่วนสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นในขนาด 5 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำการให้สารทดสอบโดยป้อนทางปากผ่าน stomach tube ในปริมาณ 0.5 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว สังเกตอาการผิดปกติของหนูภายใน 24 ชั่วโมง (ที่เวลา 5, 15, 30 นาที และ 1, 2 และ 24 ชั่วโมง) หลังการให้ส่วนสกัดน้ำของสาหร่าย เฝ้าดูพฤติกรรมที่ผิดปกติ รวมทั้งนับจำนวนสัตว์ทดลองที่รอด สังเกตอาการ และชั่งน้ำหนักทุกวันเป็นเวลา 7 วัน และถ้าหนูไม่ตาย จะสังเกตอาการต่อทุกวัน นาน 14 วัน เมื่อสิ้นสุดการศึกษาจะทำการการุณยฆาตด้วยการฉีด pentobarbital sodium ขนาด 75 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เข้าทางช่องท้องจากนั้นตรวจสอบพยาธิสภาพของอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกาย

การเพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ

เซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) จะถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงสูตร Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) ที่มี 10% fetal bovine serum (FBS) และ 1% penicillin–streptomycin โดยเลี้ยงเซลล์ในตู้บ่มเพาะที่มี CO_2 5% RAW 264.7 ถูกเลี้ยงใน 12- และ 96-well plates ความหนาแน่น 2.0 x 105 เซลล์/มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 วัน เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

การศึกษาผลของสาหร่ายพวงองุ่นต่อความเป็นพิษของเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ

ทำการประเมินการเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) โดยใช้วิธี MTT (Methyl tetrazolium 3-[4, 5-Dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) โดยเพาะเลี้ยงแมคโครฟาจ RAW 264.7 จำนวน 2.0×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ใน 96-well plates เติมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน (0.1-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยมียาต้านการอักเสบ celecoxib (CX) เป็นสารมาตรฐาน บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารละลาย MTT เข้าไปในเซลล์ดังกล่าวและบ่มต่อเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำอาหารที่มีสารละลาย MTT ออก และเติมสารละลาย DMSO ลงใน plates และบ่มต่อเป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ ELISA

เพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) จำนวน 2.0×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ใน 12-well plate เติม LPS 1 ไมโครกรัม/มล. CX 3.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นความเข้มข้นต่างกัน (0.1-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2,000g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำ supernatant ไปวัด IL-6, IL-1β, TNF-α , NO, และ PGE2 โดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป (commercial kits)

การศึกษาผลของสาหร่ายพวงองุ่นต่อการสร้าง Nitric oxide (NO) ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ

เพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) จำนวน 2.0×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ใน 12-well plate เติมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน (0.1-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ร่วมกับ CX 3.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ LPS 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนำไปปั่นเหวี่ยงความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยนำ supernatant ไปวัดปริมาณสาร NO การวัดระดับ NO วัดด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ความเสียหายของ DNA

เพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) จำนวน 2.0 × 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ใน 12-well plate บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ในตู้ที่มี CO_2 5% เติมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน (0.1-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ร่วมกับ CX 3.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ LPS 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000g เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำ supernatant ไปวัดความเข้มข้นของ 8-OHdG โดยใช้ชุด kits

การย้อมสี 33342

เพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) เติมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน (0.1-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ร่วมกับ CX 3.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ LPS 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร บ่มในตู้ที่มี CO_2 5% ที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเซลล์ที่ถูกบำบัดด้วย paraformaldehyde 4% เป็นเวลา 10 นาที และถูกย้อมสีด้วย Hoechst 33342 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร 10 นาที นำเซลล์ไปล้างด้วย PBS ส่องใต้กล้อง Nikon Eclipse Ni-U fluorescent microscope (Nikon)

การวิเคราะห์ Real-time PCR

RAW 264.7 ถูกทำให้บริสุทธิ์โดย TRIzol reagent (Thermo Fisher Scientific,Waltham, MA, USA) cDNA ถูกวิเคราะห์โดย SensiFAST cDNA synthesis kit (Bioline, London, UK) qPCR ถูกวิเคราะห์โดย SYBR Real-Time PCR Master Mix (Bioline, London, UK) ด้วย CFX Touch real-time PCR system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) โดย primer TNF-α , IL-1β , IL-6, COX-2, p53, p27, cyclin D2, cyclin E2, and GAPDH ที่ใช้ทำ qRT-PCR อยู่ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลำดับไพรเมอร์ของยีน

cDNA	Genbank Acc. no.	Forward primer	Reverse primer	Amplicon size (bp)
TNF-α	NM013693.3	5’-ACCTGGCCTCTCTACCTTGT-3’	5’-CCCGTAGGGCGATTACAGTC-3’	161
IL-1β	NM008361.4	5’-GCCACCTTTTGACAGTGATGAG-3’	5’-AGTGATACTGCCTGCCTGAAG-3’	165
IL-6	NM031168.2	5’-CAACGATGATGCACTTGCAGA-3’	5’-TCTCTCTGAAGGACTCTGGCT-3’	201
COX-2	NM011198.4	5-’CCACTTCAAGGGAGTCTGGA-3’	5’-AGTCATCTGCTACGGGAGGA-3’	197
CyclinD2	NM009829.3	5’-ACCTCCCGCAGTGTTCCTATT-3’	5’-CACAGACCTCTAGCATCCAGG-3’	93
CyclinE2	NM001037134.2	5’-TCTGTGCATTCTAGCATCGACTC-3’	5’-AAGGCACCATCGTCTACACATTC-3’	149
p27	NM009875.4	5’-GCGGTGCCTTTAATTGGGTCT-3’	5’-GGCTTCTTGGGCGTCTGCT-3’	230
p53	NM011640.3	5’-ACCGCCGACCTATCCTTACC-3’	5’-TCTTCTGTACGGCGGTCTCTC-3’	118
GAPDH	NM001289726.1	5’- TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3’	5’- TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG-3’	150

หมายเหตุ: TNF-α, *Tumor necrosis factor alpha*; IL-1β, Interleukin 1 beta; IL-6, *Interleukin-6*; COX-2, *Cyclooxygenase-2*; *p27*, Cyclin dependent kinase inhibitor; *p53*, Tumor protein P53; GAPDH, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD) และค่าเฉลี่ย ± ค่าความคาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SEM) ในการทดลองหาปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีโนลิกใช้สถิติ Pair t-test ค่า $p < 0.05$ แสดงความแตกต่างอย่างระดับนัยสำคัญทางสถิติ และฤทธิ์ชีวภาพข้อมูลถูกเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง 3-5 กลุ่มทดลอง ใช้สถิติ analysis of variance (ANOVA) ตามด้วยการเปรียบเทียบภายหลังหรือ post hoc test ด้วยวิธีสถิติของ Duncan 's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ค่า $p < 0.05$ แสดงความแตกต่างอย่างระดับนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

สาหร่ายพวงองุ่น

สาหร่ายพวงองุ่นที่นำมาทดลองในครั้งนี้เมื่อนำมาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ผลวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการพบว่า มีปริมาณโปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า คาร์โบไฮเดรต และพลังงานรวม เท่ากับ 8.93, 1.78, 19.78, 41.24, 32.32 และ 181.02 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 3) สอดคล้องกับ กรมประมง (2560) ที่ทำแห้งแบบอบลมร้อนพบว่า มีปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และพลังงานรวม เท่ากับ 8.55, 1.92, 32.69 และ 182 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าปริมาณเยื่อใยเพียง 3.87 มิลลิกรัม/กรัม

ตารางที่ 3 คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายพวงองุ่น

องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบ	**กรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง**
โปรตีน	8.93
ไขมัน	1.78
เยื่อใย	19.78
เถ้า	41.24
คาร์โบไฮเดรต	32.32
พลังงานรวม (Kcal / 100 กรัม)	181.02
เกลือแร่	**มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง**
แคลเซียม	748.4
เหล็ก	5.627
วิตามิน	**มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักสด**
A	10.85
C	0
Thaimin (B1)	0
Riboflavin (B2)	0
β-carotene (A)	65.10

สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

จากการสกัดสาหร่ายพวงองุ่นด้วยน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน พบว่าได้ปริมาณสารสกัดหรือ % yield คิดเป็น 24.72, 19.60, 15.24 และ 11.68% ตามลำดับ โดยสารสกัดน้ำ (aqueous extract) มีสีเขียวอมเหลืองเป็นผงแห้ง ส่วนสารสกัดเอทานอลมีสีเขียวเข้มและเหนียวข้น จึงได้คัดเลือกเฉพาะสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกเปรียบเทียบกันเพื่อใช้ในการพิจารณาการนำไปใช้เป็น functional extract ในอาหาร ส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตต และเฮกเซนได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในผิวหนังเพื่อนำไปประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

