การคัดกรองไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส

ชัยศาสตร์ คเชนทร์สุวรรณ[1,*] สมบัติ คงวิทยา[2] สมเกียรติ พรพิสุทธิมาศ[1,4] และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ[3,4]

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ 10110
[2]กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรุงเทพฯ 10400
[3]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ 10110
[4]หน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ 10110
*E-mail: mesodrem_kik@hotmail.com

รับบทความ: 10 พฤศจิกายน 2554 ยอมรับตีพิมพ์: 25 กุมภาพันธ์ 2555

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียในภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ NaCl และตรวจหาแอคทิวิทีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสจากไซยาโนแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Anabeana ambigua Nostoc commune Spilurina* sp. *Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina* และ *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 ในอาหาร BG_{11} โดยสกัดตัวอย่างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 และติดตามแอคทิวิทีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสด้วย 4-amino antipyrine, gallic acid และ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 10 นาที พบว่า ไซยาโนแบคทีเรีย *Anabeana ambigua Nostoc commune Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina* และ *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 เจริญได้ดีในภาวะที่ไม่มีเกลือ NaCl ส่วน *Spilurina* sp. เจริญได้ดีในภาวะที่มีเกลือ NaCl เข้มข้น 0.25 โมลาร์ และภาวะทนเค็มของ *Anabeana ambigua* น้อยกว่า 0.25 โมลาร์ ในขณะที่ *Nostoc commune Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 และ *Spilurina* sp. น้อยกว่า 0.5 โมลาร์ จากการศึกษาแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดส พบว่า *Anabeana ambigua Nostoc commune Spilurina* sp. *Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina* และ *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 มีแอคทิวิทีจำเพาะเท่ากับ 32.34 29.75 12.86 10.67 9.60 และ 3.82 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ เพอร์ออกซิเดสทำงานได้ในช่วงพีเอช 4 – 11 และทำงานได้ดีในภาวะที่เป็นเบส ค่าพีเอชเท่ากับ 9.0

คำสำคัญ: การคัดกรอง เพอร์ออกซิเดส ไซยาโนแบคทีเรีย ภาวะความเค็ม

A Screening of Cyanobacteria Producing the Peroxidase

Chaiyasad Kachensuwan[1,*], Sombat Kongwithtaya[2], Somkiat Phornphisutthimas[1,4] and Surasak Laloknam[3,4]

[1]Department of Biology, Faculty of science, Srinakharinwirot University, Bangkok 10110, Thailand
[2]Department of Science Service, Ministry of Science and Technology, Bangkok 10400, Thailand
[3]Department of General Science Srinakharinwirot University, Bangkok 10110, Thailand
[4]Research Unit on Science Technology and Environment for Learning, Faculty of science, Srinakharinwirot University, Bangkok 10110, Thailand
*E-mail: mesodrem_kik@hotmail.com

Abstract

This research aimed to study the growth of six cyanobacteria, *Anabeana ambigua*, *Nostoc commune*, *Spilurina* sp., *Oscillatoria* sp., *Oscillatoria salina* and *Oscillatoria* sp. TISTR 8491, on salt stress by increasing of NaCl in BG_{11} medium, and detect their peroxidase activities. The samples were extracted by phosphate buffer, pH 8.0. The peroxidase activities from extracts were measured using a mixture of 4-aminoantipyrine, gallic acid and hydrogen peroxide, incubated at 30°C for 10 minutes. The result showed that the optimal growth rate of *Anabeana ambigua*, *Nostoc commune, Oscillatoria* sp., *Oscillatoria salina* and *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 under no salanity while *Spilurina* sp. was 0.25 M NaCl. The salt stress condition on growth of *Anabeana ambigua* was under 0.25 M NaCl, *Nostoc commune, Oscillatoria* sp., *Oscillatoria salina*, *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 and *Spilurina* sp. was under 0.5 M NaCl. The specific activities of crude extracts from *Anabeana ambigua*, *Nostoc commune*, *Spilurina* sp., *Oscillatoria* sp., *Oscillatoria salina* and *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 were 32.34, 29.75, 12.86, 10.67, 9.60 and 3.82 Units/mg protein, respectively. The peroxidase activities were stable at the pH range of 4 – 11, with optimal activities at alkaline condition at pH 9.0.

