

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานวิจัย

ฉบับสมบูรณ์

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ

Fatty Acids from some Sponges and Symbiosis Marine Bacteria.

ภายใต้แผนงานวิจัยเรื่อง

การค้นหและพัฒนาสารตัวยาจากน่านน้ำไทย

ณิชา สิรินนท์ธนา

จารุพันธ์ ประทุมยศ

๕๐165105

- 7 พ.ค. 2557

เริ่มบริการ

- 8 ก.ค. 2557

335549

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ผ่านงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2553-2555

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำทะเลบริเวณเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานีโดยเก็บ

ณิชา สิรินนทรี และจารุพันธ์ ประทุมยศ

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

จากการหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำทะเลบริเวณเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานีโดยเก็บตัวอย่างเดือนมีนาคม 2555 ทำการแยกกลุ่มของไขมันในตัวอย่างฟองน้ำด้วยเทคนิค Solid phase extraction (SPE) จากนั้นหาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วย GC/FID ผลการศึกษาพบปริมาณไขมันรวมอยู่ในช่วงร้อยละ 0.14 - 0.23 น้ำหนักสด ปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่างฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* order Hadromerida โดยไขมันที่พบมากที่สุดเป็นชนิด neutral lipid (31.97-39.29 % of crude lipids). และองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda* เป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs=20.98% ; C20:4n6, C20:5n3 และ C18:3n3) โดยพบกรดไขมัน Arachidonic acid (C20:4n6) ปริมาณสูงสุด 10.14 ± 0.04 %TFA ส่วนตัวอย่าง *Biemna fortis* มีคุณลักษณะเด่นเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs = 21.32%; C16:0, C14:0 และ C18:0) ส่วนกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 (EPA, DHA) จากตัวอย่างฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* และตัวอย่าง *Biemna fortis* พบในปริมาณร้อยละ 3.02 -3.04, 1.46-2.02 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda* พบคุณลักษณะกรดไขมันแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม โดยเชื้อ TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs; C17:1, C18:1n9) เชื้อ TAO-A-1-3g มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs; C18:3n3) ส่วน TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs; C16:0, C18:0) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อที่ควรนำไปพัฒนาต่อได้แก่ เชื้อ TAO-A-1-3g กับเชื้อ TAO-A-1-5 ที่ตรวจพบกรดไขมัน α -Linolenic acid (ALA; C18:3:n3) ในปริมาณที่สูง (16.26 ± 0.04 ; 8.20 ± 0.38 %TFA) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญเนื่องจากเป็น parent compound ของ omega-3

Fatty Acids from some Sponges and Symbiosis Marine Bacteria.

Nisa Siranonthana and Jarunan Pratoomyot

Institute of Marine Science, Burapha University, Bangsaen, Chonburi, 20131

Abstract

In this study, fatty acid compositions were investigated in marine sponges collected from Koh Tao Suratthani province in March 2012. The total lipids were extracted and lipid classes were classified by solid phase extraction technique (SPE). The results showed that all sponges contained total lipids 0.14 - 0.23 % (wet wt.) and the highest value was found in the *Spheciospongia vagabunda* order Hadromerida. The lipid classes of those samples showed that the major component of the total lipids was neutral lipid (31.97-39.29 % of total lipids). Fatty acid compositions of the sponges were analyzed by GC/FID. The results found that the *Spheciospongia vagabunda* was prominent in polyunsaturated fatty acids (PUFAs=20.98%) e.g. Arachidonic acid (C20:4n6), Eicosapentaenoic acid (C20:5n3) and α -Linolenic acid (C18:3n3), which Arachidonic acid (C20:4n6) was found in the highest amount (10.14 $\pm$ 0.04 %TFA). In the *Biemna fortis* saturated fatty acid (SFAs = 21.32%) was the main component of which the dominant fatty acids were C16:0, C14:0 and C18:0. The Omega-3 Eicosapentaenoic acid (EPA) and Docosahexaenoic acid (DHA) were found in those sponge samples in the range of 3.02 -3.04, 1.46-2.02 %TFA, respectively. The fatty acid in marine bacteria isolated from sponges *Spheciospongia vagabunda* were divided base on fatty acid composition into 3 groups: TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y were in monounsaturated fatty acids (MUFAs; C17:1, C18:1n9) group, TAO-A-1-3g was in PUFAs (C18:3n3) group and TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or were in SFAs (C16:0, C18:0) group. In this study the highest amount of α -Linolenic acid (ALA C18:3n3) was found in bacteria TAO-A-1-3g and TAO-A-1-5 (16.26 $\pm$ 0.04; 8.20 $\pm$ 0.38%TFA), this fatty acid is an essential fatty acid for human and being the parent compound of omega-3 family.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยบูรพาประจำปี 2553-2555 ซึ่งคณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณเป็นอย่าง มาก ตลอดจนเจ้าหน้าที่สถาบันวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่มีส่วนช่วยทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไป ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	1
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
อุปกรณ์และวิธีการ	26
ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล	31
สรุปผลการศึกษา	81
เอกสารอ้างอิง	83
ภาคผนวก	91

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 สมบัติทั่วไปของกรดไขมันอิ่มตัว	8
ตารางที่ 2 สมบัติทั่วไปของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	9
ตารางที่ 3 สมบัติทั่วไปของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน	10
ตารางที่ 4 การเรียกชื่อกรดไขมัน Omega-3, Polyunsaturated	13
ตารางที่ 5 การเรียกชื่อกรดไขมัน Omega-6 fatty acids, polyunsaturated	13
ตารางที่ 6 การเรียกชื่อกรดไขมัน Omega-9 fatty acids, mono- and polyunsaturated	14
ตารางที่ 7 การเรียกชื่อกรดไขมัน Conjugated fatty acids have two or more conjugated double bonds	14
ตารางที่ 8 Quality control of fatty acid from Menhaden oil	30
ตารางที่ 9 รายชื่อฟองน้ำและจุดเก็บตัวอย่าง	31
ตารางที่ 10 ปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล (ร้อยละน้ำหนักสด)	32
ตารางที่ 11 ชนิดและปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล (ร้อยละของ Crude fat)	34
ตารางที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล <i>Spheciospongia vagabunda</i> TAO-POR-A-01 (%TFA)	37
ตารางที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล <i>Biemna fortis</i> TAO-POR-B-01 (%TFA)	38
ตารางที่ 14 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืช และฟองน้ำทะเล ที่ได้จากการศึกษา	39-40
ตารางที่ 15 ปริมาณกรดไขมัน omega-3 ในปลาทะเล	41
ตารางที่ 16 ปริมาณกรดไขมัน Total omega-3 (EPA+DHA) ในฟองน้ำทะเล %TFA	42
ตารางที่ 17 ปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ <i>Spheciospongia vagabunda</i>	43
ตารางที่ 18 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำ <i>Spheciospongia vagabunda</i> (TAO55-POR-A-01) กับตัวอย่างแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ	47
ตารางที่ 19 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำ <i>Spheciospongia vagabunda</i> (TAO55-POR-A-01) กับตัวอย่างแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ	48
ตารางที่ 20 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำ <i>Spheciospongia vagabunda</i> (TAO55-POR-A-01) กับตัวอย่างแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ	49

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 21 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำ <i>Spheciospongia vagabunda</i> (TAO55-POR-A-01) และในตัวอย่างแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ	50
ตารางที่ 22 ปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium และ Marine Medium 2216 (% wet wt.)	51
ตารางที่ 23 ปริมาณน้ำในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium และ Marine Medium 2216 (% wet wt.)	51
ตารางที่ 24 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (48 ชั่วโมง)	56
ตารางที่ 25 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (72 ชั่วโมง)	57
ตารางที่ 26 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (96 ชั่วโมง)	58
ตารางที่ 27 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (120 ชั่วโมง)	59
ตารางที่ 28 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (144 ชั่วโมง)	60
ตารางที่ 29 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหารMarine medium 2216 (48 ชั่วโมง)	61
ตารางที่ 30 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Marine medium 2216 (72 ชั่วโมง)	62
ตารางที่ 31 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Marine medium 2216 (96 ชั่วโมง)	63
ตารางที่ 32 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Marine medium 2216 (120 ชั่วโมง)	64
ตารางที่ 33 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหารMarine medium 2216 (144 ชั่วโมง)	65
ตารางที่ 34 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำ CHUMP-A-POR-03 กับเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-A-POR-03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับ Marine medium 2216 ที่ 48 ชั่วโมง	76

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 35 คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำจากหมู่เกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี (มกราคม-กุมภาพันธ์ 2553) %TFA	77
ตารางที่ 36 คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำจากหินหลักแร่ด จังหวัดชุมพร (มีนาคม 2554)	77
ตารางที่ 37 คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำจากเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี (มีนาคม 2555)	77

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ตัวอย่างฟองน้ำ TAO 55-A-POR-01 <i>Spheciospongia vagabunda</i> (Ridley, 1884)	31
ภาพที่ 2 ตัวอย่างฟองน้ำ TAO55-B-POR-01 <i>Biemna fortis</i> (Topsent, 1897)	32
ภาพที่ 3 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 48 ชั่วโมง (%TFA)	66
ภาพที่ 4 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่ เวลา 72 ชั่วโมง (%TFA)	67
ภาพที่ 5 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 96 ชั่วโมง (%TFA)	68
ภาพที่ 6 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 120 ชั่วโมง (%TFA)	69
ภาพที่ 7 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วย อาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 144 ชั่วโมง (%TFA)	70
ภาพที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ในเวลาที่แตกต่างกัน (%TFA)	71
ภาพที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เพิ่มปริมาณน้ำตาล glucose 0.25% ในเวลาที่แตกต่างกัน (%TFA)	72
ภาพที่ 10 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เพิ่มปริมาณน้ำตาล glucose 0.50% ในเวลาที่แตกต่างกัน (%TFA)	73
ภาพที่ 11 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR-03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เพิ่มปริมาณน้ำตาล glucose 1.0% ในเวลาที่แตกต่างกัน (%TFA)	74

ภาพที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำจากหมู่เกาะสมุย จังหวัด สุราษฎร์ธานี	78
ภาพที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำจากหินหลักแร่ด ทะเลชุมพร	79
ภาพที่ 14 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำจากเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี	80

สารบัญตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางภาคผนวกที่ 1 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในอาหาร Modified Zobell Medium/ Marine medium 2216 (%TFA)	92
ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงชนิดและปริมาณกรดไขมันในสูตรอาหาร Zobell ที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (ในน้ำทะเล)	93
ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงชนิดและปริมาณกรดไขมันในสูตรอาหาร Zobell ที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (ในน้ำกลั่น)	94
ตารางภาคผนวกที่ 4 ปริมาณไขมันในเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในเวลาที่แตกต่างกัน	95
ตารางภาคผนวกที่ 5 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยก จากฟองน้ำที่เก็บจากจังหวัดชุมพร	96
ตารางภาคผนวกที่ 6 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยก จากฟองน้ำที่เก็บจากจังหวัดชุมพร	97
ตารางภาคผนวกที่ 7 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยก จากฟองน้ำที่เก็บจากจังหวัดชุมพร	98
ตารางภาคผนวกที่ 8 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยก จากฟองน้ำที่เก็บจากจังหวัดชุมพร	99
ตารางภาคผนวกที่ 9 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำ CHUMP-A-POR-03 และเชื้อแบคทีเรีย (CHUMP-A-POR-03-7)	100
ตารางภาคผนวกที่ 10 รายชื่อตัวอย่างฟองน้ำที่ทำการศึกษา	104-105
ตารางภาคผนวกที่ 11 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำจากหมู่เกาะสมุยจังหวัดสุราษฎร์ธานี (กุมภาพันธ์-มีนาคม 2553)	106
ตารางภาคผนวกที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำจากหมู่เกาะสมุยจังหวัดสุราษฎร์ธานี (กุมภาพันธ์-มีนาคม 2553)	107
ตารางภาคผนวกที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำจากชายฝั่งทะเลจังหวัดชุมพร (มีนาคม 2554)	109

ภาพภาคผนวกที่ 1 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล <i>Clathria (Thalysias)</i> CHUMP-A-POR-03 และแบคทีเรีย CHUMP-A-POR-03-7 ที่คัดแยกจากฟองน้ำที่เพาะเลี้ยงในระยะเวลาที่แตกต่างกัน(%Fatty acid)	101
ภาพภาคผนวกที่ 2 กราฟเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันแต่ละชนิด ของเชื้อแบคทีเรีย (CHUMP-A-POR-03-7) ที่เพาะเลี้ยงในระยะเวลาที่แตกต่างกัน(%TFA)	102
ภาพภาคผนวกที่ 3 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันแต่ละชนิด ของเชื้อแบคทีเรีย (CHUMP-A-POR-03-2) ที่เพาะเลี้ยงในระยะเวลาที่แตกต่างกัน(%TFA)	103

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ

Fatty Acids from Sponges and Symbiosis Marine Bacteria

บทนำ

ฟองน้ำเป็นสิ่งมีชีวิตที่เก่าแก่ที่สุดของพวกสัตว์หลายเซลล์สามารถดำรงชีวิตอยู่มาเป็นเวลาช้านานได้โดยที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างน้อยมาก ที่เป็นเช่นนี้เพราะฟองน้ำได้สร้างกลไกป้องกันตัวเองอย่างมีประสิทธิภาพโดยการผลิตสารพิษหรือสารเคมีอื่นๆเพื่อที่จะขับไล่หรือยับยั้งอันตรายจากผู้ล่าหรือพวก parasites ต่างๆ หรือแย่งชิงพื้นที่ที่จะเกาะติดกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ โดยสารเคมีที่ฟองน้ำผลิตมาเพื่อปกป้องตัวเองนี้ถูกเชื่อว่ามีส่วนที่วิวัฒนาการไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติที่น่าสนใจ โดยเฉพาะสารกลุ่มไขมันซึ่งมีรายงานกล่าวว่ากรดไขมันจากฟองน้ำทะเลจะมีความหลากหลายและมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ (Mishra et al., 2009) ปัจจุบันการศึกษาเรื่องกรดไขมันมีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากมีการนำไปใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น อาหาร ยารักษาโรค หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ทำให้มีการศึกษาหาแหล่งของกรดไขมันจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ กรดไขมันที่ทำการศึกษาส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวเพราะกรดไขมันกลุ่มนี้มีบทบาทต่อสุขภาพอนามัยต่อสิ่งมีชีวิต และอัตราการอยู่รอดของสัตว์น้ำวัยอ่อน จากการศึกษาพบว่าแหล่งไขมันจากอาหารทะเล โดยเฉพาะปลาทะเลและสัตว์ทะเลชั้นสูงอื่นๆ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำพวกสาหร่าย แพลงก์ตอนพืช มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 (Omega-3-polyunsaturated fatty acid) โดยเฉพาะกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid หรือ EPA (C20:5n3) และกรดไขมัน Docosahexaenoic acid หรือ DHA (C22:6n3) กรดไขมันทั้งสองชนิดนี้เป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญและความต้องการเป็นอย่างมาก มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริม และใช้ในทางการแพทย์ โดยเฉพาะโอเมก้า 3 ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและอัมพาต ลดการอักเสบ ของโรคไขข้อเสื่อมรูมาตอยด์ ลดอาการปวดหัวไมเกรนและปวดประจำเดือน เพิ่มภูมิคุ้มกันร่างกายและลดอาการของ โรคภูมิแพ้ โอเมก้า 6 ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ โดยการลดการแข็งตัวของเลือดด้วย การลดการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดทำให้หลอดเลือดที่หัวใจเป็นปกติ ลดอัตราการเกิดโรคความดันโลหิตสูง ลดการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง ป้องกันโรคสมองเสื่อมหรือโรคอัลไซเมอร์ โดยลดการแข็งตัวของเยื่อหุ้มเม็ดเลือดแดงทำให้สมองได้รับออกซิเจนมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า EPA และ DHA มีบทบาทในการควบคุมการตอบสนองการอักเสบผ่านการผลิตสารที่เรียกว่า eicosanoids (Lee et al 2009; Oliver et al 2010)