สารสำคัญที่พบในสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

ปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีโนลิก

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีโนลิกรวมของสารสกัดจากตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำและเอทานอล โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรด gallic พบว่า ปริมาณฟีโนลิกรวมในสารสกัดน้ำจากสาหร่ายพวงองุ่นมีค่าสูงกว่าสารสกัดเอทานอล (ตารางที่ 4) ซึ่งจากระดับความมีขั้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลายจะส่งผลต่อการละลายหรือการสกัดสารที่มีองค์ประกอบทางเคมีประเภทต่างๆ รวมถึงสารประกอบฟีโนลิกออกมาจากตัวอย่างสาหร่าย ดังนั้นในการสกัดตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นด้วยน้ำที่มีความมีขั้วสูงจะให้สารชีวภาพกลุ่มฟีโนลิกรวมในปริมาณสูง ซึ่งนอกจากจะปลอดภัยแล้วยังมีต้นทุนในการสกัดต่ำกว่าตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ อีกด้วย

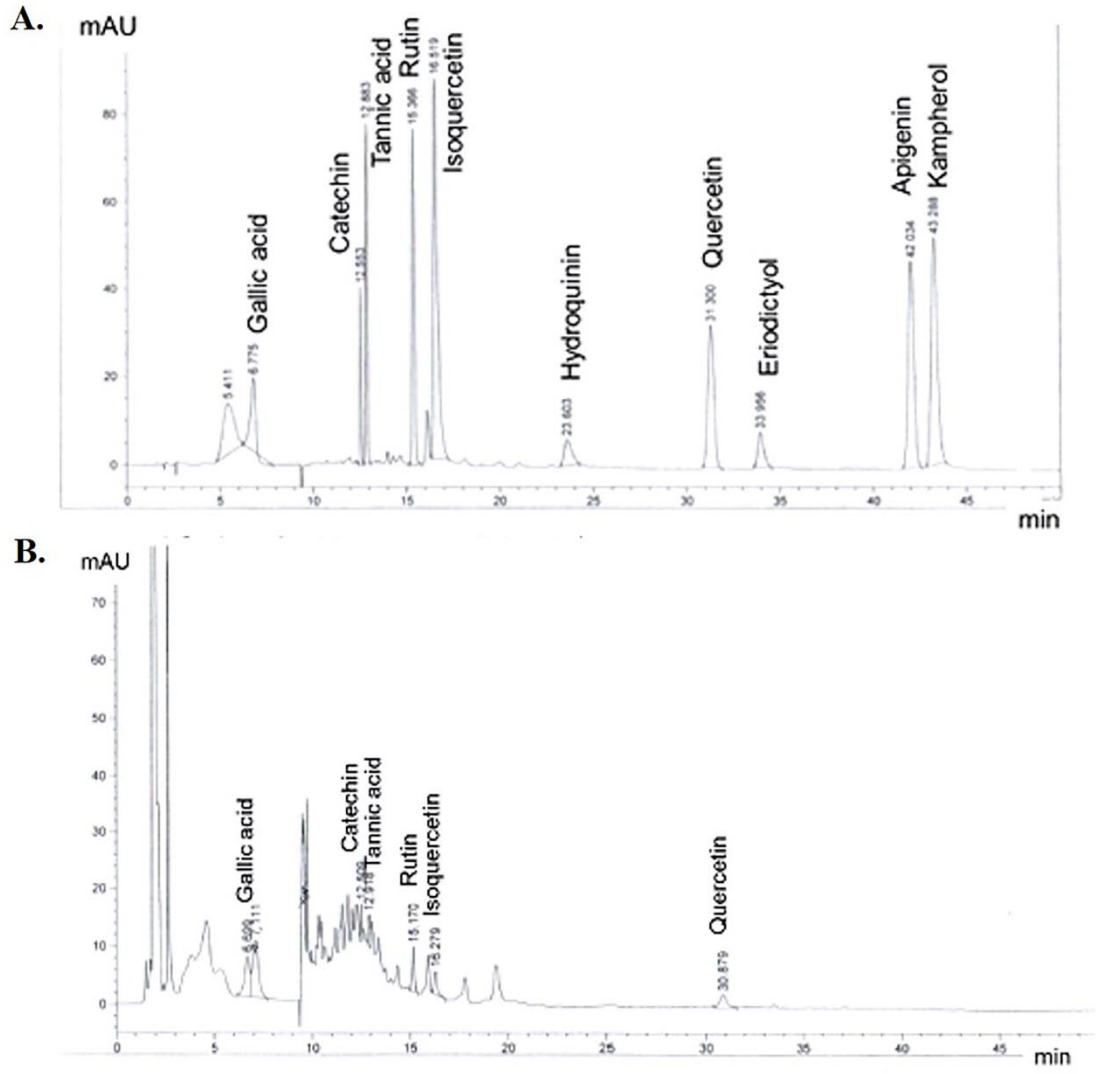
ตารางที่ 4 ปริมาณฟีโนลิกรวมในสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

Type of Extraction	mgGAE/g extract
Aqueous extract	5.18 ± 0.06^{a}
Ethanol extract	3.44 ± 0.06^{b}

ข้อมูลแสดงในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n = 3)

ค่า a, b มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากผลการทดลองแสดงปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีโนลิกของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นด้วยเครื่อง LC-MS chromatogram พบว่ามีสารกลุ่ม gallic acid, catechin, tannic acid, rutin, isoquercetin และ quercetin รูป 5A. มีปริมาณแทนนินสูงอยู่ที่ 4.715 มิลลิกรัม/กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับสารตัวอย่าง นอกจากนี้ ยังพบ catechin, rutin, isoquercetin, gallic acid และ quercetin ในปริมาณ 2.629, 0.688, 0.431, 0.390, และ 0.361 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ



ภาพที่ 8 ปริมาณสาระสำคัญกลุ่มฟีโนลิกในสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS chromatogram (**A**) ใช้สารมาตรฐานคือสารประกอบฟีโนลิก (**B**) ใช้สารมาตรฐานคือ gallic acid, catechin, tannic acid, rutin, isoquercetin, และ quercetin

ปริมาณโพลิแซ็กคาไรด์จากสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น

สารสกัดด้วยน้ำหรือ aqueous extract ของสาหร่ายพวงองุ่น พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มโพลิแซ็กคาไรด์ร้อยละ 84.10 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ (Maeda et al., 2012a, 2012b) ที่พบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์ในสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย และฤทธิ์ต้านเซลมะเร็งเต้านมได้อีกด้วย ยังมีรายงานถึง โพลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นอนุพันธุ์ของ soluble fibers ในสาหร่าย สามารถเป็นแหล่ง prebiotics และช่วยลดไขมันและคอเลสเตอรอลในเลือดในมนุษย์ได้ (Praznik et al., 2015)

ปริมาณกรดอะมิโนในสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่น

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน 20 ชนิด พบว่า สารสกัดน้ำสาหร่ายพวงองุ่นมีกรดอะมิโนปริมาณเรียงจากมากไปน้อยดังนี้ Phenylalanine, Leucine, Lysine, Tyrosine, Glutamic acid, Isoleucine และ Aspartic acid แสดงรายละเอียดในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณกรดอะมิโนของสารสกัดน้ำสาหร่ายพวงองุ่น

Amino acid	mg/100 g	Amino acid	mg/100 g
Alanine	565	Leucine[2]	1912
Arginine	< 5.00	Lysine[3]	1746
Aspartic acid[7]	1005[7]	Methionine	314
Cystine	420	Phenylalanine[1]	2274
Glutamic acid[5]	1184[5]	Proline	518
Glycine	425	Serine	295
Histidine	546	Threonine	376
Hydroxylysine	< 5.00	Tryptophen	115
Hydroxyproline	< 5.00	Tyrosine[4]	1205
Isoleucine[6]	1163[6]	Valine	836

[1-6] แสดงปริมาณกรดอะมิโนจากสูงไปต่ำตามลำดับ

กรดอะมิโนมีความสำคัญต่อมนุษย์โดยเป็นทั้งโครงสร้างของผิวหนังและยังควบคุมเมแทบอลิซึมหรือการเผาผลาญของโปรตีนในร่างกาย การเกิดริ้วรอยของผิวที่มีอายุมากขึ้นโดยเฉพาะรอยเหี่ยวย่นและหย่อนคล้อยของผิวเกิดมาจากปัจจัยหลายอย่างได้แก่ รังสีอัลตร้าไวโอเล็ต (UV) การถูกกระตุ้นด้วยสารเคมี การได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ และการได้รับอนุมูลอิสระที่มากเกินสมดุล โดยเฉพาะ UV ที่ส่งผลทำลายโปรตีนและคอลลาเจนที่ผิวหนังทำให้เกิดริ้วรอยหรือผิวหนังเหี่ยวย่น มีรายงานพบว่า Glutamine และ Proline เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการสร้างคอลลาเจน โดยไปเพิ่มการสังเคราะห์คอลลาเจนใน fibroblast cells สามารถช่วยฟื้นฟูการสร้างคอลลาเจนของผิวหนังที่ถูกทำลายด้วยแสง UV ได้ (Hitoshi et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยพบว่า Arginine, Ornithine และ Leucine เป็นกรดอะมิโนที่ช่วยกระตุ้นการหายของแผลอีกด้วย (Shi and BeMiller, 2002; Shi et al., 2003; Stechmiller et al., 2005) 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 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงใน ตารางที่ 6 พบว่า สารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังทั้ง 3 ชนิด ไม่แตกต่างกัน ส่วนสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์น้อยที่สุด ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคผิวหนังได้ แต่ควรเลือกตัวทำละลายในการสกัดเป็นสารอินทรีย์ จากผลการทดลองในครั้งนี้ควรเลือกใช้ตัวทำละลายเอทานอลเนื่องจากมีราคาถูก สามารถกำจัดได้ง่าย และมีความปลอดภัยสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเอทิลอะซิเตท และเฮกเซน