Keywords: Screening, Peroxidase, Cyanobacteria, Salinity

บทนำ:

เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase: E.C. 1.11.1.7) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron accepter) (Singh et al., 2010) และออกซิไดซ์ซับสเตรตที่ให้อิเล็กตรอน เช่น ฟีนอล (phenol) อะโรมาติกเอมีน (aromatic amines) และกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) (Vernwal et al., 2006) จึงมีการนำเพอร์ออกซิเดสไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายทั้งในทางการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหาร เกษตรกรรม และในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีสารประกอบฟีนอลซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (นิตยา จันชิว และคณะ, 2551; สุวิตา เจริญศรี และวรางคณา จุ้งลก, 2551; ลือชัย อารยะรังสฤษฎ์ และสุภาพร จันทร์บัวทอง, 2554) เพอร์ออกซิเดสที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้มาจากรากฮอร์สเรดิช (horse-radish root) (Dunford, 1999) ซึ่งมีราคาสูงจึงได้มีการหาเพอร์ออกซิเดสจากแหล่งอื่น ๆ เช่น สัตว์ พืช และแบคทีเรีย (Kongwithtaya et al., 2010) เพื่อช่วยในการลดต้นทุนในการนำเข้าจากต่างประเทศ

ไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) เป็นสิ่งมีชีวิตพวกโพรแคริโอตที่สามารถสร้างอาหารด้วยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (phototrophic prokaryotes) (Incharoensakdi and Laloknam, 2005) ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนได้ (nitrogen-fixing cyanobacteria) เช่น *Nostoc* sp. และ *Anabaena* sp. (ยุวดี พีรพรพิศาล และคณะ, 2551)

ในภาวะความเครียดอออกซิเดชัน (oxidative stress) จากสารอนุมูลอิสระ (free radical) ที่มีออกซิเจนในโมเลกุล (reactive oxygen species: ROS) เช่น อนุมูลซูปเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical) และอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) (Regelsberger et al., 2002) ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหาย เช่น การกลายของดีเอนเอ (DNA mutation) การทำลายสภาพโปรตีน (protein carbonylation) (Kongwithtaya et al., 2008) สิ่งมีชีวิตมีกลไกรักษาสมดุลโดยการกำจัดสารกลุ่ม ROS โดยเซลล์มีการตอบสนองด้วยกลไกในการสังเคราะห์เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidative enzyme) เช่น แคแทเลส (catalase) เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) เพื่อช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ (Becana and Lotassa, 2007) โดยมีรายงานการตรวจพบแอคทิวิทีของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสในไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. *Nostoc* sp. *Tolypothrix* sp. *Synechocystis* PCC 6803 และ *Synechococus* PCC 7942 ซึ่งสอดคล้องกับ *Oscillatoria willei* BDU 130511 ซึ่งสร้างเอนไซม์ซูปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxidedismutase: SOD) และเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase: POX) ในภาวะที่ขาดแคลนไนโตรเจน (Saha et al., 2003)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองและตรวจหาแหล่งผลิตเพอร์ออกซิเดสจากไซยาโนแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Anabena ambigua Nostoc commune Spirulina* sp. *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 และ *Oscillatoria* sp. เพื่อใช้เป็นแหล่งข้อมูลเพอร์ออกซิเดสเพื่อลดการนำเข้าเพอร์-ออกซิเดสจากต่างประเทศ

วิธีดำเนินการวิจัย

ไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัย: มีจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Anabena ambigua Nostoc commune Spirulina* sp. *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 และ *Oscillatoria* sp. ซึ่งได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย: เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ในอาหารเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียสูตร BG_{11} ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีเกลือ NaCl ความเข้มข้น 0 – 1 M ภายใต้ภาวะที่มีแสงขาว ($30\mu Em^{2}s^{-1}$) ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส วัดการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเป็นเวลา 30 วันโดยการชั่งน้ำหนักแห้ง