มีการค้นหาแหล่งกรดไขมันจากสิ่งมีชีวิตกันอย่างกว้างขวางและด้วยความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในทะเลก่อให้เกิดสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางทะเลที่มีศักยภาพที่ดีหลายชนิด เช่นกรดไขมันไม่อิ่มตัว sterols โปรตีน polysaccharides สารต้านอนุมูลอิสระและสี เป็นต้น สารเหล่านี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพสามารถต้านมะเร็งหรือป้องกันการอักเสบได้(BhatnagarI,KimSK 2010;Sinéad Lordan et al 2011) โดยเฉพาะจุลินทรีย์เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้รวดเร็วในอาหารที่ไม่ซับซ้อนใช้

วัตถุดิบได้หลากหลายและราคาถูก การคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมจากธรรมชาติสามารถทำได้ง่าย เนื่องจากมีความหลากหลายสูงการปรับปรุงสายพันธุ์ก็สามารถทำได้ง่ายโดยอาจใช้วิธีเปลี่ยนแปลงระบบเอนไซม์หรือวิถีในการสังเคราะห์ อีกทั้งกรดไขมันจากจุลินทรีย์สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่ายกว่าจากแหล่งอื่น ซึ่งสามารถนำมาทดแทนการผลิตทางเกษตรกรรมหรือการผลิตจากน้ำมันสัตว์ได้

แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์เป็นแหล่งอาหารมีชีวิตเบื้องต้นของสัตว์น้ำวัยอ่อน (Brown, *et al.*, 1997; Raymond and John, 1994) องค์ประกอบคุณค่าทางอาหารที่ให้สัตว์น้ำกินมีบทบาทอย่างมากในการเพิ่มการรอดตายและการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยเฉพาะกรดไขมัน ซึ่งกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ได้แก่ eicosapentaenoic acid และ docosahexaenoic acid เนื่องจากสัตว์น้ำวัยอ่อนบางชนิดไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นได้จะต้องได้รับจากการกินอาหารเท่านั้น (สุพิศ, 2535) มีรายงานการวิจัยมากมายเกี่ยวกับคุณค่าทางอาหารของแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ที่นิยมใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารที่แตกต่างกันไป (Volkman *et al.*, 1989; Brown, *et al.*, 1997) แต่มีรายงานการวิจัยไม่มาก ทางด้านการเพาะเลี้ยงที่กล่าวถึงการนำแบคทีเรียมาเป็นอาหารสัตว์น้ำหรือแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น ลูกหอยวัยอ่อน อาร์ทีเมีย เป็นต้น (Brown *et al.*, 1996; Leonardo and Lucas, 2000; Intriago and Jones, 1993) ในต่างประเทศมีการเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Fulks and Main, 1991) พบว่าสามารถทำให้ลดต้นทุนการผลิตได้ แต่เนื่องจากยีสต์ขาดกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ทำให้โรติเฟอร์และสัตว์น้ำวัยอ่อนมีอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตต่ำกว่าเลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืช

มีรายงานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับ สิ่งมีชีวิตจากทะเลเช่น ฟองน้ำ กัลปังหา ปะการัง เป็นแหล่งผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติทั้งในด้านเภสัชกรรม สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และกรดไขมัน (Burkholder, 1966; Halstead, 1968; Bergquist *et al.*, 1984) จากการวิจัยพบว่าภายในฟองน้ำประกอบด้วยแบคทีเรียหลายชนิดมีปริมาณถึง 40 เปอร์เซ็นต์ (Vacelet, 1975; Wilkinson, 1978.a,b) และจากการค้นพบความสัมพันธ์ระหว่างเคโมออโตโทรฟิกแบคทีเรีย (Chemoautotrophic bacteria) และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Cavanaugh *et al.*, 1981) ได้นำไปสู่ความสำคัญของแบคทีเรียต่อชนิดและปริมาณสารอาหาร (Cavanaugh *et al.*, 1983)

จากความสัมพันธ์ระหว่างฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำที่พึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน มีรายงานการวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่อาศัยในฟองน้ำที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Nair and Simidu, 1987; ชุติวรรณ และ Simidu, 2530; Shigemori *et al.*, 1992; Imamura *et al.*, 1993; Dechsakulwatana, 1994) แต่รายงานด้านกรดไขมันส่วนมากเป็นการวิเคราะห์เพื่อใช้เป็นดัชนีทางชีววิทยาของแบคทีเรียที่อาศัยกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในทะเล (Carballeira and Mayra, 2001; Shirasaka *et al.*, 1995; Zhukova *et al.*, 1992; Nichol and Tom, 2002) หรือการวิจัยเกี่ยวกับกรดไขมันกับแหล่งสารอาหารที่แบคทีเรียต้องการ (Barbara and James, 2003; Rosa *et al.*, 2003; Nichols, 2003)

การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อเป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนและแพลงก์ตอนสัตว์ต้องใช้แรงงาน และพื้นที่ในการผลิตมาก ตลอดจนใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยง ทำให้เป็นอุปสรรคในการพัฒนา อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยง จากรายงานการวิจัยในฟองน้ำ (Carballeira and Mayra, 2001) พบว่ากรด ไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำมีหลายประเภท ประกอบกับจำนวนแบคทีเรียที่อาศัยใน ฟองน้ำมีจำนวนหลากหลายชนิดที่มีขนาดต่างกัน จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาเป็นอาหารหรือผลิตภัณฑ์ เสริมอาหารเพื่อใช้เป็นแหล่งกรดไขมันอีกแหล่งหนึ่งของสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือแพลงก์ตอนสัตว์บางชนิดที่ กินอาหารโดยวิธีการกรอง เนื่องจากแบคทีเรียสามารถเก็บไว้ได้ในระยะเวลานานและขยายได้จำนวนมาก ในเวลาอันสั้น จึงสามารถลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือแพลงก์ตอนสัตว์ เพื่อทดแทนการ เลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืช ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงอาหารมีชีวิตอีกทางหนึ่ง ทั้งนี้ รายงานวิจัยกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำในประเทศไทยยังมีการวิจัยอยู่น้อยมาก และการวิจัยไม่ได้กล่าวถึงหรือเน้นการนำแบคทีเรียที่มีกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ไป ทดสอบกับสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือแพลงก์ตอนสัตว์ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเห็นว่าการได้ข้อมูลของกรดไขมันที่มี ความจำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนในตัวอย่างฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำน่าจะเป็นทางเลือก ใหม่สำหรับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำทะเล
2. เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันใน เชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ
3. เพื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันที่มีในฟองน้ำและในแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ

ขอบเขตของโครงการวิจัย

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล บริเวณอ่าวไทยภาคตะวันตก และ ในแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำ ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-FID)

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ฟองน้ำ (Sponges)

ฟองน้ำ (phylum Porifera) จัดอยู่ในจำพวกสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และเป็นสิ่งมีชีวิตที่เก่าแก่ที่สุดของพวกสัตว์หลายเซลล์ซึ่งมีมาเมื่อประมาณ 700-800 ล้านปี สามารถพบฟองน้ำได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำทะเล แต่ส่วนใหญ่พบว่าจะจะเป็นฟองน้ำทะเล โดยที่ 95% ของฟองน้ำทั้งหมดจะเป็นฟองน้ำใน class demospongiae ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความหลากหลายทางชีวภาพมากที่สุด (Hooper, 1997) ฟองน้ำมีส่วนสำคัญต่อชีวมวลของระบบนิเวศวิทยาทางทะเล เพราะฟองน้ำสามารถปรับตัวได้เป็นอย่างดีไม่ว่าจะเป็นทางด้าน การสืบพันธุ์ และทางด้านสรีรวิทยา ฟองน้ำเป็นสัตว์ประเภทที่กรองกินอาหาร (filter feeding) ลำตัวของ ฟองน้ำจะมีรูพรุนเล็กๆซึ่งเป็นช่องทางเข้าของน้ำ โดยจะนำออกซิเจนและอาหารเข้าภายในร่างกาย โดยทั่วไปฟองน้ำจะอยู่ติดกับที่ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ และฟองน้ำไม่มีอวัยวะพวกแขน ขา กล้ามเนื้อ ศีรษะ และช่องกระเพาะอาหาร อีกทั้งฟองน้ำมีรูปร่างที่ค่อนข้างอ่อนนุ่ม ไม่มีหนามแหลมหรือเปลือก ห่อหุ้มร่างกาย แต่ฟองน้ำก็ยังสามารถดำรงชีวิตอยู่มาเป็นเวลาช้านานได้โดยที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง น้อยมาก ที่เป็นเช่นนี้เพราะฟองน้ำได้สร้างกลไกป้องกันตัวเองอย่างมีประสิทธิภาพโดยการผลิตสารพิษ หรือสารเคมีอื่นๆเพื่อที่จะขับไล่หรือยับยั้งอันตรายจากผู้ล่าหรือพวก parasites ต่างๆ หรือแย่งชิงพื้นที่ที่จะ เกาะติดกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ โดยสารเคมีที่ฟองน้ำผลิตมาเพื่อปกป้องตัวเองนี้ถูกเชื่อว่ามีส่วนที่วิวัฒนาการ ไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรคได้ เนื่องจากสารเคมีที่ฟองน้ำผลิตขึ้นมานี้ จะต้องใช้ป้องกันผู้ล่าที่มีหลากหลายประเภท ดังนั้นจึงทำให้สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากฟองน้ำทะเล หลายตัวมีฤทธิ์ในการตรวจสอบทางเภสัชวิทยาที่สูงเกินกว่าที่จะนำมาใช้เป็นยาได้โดยตรง จึงทำให้สารที่ ได้จากทะเลส่วนใหญ่ยังอยู่ในขั้นตอนการทดสอบและการพัฒนาทางเภสัชวิทยา ซึ่งต้องใช้เวลานานใน กระบวนการพัฒนา

การจัดหมวดหมู่ฟองน้ำ

ฟองน้ำจัดจำแนกตามลักษณะของโครงสร้างเป็น 4 class คือ

Class 1 Calcipongiae (Calcarea) เรียกว่า ฟองน้ำแคลคาเรีย เนื่องจากเป็นฟองน้ำที่มีสปิคูลที่เป็น สารประกอบหินปูน

Class 2 Hyalospongiae (Hexactinellida) มีชื่อเรียกทั่วไปว่า ฟองน้ำแก้ว (glass sponge) ส่วนใหญ่ ดำรงชีวิตอยู่ในทะเลลึกประมาณ 500-15,00 เมตร และมีสมมาตรรัศมี มีลักษณะรูปร่างคล้ายแจกันหรือ กรวย มักเกาะกับพื้นโคลนโดยก้านหรือรากที่เป็นสปิคูล (root spicules)

Class 3 Demospongiae มีฟองน้ำประมาณร้อยละ 95 ของฟองน้ำทั้งหมดในฟิแลมส่วนใหญ่ เป็น ฟองน้ำขนาดใหญ่ สปิคูลเป็นซิลิกอนที่ไม่เป็นหกเหลี่ยม

Class 4 Sclerospongiae มีฟองน้ำน้อยชนิด ผิวดำอยู่ตามรอยแยกของแนวปะการัง จึงมักเรียกว่า ฟองน้ำปะการัง (coralline sponge) ทางเดินน้ำแบบลิว โคนอยด์ มีสปิкулเป็นสารซิลิกอนและมีสปินจินและมีสปินจินและมีชั้นของหินปูนเป็นโครงสร้างบาง ๆ ทั่วตัว

ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียทะเล

แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทะเลส่วนมากเป็นพวกทนเกลือ (halophilic microorganisms) ต้องการ โซเดียมคลอไรด์ 2.5-4 เปอร์เซ็นต์ ในการเจริญเติบโต และจะไม่เจริญหรือเจริญได้น้อยมากในอาหารที่ไม่มีเกลือ ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียทะเลคือ 3.5 เปอร์เซ็นต์ (Rheinheimer, 1985) แบคทีเรียที่พบในทะเลส่วนมากเคลื่อนที่ได้เพราะมีแฟลกเจลลัมแต่ไม่สร้างสปอร์ ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ได้ทั้ง ที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) มีน้อยชนิดที่ชอบอาศัยในที่ไม่มีออกซิเจน (obligate anaerobe) ส่วนมากเป็นพวกที่มีรงควัตถุและเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ปัจจัยควบคุมการแพร่กระจายของแบคทีเรียทะเลคือ ปริมาณสารอาหาร ความเค็ม ความลึก และความเป็นกรด-เบส เป็นต้น

ประโยชน์ของแบคทีเรียทะเล

แบคทีเรียทะเลมีประโยชน์ต่อระบบนิเวศทางทะเล ช่วยให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุ ทำให้แหล่งน้ำอุดมสมบูรณ์ เป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน และแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสร้างสาร ซึ่งมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาทางเภสัชวิทยา สารที่สร้างจากแบคทีเรียเรียกว่า สารเมตาบอไรต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น ถูกนำมาใช้เป็นตัวกลางในการผลิตสารที่จำเป็นบางอย่างที่เกี่ยวข้องกับทางการแพทย์และการรักษาโรค ด้านอุตสาหกรรม ด้านการเกษตร เป็นต้น ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในทางการแพทย์ เช่น ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และแบคทีเรีย *E.coli* ใช้ผลิตสารอินซูลินซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญในการควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือด แบคทีเรีย *E.coli* ใช้ในการผลิตฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตในคน เป็นต้น แบคทีเรียทะเลแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ แบคทีเรียที่ถูกพัฒนามาจากแหล่งอื่นและแบคทีเรียที่มีถิ่นกำเนิดในทะเลในบริเวณนั้น ๆ แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้อาศัยอยู่ที่ผิวน้ำ ในชั้นของน้ำ ตะกอนดิน และอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ เช่น *Pseudomonas insolita* พบอยู่ในฟองน้ำคลาสเคโมสปองเจีย (class demospongiae) ชนิด *Halichondria panacea* แบคทีเรียบางชนิดอาศัยอยู่ในลำไส้และทางเดินอาหารของสัตว์ทะเล เช่น *Clostridium welchii*, *C. sporogenes*, *C. tetani* พบในทางเดินอาหารของปลา ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ทำให้ปลาได้รับสารอาหารในการเจริญเติบโต (บุญญติ สุขศรีงาม, 2534) โดยเฉพาะยีสต์มีการศึกษาถึงคุณสมบัติพบว่า เป็นจุลินทรีย์ที่มีปริมาณโปรตีนในเซลล์สูงและยังประกอบไปด้วยไขมัน วิตามินแร่ธาตุหลายชนิด และ แอคติโนมัยซีท์จัดเป็นแบคทีเรียที่มีคุณค่าและมีคุณประโยชน์มหาศาลต่อเศรษฐกิจต้องงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพเนื่องจากเป็นแหล่งของการผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารยับยั้งเซลล์มะเร็ง สารแอนติไบโอติก และสารยับยั้งระบบภูมิคุ้มกัน (Selvameenal et al. 2009)