ตารางที่ 6 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่สกัดด้วยน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์

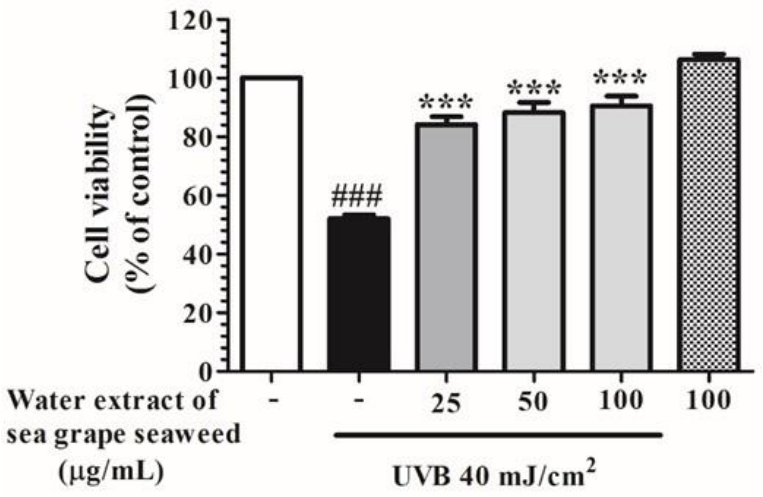
Type of Extraction (50 mg/mL)	Clear zone (cm)		
	S. aureus	*S. epidermidis*	*P. acnes*
Aqueous extract	0.67±0.058[c]	0.63±0.058[c]	0.63±0.057[c]
Ethanolic extract	0.80±0.000[b]	0.70±0.000[b]	0.68±0.115[b]
Ethyl acetate extract	0.90±0.000[b]	0.73±0.058[b]	0.66±0.115[b]
Hexane extract	0.87±0.115[b]	0.77±0.058[b]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

ข้อมูลแสดงในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n = 3)

ค่า a, b, c มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการอยู่รอดชีวิตของเซลล์เคอราติโนไซค์จากการฉายรังสียูวีบี

จากผลการทดลองพบว่าเซลล์ที่ได้รับการฉายรังสียูวีบี มีการอยู่รอดชีวิตของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 52.07 ± 1.28% เซลล์ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นเพียงอย่างเดียวไม่แสดงผลที่เป็นพิษต่อเซลล์ ในกลุ่มเซลล์ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้น 25 50 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีการอยู่รอดชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เท่ากับ 84.16 ± 2.72, 88.24 ± 3.42 และ 90.54 ± 3.29% ตามลำดับ

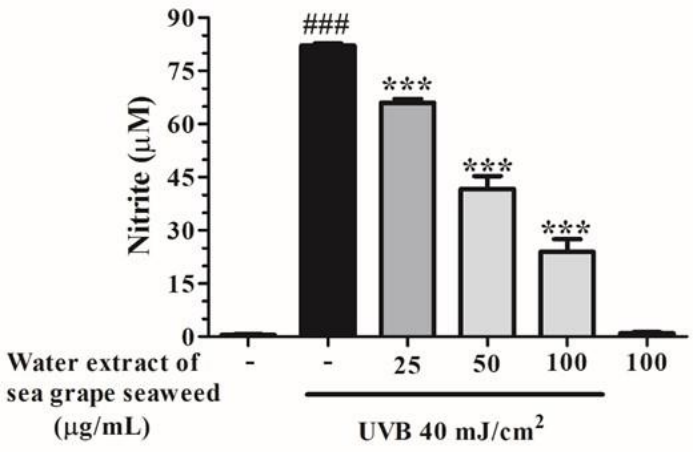


ภาพที่ 9 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการอยู่รอดชีวิตของเซลล์เคอราติโนไซค์จากการฉายรังสียูวีบี

เซลล์ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน 2 ชั่วโมง แล้วผสมกับ UVB irradiation ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิจูล/ตารางเซนติเมตร การอยู่รอดของเซล์ถูกวัดด้วย resazurin cell viability assay เปอร์เซ็นการอยู่รอดชีวิตของเซลล์แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ NO ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อเซลล์เคอราติโนไซค์จากการฉายรังสียูวีบี

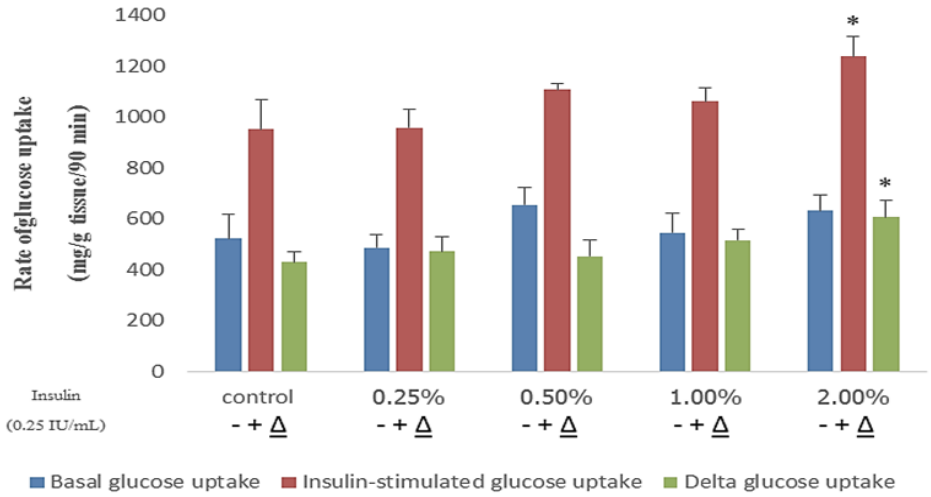
จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเซลล์ที่ได้รับการฉายรังสียูวีบี มีปริมาณ NO เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเท่ากับ 82.10±0.58 μM ในขณะที่กลุ่มเซลล์ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วยการฉายรังวียูวีบี พบว่ามีปริมาณ NO ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 65.95±1.04, 41.65±3.62 และ 23.86±3.60 μM ตามลำดับ ไม่พบ NO ในกลุ่มที่ให้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นเพียงอย่างเดียว



ภาพที่ 10 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในการผลิต NO เซลล์เคอราติโนไซค์ เซลล์ถูกบ่มด้วยสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมงก่อนได้รับรังสียูบี ผลแสดงออกค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ ### p <0.001 และ *p <0.05 และ ***p <0.001 เมื่อเทียบกับกลุ่ม UVB-irradiated

ผลของสารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นต่อการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมของหนูขาว

จากผลการทดลองการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมซึ่งเป็นกล้ามเนื้อลายของหนูขาว พบว่าในภาวะที่ไม่มีฮอร์โมนอินซูลิน ค่าของ Basal glucose uptake ในกลุ่มที่ให้สารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 0.25-2.0% มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p >0.05) ส่วนในภาวะที่มีฮอร์โมนอินซูลิน ขนาด 25 ยูนิต/มิลลิลิตร (IU/mL) พบว่าค่าของ Insulin-stimulated glucose uptake ในกลุ่มที่ให้สารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นความเข้มข้นร้อยละ 2 มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลของ Delta glucose uptake ที่บ่งบอกภาวะการกระตุ้นการทำงานของฮอร์โมนอินซูลิน จึงสรุปได้ว่าสารสกัดสาหร่ายมีผลเพิ่มการพากลูโกสเข้าสู่กล้ามเนื้อลายในภาวะที่มีฮฮร์โมนอินซูลิน



ภาพที่ 11 ผลการทดลองการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อกระบังลมซึ่งเป็นกล้ามเนื้อลายของหนูขาว