ภาวะปกติ คือ ภาวะที่ทำให้การเจริญของไซยาโน-แบคทีเรียดีที่สุด และภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ NaCl คือภาวะที่ทำให้การเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเป็นครึ่งหนึ่งของภาวะปกติ

การสกัดหยาบเอนไซม์: ล้างเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย 1 กรัม ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 50 mM (pH 7.0) ที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 3 ครั้ง ทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonicator) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 mM phosphate buffer (pH 7.0) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 ×*g* เป็นเวลา 15 นาที และนำส่วนใสไปวัดแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดส เก็บส่วนใสไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การตรวจหาแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดสและปริมาณโปรตีน: ตรวจหาแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดสด้วยวิธีการ colorimetric method (Kongwithtaya et al., 2010) ประกอบด้วย 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0) 2 mM 4-amino antipyrine (4-AAP) 2 mM gallic acid และ 4 mM hydrogen peroxide บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 นาที ปฏิกิริยาเริ่มต้นด้วยการเติมสารสกัดหยาบเอนไซม์ 0.05 มิลลิลิตร วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV/VIS spectrophotometer model Jenway 6405 (Jenway, UK) คำนวนยูนิตของเอนไซม์ โดย 1 ยูนิต ของเพอร์ออกซิเดส คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เข้มข้น 1 ไมโครโมล ใน 1 นาทีภายใต้ภาวะทดลอง

หาปริมาณโปรตีนโดยใช้สารละลาย Comassie brilliant blue G-25 (Fluka, Switzerland) ด้วยวิธีของ Bradford โดยใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน (Bradford, 1976)

การหาพีเอชที่เหมาะสมของเพอร์ออกซิเดส: ศึกษาผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดสจากไซยาโน-แบคทีเรีย โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 50 mM ที่มีค่าพีเอชในช่วง 4 – 11 ดังนี้ สารละลาย acetate buffer (pH 4 – 5) phosphate buffer (pH 6 – 7) และ Tris-HCl (pH 8 – 11) จากนั้นนำไปวัดแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดส

ผลการวิจัย

การเจริญของไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Anabena ambigua Nostoc commune Oscillatoria* sp, *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 และ *Spirulina* sp. ในอาหารเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียสูตร BG_{11} ในภาวะที่มีเกลือ NaCl เข้มข้น 0 – 1 M พบว่า ไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดเจริญได้ถึงระยะกลางแบบทวีคูณ (mid-log phase) อยู่ระหว่าง 12 – 18 วัน โดย *Anabena ambigua Nostoc commune Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina* และ*Oscillatoria* sp. TISTR 8491 เจริญได้ดีที่สุดในอาหารเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียที่ไม่มีเกลือ ในขณะที่ *Spirulina* sp. เจริญได้ดีในอาหารสูตรที่มีเกลือ NaCl เข้มข้น 0.25 M การเจริญภายใต้ภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ NaCl ของไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดลดลงเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มข้นของเกลือ NaCl ตั้งแต่ 0.5 M ขึ้นไป *Nostoc commune Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 และ *Spirulina* sp. ไม่สามารถเจริญได้ ในขณะที่ความเข้มข้นของเกลือ NaCl ตั้งแต่ 0.25 โมลาร์ขึ้นไป *Anabena ambigua* ไม่สามารถเจริญได้ ดังตาราง 1

ตาราง 1 การเจริญของไซยาโนแบคทีเรียในภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ NaCl

ชนิดของไซยาโนแบคทีเรีย	ระดับความเข้มข้นของเกลือ NaCl* (M)		
	ภาวะที่เหมาะสม	ภาวะที่มีความเครียด	ความสามารถในการทนเค็ม
Anabena ambigua	0	0.25	< 0.25
Nostoc commune	0	0.50	< 0.50
Oscillatoria salina	0	0.50	< 0.50
Oscillatoria sp. TISTR 8491	0	0.50	< 0.50
Oscillatoria sp.	0	0.50	< 0.50
Spirulina sp.	0.25	0.50	< 0.50