ไขมัน (Lipid)

คือสารชีวโมเลกุลประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน โมเลกุลของไขมันประกอบด้วยกรีเซอริน 1 โมเลกุล และกรดไขมัน 3 โมเลกุล ซึ่งอาจเป็นกรดไขมันชนิดเดียวกันหรือต่างกันก็ได้ ไขมันมีหลายชนิด แต่วิธีการจำแนกของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบ ไขมันในอาหาร ประกอบด้วย ไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) เป็นส่วนใหญ่ และ โคเลสเตอรอล (Cholesterol) เป็นส่วนน้อย ไตรกลีเซอไรด์เมื่ออยู่ในรูปของแข็งที่อุณหภูมิห้องปกติจะเรียกว่าไขมัน(Fat) หากเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องปกติจะเรียกว่าน้ำมัน(Oil)

ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) เป็นไขมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันสามโมเลกุลรวมตัวกับกลีเซอรอลหนึ่งโมเลกุล เป็นโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำ เป็นพลังงานสะสมในสัตว์ และใช้สะสมใต้ผิวหนังเพื่อรักษาอุณหภูมิของร่างกาย

ฟอสโฟลิปิดหรือกลีเซอโรฟอสโฟลิปิด เป็นไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มต่างๆในสิ่งมีชีวิต โครงสร้างคล้ายไตรกลีเซอไรด์ แต่มีกรดไขมันเพียงสองโมเลกุล โดยอีกตำแหน่งหนึ่งจะมีหมู่ฟอสเฟตมาเกาะและจะมีสารอื่นมาเกาะที่หมู่ฟอสเฟตอีกต่อหนึ่งซึ่งเป็นการกำหนดชนิดของฟอสโฟลิปิด เช่น โคลีน (choline) หรือ เซอรีน (serine) ซึ่งชนิดของกรดไขมันในฟอสโฟลิปิด (Phospholipid fatty acids; PLFAs) ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ทำหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสารระหว่างภายนอกและภายในเซลล์ รูปแบบของกรดไขมันที่มาจากฟอสโฟลิปิดของเยื่อหุ้มเซลล์สามารถบอกถึงจำนวนต่อหน่วยพื้นที่ลักษณะกลุ่มและความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กได้ (microbial biomass, microbial community structure, microbial diversity)

กรดไขมัน (Fatty acid)

กรดไขมัน เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 4 ถึง 24 อะตอมโดยที่ปลายข้างหนึ่งเป็นหมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl group) ($R-COOH$) กรดไขมันที่พบในพืช และสัตว์มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ ระหว่าง 14 ถึง 22 อะตอม ที่พบมากที่สุด คือ คาร์บอน 16 และ คาร์บอน 18 โดยพันธะที่ต่อระหว่างคาร์บอนอะตอมมีทั้งชนิดที่เป็นพันธะเดี่ยว และ เป็นพันธะคู่ เป็นกรดอินทรีย์ ที่เป็นส่วนประกอบในร่างกายของสิ่งมีชีวิต มีการนำไปใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น ยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ทำให้มีการศึกษาหาแหล่งของกรดไขมันจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ กรดไขมันที่ทำการศึกษามากที่สุดจะเป็นกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวเพราะกรดไขมันกลุ่มนี้มีบทบาทต่อสุขภาพอนามัย และอัตราการอยู่รอดของสัตว์น้ำวัยอ่อน จากการศึกษาพบว่าแหล่งไขมันจากอาหารทะเลโดยเฉพาะปลาทะเลและสัตว์ทะเลชั้นสูงอื่นๆ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำพวกสาหร่าย และแพลงก์ตอนพืช มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 โดยเฉพาะกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (EPA) และกรดไขมัน Docosahexaenoic acid (DHA) กรดไขมันทั้งสองชนิดนี้มีความสำคัญและความต้องการเป็นอย่างมาก

การจำแนกชนิดกรดไขมัน

กรดไขมันมี 2 ประเภท คือ

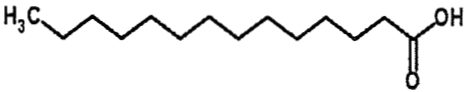
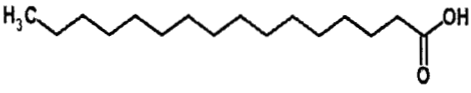
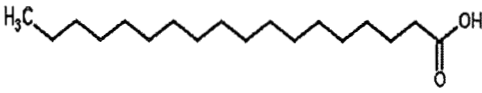
กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fatty Acid; SFA) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะระหว่างอะตอมคาร์บอนกับคาร์บอนยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะเดี่ยว (Single bond) ทั้งหมด มีลักษณะเป็นโซ่ตรง กรดไขมันอิ่มตัวนี้ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้เองจึงจัดว่าเป็นกรดไขมันที่ไม่จำเป็น (Non-essential fatty acid) พบในปริมาณที่สูงในไขมันสัตว์ เช่น Myristic acid (14:0), Palmitic acid (16:0) และ Stearic acid (18:0) เป็นต้น

กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated Fatty Acid; UFA) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะระหว่างอะตอมคาร์บอนกับคาร์บอนบางตำแหน่งหรือมากกว่า ยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะคู่ (Double bond) กรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้ ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาเองได้ จึงจัดว่าเป็นกรดไขมันที่จำเป็น (Essential fatty acid) พบในปริมาณที่สูงในน้ำมันพืช เช่น Oleic acid (C18:1n9), Linoleic acid (C18:2n6) และ Arachidonic acid (C20:4n6) เป็นต้น ซึ่งสามารถแบ่งกรดไขมันชนิดนี้ออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

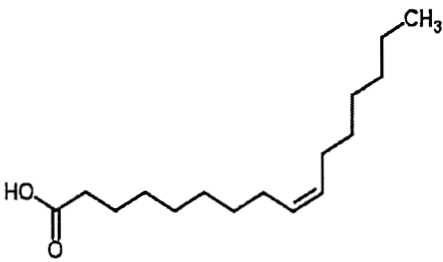
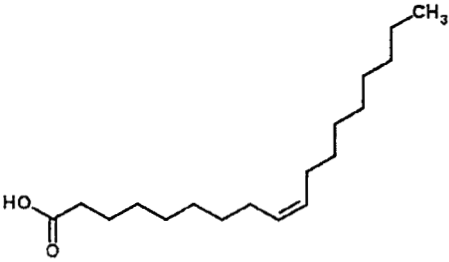
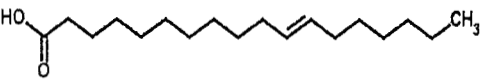
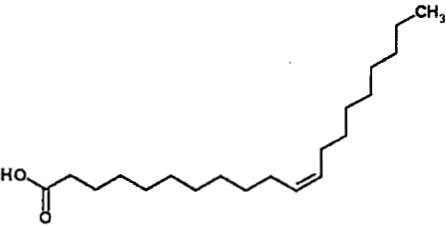
1 กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acid; MUFA)⁽³⁾ เป็นกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนในสายยาวเชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่เพียงหนึ่งตำแหน่งเท่านั้น เป็นกรดไขมันที่แพทย์และนักโภชนาการแนะนำให้รับประทานเพราะสามารถช่วยลดคอเลสเตอรอล และยังช่วยให้ไขมันเลวไม่หนืดข้น ซึ่งเป็นผลดีต่อสุขภาพหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มคอเลสเตอรอลความหนาแน่นสูง (High Density Lipoprotein Cholesterol; HDL Cholesterol) ซึ่งมีส่วนช่วยในการลดคอเลสเตอรอลในเลือด อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวสูง ได้แก่ ถั่วต่างๆ และ ผลมะกอก

2 กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acid; PUFA) เป็นกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนในสายยาวเชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่หลายตำแหน่งซึ่งคนทั่วไปรู้จักดี มี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโอเมก้า-3 (Omega 3) และกลุ่มโอเมก้า-6 (Omega 6) โดยทั้ง 2 กลุ่มจัดเป็นกรดไขมันที่จำเป็น (Essential Fatty Acid, EFA) สำหรับร่างกาย การรับประทานไขมันกลุ่มนี้จะสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลได้ ซึ่งกรดไขมันชนิดนี้พบได้ทั่วไปในน้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง

ตารางที่ 1 สมบัติทั่วไปของกรดไขมันอิ่มตัว

กรดไขมันอิ่มตัว			
(Saturated Fatty Acid; SFA)			
สารและโครงสร้าง	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล (กรัมต่อโมล)	จุดเดือด (องศาเซลเซียส)
	$C_{14}H_{28}O_2$	228.37	319.64
Myristic acid (C14:0)			
	$C_{16}H_{32}O_2$	256.42	340.62
Palmitic acid (C16:0)			
	$C_{18}H_{36}O_2$	284.48	359.40
Stearic acid (C18:0)			

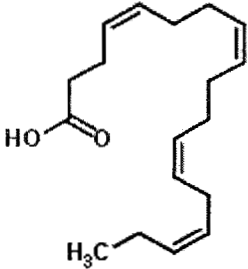
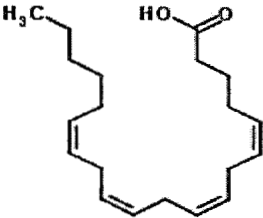
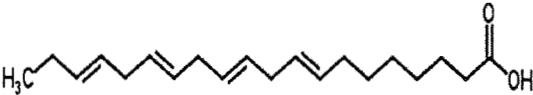
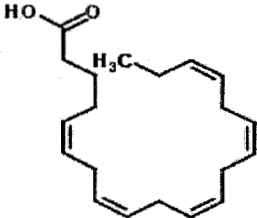
ตารางที่ 2 สมบัติทั่วไปของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว

กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว			
(Monounsaturated Fatty Acid; MUFA)			
สารและ โครงสร้าง	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล (กรัมต่อโมล)	จุดเดือด (องศาเซลเซียส)
	$C_{16}H_{30}O_2$	254.41	363.60
Palmitoleic acid (C16:1n7)			
	$C_{18}H_{34}O_2$	282.46	360.00
Oleic acid (C18:1n9)			
	$C_{18}H_{34}O_2$	282.46	398.20
Vaccenic acid (C18:1n7)			
	$C_{20}H_{38}O_2$	310.51	426.30
Eicosenoic acid(C20:1n9)			

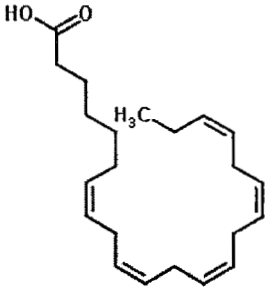
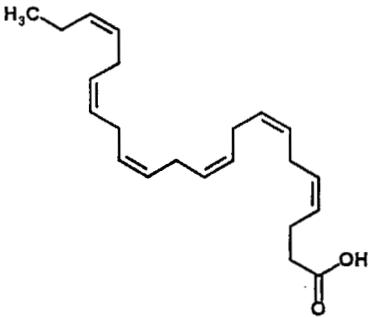
ตารางที่ 3 สมบัติทั่วไปของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน

กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน			
(Polyunsaturated Fatty Acid; PUFA)			
สารและโครงสร้าง	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล (กรัมต่อโมล)	จุดเดือด (องศาเซลเซียส)
 <chem>CCCC=CCCC=CCCCCCCC(=O)O</chem>	$C_{16}H_{28}O_2$	252.39	345.40
Hexadecadienoic acid (C16:2n4)			
 <chem>OC(=O)CCCC=CC=CC=CC=CC</chem>	$C_{16}H_{26}O_2$	250.38	349.10
Hexadecatrienoic acid (C16:3n4)			
 <chem>CCCC=CCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	$C_{18}H_{32}O_2$	280.45	360.55
Linoleic acid (LA) (C18:2n6)			
 <chem>CCCC=CC=CC=CCCCCCCC(=O)O</chem>	$C_{18}H_{30}O_2$	278.43	443.38
α -Linolenic acid (ALA) (C18:3n3)			
 <chem>OC(=O)CCCC=CC=CC=CC=CC</chem>	$C_{18}H_{30}O_2$	278.43	410.90
Octadecatrienoic acid (C18:3n4)			

ตารางที่ 3 (ต่อ) สมบัติทั่วไปของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน

กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน			
(Polyunsaturated Fatty Acid; PUFA)			
สารและโครงสร้าง	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล	จุดเดือด
		(กรัมต่อโมล)	(องศาเซลเซียส)
	$C_{18}H_{28}O_2$	276.40	412.80
Stearidonic acid (SDA) (C18:4n3)			
	$C_{20}H_{32}O_2$	304.47	407.45
Arachidonic acid (AA,ARA) (C20:4n6)			
	$C_{20}H_{32}O_2$	304.47	439.60
Eicosatetraenoic acid (ETA) (C20:4n3)			
	$C_{20}H_{30}O_2$	302.45	439.30
Eicosapentaenoic acid (EPA) (C20:5n3)			

ตารางที่ 3 (ต่อ) สมบัติทั่วไปของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน

กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน			
(Polyunsaturated Fatty Acid; PUFA)			
สารและโครงสร้าง	สูตรโมเลกุล	มวลโมเลกุล (กรัมต่อโมล)	จุดเดือด (องศาเซลเซียส)
	$C_{22}H_{34}O_2$	330.50	442.20
<u>Docosapentaenoic acid (DPA) (C22:5n3)</u>			
	$C_{22}H_{32}O_2$	328.49	446.70
<u>Docosahexaenoic acid (DHA) (C22:6n3)</u>			