จากการที่สารสกัดน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ในการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อลาย ซึ่งจะส่งผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยในภาวะปกติเมื่อระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้นในภาวะหลังมื้ออาหาร ร่างกายจะมีกลไกที่สำคัญในการควบคุมระดับระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดให้อยู่ในระดับปกติหรือ normal physiological level โดยการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินจากตับอ่อนออกมาสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้น ฮอร์โมนอินซูลินนี้จะช่วยลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด โดยกระตุ้นการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อลายหรือที่เรียกว่า glucose uptake ซึ่งพบว่าร้อยละ 70 ของน้ำตาลกลูโคสในเลือดในภาวะหลังมื้ออาหารจะถูกนำเข้าสู่กล้ามเนื้อลาย ซึ่งผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่า สารสกัดเอทานอลของสาหร่ายพวงองุ่นสามารถช่วยเพิ่มการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน (insulin secretion) และช่วยเพิ่มการดูดซึมกลูโคสเข้าเซลได้ดีขึ้น (glucose uptake) จึงช่วยป้องกันภาวะเบาหวานได้ โดยฤทธิ์มาจากสารสำคัญกลุ่มฟีโนลิกที่พบมากในสาหร่ายชนิดนี้ (Matanjun et al., 2010; Nguyen et al., 2011) ผลจากการวิจัยในครั้งนี้ได้แสดงศักยภาพของสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นที่จะนำไปศึกษาต่อยอดเพื่อช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้ต่อไป

การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity) ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นและการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาว

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมโดยทั่วไปของหนูขาว

ผลการทดลองพบว่าไม่มีหนูขาวตัวใดมีพฤติกรรมที่ผิดปกติไปจากกลุ่มควบคุม หลังจากให้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในเวลา 5, 15, 30 นาที และ 1, 2 และ 24 ชั่วโมง เมื่อป้อนสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในขนาด 2 และ 5 g/kg BW ลักษณะการกินอาหารเม็ดมาตรฐานและน้ำ การขับถ่าย รวมทั้งน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นใน 7 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองของหนูขาวในแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และไม่มีหนูขาวเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบ (7 วัน)

ตารางที่ 7 แสดงลักษณะและพฤติกรรมของหนูขาวกลุ่มควบคุม

Response / Sex	Male		Female	
	Before	After (24 hrs)	Before	After (24 hrs)
Alertness (การตื่นตัว)	N	N	N	N
Grooming (การเลียขน)	A	A	A	A
Touch response (การตอบสนองต่อการสัมผัส)	P	P	P	P
Pain response (การตอบสนองต่อความเจ็บปวด)	A	A	A	A
Tremors (การสั่น)	A	A	A	A
Convulsion (การชักเกร็ง)	A	A	A	A
Righting reflex (ปฏิกิริยาการพลิกลำตัว)	A	A	A	A
Gripping strength (แรงบีบมือ)	P	P	P	P

Pinna reflex (การตอบสนองโดยการกระติกใบหู)	P	P	P	P
Corneal reflex (ปฏิกิริยาตอบสนองของแก้วตา)	P	P	P	P
Writhing response (อาการบิดตัวเนื่องจากการปวด)	A	A	A	A
Pupils (ปฏิกิริยาตอบสนองของรูม่านตา)	N	N	N	N
Urination (การถ่ายปัสสาวะ)	N	N	N	N
Salivation (อาการน้ำลายไหล)	N	N	N	N
Skin color (สีผิว)	N	N	N	N
Lacrimation (อาการน้ำตาไหล)	A	A	A	A
Hyper activity (ลักษณะอยู่ไม่นิ่ง)	A	A	A	A
Diarrhea (ท้องเสีย)	A	A	A	A
Lethargy (ซึม)	A	A	A	A

*N-Normal, *P-Present, *A-Absent

ตารางที่ 8 แสดงลักษณะและพฤติกรรมของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นขนาด 2 g/kg BW

Response / Sex	Male		Female	
	Before	After (24 hrs)	Before	After (24 hrs)
Alertness (การตื่นตัว)	N	N	N	N
Grooming (การเลียขน)	A	A	A	A
Touch response (การตอบสนองต่อการ	P	P	P	P

สัมผัส)				
Pain response (การตอบสนองต่อความเจ็บปวด)	A	A	A	A
Tremors (การสั่น)	A	A	A	A
Convulsion (การชักเกร็ง)	A	A	A	A
Righting reflex (ปฏิกิริยาการพลิกลำตัว)	A	A	A	A
Gripping strength (แรงบีบมือ)	P	P	P	P
Pinna reflex (การตอบสนองโดยการกระตุกใบหู)	P	P	P	P
Corneal reflex (ปฏิกิริยาตอบสนองของแก้วตา)	P	P	P	P
Writhing response (อาการบิดตัวเนื่องจากการปวด)	A	A	A	A
Pupils (ปฏิกิริยาตอบสนองของรูม่านตา)	N	N	N	N
Urination (การถ่ายปัสสาวะ)	N	N	N	N
Salivation (อาการน้ำลายไหล)	N	N	N	N
Skin color (สีผิว)	N	N	N	N
Lacrimation (อาการน้ำตาไหล)	A	A	A	A
Hyper activity (ลักษณะอยู่ไม่นิ่ง)	A	A	A	A
Diarrhea (ท้องเสีย)	A	A	A	A
Lethargy (ซึม)	A	A	A	A

*N-Normal, *P-Present, *A-Absent

ตารางที่ 9 แสดงลักษณะและพฤติกรรมของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นขนาด 5 g/kg BW

Response / Sex	Male		Female	
	Before	After (24 hrs)	Before	After (24 hrs)
Alertness (การตื่นตัว)	N	N	N	N
Grooming (การเลียขน)	A	A	A	A
Touch response (การตอบสนองต่อการสัมผัส)	P	P	P	P
Pain response (การตอบสนองต่อความเจ็บปวด)	A	A	A	A
Tremors (การสั่น)	A	A	A	A
Convulsion (การชักเกร็ง)	A	A	A	A
Righting reflex (ปฏิกิริยาการพลิกลำตัว)	A	A	A	A
Gripping strength (แรงบีบมือ)	P	P	P	P
Pinna reflex (การตอบสนองโดยการกระติกใบหู)	P	P	P	P
Corneal reflex (ปฏิกิริยาตอบสนองของแก้วตา)	P	P	P	P
Writhing response (อาการบิดตัวเนื่องจากการปวด)	A	A	A	A
Pupils (ปฏิกิริยาตอบสนองของรูม่านตา)	N	N	N	N
Urination (การถ่ายปัสสาวะ)	N	N	N	N

Salivation (อาการน้ำลายไหล)	N	N	N	N
Skin color (สีผิว)	N	N	N	N
Lacrimation (อาการน้ำตาไหล)	A	A	A	A
Hyper activity (ลักษณะอยู่ไม่นิ่ง)	A	A	A	A
Diarrhea (ท้องเสีย)	A	A	A	A
Lethargy (ซึม)	A	A	A	A

*N-Normal, *P-Present, *A-Absent

การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity)

สังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมต่าง ๆของหนูขาวเพศเมียเมื่อได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในขนาด 5 g/kg BW โดยการป้อนทางปาก (oral gavage feeding) สังเกตอาการต่อทุกวัน นาน 14 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และไม่มีหนูขาวเสียชีวิตในระหว่างการทดสอบทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น ลักษณะการกินอาหารเม็ดมาตรฐานและน้ำ ของหนูขาวในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) น้ำหนักตัวของหนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 10 แสดงน้ำหนักตัวและอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวของหนูขาว
ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นโดยการป้อนเป็นเวลา 14 วัน

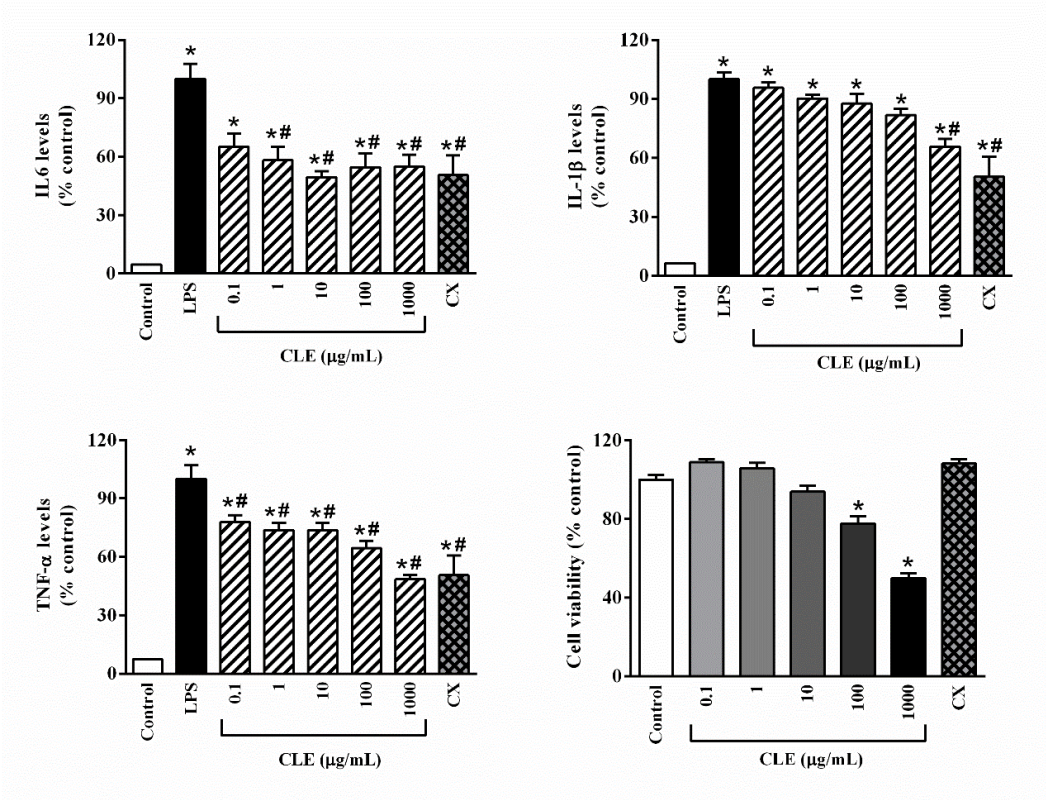
น้ำหนักตัว	กลุ่มควบคุม (g)	กลุ่มที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น (g)
วันที่ 0	223.75 ± 8.98	215.00 ± 7.74
วันที่ 14	288.75 ± 8.26	274.00 ± 12.39
Weight gain; %	29.25 ± 2.23	27.31 ± 1.81