*ระดับความเข้มข้นของเกลือ NaCl ที่ใช้ในการศึกษา 0 – 1 M

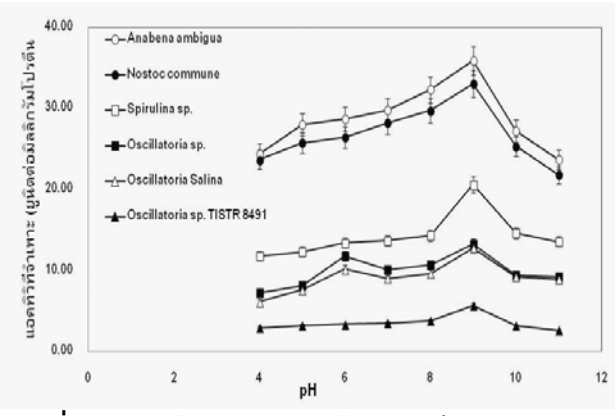
จากการสกัดเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสจากไซยาโนแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Anabena ambigua Nostoc commune Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 และ *Spirulina* sp. โดยใช้เซลล์ที่มีอายุ 12 – 18 วัน ด้วยสารละลาย Tris-HCl buffer เข้มข้น 50 mM (pH 8.0) และวัดแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดส พบว่า *Anabena ambigua* มีแอคทิวิทีจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 32.34 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน รองลงมาได้แก่ *Nostoc commune* (29.75 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) *Spirulina* sp. (12.86 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) *Oscillatoria* sp. (10.67 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) *Oscillatoria salina* (9.60 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) และ *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 (3.82 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) ดังตาราง 2

ตาราง 2 แอคทิวิทีเพอร์ออกซิเดสจากไซยาโนแบคทีเรีย

ชนิดของไซยาโนแบคทีเรีย	แอคทิวิทีจำเพาะ (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
Anabena ambigua	32.34
Nostoc commune	29.75
Spirulina sp.	12.86
Oscillatoria sp.	10.67
Oscillatoria salina	9.60
Oscillatoria sp. TISTR 8491	3.82

จากการหาพีเอชที่เหมาะสมต่อแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดสโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชต่าง ๆ พบว่าไซยาโนแบคทีเรียให้แอคทิวิทีในช่วงพีเอช 4 – 11 โดยไซยาโนแบคทีเรียทุกชนิดให้แอคทิวิทีสูงสุดที่ภาวะเบส (pH 9.0) โดย *Anabena ambigua* ให้แอคทิวิทีจำเพาะสูงที่สุดเท่ากับ 35.89 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน รองลงมาเป็น *Nostoc commune* ให้แอคทิวิทีจำเพาะเท่ากับ 33.02 ยูนิต ต่อมิลลิกรัมโปรตีน

Spirulina sp. ให้แอคทิวิทีจำเพาะเท่ากับ 20.60 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน *Oscillatoria* sp. ให้แอคทิวิทีจำเพาะเท่ากับ 13.28 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน *Oscillatoria salina* ให้แอคทิวิทีจำเพาะเท่ากับ 12.78 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน และ *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 ให้แอคทิวิทีจำเพาะเท่ากับ 5.67 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลของพีเอชต่อแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดส

จากภาพที่ 1 พบว่า ไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. และ *Oscillatoria salina* อาจพบไอโซไซม์ (isozyme) ของเพอร์ออกซิเดส จึงทำให้พบแอคทิวิทีที่พีเอช 6 และ 9 โดย *Oscillatoria* sp. มีแอคทิวิทีจำเพาะที่พีเอช 6 และ 9 เท่ากับ 11.78 และ 13.28 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ และ *Oscillatoria salina* มีแอคทิวิทีจำเพาะเท่ากับ 10.16 และ 12.78 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษาครั้งนี้ พบว่า ไซยาโนแบคทีเรีย *Anabena ambigua Nostoc commune Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 และ *Spirulina* sp. มีการเจริญถึงระยะกลางแบบทวีคูณในช่วง 12 – 18 วัน โดยพบว่า *Anabena ambigua Nostoc commune Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 เจริญได้ดีในอาหารที่ไม่มีเกลือ *Spirulina* sp. เจริญได้ที่ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ NaCl 0.25 โมลาร์ และภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ NaCl พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้นการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียจะลดลง โดย *Anabena ambigua* ไม่สามารถเจริญได้ในภาวะที่มีความเข้มตั้งแต่ 0.25 โมลาร์ ของเกลือ NaCl ส่วน *Nostoc commune Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina Oscillatoria* sp. TISTR 8491 และ *Spirulina* sp. ไม่สามารถเจริญได้ในภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือ NaCl ตั้งแต่ 0.5 M ขึ้นไป ซึ่งสอดคล้องกับโพธิธรณ์ ครรชิตานุรักษ์ และคณะ (2555) พบว่า *Oscillatoria* sp.และ *Nostoc* sp. เจริญได้ในภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือ NaCl เท่ากับ 0 – 0.5 โมลาร์ และ *Anabaena* sp. สามารถเจริญได้ในภาวะที่มีเกลือ NaCl เข้มข้น 0 – 0.25 โมลาร์ เช่นเดียวกับ บงกช บุญบุรพงษ์ และคณะ (2554) ที่รายงานว่า *Synechococus* PCC 7942 เป็นไซยาโนแบคทีเรียน้ำจืดสามารถทนเค็มได้น้อยกว่าความเข้มข้นของเกลือ NaCl 0.5 โมลาร์ ในขณะที่ *Synechocytis* sp. PCC6803 และ *Aphanothece halophytica* ทนเค็มได้สูงถึง 1.5 โมลาร์และ 3.0 โมลาร์ ตามลำดับ

จากการศึกษาแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดสจากไซยาโนแบคทีเรีย 6 ชนิด พบว่า *Anabena ambigua* ให้แอคทิวิทีจำเพาะสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ *Nostoc commune Spirulina* sp. *Oscillatoria* sp. *Oscillatoria salina* และ *Oscillatoria* sp. TISTR 8491 ตามลำดับ เมื่อศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อแอคทิวิทีของเพอร์ออกซิเดส พบว่า เพอร์ออกซิเดสจากไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดทำงานได้ในช่วงพีเอช 4.0 – 11.0 ซึ่งทำงานได้ดีในภาวะที่เป็นเบส โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 9.0 โดยพบว่า ใน *Oscillatoria* sp. และ *Oscillatoria salina* น่าสร้างเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสมากกว่า 1 ชนิดที่เป็นกลุ่มของไอโซไซม์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Mujer et al. (1983) ที่พบไอโซไซม์ของเพอร์ออกซิเดสในมะพร้าว ภาวะพีเอชที่เหมาะสมต่อแอคทิวิทีขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ ดังนั้นไซยาโนแบคทีเรียจึงเป็นแหล่งเพอร์ออกซิเดสที่น่าสนใจแหล่งหนึ่งซึ่งสามารถนำมาใช้แทนเพอร์ออกซิเดสนำเข้าจากต่างประเทศได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ และภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

นิตยา จันชิว จตุรพร พรศิลปะทิพย์ และปรียานาถ วงศ์จันทร์. (2551, กันยายน). การผลิตโมโนโคนอลแอนติบอดีจำเพาะต่อเฮพาแรนซัลเฟตโปรติโอกลัยแคนที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ออร์สราดิชเปอร์ออกซิเดสสำหรับงานตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา. **วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่** 41(3): 167-174.

บงกช บุญบูรพงษ์ อาภรณ์ บัวหลวง อรัญ อินเจริญศักดิ์ ยุวธิดา นิลผาย ปนัดดา พ่วงขวัญ อภิญญาณ บุญประกอบกุล และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. (2554). ผลของไกลซีน โพรลีน และกลูตาเมต ต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย *Synechococcus* PCC 7942, *Synechocytis* PCC6803 และ *Aphanothece halophytica* ภายใต้ภาวะปกติและภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ. **วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้** 2(1): 48-58.