ตารางที่ 4 การเรียกชื่อกรดไขมัน Omega-3, Polyunsaturated

Common name	Lipid name	Chemical name
Hexadecatrienoic acid (HTA)	16:3 (n-3)	<i>all-cis</i> 7,10,13-hexadecatrienoic acid
Alpha-linolenic acid (ALA)	18:3 (n-3)	<i>all-cis</i> -9,12,15-octadecatrienoic acid
Stearidonic acid (SDA)	18:4 (n-3)	<i>all-cis</i> -6,9,12,15,-octadecatetraenoic acid
Eicosatrienoic acid (ETE)	20:3 (n-3)	<i>all-cis</i> -11,14,17-eicosatrienoic acid
Eicosatetraenoic acid (ETA)	20:4 (n-3)	<i>all-cis</i> -8,11,14,17-eicosatetraenoic acid
Eicosapentaenoic acid (EPA, Timnodonic acid)	20:5 (n-3)	<i>all-cis</i> -5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid
Heneicosapentaenoic acid (HPA)	21:5 (n-3)	<i>all-cis</i> -6,9,12,15,18-heneicosapentaenoic acid
Docosapentaenoic acid (DPA, Clupanodonic acid)	22:5 (n-3)	<i>all-cis</i> -7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid
Docosahexaenoic acid (DHA, Cervonic acid)	22:6 (n-3)	<i>all-cis</i> -4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid
Tetracosapentaenoic acid	24:5 (n-3)	<i>all-cis</i> -9,12,15,18,21-tetracosapentaenoic acid
Tetracosahexaenoic acid (Nisinic acid)	24:6 (n-3)	<i>all-cis</i> -6,9,12,15,18,21-tetracosahexaenoic acid

ตารางที่ 5 การเรียกชื่อกรดไขมัน Omega-6 fatty acids, polyunsaturated

Common name	Lipid name	Chemical name
Linoleic acid	18:2 (n-6)	<i>all-cis</i> -9,12-octadecadienoic acid
Gamma-linolenic acid (GLA)	18:3 (n-6)	<i>all-cis</i> -6,9,12-octadecatrienoic acid
Eicosadienoic acid	20:2 (n-6)	<i>all-cis</i> -11,14-eicosadienoic acid
Dihomo-gamma-linolenic acid (DGLA)	20:3 (n-6)	<i>all-cis</i> -8,11,14-eicosatrienoic acid
Arachidonic acid (AA)	20:4 (n-6)	<i>all-cis</i> -5,8,11,14-eicosatetraenoic acid
Docosadienoic acid	22:2 (n-6)	<i>all-cis</i> -13,16-docosadienoic acid
Adrenic acid	22:4 (n-6)	<i>all-cis</i> -7,10,13,16-docosatetraenoic acid
Docosapentaenoic acid (Osbond acid)	22:5 (n-6)	<i>all-cis</i> -4,7,10,13,16-docosapentaenoic acid
Tetracosatetraenoic acid	24:4 (n-6)	<i>all-cis</i> -9,12,15,18-tetracosatetraenoic acid
Tetracosapentaenoic acid	24:5 (n-6)	<i>all-cis</i> -6,9,12,15,18-tetracosapentaenoic acid

ตารางที่ 6 การเรียกชื่อกรดไขมัน Omega-9 fatty acids, mono- and polyunsaturated

Common name	Lipid name	Chemical name
Oleic acid [†]	18:1 (n-9)	<i>cis</i> -9-octadecenoic acid
Eicosenoic acid [†]	20:1 (n-9)	<i>cis</i> -11-eicosenoic acid
Mead acid	20:3 (n-9)	<i>all-cis</i> -5,8,11-eicosatrienoic acid
Erucic acid [†]	22:1 (n-9)	<i>cis</i> -13-docosenoic acid
Nervonic acid [†]	24:1 (n-9)	<i>cis</i> -15-tetracosenoic acid
[†] Monounsaturated		

ตารางที่ 7 การเรียกชื่อกรดไขมัน Conjugated fatty acids have two or more conjugated double bonds

Common name	Lipid name	Chemical name
<i>Conjugated Linoleic Acids (two conjugated double bonds)</i>		
<u>Rumenic acid</u>	18:2 (n-7)	9Z,11E-octadeca-9,11-dienoic acid
	18:2 (n-6)	10E,12Z-octadeca-9,11-dienoic acid
<i>Conjugated Linolenic Acids (three conjugated double bonds)</i>		
<u>α-Calendic acid</u>	18:3 (n-6)	8E,10E,12Z-octadecatrienoic acid
<u>β-Calendic acid</u>	18:2 (n-6)	8E,10E,12Z-octadecatrienoic acid
<u>Jacaric acid</u>	18:3 (n-6)	8E,10E,12Z-octadecatrienoic acid
<u>α-Eleostearic acid</u>	18:3 (n-5)	9Z,11E,13E-octadeca-9,11,13-trienoic acid
<u>β-Eleostearic acid</u>	18:3 (n-5)	9Z,11E,13E-octadeca-9,11,13-trienoic acid
<u>Catalpic acid</u>	18:3 (n-5)	9Z,11Z,13E-octadeca-9,11,13-trienoic acid
<u>Punicic acid</u>	18:3 (n-5)	9Z,11Z,13E-octadeca-9,11,13-trienoic acid
<i>Other</i>		
<u>Rumelenic acid</u>	18:3 (n-3)	9E,11Z,15E-octadeca-9,11,15-trienoic acid
<u>α-Parinaric acid</u>	18:4 (n-3)	9E,11Z,13Z,15E-octadeca-9,11,13,15-tetraenoic acid
<u>β-Parinaric acid</u>	18:4 (n-3)	<i>all trans</i> -octadeca-9,11,13,15-tetraenoic acid
<u>Bosseopentaenoic acid</u>	20:5 (n-6)	5Z,8Z,10E,12E,14Z-eicosanoic acid

กรดไขมันโอเมก้า-3 (Ω-3 หรือ omega-3 เป็นกลุ่มของกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง เป็นหนึ่งในกรดไขมันจำเป็น (Essential Fatty acid) ที่ร่างกายมนุษย์ขาดไม่ได้ ซึ่งเป็นโครงสร้างไขมันสำคัญในสมองและจอประสาทตาในสูตรโครงสร้างโมเลกุลจะมีพันธะคู่อยู่ไม่น้อยกว่า 3 แห่ง โดยพันธะคู่แรกจะอยู่ที่ตำแหน่งของคาร์บอนตัวที่ 3 นับจากปลายโมเลกุลด้านที่มีกลุ่มเมธิล (methyl group) เข้าไป ส่วนพันธะคู่ต่อไปจะอยู่ตรงตำแหน่งคาร์บอนถัดไปครั้งละ 3 ตำแหน่ง กรดไขมันโอเมก้า-3 เป็นกรดไขมันที่มีบทบาทความสำคัญต่อการทำงานของสมอง ตับ และระบบประสาทเกี่ยวกับการพัฒนาเรียนรู้ รวมทั้งเกี่ยวกับเรตินาในการมองเห็นนอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อโภชนาการและสุขภาพของคนเรา ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอล และช่วยเพิ่ม HDL ในเลือดได้ และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและหน้าที่ของเกล็ดเลือด ดังนั้นจึงมีผลช่วยลดไขมันในเส้นเลือดและโรคหัวใจ กรดไขมันในกลุ่มนี้ ที่สำคัญคือ α -Linolenic acid (ALA; C18:3n3), Stearidonic acid (SDA; C18:4n3), Eicosatetraenoic acid (ETA; C20:4n3), Eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5n3), Docosapentaenoic acid (DPA; C22:5n3) และ Docosahexaenoic acid (DHA; C22:6n3) พบมากในปลาทะเล และ ปลาน้ำจืดบางชนิด

กรดไขมันโอเมก้า-6 มีส่วนช่วยป้องกันหลอดเลือดอุดตัน ช่วยลดความดันเลือด รักษาสมดุลของของเหลวในร่างกาย ลดความเจ็บปวดและการอักเสบ เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยในการทำงานของอินซูลินที่ควบคุมระดับน้ำตาลของร่างกาย กรดไขมันในกลุ่มนี้ ที่สำคัญ คือ Linoleic acid (LA; C18:2n6) และ Arachidonic acid (AA, ARA; C20:4n6) กรดไขมันโอเมก้า-9 ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด ทำให้เส้นเลือดไม่เกิดการอุดตัน ไม่เป็นโรคหัวใจ บำรุงสมองช่วยให้ความจำดี กรดไขมันในกลุ่มนี้ที่สำคัญ คือ Oleic acid (C18:1n9) และ Eicosenoic acid (C20:1n9) การเรียกชื่อกรดไขมันแสดงในตารางที่ 1-7

มีการศึกษาวิจัยในเรื่องกรดไขมันในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เพิ่มขึ้น สิ่งมีชีวิตที่นำมาศึกษามีทั้งพืช สัตว์และจุลินทรีย์ โดยพบองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างที่ศึกษาโดยส่วนมากมีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ C16-18 ตัว กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), และ linolenic acid (C18:3) เป็นต้น (วิชชุ ลิขิตมานิตย์, 2540) ในการศึกษาปริมาณกรดไขมันที่พบในจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นั้นจะพบกรดไขมันต่างชนิดกันน้อยแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ โดยมีรายงานว่าจุลินทรีย์พวกโปรคาริโอต ได้แก่ แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรีย และพวกยูคาริโอต ได้แก่ รา โปรโตซัว และสาหร่าย จะมีองค์ประกอบของกรดไขมันต่างกัน โดยแบคทีเรียต่าง ๆ นั้นจะพบว่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว oleic acid (C18:1) อยู่เป็นจำนวนมาก และในแบคทีเรียบางชนิดจะพบ EPA ประกอบอยู่ด้วย (Dennis, 1993)

กรดไขมันนอกจากมีประโยชน์ด้านการแพทย์แล้ว ยังมีประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานด้านการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย โดยใช้อัตราส่วนประกอบกรดไขมันเป็นตัวจำแนก (พนิดา พงศ์ภาณุมาพร, 2543) การใช้อัตราส่วนประกอบกรดไขมันในการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์นั้น มีใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งในเชื้อ

แบบที่เรีย ยีสต์และรา และยังมีประโยชน์ในการแยกความแตกต่างของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ที่คล้ายกันมากออกจากกันได้

จากรายงานของ นลินี เพชรเทียนชัย (2545) กล่าวว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) เป็นกลุ่มของกรดไขมันที่มีจำนวนของพันธะคู่ในสายโซ่คาร์บอน ตั้งแต่ 2 พันธะขึ้นไป จำแนกออกเป็นกลุ่มตามตำแหน่งของพันธะคู่แรก ในสายคาร์บอนเมื่อนับจากปลายเมทิล (methyl end) ได้ 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะกลุ่มโอเมก้า-3 (n-3-PUFAs) กลุ่มโอเมก้า-6 (n-6-PUFAs) และกลุ่มโอเมก้า-9 (n-9-PUFAs) กรดไขมันเหล่านี้มีความสำคัญคือ เมื่อสะสมเป็นปริมาณมากในเมมเบรนของเซลล์ต่าง ๆ จะมีผลทำให้เมมเบรนมีคุณสมบัติในการไหล (fluidity) และการยืดหยุ่น (flexibility) ทำให้สิ่งมีชีวิตสามารถปรับตัวเข้ากับสภาวะแวดล้อมในการเจริญที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้ยังควบคุมพฤติกรรมของโปรตีนที่จับอยู่กับเมมเบรน (membrane bound proteins) ในมนุษย์ กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ กลุ่มโอเมก้า-3 และกลุ่มโอเมก้า-6 ที่มีจำนวนคาร์บอน 20 อะตอม คือ arachidonic acid (all-*cis*-5,8,11,14,-eicosatetraenoic acid, 20:4n6) หรือ AA และ eicosapentaenoic acid (all-*cis*-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid, 20:5n3) หรือ EPA จะถูกใช้เป็นสารตั้งต้น (precursor) ของ eicosanoid ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่คล้ายฮอร์โมน ได้แก่ พรอสตาแกลนดิน (prostaglandins), ทรอมบอกเซน (thromboxanes) และลิวโคไตรอีน (leucotrienes) ซึ่ง eicosanoid ที่สังเคราะห์จากกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความแตกต่างกันทั้งในแง่โครงสร้างและหน้าที่ และในบางครั้งทำหน้าที่เป็นปรปักษ์ต่อกัน (antagonistic) (Marcur, 1984) โดยที่ eicosanoid เหล่านี้ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบหัวใจและการหมุนเวียนโลหิต ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนจากต่อมพิทูอิทารีและไฮโปธาลามัส ถ้าระดับของ eicosanoid ทั้ง 2 กลุ่มไม่อยู่ในสมดุลจะมีผลให้เกิดโรคในระบบต่าง ๆ ที่สารเหล่านี้ทำหน้าที่เกี่ยวข้อง นอกจากนี้ยังพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะกลุ่มโอเมก้า-3 ชนิด docosahexaenoic acid (all-*cis*-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid, 22:6n3) หรือ DHA มีความจำเป็นต่อการพัฒนาการของระบบการมองเห็น (visual function) และการพัฒนาการของสมอง (brain development) ในมนุษย์ (Simopoulos, 1991) PUFAs มีความสำคัญและจำเป็นกับทุกอวัยวะของร่างกายเพื่อการทำงานที่เป็นปกติ แต่เนื่องจากเซลล์ของมนุษย์สามารถเปลี่ยน linoleic acid (18:2n6) หรือ LA ไปเป็น AA [Arachidonic; C20:4n6] และเปลี่ยน α -linolenic acid (18:3n3) หรือ ALA ไปเป็น EPA และ DHA ได้ในอัตราที่ช้ามาก โดยปฏิกิริยาถูกจำกัดในช่วงของการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ Δ 6-desaturase ทำให้กรดไขมันจำเป็นเหล่านี้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหาร โดยมีน้ำมันปลาเป็นแหล่งของ EPA และ DHA และมี evening primrose oil เป็นแหล่งของ γ -linolenic acid หรือ GLA (C20:3n6) ซึ่งจะเปลี่ยนไปเป็น AA ได้อย่างรวดเร็วโดยเซลล์ตับ เนื่องจากไม่ถูกจำกัดจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ Δ 6-desaturase แต่กรดไขมันจำเป็นในพืชเหล่านี้จะมีปริมาณมากหรือน้อยจะมีผลมาจากสภาพการเพาะปลูก สายพันธุ์ ความอุดมสมบูรณ์ของดิน และในกรณีของปลาจะขึ้นกับฤดูกาลในการจับ สภาพแวดล้อม และสภาพภูมิประเทศ

โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาไม่สามารถผลิตกรดไขมันจำเป็นเหล่านี้ได้เองแต่ได้รับการสะสมผ่านโซ่อาหาร โดยมีแพลงก์ตอนพืชในทะเลเป็นผู้ผลิตลำดับแรก (Ackman, 1982) ซึ่งปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะที่สะสมผ่านโซ่อาหารมีอยู่ในปริมาณที่จำกัด (Cohen, 1994; Shirasaka และ Shimizu, 1995) เมื่อทำการสกัดจากน้ำมันปลาจะต้องใช้ปลาจำนวนมากและมีปัญหาทางด้านกลิ่นคาวปลา ทำให้มีความสนใจที่จะผลิตกรดไขมันจำเป็นเหล่านี้จากจุลินทรีย์ และพบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดทั้ง แบคทีเรีย รา และสาหร่าย ที่มีศักยภาพในการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ (Ackman, 1982) ในกลุ่มของจุลินทรีย์ระหว่าง แบคทีเรีย รา สาหร่าย ซึ่งพบว่ามีศักยภาพในการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะกลุ่มโอเมก้า-3 และโอเมก้า-6 แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีระยะในการเจริญสั้นที่สุด จึงเป็นแหล่งของกรดไขมันที่น่าสนใจที่จะใช้ผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะในทางการค้า นอกจากนี้ยังพบว่าผลการปรับสภาพแวดล้อมในการเจริญเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถควบคุมการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวในจุลินทรีย์ จึงได้มีการศึกษา สภาพแวดล้อมทางด้านกายภาพและทางเคมีบางประการเพื่อให้มีความเหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัว เช่น อุณหภูมิ pH เริ่มต้น อัตราการให้อากาศ และองค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวให้สูงขึ้นได้ (Seto และคณะ, 1984; Sukenik และคณะ, 1991; Yongmanitchai และ Ward, 1991)