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการหลั่ง Pro-Inflammatory Cytokine ในเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7)

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในเซลล์ RAW 264.7 ต่อการอักเสบโดยใช้วิธี ELISA แสดงระดับ IL-6, IL-1β, และ TNF-α เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในเซลล์ที่ได้รับ LPS 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในภาพที่ 12A ปริมาณสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 1-1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดระดับ IL-6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ได้รับ LPS ในภาพที่ 12B ปริมาณสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดระดับ IL-1β อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ได้รับ LPS ในภาพที่ 12C ปริมาณสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 0.1-1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถลดระดับ TNF-α อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเซลล์ที่ได้รับ LPS เช่นเดียวกับ celecoxib (CX) ที่เป็นยาลดการอักเสบ นอกจากนี้ในการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ที่ถูกทดสอบด้วย LPS ปริมาณสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 0.1-1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ celecoxib (CX) ภาพที่ 12D พบว่าปริมาณสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่มีความเข้มข้นสูง 100 และ 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ลดความมีชีวิตของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์ เพราะฉะนั้นเลือกความเข้มข้นสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เพราะสามารถลด inflammatory cytokines อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและไม่เป็นพิษต่อเซลล์

สำหรับการศึกษาในสัตว์ทดลอง มีรายงานการศึกษาในหนูถีบจักร พบว่าการกินโพลิแซ็กคาไรด์ ที่มาจากสาหร่ายพวงองุ่นที่ปริมาณ 100 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 27 วัน สามารถเพิ่มระดับกรดไขมันสายสั้น หรือ short-chain fatty acids (SCFAs) ในอุจาระของหนูได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และยังปรับสมดุลในหนูที่กดภูมิโดยยา cytoxan โดยการเพิ่มระดับของ interleukin (IL)-1β, tumor necrosis factor (TNF)-α and superoxidase dismutase (SOD) ในเลือด ต่อมไทมัส ม้าม และ เนื้อเยื่อในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังส่งเสริมให้ microbiota เช่น Lactobacillus และ Clostridium_XVIII มีการเจริญเติบโตดีขึ้น (Sun et al., 2019) การศึกษาในหนูขาวที่ได้รับอาหาร high-carbohydrate 16 สัปดาห์ ทำให้มีสภาวะอ้วน (obesity) หลังได้รับ อาหารเสริมที่มีส่วนผสมผงของสาหร่ายพวงองุ่น 5% เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สามารถลดน้ำหนัก ความดันซีสโตลิก คลอเลสเตอรอลและกรดไขมันในเลือด และลดการเกิดการอักเสบในเซลล์หัวใจและตับ (Du Preez et al., 2020) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ

Sun, Y. et al., (2018) ที่พบว่าผลโพลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) ที่ความเข้มข้มต่าง ๆ ไม่ส่งผลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์

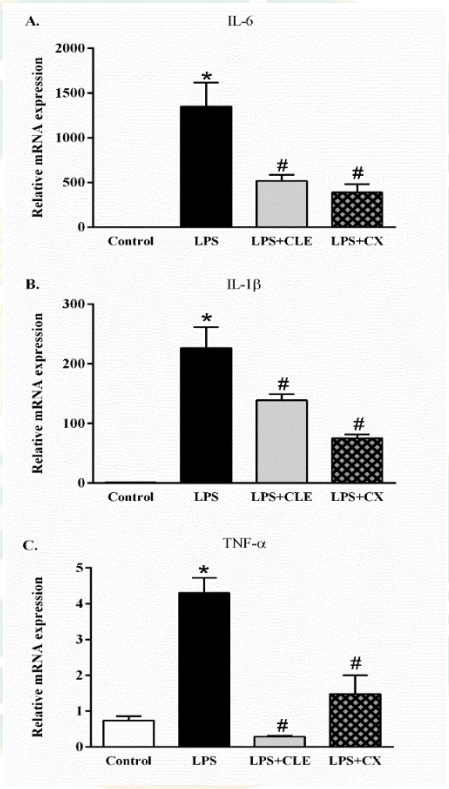


ภาพที่ 12 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการหลั่งสารไซโตไคน์ในเซลล์มาโครฟาจ RAW 264.7 ที่กระตุ้นให้เกิดภาวะอักเสบด้วยสาร LPS (A) interleukin-6 (IL-6) (B) interleukin 1 beta (IL-1β) (C) tumor necrosis factor alpha (TNF-α) (D) Cell viability ข้อมูลแสดงในรูปแบบค่าเฉลี่ย± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n = 5), *$p < 0.05$ เทียบกับกลุ่มควบคุม และ #$p < 0.05$ เทียบกับ LPS

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการแสดงออกของยีน Pro-Inflammatory Cytokine ในเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7)

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการแสดงออกของยีน inflammatory cytokine ในเซลล์ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS พบว่าเซลล์ RAW 264.7 ที่ถูกรักษาด้วยความเข้มข้นของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับ LPS สามารถลดการแสดงออก

ของยีน Pro-Inflammatory Cytokine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้ง (8A) IL-6, (8B) IL-1β, และ (8C) TNF-α เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม มีการวิจัยพบว่า ผลของ SCFAs ต่อการแสดงออกของยีนต่าง ๆ ที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนและ สารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory cytokines) บางชนิดช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกันและการป้องกันการเกิดการอักเสบ SCFAs ยังทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีน *GLP-1* (Glucagon-like peptide-1) ที่ทำหน้าเพิ่มการสังเคราะห์ insulin และลดระดับ glucagon ช่วยลดระดับ glucagon ในเลือด ตัวอย่างของ SCFAs หลัก เช่น propionate, acetate และ butyrate (Raposo, 2016)

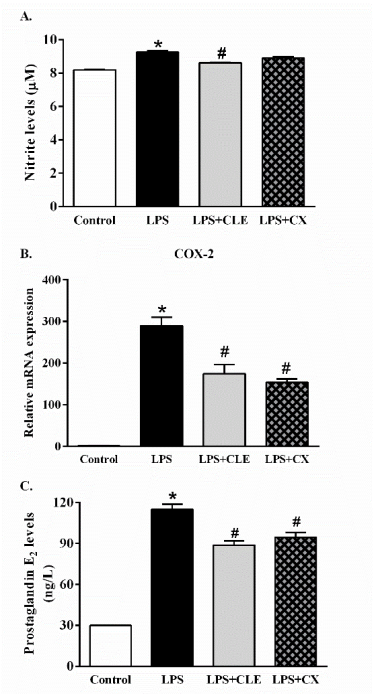


ภาพที่ 13 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการแสดงออกของยีน inflammatory cytokine ในเซลล์ RAW 264.7

ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS โดยจะใช้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผสมกับ LPS และไม่ผสมกับ LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (A) interleukin-6 (IL-6) (B) interleukin 1 beta (IL-1β) (C) tumor necrosis factor alpha (TNF-α) ถูกวัดโดย qPCR ข้อมูลแสดงในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n = 5), *$p < 0.05$ เทียบกับกลุ่มควบคุม และ #$p < 0.05$ เทียบกับ LPS

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อโมเลกุลตัวส่งสัญญาณการอักเสบ

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการผลิต nitric oxide (NO) การแสดงออกของยีน COX2 และการผลิต PGE2 ในเซลล์ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS พบว่า ภาพที่ 14A LPS ทำให้การผลิต nitric oxide (NO) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นสามารถลดระดับการผลิต nitric oxide (NO) เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ภาพที่ 14B,C พบว่า LPS ทำให้การแสดงออกของยีน COX2 และการผลิต PGE2 สูง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นสามารถลดการแสดงออกของยีน COX2 และการผลิต PGE2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม มีรายงานว่าปริมาณของ nitric oxide (NO) ที่เพิ่มขึ้นในเซลล์จะทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระในร่างกาย และกระตุ้นการสังเคราะห์ไซโตไคน์ต่างๆ ที่เป็นสาเหตุให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อและเซลล์ (Turnage et al., 2002) nitric oxide (NO) เป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญของในการตอบสนองต่อร่างกายเพื่อรักษาสภาวะสมดุล (Sun et al., 2001) แต่เป็นตัวกลางในการอักเสบและปฏิกิริยาออกซิเจน ความเข้มข้นสูงของ nitric oxide (NO) จะทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระในร่างกาย และส่งเสริมการสังเคราะห์ไซโตไคน์ต่าง ๆ ในการอักเสบเฉพาะที่ ทำให้เกิดการอักเสบทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อเนื้อเยื่อและเซลล์ (Turnage et al., 2002)