โพธิธรณ์ ครรชิตานุรักษ์ อภิรดา สถาปัตยานนท์ กนกกานต์ นาคทอง ชัยศาสตร์ คเชนทร์สุวรรณ และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. (2555, มีนาคม). ผลของความเค็มต่อการเจริญและปริมาณโพรลีนของไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* sp. *Nostoc* sp. และ *Ananaena* sp. ภายใต้ภาวะปกติและภาวะที่มีความเครียดจากเกลือ. **การประชุมวิทยาศาสตร์วิจัยครั้งที่ 4**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก.

ยุวดี พีรพรพิศาล จีรพร เพกเกาะ ชยากร ภูมาศ ชาติชาย โขนงนุช ปานมุก วัชระปิยะโสภณ พิมพร ลีลาพรพิสิฐ วลัยลักษณ์ บุญชุม และสุดาพร ตงศิริ. (2551). **กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระทนร้อนของรงควัตถุกลุ่มไฟโคบิลิโปรตีนจากไซยาโนแบคทีเรียในน้ำพุร้อนเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทนร้อนด้านอื่น**. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลือชัย อารยะรังสฤษฎ์ และสุภาพร จันทร์บัวทอง. (2553). **รายงานวิจัย เรื่อง กิจกรรมของเอ็นไซม์ peroxidase กับปฏิกิริยาต่อโรคไหม้ของข้าวบางพันธุ์**. ปทุมธานี: ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี.

สุวิตา เจริญศรี และวรางคณา จุ้งลก. (2551). การลดลงของระดับ glutathione peroxidase activites ในประชากรอำเภอร่อนพิบูลย์. **รายงานการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33**. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช.

Becana, M., and Lotassa, C. (2007). Oxidative stress as a response to salinity and aluminum. **Lotus Newsl**. 37(3): 98.

Bradford, M. (1976). A rapid method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem**. 72: 248-254.

Dunford, H. B. (1999). Heme peroxidase nomenclature. **Plant Peroxidase Newsl.** 13: 65 – 71.

Incharoensakdi, A. and Laloknam, S. (2005). Nitrate uptake in the halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* is energy-dependent driven by pH. **J. Biochem. Mol. Biol.** 38(4): 468–473.

Kavitha K., Venkateraman, G., and Parida A. (2008). An oxidative and salinity stress induced peroxisomal ascorbate peroxidase from Avicennia marine: Molecular and functional characterization. **Plant Physiol. Biochem**. 46: 794-804.

Kongwithtaya, S., Laloknam, S., and Chairote, G. (2010). Characterization of ammonium precipitant peroxidase from ivy gourd. **Proceedings of Pure and Applied chemistry international Conference 2010**. Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani, Thailand.

Mujer, C. U., Mendoza, E. M., and Ramierez, D. A. (1983). Coconut peroxidase isoenzymes: isolation, partial purification and physicochemical properties. **Phytochem.** 22: 61-65.

Regelsberger, G., Jakopitsch, C., Plasser, L., Schwaiger, H., Furtmuller, P. Peschek, G., Zamocky, M., and Obinger, C. (2002). Occurrence and biochemistry of hydoperoxidases in oxygenic photo-

trophic prokaryotes (Cyanobacteria). **Plant Physiol. Biochem.** 40: 479- 490.

Saha, S., Uma, L., and Subramanian, G. (2003). Nitrogen stress induced changes in the marine cyanobacterium *Oscillatoria wille*i BDU 130511. **FEMS Microbiol. Ecol.** 45: 263-272.

Singh, J., Dubey, A., Diwakar, S., Rawat, S., Batra, N., and Joshi A. (2010). Biochemical Characterization of peroxidase from the fruits of *Mullus pumilus*. **Int. Res. J. Biotechnol.** 1(4): 50-58.

Vernwal, S., Yadav, R., and Yadav, K. (2006). Purification of a peroxidase from *Solanum melongena* fruit juice. **Indian J. Biochem. Biophys.** 43: 239-243.