กรดไขมันในจุลินทรีย์

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีกรดไขมันที่แตกต่างกัน ในสาหร่ายเซลล์เดียวส่วนใหญ่จะเป็นพวก even-chain saturated หรือพวก monounsaturated fatty acids ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัว กรดไขมันส่วนใหญ่จะไม่อยู่ในรูปกรดไขมันอิสระแต่จะมีโครงสร้างอยู่ในรูปของโมเลกุลเชิงซ้อน (complex molecules) เช่น acylglycerol, glycosylglycerol และ acylphosphoglycerol lipids ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมัน 7 ชนิด คือ myristic (C14:0), palmitic (C16:0), palmitoleic (C16:1n7), stearic (C18:0), oleic (C18:1n9), linoleic (C18:2n6) และ linolenic โดยพบอยู่ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (Harwood และ Russell, 1984) Shimen และคณะ (1989) พบว่าเชื้อรา *Mortierella alpina* 20-17 สามารถผลิตกรดไขมันที่มี AA (C20:4n6) ได้มากที่สุด ส่วนกรดไขมันอื่นๆในเส้นใยได้แก่ palmitic acid, stearic acid, oleic acid, LA (linoleic C18:2n6), ALA [α -linolenic acid (18:3n3)] และ GLA (C18:3n6) Anamnart และคณะ (1998) ได้รายงานผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Hansenula polymorpha* สายพันธุ์ CBS 1976 พบว่าประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว oleic acid (C18:1n9), GLA (C18:3n6) และ ALA (C18:3n3) ส่วนกรดไขมันในแบคทีเรียพบว่าเป็นสารประกอบพวก short-chain polyunsaturated fatty acid และบางส่วนเป็น linoleic acid (GLA) (Russell และ Nichols, 1999) สำหรับโปรโตซัว Sul และคณะ (2000) ได้ศึกษาใน *Parauronema acutum* พบว่ามีกรดไขมันหลายชนิดดังนี้ คือ กรดไขมันอิ่มตัว ได้แก่ myristic acid, palmitic acid และ stearic acid ซึ่งมีประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ ของ

กรดไขมันทั้งหมด กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ถึง 3 พันธะ ได้แก่ oleic acid, LA, ALA และ ETA ซึ่งมีอยู่ประมาณ 35-50 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ได้แก่ EPA และ DHA มีอยู่ประมาณ 16-25 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด Stredansky และคณะ (2000) ได้รายงานการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ ในรา *Pythium ultimum* พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ประกอบด้วย ข้าวบาร์เลย์ (28.5 เปอร์เซ็นต์) spent malt grains (5.75 เปอร์เซ็นต์) น้ำมันลินสีด (5.75 เปอร์เซ็นต์) และสารละลายอาหาร (60 เปอร์เซ็นต์) ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน จะพบกรดไขมัน ดังนี้ คือ myristic (C14:0) ร้อยละ 6.8, palmitic (C16:0) ร้อยละ 14.1, palmitoleic (C16:1n7) ร้อยละ 2.3, stearic (C18:0) ร้อยละ 21.3, oleic (C18:1n9) ร้อยละ 22.3, linoleic (C18:2n6) ร้อยละ 20.4, α -linolenic (C18:3n3) ร้อยละ 19.6, arachidonic (C20:4n6) ร้อยละ 5.9 และ eicosapentaenoic (C20:5n3) ร้อยละ 7.9

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มของจุลินทรีย์

องค์ประกอบของกรดไขมันในจุลินทรีย์ทั้งชนิดและปริมาณของกรดไขมันจะขึ้นกับสภาพของการเพาะเลี้ยง ซึ่งปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มแสงในกรณีที่เป็นจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง และการให้อากาศ ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ องค์ประกอบของอาหาร ระดับของความดันออสโมติก (osmotic strength) นอกจากนี้สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ยังมีผลต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ สิ่งเหล่านี้มีผลต่อการสังเคราะห์และสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวของจุลินทรีย์อย่างมาก

อุณหภูมิ

จุลินทรีย์พวก psychophiles ที่มีอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญ (optimum temperature) ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส จะมีองค์ประกอบของกรดไขมัน เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกว่าพวก mesophiles (Erwin, 1973) และในพวก thermophiles จะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่น้อยมาก และเนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็น thermophiles คือจุลินทรีย์พวกโปรคาริโอต ดังนั้น จึงทำให้พบกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะได้ยากใน แบคทีเรีย และ Cyanobacteria Lynch และ Thomson (1982) รายงานว่าอุณหภูมิมีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในเซลล์สาหร่ายสีเขียว ที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ 12 องศาเซลเซียส โดยจะมีปริมาณฟอสโฟลิปิด และ โกลโคลิปิด เพิ่มมากกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส Harwood (1984) พบว่าการเจริญที่อุณหภูมิต่ำ สามารถชักนำ ให้มีการเพิ่มการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวมากขึ้น เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงของสภาวะการเป็นของเหลวในเมมเบรน หรือเพิ่มการละลายของออกซิเจนที่อุณหภูมิต่ำ

Adams และ Russell (1992) รายงานว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรีย *Vibriocoryella* จาก 30 องศาเซลเซียส เป็น 37 องศาเซลเซียส จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงในองค์ประกอบฟอสโฟลิปิด แต่เมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงเป็น 10 องศาเซลเซียส หรือ 4 องศาเซลเซียส จะมีการเปลี่ยนแปลงของไขมัน 2 ชนิดคือ phosphatidylethanolamine และ phosphatidylglycerol ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เป็นผลให้ palmitic acid ลดลง แต่ oleic acid จะเพิ่มขึ้น Hamamoto และคณะ (1994) ทดลองเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *Vibrio* sp. strain 5710

ที่มีความสามารถในการผลิต DHA ที่อุณหภูมิ 0 และ 10 องศาเซลเซียส คือเมื่อแบคทีเรียเจริญอยู่ในระยะ stationary phase ได้เปลี่ยนอุณหภูมิการเพาะเลี้ยงจาก 0 องศาเซลเซียสเป็น 10 องศาเซลเซียส และในทางกลับกัน เปลี่ยนอุณหภูมิการเพาะเลี้ยงจาก 10 องศาเซลเซียส เป็น 0 องศาเซลเซียส พบว่า DHA ที่แบคทีเรียผลิตมีปริมาณลดลงในการทดลองชุดแรก และเพิ่มขึ้นในการทดลองชุดที่สอง Marr และ Ingraham (อ้างโดย Kaneko และคณะ, 2000) ได้รายงานเป็นครั้งแรก ว่าองค์ประกอบกรดไขมันของเมมเบรนฟอสโฟลิปิดใน *E. coli* จะเปลี่ยนแปลงเพื่อตอบสนองต่ออุณหภูมิที่เชื้อเจริญ หลังจากนั้นได้มีการค้นคว้าวิจัยเป็นจำนวนมากเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเมมเบรนที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะมีการรวมตัวกันของกรดไขมันอิ่มตัวในส่วนฟอสโฟลิปิดของเมมเบรน ฟอสโฟลิปิดที่มี unsaturated fatty acyl chain จะมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าและมีความยืดหยุ่นมากกว่าฟอสโฟลิปิดที่มี saturated fatty acyl chain (Kaneko และคณะ, 2000) นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Jiang และ Chen (2000b) ที่ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิ และการเปลี่ยนอุณหภูมิต่อการผลิต DHA ในสาหร่ายทะเล *Cryothecodinium cohnii* พบว่าสาหร่ายชนิดนี้เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 15-30 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิสูง (30 องศาเซลเซียส) จะให้อัตราการเจริญจำเพาะสูง แต่ที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้การสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะเกิดได้ดี ปริมาณ DHA สูงสุดได้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ในช่วง stationary phase ตอนต้น แต่ความสามารถในการผลิต DHA ได้ในปริมาณสูงนั้นได้จากการเปลี่ยน อุณหภูมิจากอุณหภูมิสูงไปอุณหภูมิต่ำ โดยเปลี่ยนจากอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (48 ชั่วโมง) ไปที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส (24 ชั่วโมง) โดยจะพบว่าปริมาณ DHA เพิ่มขึ้น 19.9 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถในการผลิตเพิ่มขึ้น 6.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (72 ชั่วโมง)

การให้อากาศ

จุลินทรีย์ที่สังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ โดยใช้วิถี aerobic ต้องการออกซิเจนในการทำให้เกิดพันธะคู่ในสายโซ่คาร์บอน (desaturation) ของกรดไขมัน การให้อากาศอย่างเพียงพอมีผลทำให้มีการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะมากขึ้น (Erwin, 1973; Choi และคณะ, 1982)

ระดับความดันออสโมติก

มีรายงานถึงความดันออสโมติกที่มีผลต่อการปรับสภาพของเซลล์จุลินทรีย์ เพื่อตอบสนองต่อความดันออสโมติกที่เปลี่ยนแปลงด้วยการปรับสภาพความคงตัวของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane rigidity) ซึ่งปริมาณ DHA และ EPA มีผลต่อการปรับสภาพผนังเซลล์ โดยพบว่าเมื่อปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ลดลง (จากร้อยละ 7 จนถึง 3.5) เซลล์จะมีการสร้างกรดไขมัน EPA และ DHA เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างกรดไขมัน EPA และ DHA จะขึ้นอยู่กับธรรมชาติของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ด้วย (Singh และ Ward, 1997; Nichols และคณะ, 1990) Intrigato และ Floodgate (1991) รายงานการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะในแบคทีเรีย *Flexibacter* strain Inp เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือต่างๆ กัน พบว่าเมื่ออาหารมีระดับความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นแบคทีเรียจะมีการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะชนิด LA และ ALA เพิ่มขึ้น และจากการทดลองของ Intrigato

(1992) ซึ่งทดลองกับแบคทีเรีย *Flexibacter* strain Inp3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่อยู่ในสภาวะปกติของการเจริญไม่พบว่าการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของซูโครสเท่ากับ 12 เปอร์เซ็นต์ และอาหาร starch-Inp ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่าการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะชนิด LA และ ALA นอกจากนี้ยังพบว่าชนิดของเกลือ มีผลต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะของ *Flexibacter* strain Inp3 โดยเกลือโซเดียมคลอไรด์ให้ผลผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะสูงกว่าเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ เมื่อใช้ในความเข้มข้นเท่ากัน และพบว่าการเติมเกลือแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร มีการเหนี่ยวนำ ให้มีการผลิตทั้งกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะชนิด LA และ ALA ในขณะที่การเติมเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.7 กรัมต่อลิตรและเกลือแมกนีเซียมคลอไรด์เข้มข้น 11.2 กรัมต่อลิตร จะมีการเหนี่ยวนำ ให้มีการผลิตเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะชนิด LA เท่านั้น

pH เริ่มต้น

pH ที่เหมาะสมต่อการสร้างกรดไขมันจะอยู่ในช่วงระหว่าง 5.0-8.0 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ (Singh และ Ward, 1997) โดยที่การสร้างกรดไขมัน EPA และ DHA ของจุลินทรีย์ ที่ดีที่สุดเมื่อ pH ค่อนข้างเป็นกลาง (Singh และ Ward, 1997; Akimoto, 1990) ต่อมา Enomoto และ Koyama (1999) ได้ศึกษาผลของ pH ในการเจริญของ alkaliphilic bacteria ต่อปริมาณฟอสโฟลิปิดบริเวณเมมเบรน พบว่าเชื้อ aerobic alkaliphile YN-2000 และ facultatively anaerobic alkaliphile BL-77/1 สามารถเจริญในช่วง pH กว้าง ๆ คือ 7-10.5 แต่ปริมาณฟอสโฟลิปิดบริเวณเมมเบรนของแบคทีเรียทั้งสองที่เจริญ ที่ pH 10 จะมากกว่าเมื่อเลี้ยงที่ pH 7.5 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ phospholipid นี้ อาจเกิดจากที่ pH 10 มีประจุลบบนเมมเบรนของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของ acidic phospholipid เช่น cardiolipin (CL) และ phosphatidylglycerol (PG)

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

จุลินทรีย์แต่ละชนิดอาจมีความต้องการชนิดและปริมาณสารอาหารเพื่อการเจริญ และการสร้างผลิตภัณฑ์หรือสารต่าง ๆ แตกต่างกัน แม้แต่ในสายพันธุ์เดียวกันหากเลี้ยงด้วยสารอาหารต่างกันก็อาจทำให้การเจริญและการสร้างผลิตภัณฑ์หรือสารต่าง ๆ แตกต่างกันไป จากการศึกษาการเจริญและการสร้างกรดไขมัน EPA ของแบคทีเรียที่แยกได้จากสาหร่ายทะเลโดย Akimoto และคณะ (1990) พบว่าการเจริญสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารอาหารเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณกรดไขมัน EPA ต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ลดลง และกรดไขมันบางชนิด เช่น oleic acid, LA และ ALA มีผลต่อการสร้างกรดไขมัน EPA ของจุลินทรีย์บางชนิด ซึ่งเป็นผลมาจากการที่กรดไขมันเหล่านี้มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในกลไกการทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Ward, 1995) ดังนั้นองค์ประกอบและปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมจึงจะทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญและสร้างกรดไขมัน EPA และ DHA ได้ดี

แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นแร่ธาตุที่สำคัญต่อการเจริญและการสังเคราะห์กรดไขมันของจุลินทรีย์ โดยพบว่าทั่วไปแล้วจุลินทรีย์จะสามารถใช้กลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเจริญและการเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ratledge, 1989) นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N) สูง หมายความว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีคาร์บอนสูงและมีไนโตรเจนต่ำจะส่งผลในการสะสมไขมันเกิดขึ้นได้ดีด้วย (Ratledge, 1989) ในแบคทีเรีย *Flexibacter* strain Inp (Intriago และ Floodgate, 1991) ชนิดของคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีผลต่อปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะที่แบคทีเรียผลิต พบว่าเมื่อใช้ casamino acid, Tween 80, glycerol, glucose, starch, lactose และ gluconate เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า glucose ให้ผลผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะสูงที่สุด (LA; 17.7 เปอร์เซ็นต์ และ ALA; 2.25 เปอร์เซ็นต์) และการใช้ Tween 80 เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีการผลิตเฉพาะ LA เท่านั้นไม่พบว่าการผลิต ALA Singh และคณะ (1997) รายงานผลของชนิดของแหล่งคาร์บอนต่อการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะบางชนิดโดยเฉพาะ DHA พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงรา *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี glucose, fructose และ lactose เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าการเจริญและการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะสูงที่สุดเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนแหล่งคาร์บอนอื่นๆ การเจริญและการผลิตกรดไขมันในเซลล์ก็ต่ำด้วยซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าแหล่งคาร์บอนเหล่านี้จะจำกัดการเจริญและการสร้างกรดไขมันของรา Yokochi คณะ (1998) ได้รายงานผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต DHA ในรา พบว่าเมื่อใช้ glucose, fructose, glycerol, oleic acid หรือ linseed oil เป็นแหล่งคาร์บอนจะให้น้ำหนักเซลล์แห้งและกรดไขมันในระดับสูง แต่เมื่อใช้ disaccharides และ polysaccharide จะให้การเจริญที่ไม่ดี ในกรณีที่ใช้ glucose, fructose และ glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนจะได้ปริมาณ DHA เท่ากับ 32.5 เปอร์เซ็นต์, 30.9 เปอร์เซ็นต์ และ 43.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะ palmitic acid จะอยู่ในช่วง 45-60 เปอร์เซ็นต์ และที่เหลือเกือบทั้งหมดจะเป็น DHA และ DPA ส่วนปริมาณของ EPA และ AA พบว่ามีน้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อใช้ oleic acid หรือ linseed oil เป็นแหล่งคาร์บอนจะได้น้ำหนักเซลล์แห้งและกรดไขมันทั้งหมดในระดับสูง แต่ปริมาณ DHA จะลดลงต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ และได้ผลผลิตน้อย

ไนโตรเจน

ปริมาณของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะที่จุลินทรีย์ผลิต Piorreck และคณะ (1984) พบว่าความเข้มข้นของโปแตสเซียมไนเตรทในอาหารเพาะเลี้ยง มีผลต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะใน cyanobacteria ชนิด *Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria ruescens* และ *Spirulina platensis* ต่าง ๆ กัน Suenik และคณะ (1991) รายงานผลของไนโตรเจนที่มีต่ออัตราการเจริญและอัตราการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ โดยเฉพาะ EPA ในสาหร่าย *Nannochloropsis* sp. พบว่าการเพาะเลี้ยงที่มีระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารต่ำจะมีผลไปลดอัตราการเจริญและทำให้อัตราการผลิตมวลชีวภาพลดลง แต่มีการสังเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในเซลล์

สูงขึ้นเล็กน้อย อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงจะทำให้มีระดับมวลชีวภาพสูงและมีผลทำให้เพิ่มอัตราการผลิตกรดไขมัน EPA สูงขึ้นCohen (1994) รายงานผลของภาวะการขาดไนโตรเจนในสาหร่ายน้ำจืด *Monodus subterraneus* ว่ามีผลต่อการเพิ่มปริมาณกรดไขมันในเซลล์ แต่อัตราส่วนของกรดไขมัน EPA ลดลงถึง 19.5 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณการผลิต EPA ลง 1.8 เปอร์เซ็นต์นั่นคือ ภาวะการขาดไนโตรเจนจะเพิ่มกรดไขมันในสาหร่ายหลาย ๆ สปีชีส์ แต่จะมีผลในการลดสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะลงMcGinnis และคณะ (1997) พบว่าภาวะการขาดไนโตรเจนจะไปกระตุ้นการสะสมกรดไขมันในสาหร่าย *Chaetoceros muelleri* และเพิ่มการสร้าง triacylglycerol ในไดอะตอมหลาย ๆ ชนิด Yokochi และคณะ (1998) ได้รายงานผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต DHA ในรา *Schizochytrium limacinum* SRR1 พบว่าเมื่อใช้ corn steep liquor เป็นแหล่งไนโตรเจนจะทำให้ผลผลิตของกรดไขมันทั้งหมดสูงที่สุด โดยอัตราส่วนของปริมาณกรดไขมันทั้งหมดต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ corn steep liquor จะสูงกว่าเป็นสองเท่าของเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ yeast extract และมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยระหว่างองค์ประกอบของกรดไขมันของเชื้อที่เจริญบน yeast extract และที่เจริญบน cornsteep liquor

วิตามิน

Yongmanitchai และ Ward (1991) รายงานผลของความต้องการวิตามินที่ใช้ในการเจริญและการผลิตกรดไขมัน EPA ใน *Phaeodactylum triconutum* พบว่า วิตามิน บี1 และวิตามิน บี 12 ไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการเจริญ แต่วิตามิน บี 12 มีผลต่อการเพิ่มอัตราการผลิตกรดไขมัน EPA ได้สูงถึง 65 เปอร์เซ็นต์ Nichols และคณะ (1994) ศึกษาการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะใน แบคทีเรีย *Shewanella putrifaciens* โดยการเพิ่มความเข้มข้นของ biotin และลดความเข้มข้นของ peptone และ yeast extract (low nutrient) ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงลง พบว่าปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีองค์ประกอบต่าง ๆ ปกติ อาหารที่มี low nutrient มีปริมาณผลผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะเพิ่มขึ้น ในขณะที่อาหารที่มีความเข้มข้นของ biotin มากขึ้นมีปริมาณผลผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะลดลง

อายุของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์หลายชนิดมีการสะสมไขมันสำหรับใช้เป็นพลังงานเมื่อเซลล์มีอายุมากขึ้น ซึ่งไขมันเหล่านี้ประกอบไปด้วยกรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัวพันธะเดี่ยว(monoenoic fatty acid) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะในจุลินทรีย์มีลักษณะเป็น Sigmoid curve เช่นเดียวกับลักษณะการเจริญ โดยจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งถึงจุดสูงสุดที่ late log phase หรือ early stationary phase และหลังจากนั้นจะมีการลดลงอย่างเห็นได้ชัดในช่วง late stationary phase และ death phase (Erwin, 1973) แต่ในแบคทีเรีย *Shewanella putrifaciens* ACAM342 (Nichols และคณะ, 1994) ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะที่จุลินทรีย์ผลิตใน exponential phase มีปริมาณสูงกว่าใน stationary phase และในกรณีของโปรโตซัวสังเคราะห์แสง *Ochromonas danica* (Gellerman และSchlenk,

1979), ไดอะตอมทะเลชนิด *Phaeodactylum tricornutum* (Yongmanitchai และ Ward, 1991a) และราใน Genus *Mortierella* บางชนิด (Shimizu และคณะ, 1989; Shinmen และคณะ, 1989) ปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะจะเพิ่มขึ้นตามอายุของจุลินทรีย์

จากการศึกษาของ Manjari และคณะในปี 2009 พบองค์ประกอบกรดไขมันจากไขมันที่สกัดจากฟองน้ำทะเล *Fasciospongia cavernosa* (Schmidt) ที่เก็บจากอ่าว Bengal (Orissa Coast) เป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) 30.79% กรดไขมันชนิด SFAs 33.05%, branch SFAs 9.30%, MUFA 18.07% และตัวที่พบได้แก่ C18:2n6 = 11.14%, 18:3n3 = 1.99%, 20:3n6 = 2.03%, 20:4n3 = 0.5% และจากการศึกษาศักยภาพของฟองน้ำและสาหร่ายค้ำ marine biotechnology (Rene H. Wijffels, 2007) ผู้วิจัยกล่าวว่าฟองน้ำมีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีศักยภาพสามารถนำมาพัฒนาเป็นยาได้แม้ว่าจะมีปัญหาขาดแคลนตัวอย่าง แต่ก็มียางวิจัยที่จะแก้ปัญหานี้ เช่น การทำ metagenomics, genome fragments. และจากการศึกษาของ Sree, 2001 ที่ทำการศึกษากลับประกอบกรดไขมันในฟองน้ำทะเล 17 ชนิด จากชายฝั่ง Orissa coast พบกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและชนิดไม่อิ่มตัว และในตัวอย่างฟองน้ำ *Plakina monolopha*, *Callispongia* sp. มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ พบกรดไขมัน oleic acid ถึงร้อยละ 40 และจากการศึกษาของ Genin E., et al (2008) ที่ทำการศึกษานิคมของไขมันใน phospholipids จากฟองน้ำทะเล 22 species 19 genera 15 families ที่เก็บจากสถานที่ที่แตกต่างกันบริเวณ East Atlantic, North Atlantic และ South-West Pacific, Mediterranean sea, Red sea, Arabian - Persian Gulf พบไขมันในตัวอย่างฟองน้ำส่วนใหญ่เป็น Phosphatidyl ethanolamine (PE), Phosphatidylcholine (PC).

จากความสัมพันธ์ระหว่างฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำซึ่งเป็นความสัมพันธ์ที่ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์งานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดนี้ เช่น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เป็นต้น จากประสิทธิภาพของฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำทางด้านเภสัชภัณฑ์ ทำให้เกิดสิ่งที่น่าสนใจในด้านการนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และเภสัชภัณฑ์เพื่อลดต้นทุนการเพาะเลี้ยง กล่าวคือเมื่อสกัดสารจากฟองน้ำธรรมชาติและจากแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำแล้วทราบถึงชนิดและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำวัยอ่อนและแบคทีเรียใดที่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ดี โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่ม PUFA เช่น 20:5 n-3 และ 22:6 n-3 เป็นต้น ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปเป็นประโยชน์ด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือเภสัชภัณฑ์ชนิดอื่นเช่น โรติเฟอร์ หรือลูกหอยวัยอ่อน ซึ่งการนำไปใช้อาจเป็นการเลี้ยงด้วยแบคทีเรียชนิดเดียวหรือเลี้ยงเสริมกับอาหารชนิดอื่น

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษากรดไขมันในแบคทีเรียและการนำแบคทีเรียไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ซึ่งผลการศึกษาที่มีความหลากหลายแตกต่างกันดังนี้

Brown et al 1996 ศึกษาองค์ประกอบคุณค่าทางอาหารของแบคทีเรียทะเล 7 ชนิด ได้แก่ *Aeromonas* sp. ACM 4771 *Derxia* sp. ACM 4771 *Derxia* sp. ACM 4772 *Derxia* sp. ACM 4773 *Methylophilus methylotrophus* NCIB 10515 *Pseudomonas testosteroni* ACM 4768 *Pseudomonas*

พ.ศ. 4

พ.ศ. 14

พ.ศ. 9

พ.ศ. 9

335549

testosteroni ACM 4769 *Pseudomonas* sp. ACM 4770 และยีสต์ 6 ชนิด *Debaryomyces hansenii* ACM 4784 *Dipodascus capitatus* ACM 4779 *Dipodascus* sp. ACM 4780 *Dipodascus* sp. 4778 *Dipodascus* sp. ACM 4781 *Dipodascus* sp. ACM 4782 เพื่อใช้เป็นอาหารของลูกหอยวัยอ่อน โดยเปรียบเทียบผลกับ ยีสต์ 2 ชนิดที่ใช้กันทั่วไปคือ *Candida utilis* ACM 4774 *Saccharomyces cerevisiae* ACM 4775 ผล การศึกษาพบว่าทั้งยีสต์และแบคทีเรียมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก (25-49 % น้ำหนักแห้ง) มีไขมันเป็น องค์ประกอบ 2.5-11.5 % น้ำหนักแห้ง) และทั้งยีสต์และแบคทีเรียไม่มี กรดไขมัน 20:5 n-3 และ 22:6 n3 ซึ่ง Brown ได้สรุปว่าสามารถนำยีสต์และแบคทีเรียมาใช้เป็นอาหารได้โดยนำมาเป็นส่วนผสมของอาหารที่ให้

Leonardos and Lucas, 2000 อ้างถึง Yasuda and Taga, 1980 Intrigo and Jones, 1993 รายงานถึงการ ใช้แบคทีเรียเป็นอาหารสัตว์น้ำว่าแบคทีเรียบางชนิดเมื่อใส่ร่วมกับแพลงก์ตอนพืชที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน (อาร์ทีเมีย) ทำให้สัตว์น้ำวัยอ่อนมีการเจริญเติบโตดีขึ้นมากกว่าเลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืชอย่างเดียว นอกจากนี้ Douillet and Langdon, 1993, 1996 ได้ทดลองเลี้ยงลูกหอย *Crassostrea gigas* พบว่าแบคทีเรีย ชนิด axenic ที่มีในระบบเลี้ยงลูกหอยทำให้ลูกหอยมีการเจริญเติบโตดีขึ้น อ้างโดย Leonardos and Lucas, 2000

Intrigo and Jones, 1993 ทดลองเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยอาหารที่มีแบคทีเรีย *Flexibacter* 18 mg/l เป็น ส่วนผสมร่วมกับคริลเลสเตอร์ล 100 µg/l และ 500 µg/l และเลี้ยงร่วมกับ 5 cells/µl of *Rhodomonas* (0.25, 0.5, 2.5 mg/l) เปรียบเทียบกับเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีแบคทีเรีย *Flexibacter* เป็นส่วนผสม ได้แก่ 10 cells/µl แพลงก์ตอนพืช (0.50 mg/l), 20 cells/µl แพลงก์ตอนพืช (1.0 mg/l), 50 cells/µl แพลงก์ตอนพืช (2.50 mg/l), 100 cells/µl แพลงก์ตอนพืช (5.00 mg/l) และเปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยแบคทีเรีย *Flexibacter* strain Inp3 18 mg/l อย่างเดียว พบว่าสามารถเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยแบคทีเรีย *Flexibacter* strain Inp3 อย่างเดียวได้โดยที่ได้อัตราการรอดตายมีความแตกต่างกันเล็กน้อย แต่น้ำหนักแห้งและความยาว แตกต่างกัน อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรีย *Flexibacter* ร่วมกับแพลงก์ตอนพืช 50 cells/µl มีการ เจริญเติบโตดีที่สุด และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรีย *Flexibacter* ร่วมกับแพลงก์ตอนพืช 100 cells/µl มี กรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน PUFA มากที่สุด และสรุปว่าแบคทีเรียไม่ใช่เป็นอาหารเพียงอย่าง เดียวแต่ยังช่วยในการย่อยแพลงก์ตอนพืชด้วย

Nichols and McMeekin, 2002 ศึกษาแบคทีเรียที่สามารถผลิต polyunsaturated fatty acids เพื่อใช้ เป็นดัชนีชี้วัดทางชีววิทยา พบว่าแบคทีเรียกลุ่ม *Shewanella* และ *Colwellia* สามารถผลิต EPA ได้ เช่น 20:4 n-3 และ 22:6 n-3 แต่ไม่ทุกชนิดที่สามารถผลิตกรดไขมันได้