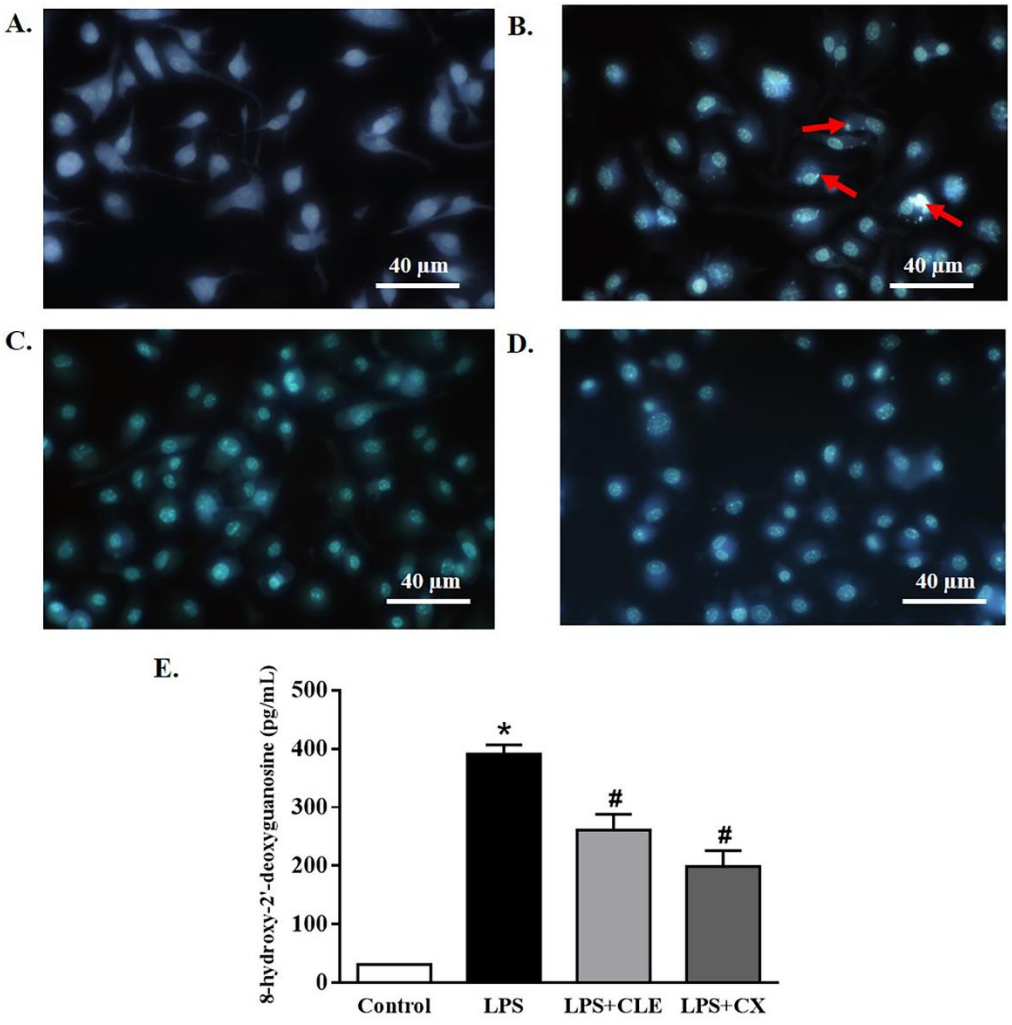


ภาพที่ 14 แสดงผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการผลิต nitric oxide (NO) การแสดงออกของยีน COX2 และการผลิต PGE2 ในเซลล์ RAW 264.7

ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS โดยใช้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นหรือยา celecoxib (CX) ผสมกับ LPS และไม่ผสมกับ LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดการสร้าง NO (A) การแสดงออกของ cyclooxygenase-2 (COX-2) (**B**) และ prostaglandin E2 (PGE2) (C) ข้อมูลแสดงในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n = 5), *$p < 0.05$ เทียบกับกลุ่มควบคุม และ #$p < 0.05$ เทียบกับ LPS

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อความเสียหายของ DNA

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อความเสียหายของ DNA ในเซลล์ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS พบว่า ภาพที่ 15B LPS ชักนำทำให้ DNA มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ทำให้เกิดการแตกตัวของนิวเคลียร์ การควบแน่นของโครมาติน และ apoptotic body formation เมื่อเทียบกับเซลล์กลุ่มควบคุม ภาพที่ 15C,D ไม่เห็นการแตกตัวของนิวเคลียร์ การควบแน่นของโครมาติน และ apoptotic body formation ในเซลล์ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นเช่นเดียวกับเซลล์ที่ได้รับ celecoxib (CX) ภาพที่ 15E สาร LPS จะไปเพิ่มระดับ 8-Hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG) ซึ่งเป็นสารบ่งชี้เมื่อเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น และเกิดการทำลาย DNA ทำให้เกิด hydroxylation ที่ตำแหน่งที่ 8 ของ Guanine base ซึ่ง LPS มีผลเพิ่มขึ้นของ 8-ODdG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนเซลล์ที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นสามารถลดระดับ 8-ODdG ได้ดีเช่นเดียวกับเซลล์ที่ได้รับ celecoxib (CX) เพราะฉะนั้นสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นมีความสามารถลดความเสียหายของ DNA ได้

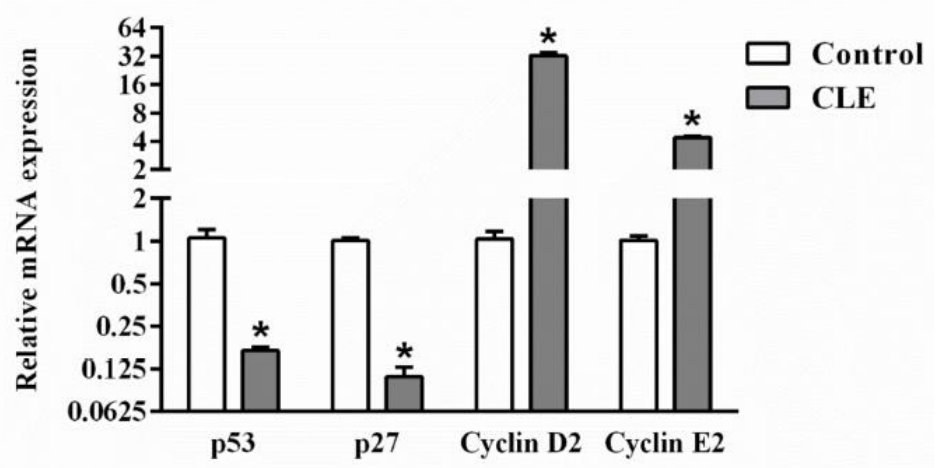


ภาพที่ 15 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อความเสียหายของ DNA ในเซลล์แมคโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS โดยใช้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นหรือยา celecoxib (CX) ผสมกับ LPS และไม่ผสมกับ LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วย้อมสีด้วย Hoechst 33342 ปริมาณ 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร 10 นาที ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย X40 การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสแสดงตามลูกศร (A-D) จำนวนของ 8-ODdG ใน DNA ถูกวัดโดย 8-OHdG-EIA kit (E) ข้อมูลแสดงในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n = 5), *$p < 0.05$ เทียบกับกลุ่มควบคุม และ #$p < 0.05$ เทียบกับ LPS

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน

โดยทั่วไปเซลล์จะมีการควบคุมการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์ด้วยกลุ่มเอนไซม์ cyclin-depentdent kinases (CDKs) ซึ่งหน้าที่ของเอนไซม์ CDKs นี้จะตอบสนองกับปริมาณของโปรตีนกลุ่ม cyclins เช่น cyclin-A, cyclin-B, cyclin-D และ cyclin-E ร่วมกับโปรตีนกลุ่ม CDK inhibitors เช่น p27, p21 และ p57 โปรตีนทั้งสองกลุ่มนี้ เป็นโปรตีนที่มีช่วงชีวิตสั้นและมีปริมาณที่จำเพาะเปลี่ยนแปลงตามระยะของวัฏจักรเซลล์ ในภาวะที่เซลล์เกิดภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชัน เซลล์จะรักษาสมดุล โดยเพิ่มการแสดงออกของยีนกลุ่ม antioxidant enzymes และ protective proteins หรือมีการกระตุ้นให้เซลล์หยุดการแบ่งตัวใน วัฏจักรเซลล์ชั่วคราว (cell-cycle arrest) หรือเกิดอะพอพโทซิส เพื่อให้มีการตายของเซลล์ โปรตีนหลักในการตอบสนองคือ โปรตีน p53 และ p27 จะเพิ่มมากขึ้น ทำให้เซลล์หยุดการแบ่งตัวในวัฏจักรเซลล์ชั่วคราวเพื่อซ่อมแซมดีเอ็นเอ (สุปราณี, 2556) โดยพบว่ายีนและโปรตีน p53 เป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด มีบทบาทสำคัญในโรคติดเชื้อและสามารถเหนี่ยวนำการตายของเซลล์ p27 ยังมีบทบาทต่อต้านการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในแบบจำลองโรคไตอักเสบ นอกจากนี้โมเลกุลในวัฏจักรเซลล์ (cyclin D2 และ E2) มีความเกี่ยวข้องกับสภาวะสมดุลและความสมบูรณ์ของระบบภูมิคุ้มกัน

ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในเซลล์ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS พบว่า สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นลดการแสดงออกของ p53 และ p27 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นเพิ่มการแสดงออกของ Cyclin D2 และ Cyclin E2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอีกด้วย (ภาพที่ 16) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ใช้สารสกัดจากพืช *Anemarrhena asphodeloides* พบว่ากระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันโดยไปยับยั้ง p27 และเพิ่มการแสดงออกของยีน cyclin D2 และ cyclin E2 ในเซลล์ RAW264.7 (Ji et al., 2019)



ภาพที่ 16 ผลของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในเซลล์ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS วัดการแสดงออกของยีนโดย real-time PCR หลังจากการใช้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 24 ชั่วโมง ข้อมูลแสดงในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n = 5), *p < 0.05 เทียบกับกลุ่มควบคุม

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

สาหร่ายพวงองุ่นที่ตกเกรดและเป็นเศษเหลือจากการตัดแต่งถูกนำมาเพิ่มมูลค่าเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่ พบว่าสาหร่ายพวงองุ่นมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบไปด้วยโปรตีน ไขมัน เยื่อใย และคาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุ วิตามินเอ และ β-carotene โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ เอทานอล เอททิลอะซิเตด และเฮกเซน เพื่อคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม และนำไปขยายผลในระดับอุตสาหกรรม พบว่าน้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ปริมาณผลผลิตและสารสำคัญที่มีฤทธิ์ชีวภาพในปริมาณสูง อีกทั้งมีค่าใช้จ่ายในการสกัดต่ำที่สุด มีความปลอดภัยกับผู้บริโภคและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย โดยพบว่าสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายพวงองุ่นให้สารสำคัญกลุ่มโพลิแซ็กคาไรด์ และสารกลุ่มฟีโนลิก ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังพบกรดอะมิโนหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนให้กับผิวหนังโดยพบกรดอะมิโนชนิด Phenylalanine, Leucine, Lysine, Tyrosine, Glutamic acid, Isoleucine และ Aspartic acid สูงอีกด้วย

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus, S. epidermidis* และ *P. acnes* พบว่าสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์น้อยกว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ อีกทั้งมีฤทธิ์ชีวภาพที่น่าสนใจของสารสกัดน้ำจากสาหร่ายพวงองุ่นคือ ช่วยเพิ่มการพากลูโคสเข้าสู่กล้ามเนื้อลายเพิ่มขึ้นในภาวะที่มีฮอร์โมนอินซูลินได้ นอกจากนี้การทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วยสารกระตุ้นการอักเสบ lipopolysaccharide (LPS) ที่เซลล์มาโครฟาจ พบว่าสามารถลดการสร้างสารไซโตไคร์ interleukin-6 (IL-6) กับ tumor necrosis factor alpha (TNF-α) และการแสดงออกของยีนของสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการบวนการอักเสบได้แก่ nitric oxide (NO), cyclooxygenase-2 (COX-2) และ prostaglandin E2 (PGE2) ได้เช่นเดียวกับ celecoxib (CX) ซึ่งเป็นยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สารสเตียรอยด์ และยังส่งผลการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS โดยสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นช่วยลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ได้แก่ cellular tumor antigen p53 (p53) และ cyclin-dependent kinase inhibitor p27 (p27) นอกจากนี้สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นยังเพิ่มการแสดงออกของ Cyclin D2 และ Cyclin E2 จึงสามารถสรุปว่าสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นมีคุณสมบัติในการป้องกันการทำลาย DNA ของเซลล์ เพิ่มความต้านทานของเซลล์ และช่วยลดการอักเสบในเซลล์

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และที่สำคัญสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นไม่เป็นพิษต่อเซลล์และมีความปลอดภัยในการบริโภค โดยไม่พบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในหนูขาวดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นมีคุณสมบัติเป็นสารประกอบเชิงหน้าที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการเพิ่มมูลค่าในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอางได้ดังแสดงในภาพที่ 17 อย่างไรก็ตามต้องมีการกำหนดคุณภาพของสารสกัดและออกใบรับรอง (Certificate of Analysis; COA) เพื่อควบคุมคุณภาพของสารสกัดให้ได้ตามมาตรฐานที่กำหนดดังแสดงในตารางที่ 7

ภาพที่ 17 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสาหร่ายพวงองุ่น

ตารางที่ 11 Certificate of Analysis : *Caulerpa lentillifera* extract

Product detail			
Product name	*Caulerpa lentillifera* extract	**Part used**	algae
Botanical name	*Caulerpa lentillifera*	**Solvent used**	Water
Production Lot. No.	S.T.D_230115	**Manufacture date**	23/01/15
Quantity	500g per bag	**Expiry date**	25/01/14
Item	**Specification**	**Result**	**Testing Method**
Assay	50-80% *Caulerpa lentillifera* polysaccharide extract	84.10% *Caulerpa lentillifera* polysaccharide extract	Paradossi et al. (1999)
Assay	5-8% *Caulerpa lentillifera* phenolic extract	5.18% *Caulerpa lentillifera* phenolic extract	Hammerschmidt and Pratt (1978)

Physical and chemical Control

Appearance	Green powder	Complies	Visual
Odor	Characteristic	Complies	Organoleptic
Sieve Analysis	90-100%pass 80 mesh	Complies	80mesh screen
Ash	< 2%	1.8	5g/450°C/3hrs
Moisture	< 8%	7%	5g/100°C/3hrs

Heavy Metal

As	< 2 ppm	Absent	AAS
Pb	< 1 ppm	Absent	AAS
Cd	< 0.3 ppm	Absent	
Hg	< 0.5 ppm	Absent	AAS
Pesticides	< 1 ppm	Absent	GC

residues			

Microbiological

Total aerobic microbial Count	$<10^4$ cfu/g	<10 cfu/g	Plate count
Total combined yeasts/molds count	$<10^3$ cfu/g	<10 cfu/g	Plate count
E. coli	Negative	Absent	Plate count
Salmonella spp.	Negative	Absent	Plate count
Conclusion	Complies with specification		
Shelf Life	24 months		
Package & Storage	Packed in aluminium foil vacuum bag, store in cool and dry		
Manufacturer	S.T.D Metics Co., Ltd		

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

บรรณานุกรม

Alderton, W. K., Cooper, C. E. & Knowles, R. G. 2001. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **Biochemical journal**, 357(3), 593-615.

Aliya, R. & Shameel, M. 1998. Phycochemical investigations on air-dried material of five species of Caulerpa (Bryopsidophyceae).

Association, A. D. 2021. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2021. **Diabetes care**, 44(Supplement_1), S15-S33.

Chattopadhyay, K. & Chattopadhyay, B. 2008. Effect of nicotine on lipid profile, peroxidation & antioxidant enzymes in female rats with restricted dietary protein. **Indian journal of medical research**, 127(6).

Coleman, R. 2001. Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies. **Cancer treatment reviews**, 27(3), 165-176.

Copray, J. C. V. M., Mantingh, I., Brouwer, N., Biber, K., Küst, B., Liem, R. S. B., Huitinga, I., Tilders, F. J. H., Dam, A.-M. & Boddeke, E. 2001. Expression of interleukin-1beta in rat dorsal root ganglia. **Journal of neuroimmunology**, 118(2), 203-211.

Du Preez, A., Law, T., Onorato, D., Lim, Y. M., Eiben, P., Musaelyan, K., Egeland, M., Hye, A., Zunszain, P. A. & Thuret, S. 2020. The type of stress matters: repeated injection and permanent social isolation stress in male mice have a differential effect on anxiety-and depressive-like behaviours, and associated biological alterations. **Translational psychiatry**, 10(1), 325.

Geissmann, F., Manz, M. G., Jung, S., Sieweke, M. H., Merad, M. & Ley, K. 2010. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. **Science**, 327(5966), 656-661.

Halliwell, B. 2009. The wanderings of a free radical. **Free Radical Biology and Medicine**, 46(5), 531-542.

HAMMERSCHMIDT, P. A. & PRATT, D. E. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **Journal of Food Science**, 43(2), 556-559.

Hitoshi, K., Katoh, M., Suzuki, T., Ando, Y. & Nadai, M. 2012. Changes in expression of drug-metabolizing enzymes by single-walled carbon nanotubes in human

respiratory tract cells. **Drug Metabolism and Disposition**, 40(3), 579-587.