Nichols, 2003 ทบทวนรายงานการวิจัยในช่วง 16 ปีที่ผ่านมาถึงการกระจายและความอุดมสมบูรณ์ ของแบคทีเรียที่ผลิต PUFA ได้ ในสภาวะแวดล้อมทางทะเล พบว่าแบคทีเรียที่สามารถผลิต PUFA ได้อยู่ใน สกุล *Shewanella*, *Colwellia*, *Moritella*, *Pseudomonas*, *Psychoroflexus* และ *Photobacterium* ซึ่งพบใน ลำไส้ปลิงทะเล ทะเลน้ำแข็งแอนตาร์กติก ตะกอนดิน หอย ด้อมหมึกของปลาหมึก ในทะเลลึกและในน้ำ ทะเลประเทศญี่ปุ่น นอกจากนี้ได้สรุปถึงบทบาทของแบคทีเรียในสภาวะแวดล้อมทางทะเล พบว่ามี 2 อย่าง

ได้แก่ เป็นแหล่งของอาหารขั้นต้นของสัตว์กินเนื้อ สัตว์หน้าดินสัตว์ที่กินอาหารโดยวิธีการกรองและเป็น ส่วนประกอบของชุมชนสัตว์ทะเล นอกจากนี้ยังรายงานเพิ่มเติมว่าสิ่งมีชีวิตเล็กๆในทะเลหลายชนิดไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมัน n-3 polyunsaturated (PUFA) ได้ ต้องอาศัยจากอาหารที่กินเท่านั้น

Shirasakawa *et al*, 1995 ศึกษาเชื้อ *Shewanella putrefaciens*, *Marinomonas communis*, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, ในลำไส้ปลาทะเลพบว่าเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตกรดไขมันชนิด Furan-ring

Doumenq *et al*, 1999 ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ได้แก่ชนิดแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ ระยะเวลาเจริญเติบโตและการให้และไม่ให้ออกซิเจนต่อองค์ประกอบกรดไขมันของเชื้อแบคทีเรีย denitrifying marine, *Pseudomonas nautica* strain IP 617 โดยใช้ n-eicosane, Sodium acetate และ rich medium เป็นแหล่งคาร์บอน และควบคุมอุณหภูมิที่ 13°C, 20°C และ 30°C ผลการศึกษาสามารถแบ่งตามลำดับความสำคัญต่อการผลิตกรดไขมันดังนี้ แหล่งคาร์บอน > อุณหภูมิ > ระยะเวลาเจริญเติบโต ≥ ออกซิเจน > ความแตกต่างระหว่างแหล่งคาร์บอน n-eicosane (nC20) กับอีก 2 ชนิด คือมีทั้งกรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันแบบมีกิ่งก้าน (20:1 n-9, 20:0) และ 10 methyl branched series) ส่วนผลของอุณหภูมิต่อ *Pseudomonas nautica* strain IP 617 พบว่ามีกระบวนการ acyl chain length thermoregulation ของกรดไขมัน monounsaturated ซึ่งเป็นกรดไขมันหลัก ซึ่งมีผลให้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นมีผลต่ออัตราส่วนของ $\Sigma C18:1 / \Sigma 16:1$ เพิ่มขึ้น ส่วนผลของระยะเวลาเจริญเติบโตและการให้ออกซิเจนไม่มีความแตกต่างกันต่อการผลิตกรดไขมัน

ในการวิจัยนี้มุ่งเน้นที่ศึกษาชนิดของไขมัน และองค์ประกอบกรดไขมันที่อยู่ในฟองน้ำทะเลและภายในเซลล์ของแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล ซึ่งรูปแบบของไขมันและกรดไขมัน ที่ได้อาจใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการช่วยจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และนำไปพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมาก อันจะเป็นทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สารเคมี

Methanol, AR grade	BDH, England
Chloroform, AR grade	BDH, England
n-Hexane, AR grade	Merck, Germany
Sulfuric acid, AR grade	Merck, Germany
Butylated hydroxytoluene (BHT), AR grade	Sigma, USA
Potassium chloride, AR grade	Merck, Germany
Sodium chloride, AR grade	Merck, Germany
Potassium hydrogen carbonate, AR grade	Fluka, Switzerland
Sodium sulfate anhydrous, AR grade	Merck, Germany
สารมาตรฐานกรดไขมัน PUFA No. 3	Supelco, USA
สารมาตรฐานเปรียบเทียบกับ (reference material)	Supelco, USA

Menhaden oil

Solidphase extraction (SPE) Agela Cleanert

แก๊สฮีเลียม

แก๊สไฮโดรเจน

แก๊สไนโตรเจน

Air zreo

เครื่องมือและอุปกรณ์

Gas Chromatograph Hewlett Packard รุ่น HP 5890 series II

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

Hot air oven Yamato, Japan

คอลัมน์กรดไขมัน Restex

กรวยแยกขนาด 2000 ml, 100 ml

ขวดลดปริมาตร

หลอดลดปริมาตร

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างฟองน้ำทะเลในเขตพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตั้งแต่เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2553 นำตัวอย่างแช่ในตู้แช่แข็ง เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

การเตรียมตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก Folch, 1959, Bligh and dyer, 1957)

นำตัวอย่างฟองน้ำแช่แข็งทิ้งไว้เย็นที่อุณหภูมิห้อง คัดแยกสิ่งปนเปื้อนออก จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนัก หั่นตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่อง Homogenizer ใช้ตัวทำละลายกลอโรฟอร์ม:เมทานอล (2:1) (สัดส่วน 10:1 สารละลาย:ตัวอย่าง)

เทสารละลายส่วนในสกรองผ่านกระดาษกรอง No. 1 เติมสารละลาย 0.88% KCl (1/4 ส่วนของสิ่งสกัด) เขย่าตั้งให้แยกชั้น นำสารละลายส่วนล่างกรองผ่านโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ

ทำการลดประมาตรสารที่สกัดโดยชุดระเหย (rotary evaporatory) ซึ่งน้ำหนักหาปริมาณไขมันรวม (total fat)

วิธีการเตรียมเชื้อจากตัวอย่างฟองน้ำทะเล

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำทะเล

1. เก็บตัวอย่างฟองน้ำ โดยนักดำน้ำแบบ scuba diving โดยตัดส่วนของฟองน้ำเก็บใส่ถุงที่ปิดสนิท พร้อมติดกระดาษบันทึกข้อมูล
2. ทำการตัดเนื้อเยื่อฟองน้ำเพื่อชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 5 กรัมแล้วล้างฟองน้ำเพื่อกำจัดสิ่งเจือปนออกด้วยน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อ
3. ทำการบดเนื้อเยื่อฟองน้ำ โดยใส่น้ำทะเลที่ฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 5 มิลลิลิตร หรือในอัตราส่วน 1:1 บดจนละเอียด
4. ดูดส่วนที่เป็นน้ำที่ได้จากการบดมา 1 มิลลิลิตร นำมาเจือจางแบบอนุกรมให้ได้ 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ และ 10⁻⁴ ในน้ำทะเลฆ่าเชื้อ
5. ดูดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10⁻³ และ 10⁻⁴ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell agar แล้วเกลี่ยกระจายบนพื้นหน้าอาหารให้ทั่ว (ทำ 2 ซ้ำ)
6. จากนั้นนำเชื้อไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 3-5 วัน ตรวจสอบผล โดยนับจำนวนโคโลนีทั้ง 2 ซ้ำ
7. เลือกโคโลนีที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันในแต่ละจานเพาะเชื้อของแต่ละตัวอย่างฟองน้ำ
8. นำโคโลนีที่เลือกมาทำให้บริสุทธิ์ (Purification) โดยเชี่ยเชื้อจากโคโลนีนั่นลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 1-2 วัน เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์เก็บรักษาสายพันธุ์ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium ที่มีปริมาณของวุ้น 0.3 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้

1. เมื่อได้เชื้อจากตอนที่ 1 แล้วนำมาเลี้ยงเพิ่มจำนวนโดยเชี่ยเชื้อที่ต้องการลงในอาหาร Modified Zobell medium ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง

2. ถ่ายเชื้อลงในอาหาร Modified Zobell medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง

4. ถ่ายเชื้อลงในอาหาร Modified Zobell medium ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่าง 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 วัน

ขั้นตอนการเก็บเซลล์

1. นำเชื้อที่เลี้ยงไปผ่านการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง High Speed Refrigerated Centrifuge ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส
2. นำส่วนของเซลล์ล้างด้วยโซเดียมคลอไรด์ (NaCl 0.85%)
3. นำเซลล์ที่ได้ชั่งน้ำหนัก และนำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันต่อไป

อาหารที่ใช้

Modified Zobell medium มีองค์ประกอบดังนี้

Proteose peptone No.3 (DIFCO)	1 กรัม
Yeast extract (MERCK)	1 กรัม
Phytone (BBL)	0.5 กรัม
Sodium thiosulfate	0.2 กรัม
Sodium sulfite	0.05 กรัม
Ferric citrate	1 มิลลิลิตร
น้ำทะเล	900 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร
ปรับ pH 7.5-7.6	

การแยก class ไขมัน (เทคนิค Solid phase extraction; SPE (<http://www.cyberlipid.org/fraction>))

เตรียม Solid phase extraction (SPE column) บรรจุด้วยซิลิกาเจลขนาด 500 mg/6 ml นำตัวอย่างไขมันปริมาณ 1 ml. ใส่ในคอลัมน์จากนั้นชะด้วยคลอโรฟอร์ม 10 ml, อะซิโตน:เมทานอล(9:1) 10 ml. และ เมทานอล 15 ml. เพื่อแยก class ของ neutral lipids, glycolipids และ phospholipids ตามลำดับ ทำการลดปริมาตร จากนั้นชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณเป็นร้อยละของไขมันในแต่ละส่วน/ปริมาณไขมันรวม

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมัน

การศึกษาหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำครั้งนี้วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันจำนวน 37 ชนิด Supelco 37-Component FAME Mix (47885-U) ได้แก่

Butyric Acid (C4:0), Caproic Acid (C6:0), Caprylic Acid (C8:0), Capric Acid (C10:0), Undecanoic Acid (C11:0), Tridecanoic Acid (C13:0), Myristic Acid (C14:0), Myristoleic Acid, (C14:1), Pentadecanoic Acid (C15:0), cis-10-Pentadecenoic Acid (C15:1), Palmitic Acid (C16:0), Palmitoleic Acid (C16:1), Heptadecanoic Acid (C17:0), cis-10-Heptadecenoic Acid (C17:1), Stearic Acid (C18:0), Oleic Acid (C18:1n9c), Elaidic Acid (C18:1n9t), Linoleic Acid (C18:2n6c), Linolelaidic Acid (C18:2n6t), γ -Linolenic Acid (C18:3n6), α -Linolenic Acid (C18:3n3), Arachidic Acid (C20:0), cis-11-Eicosenoic Acid (C20:1n9), cis-11,14-Eicosadienoic Acid (C20:2), cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid (C20:3n6), cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid (C20:3n3), Arachidonic Acid (C20:4n6), cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid (C20:5n3), Heneicosanoic Acid (C21:0), Behenic Acid (C22:0), Erucic Acid (C22:1n9), cis-13,16-Docosadienoic Acid (C22:2), cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid (C22:6n3), Tricosanoic Acid (C23:0), Lignoceric Acid (C24:0), Nervonic Acid (C24:1n9)

การวิเคราะห์กรดไขมัน (ดัดแปลงจากวิธี Christie, W. W. 1993)

นำตัวอย่างไขมัน ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม:เมทานอลให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ

การทำ methylation

-นำตัวอย่างไขมัน 1 มล บรรจุในหลอดทดลองเดิมสารละลาย 1% กรดซัลฟูริกในเมทานอล 10 มล เติม internal standard 1 มล นำไปใส่ตู้อบ 60°C เป็นเวลา 16 ชม. ตั้งทิ้งให้เย็น

-เติม 5 มล 5% โซเดียมคลอไรด์ เติมเฮกเซน 5 มล เขย่าตั้งให้แยกชั้น เก็บชั้นเฮกเซน สกัดซ้ำอีกครั้ง รวมส่วนของเฮกเซนไว้ด้วยกัน

-เติม 40 มล 2% โปตัสเซียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต เขย่าล้างตั้งให้แยกชั้น เก็บส่วนของ เฮกเซน (ชั้นบน) กรองผ่านโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ นำสารที่ได้ไปลดปริมาตรด้วยชุดระเหยและแก๊สไนโตรเจน

-เติมเฮกเซน 1 มล ลงในสิ่งสกัด นำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

การแยกและการตรวจวัด

สำหรับการวิเคราะห์หาชนิดของกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำ ใช้การเปรียบเทียบเวลาที่พิกของสารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์เทียบกับเวลาของสารมาตรฐานซึ่งทราบแล้วว่าแต่ละพิกเป็นสารมาตรฐานชนิดใด ส่วนการหาปริมาณของกรดไขมัน ทำโดยใช้การเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พิกของตัวอย่างกับพื้นที่ทั้งหมดการคำนวณ %กรดไขมันตามสูตร

$$\% \text{กรดไขมัน} = 100 \times \frac{\text{พื้นที่ใต้พีคของกรดไขมัน}}{A}$$

A = พื้นที่ใต้พีคกรดไขมันทั้งหมด - (พื้นที่ใต้พีคเฮกเซน + พื้นที่ใต้พีค BHT + พื้นที่ใต้พีค internal standard)

สถานะที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ Aglient 7820 A

คอลัมน์ Innovax Aglient J&W ขนาด 30 m. x 0.25 mm. x 0.25 μm . (length x id x film thickness)

แก๊สเคลื่อนที่	แก๊สฮีเลียม อัตราการไหล 1.1 มล/นาที
อุณหภูมิเตาอบ	120 °C 0.5 min
	120 °C $\longrightarrow$ 195 °C (5 min, 18 °C/min)
	195 °C $\longrightarrow$ 205 °C (7 min, 3 °C/min)
	205 °C $\longrightarrow$ 220 °C (10 min, 8 °C/min)
อุณหภูมิช่องฉีดสาร	240 °C
อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด	260 °C
เครื่องตรวจวัด	ชนิด Flame Ionization Detector (FID)
ชนิดการฉีด	split 10:1
ปริมาตรที่ฉีด	1 μl

การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์กรดไขมัน

ทำการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันของสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับ (Reference material) PUFA No.3 จาก Menhaden oil ตามขบวนการที่วิเคราะห์สารตัวอย่างได้ผลแสดงดัง ตารางที่ 8

ตารางที่ 8 Quality control data of fatty acid from Menhaden oil (n=3)

Fatty acid	Area Percent (%) reference material	Area Percent (%) from this study	% recovery
Myristic, C14:0	8.2	7.71	94.02
Palmitic, C16:0	15.4	15.53	100.84
Stearic, C18:0	8.2	2.96	105.71
Oleic, C18:1	8.2	7.19	105.73
Stearidonic, C18:4n3	3.8	3.71	97.63
EPA, C20:5n3	15.4	7.71	98.74
7,10,13,16,19- docosapentaenoic, C22:5n3	2.3	2.3	2.3
DHA, C22:6n3	10.7	10.87	101.59