Holdsworth, S. R. & Gan, P.-Y. 2015. Cytokines: names and numbers you should care about. **Clinical journal of the American Society of Nephrology**, 10(12), 2243-2254.

Indergaard M & Minsaas J. 1991. Animal and human nutrition. In: Guiry MD. **Blunden G(eds) Seaweed resources in Europe**, pp 21–64.

Johnson, M. & Bradford, C. 2014. Omega-3, Omega-6 and Omega-9 Fatty Acids: Implications for Cardiovascular and Other Diseases. **Journal of Glycomics & Lipidomics**, 4(4), DOI: 0.4172/2153-0637.1000123.

Kim, E. Y., Battaile, J. T., Patel, A. C., You, Y., Agapov, E., Grayson, M. H., Benoit, L. A., Byers, D. E., Alevy, Y. & Tucker, J. 2008. Persistent activation of an innate immune response translates respiratory viral infection into chronic lung disease. **Nature medicine**, 14(6), 633-640.

King, C. & Delurey, D. 2005. Twins, Siblings, or Cousins? **Public Utilities Fortnightly**.

Kumar, S., Singhal, V., Roshan, R., Sharma, A., Rembhotkar, G. W. & Ghosh, B. 2007. Piperine inhibits TNF-**α** induced adhesion of neutrophils to endothelial monolayer through suppression of NF-**K**B and I**K**B kinase activation. **European journal of pharmacology**, 575(1-3), 177-186.

Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N. & Aster, J. C. 2014. **Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book**. New York: Elsevier health sciences.

Laphanuwat, P. & Jirawatnotai, S. 2019. Immunomodulatory roles of cell cycle regulators. **Frontiers in cell and developmental biology**, 7(23.

Levine, A. J. 2020. p53: 800 million years of evolution and 40 years of discovery. **Nature Reviews Cancer**, 20(8), 471-480.

Lewmanomont, K. & Ogawa, H. 1995. Common seaweeds and seagrasses of Thailand.

MacMicking, J., Xie, Q.-w. & Nathan, C. 1997. Nitric oxide and macrophage function. **Annual review of immunology**, 15(1), 323-350.

Maeda, R., Ida, T., IHARA, H. & Sakamoto, T. 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.

Maier, S. F., Wiertelak, E. P., Martin, D. & Watkins, L. R. 1993. Interleukin-1 mediates the behavioral hyperalgesia produced by lithium chloride and endotoxin. **Brain Res**, 623(2), 321-324.

Matanjun, P., Mohamed, S., Muhammad, K. & Mustapha, N. M. 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.

Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N. M. & Muhammad, K. 2009. Nutrient content of tropical edible seaweeds, Eucheuma cottonii, Caulerpa lentillifera and Sargassum polycystum. **Journal of Applied Phycology**, 21(1), 75-80.

Murphy, R. T., Thaman, R., Blanes, J. G., Ward, D., Sevdalis, E., Papra, E., Kiotsekolglou, A., Tome, M. T., Pellerin, D. & McKenna, W. J. 2005. Natural history and familial characteristics of isolated left ventricular non-compaction. **European heart journal**, 26(2), 187-192.

Nguyen, V. T., Ueng, J. P. & Tsai, G. J. 2011. Proximate composition, total phenolic content, and antioxidant activity of seagrape (Caulerpa lentillifera). **Journal of Food Science**, 76(7), C950-C958.

Ophascharoensuk, V., Fero, M. L., Hughes, J., Roberts, J. M. & Shankland, S. J. 1998. The cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 safeguards against inflammatory injury. **Nature medicine**, 4(5), 575-580.

Padhi, S., Nayak, A. K. & Behera, A. 2020. Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 131(110708.

Paradossi, G., Cavalieri, F., Pizzoferrato, L. & Liquori, A. M. 1999. A physico-chemical study on the polysaccharide ulvan from hot water extraction of the macroalga Ulva. **International journal of biological macromolecules**, 25(4), 309-315.

Praznik, W., Loeppert, R., Viernstein, H., Haslberger, A. G. & Unger, F. M. (2015). Dietary fiber and prebiotics. In **Polysaccharides** (pp. 891-925): Springer.

Raposo, M. F. d. J. 2016. Biotechnology of microalgae: study of the influence of biochemical and culture parameters on the production of biomass and bioactive compounds.

Sánchez-Moreno, C., Jiménez-Escrig, A. & Saura-Calixto, F. 2000. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. **Nutrition research**, 20(7), 941-953.

Shapoval, G. & Gromovaia, V. 2003. Mechanism of antioxidant protection of an organism from oxidative stress. **Ukrains' kyi biokhimichnyi zhurnal (**1999), 75(2), 5.

Shi, X. & BeMiller, J. N. 2002. Effects of food gums on viscosities of starch suspensions during pasting. **Carbohydrate polymers**, 50(1), 7-18.

Shi, Y., Evans, J. E. & Rock, K. L. 2003. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. **Nature**, 425(6957), 516-521.

Sies, H., Stahl, W. & Sundquist, A. R. 1992. Antioxidant functions of vitamins: Vitamins E and C, Beta-Carotene, and other carotenoids a. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 669(1), 7-20.

Simpson, R. J., Hammacher, A., Smith, D. K., Matthews, J. M. & Ward, L. D. 1997. Interleukin-6: Structure-function relationships. **Protein science**, 6(5), 929-955.

Stechmiller, J. K., Childress, B. & Cowan, L. 2005. Arginine supplementation and wound healing. **Nutrition in Clinical Practice**, 20(1), 52-61.

Sun, L., Berndt, C. C., Gross, K. A. & Kucuk, A. 2001. Material fundamentals and clinical performance of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings: A review. **Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, 58(5), 570-592.

Sun, Y., Wang, S., Li, Y., Feng, S., Chen, X., Zhang, H., Tian, X., Zhu, D., Tian, H. & Wu, H. 2019. Ernie: Enhanced representation through knowledge integration. **arXiv preprint arXiv:**1904.09223.

Sun, Y., Zheng, L., Yang, Y., Tian, Q. & Wang, S. 2018. **Beyond part models: Person retrieval with refined part pooling (and a strong convolutional baseline)**.

Thabet, A. A., Tawahina, A. A., El Sarraj, E. & Vostanis, P. 2008. Exposure to war trauma and PTSD among parents and children in the Gaza strip. **European child & adolescent psychiatry**, 17(191-199.

Turnage, R. H., Nwariaku, F., Murphy, J., Schulman, C., Wright, K. & Yin, H. 2002. Mechanisms of pulmonary microvascular dysfunction during severe burn injury. **World journal of surgery**, 26(7), 848.

Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L. & Oomah, B. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of agricultural and food chemistry**, 46(10), 4113-4117.

Yan, H. Q., Banos, M. A., Herregodts, P., Hooghe, R. & Hooghe-Peters, E. L. 1992. Expression of interleukin (IL)-1 beta, IL-6 and their respective receptors in the normal rat brain and after injury. **Eur J Immunol**, 22(11), 2963-2971.

Zhang, J.-M. & An, J. 2007. Cytokines, inflammation and pain. **International anesthesiology clinics**, 45(2), 27.

Zhang, Y. 2008. I-TASSER server for protein 3D structure prediction. **BMC bioinformatics**, 9(1-8.

Zhu, X. X., Yang, L., Li, Y. J., Zhang, D., Chen, Y., Kostecká, P., Kmoníčková, E. & Zídek, Z. 2013. Effects of sesquiterpene, flavonoid and coumarin types of compounds from Artemisia annua L. on production of mediators of angiogenesis. **Pharmacological Reports**, 65(2), 410-420.

นัยนา บุญทวียุวัฒน์. 2553. ชีวเคมีทางโภชนาการ. กรุงเทพ: เจริญดีมั่นคงการพิมพ์.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2553. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: โอ.เอส. พริ้นติ้ง เฮาส์.

มนต์สรวง ยางทอง & นงพร โตวัฒนะ. 2557. ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ขจัดอนุมูล DPPH ของสาหร่ายทะเล 6 ชนิดจากชายฝั่งภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง, 8(1), 93-104.

อัจฉรา เพิ่ม. 2550. แบคทีเรียแลคติก. พิมพครั้งที่ 1. สงขลา: คณะวิทยาศาสตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุณยะรัตน์ & มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุณยรัตน์ & อัตต์สินทอง, ม. 2549. **Radical Scavenging Agents** สารต้านอนุมูลระ. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้น.

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นายสิทธิกรณ์ อยู่แจ่ม

เกิดเมื่อ 29 กรกฎาคม พ.ศ.2531

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2554 ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (การประมง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2558 ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการประมง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้

กำลังศึกษา ปริญญาเอก วิทยาศสาตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีการประมง) มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ประวัติการทำงาน พ.ศ. 2554 ฝึกงานการเพาะเลี้ยงกุ้ง บริษัท CP ประเทศจีน

พ.ศ. 2559 กรรมการผู้จัดการ บริษัท เอส.ที.ดี เมติกส์ จำกัด