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

จากการหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณ เกาะเต่า จังหวัด สุราษฎร์ธานี เดือนมีนาคม 2555 ทั้งหมด 2 ตัวอย่าง จำแนกออกได้เป็น 2 order ได้แก่ order Hadromerida family Spirastrellidae Ridley & Dendy, 1886 และ order Poecilosclerida family Desmacellidae Ridley & Dendy, 1886 รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 9

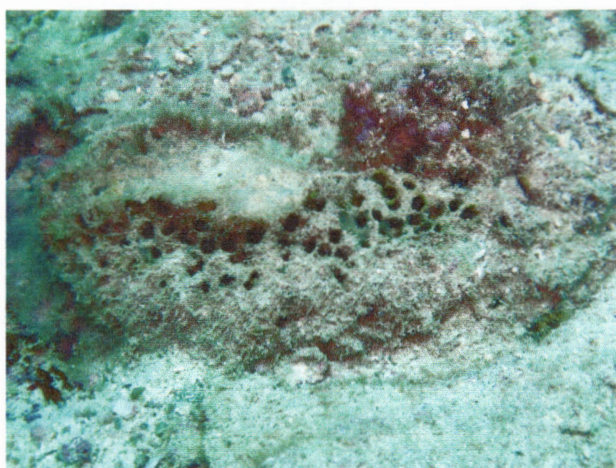
ตารางที่ 9 รายชื่อฟองน้ำและจุดเก็บตัวอย่าง

Field code	Order	Scientific name	Date	Collection site	Depth (m)
TAO 55-A-POR-01	Hadromerida	<i>Spheciospongia vagabunda</i> (Ridley, 1884)	25 มีค 55	กองทรายแดง (หินฉลาม) เกาะเต่า ทิศใต้	18
TAO55 B-POR-01	Poecilosclerida	<i>Biemna fortis</i> (Topsent, 1897)	25 มีค 55	จากบริเวณ อ่าวลึก ทิศเหนือ เกาะเต่า ทิศตะวันออกเฉียงใต้	8



ภาพที่ 1 ตัวอย่างฟองน้ำ TAO 55-A-POR-01

Spheciospongia vagabunda (Ridley, 1884)



ภาพที่ 2 ตัวอย่างฟองน้ำ TAO55-B-POR-01

Biemna fortis (Topsent, 1897)

ปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล

จากการหาปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล 2 ตัวอย่างจากเกาะเต่าจังหวัดสุราษฎร์ธานี พบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ 0.14 - 0.23 น้ำหนักสด ปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่าง ฟองน้ำ (TAO55-A-POR01) order Hadromerida ปริมาณต่ำสุดพบในตัวอย่างฟองน้ำ (TAO55-B-POR01) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีปริมาณต่ำกว่า ตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกซึ่งพบปริมาณไขมันสูงสุดในตัวอย่างฟองน้ำ *Hyrtics erecta* order Dictyoceratida (ร้อยละ 1.76) และตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณหมู่เกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบปริมาณไขมันสูงสุดในตัวอย่างฟองน้ำ *Cacospongia* sp. order Dictyoceratida (ร้อยละ 1.01) ส่วนตัวอย่างฟองน้ำจากหินหลักแร่ทะเลชุมพรพบปริมาณไขมันสูงสุดในตัวอย่าง *Petrosia* (Petrosia) order Haplosclerida พบปริมาณไขมันร้อยละ 2.74 รายละเอียดแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล (ร้อยละน้ำหนักสด)

Scientific name	Order	นน. สด (g)	% crude fat
<i>Spheciospongia vagabunda</i>	Hadromerida	687	0.23
<i>Biemna fortis</i>	Poecilosclerida	463	0.14

จากการแยกชนิดของไขมัน (lipid class) ในตัวอย่างฟองน้ำทะเลด้วย SPE column ออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ neutral lipids, glycolipids และ phospholipids พบ neutral lipids เป็นไขมันหลักที่พบในตัวอย่าง

ฟองน้ำทะเล ในปริมาณร้อยละ 31.97-39.29 รองลงมาเป็น glycolipids ร้อยละ 16.46-20.00 และ phospholipids ร้อยละ 5.62-8.54 ของ ปริมาณ crude fat รายละเอียดแสดงในตารางที่ 11 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Barnathan et al, 2003 ที่พบว่า neutral lipids เป็นกลุ่มไขมันหลักที่พบในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Cinachyrella* ที่เก็บจากทะเลแดงประเทศ Saudi Arabian และจากการศึกษาของ Denis et al. ในปี 2009 ทำการศึกษานิคของไขมันและกรดไขมันจากฟองน้ำ *Polymastia penicillus* ที่เก็บจากตะวันออกเฉียงเหนือแอตแลนติก ประเทศฝรั่งเศส พบปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 5.3 น้ำหนักแห้ง และพบ phospholipids ร้อยละ 29.6 ของปริมาณไขมันทั้งหมด ซึ่งโดยทั่วไปร้อยละ 50-80 ไขมันในสัตว์ จะเป็นไขมันชนิดมีขั้ว (polar lipid: phospholipids และ glycolipids) แต่ไขมันในพืชส่วนใหญ่จะเป็นไขมันชนิดไม่มีขั้ว (non polar lipids หรือ neutral lipids) และ glycolipids จากการศึกษาครั้งนี้พบชนิดของไขมันในฟองน้ำเป็นไขมันกลุ่มไม่มีขั้ว (neutral lipids) ซึ่งแตกต่างจากสัตว์ทั่วไป ดังนั้นไขมันในฟองน้ำจึงเป็นที่สนใจในการศึกษาค้นคว้า โดย neutral lipids จะประกอบไปด้วยสาร hydrocarbon, pigment, sterols, triglycerides, waxes และ fatty acid ใน glycolipids จะประกอบไปด้วย cerebrosides, sulfatides, mono- และ digalactosyl diglycerides, sterol glycosides และ ceramides ส่วนใน phospholipids จะประกอบไปด้วย lyso-PCdiphosphatidylglycerol), PC (phosphatidylcholine), PE(phosphatidylethanolamine), PG (phosphatidylglycerol), PI(phosphatidylinositol), PS (phosphatidylserine), lyso-phosphatidylcholine, lyso-phosphatidic acid, lyso-phosphatidylethanolamine, และ sphingomyelin ผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Emilie Genin และคณะในปี 2008. ที่ทำการศึกษานิคของไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเลจาก East Atlantic ocean; Mediterranean Sea; North Atlantic; Red Sea; Arabian Gulf; และ South Pacific. พบ Neutral lipids เป็นชนิดไขมันหลักที่พบในตัวอย่างที่ทำการศึกษาโดยพบปริมาณสูงถึง 61% ของปริมาณไขมันทั้งหมดและพบว่าส่วนใหญ่ phosphatidylethanolamine (PE) จะเป็นไขมันหลักที่พบใน phospholipids ของฟองน้ำทะเล เมื่อเปรียบเทียบกับชนิดไขมันจากตัวอย่างอื่น ๆ ดังเช่นการศึกษาของ Dagorn F และคณะในปี 2010 หานิคของไขมันในตัวอย่าง เพรียงทะเล *Eudistoma* sp. และ *Leptoclinides uniorbis*. ในตัวอย่าง *Eudistoma* sp. พบไขมัน Phospholipid (PL) 38.2% ของปริมาณกรดไขมันโดยรวม โดยพบ phosphatidylcholine: PC, เป็นองค์ประกอบหลักถึง 70.3% of PL และไม่พบ phosphatidylserine (PS) ส่วนในตัวอย่าง *Leptoclinides uniorbis* พบ PS (59.1%) ตามด้วย PC (22.5%)

ตารางที่ 11 ชนิดและปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล (ร้อยละของ Crude fat)

Scientific name	นน. crude fat (g)	Neutral lipids (%crude fat)	Glycolipids (% crude fat)	Phospholipids (%crude fat)
<i>Sphaciospongia vagabunda</i>	0.0164	31.97	16.46	8.54
<i>Biemna fortis</i>	0.0140	39.29	20.00	5.62

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำทะเล

จากการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Sphaciospongia vagabunda* (TAO55-POR-A-01) พบคุณลักษณะเด่นของกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs=20.98% ; C20:4n6, C20:5n3 และ C18:3n3) โดยพบกรดไขมัน Arachidonic acid (C20:4n6) ปริมาณสูงสุด 10.14±0.04 %TFA ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Denis et al. ในปี 2009 พบกรดไขมัน C20:4n6 จากฟองน้ำ *Polymastia penicillus* ในปริมาณที่สูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่นเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง *Sphaciospongia congenera* (MUS-A-01) และฟองน้ำ *Cervicornia cuspidifera* (TAN-D-01) จากหมู่เกาะสมุย สุราษฎร์ธานี (มค-กพ 2553) ซึ่งอยู่ใน Hadromerida เช่นเดียวกันพบว่ามีคุณลักษณะที่แตกต่างกัน โดยฟองน้ำสองชนิดนี้มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs= 36.52%; 51.49% ตามลำดับ) ส่วนตัวอย่าง *Biemna fortis* (TAO55-POR-B-01) มีคุณลักษณะเด่นเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs = 21.32%; C16:0, C14:0 และ C18:0) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง *Clathria* (Thalysias) (CHUMP-A-POR03) ใน order Poecilosclerida เช่นเดียวกันพบว่าคุณลักษณะของกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัวเช่นกัน แต่ใน *Clathria* (Thalysias) ปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัวจะใกล้เคียงกับชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (SFAs =30.10%; PUFAs= 29.08%)

เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างฟองน้ำจาก order อื่น ๆ ได้แก่ *Petrosia* (Petrosia) CHUMP-A-POR02 และตัวอย่าง *Calyspongia* (Cladochalina) CHUMP-A-POR04 order Haplosclerida, *Pseudoceratina purpurea* (CHUMP-A-POR05) order Verongida, *Cacospongia* sp.(CHUMP-A-POR06) order Dictyoceratida ที่เก็บจากหินหลักแร่ตะเลงชุมพร (มีนาคม 2554) และตัวอย่างฟองน้ำ *Ircinia mutans* (Wilson, 1925) (MUS-B-10, MUS-B-11), *Cacospongia* sp. (TAN-E-03) order Dictyoceratida และตัวอย่าง *Haliclona* (Gellius) *cymaeformis* (TAN-A-01) order Haplosclerida ที่เก็บจากหมู่เกาะสมุย สุราษฎร์ธานี (มค-กพ 2553) พบว่ามีคุณลักษณะเด่นเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs; C16:0, C18:0 C14:0) เช่นเดียวกัน

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าชนิดและปริมาณกรดไขมันมีความแตกต่างกับตัวอย่างที่ศึกษาที่ผ่านมา โดยพบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า- 3 (EPA, DHA) จากตัวอย่างฟองน้ำ *Sphaciospongia vagabunda* (TAO55-

POR-A-01) และ ตัวอย่าง *Biemna fortis* (TAO55-POR-B-01) ในปริมาณร้อยละ 3.02 -3.04, 1.46-2.02 ซึ่งพบว่ามีปริมาณต่ำกว่าตัวอย่างฟองน้ำที่เก็บจากทะเลชุมพร *Clathria* (Thalysias) (CHUMP-A-POR03) order Poecilosclerida ที่พบ EPA และ DHA ในปริมาณ 9.06 และ 12.87 ตามลำดับ แต่มีปริมาณที่สูงกว่าตัวอย่างฟองน้ำจากหมู่เกาะสมุยที่พบในปริมาณ 0.85-1.42; 1.5-1.74 % ตามลำดับ และมีปริมาณต่ำกว่าตัวอย่างฟองน้ำทะเลที่เก็บจากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อม เช่นจากการศึกษาของ Rod' kina et al. ในปี 2003 พบกรดไขมันจำนวน 63 ชนิดในฟองน้ำทะเล *Halichondria panacea* จากประเทศญี่ปุ่น จะเป็นกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอม 14-22 ซึ่งองค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในมีความแตกต่างจากที่เคยทำมา ซึ่งผู้วิจัยกล่าวว่าสาเหตุที่ค่าแตกต่างกัน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล ทำให้องค์ประกอบสิ่งมีชีวิตที่ฟองน้ำบริโภคเข้าไปมีความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ De Rosa et al., (2006) ที่หาชนิดและปริมาณ sterols และองค์ประกอบกรดไขมันในฟองน้ำทะเล *Geodia cydonium* และฟองน้ำ *Tedania* sp. จาก Adriatic ที่เก็บจากสถานที่และเวลาเดียวกัน ผลการศึกษาพบกรดไขมันจำนวน 40 ชนิด และจากการศึกษาของ Nechev et al., 2004 ที่ทำการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันของฟองน้ำ *Hymeniacidon sanguinea* ที่เก็บจากเกาะ Canary พบกรดไขมันถึง 73 ชนิด ซึ่งในสามชนิดนั้นเป็นกรดไขมันชนิดใหม่ และผู้วิจัยรายงานว่าองค์ประกอบกรดไขมันมีความสำคัญต่อเซลล์เมมเบรน และขึ้นอยู่กับสภาวะของระบบนิเวศน์ อันได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ มลพิษต่าง ๆ เป็นต้น ถ้าสิ่งแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงมักจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบกรดไขมันด้วย และพบว่าองค์ประกอบหลักกรดไขมันคือ palmitic acid; C16:0 และจากการศึกษาของ Litchfield และคณะ ในปี 1976 ที่ทำการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในฟองน้ำจาก class Demospongiae จำนวน 20 ชนิด พบว่าคุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวชนิดเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid; PUFAs) แต่จากการศึกษาของ Schreiber และคณะในปี 2006 ที่ศึกษากรดไขมันในฟองน้ำ calcareous จำนวน 29 ตัวอย่าง พบว่ากรดไขมันส่วนใหญ่เป็นชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัวชนิดเชิงเดี่ยว ชนิด C14-C20 และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวชนิดเชิงซ้อนชนิด C22

จากการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่าง neutral lipids, glycolipids และ phospholipids ของฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda* พบชนิดกรดไขมันสูงสุดใน phospholipids ส่วนในฟองน้ำ *Biemna fortis* พบชนิดกรดไขมันสูงสุดใน neutral lipids โดยคุณลักษณะกรดไขมันที่พบในชั้นไขมันมีความแตกต่างกัน ในตัวอย่าง *Spheciospongia vagabunda* neutral lipids, glycolipids มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวโดยพบ palmitic acid (C16:0) ปริมาณสูงสุด (11.85-16.60 %TFA) ส่วนใน phospholipids มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs ; C20:4n6, C20:5n3 และ C20:6n3) และกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 EPA พบสูงสุดใน phospholipids (4.73±0.02%TFA) ส่วน DHA พบสูงสุดใน neutral lipids 3.51±0.25 และในตัวอย่างฟองน้ำ *Biemna fortis* (TAO55-POR-02) ไขมันทุกชนิดมีคุณลักษณะเด่นเป็นชนิดอิ่มตัว โดยพบกรดไขมัน palmitic acid (C16:0) ปริมาณสูงสุดเช่นกัน

(8.49-15.84 %TFA) และกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 EPA พบสูงสุดใน neutral lipids ($3.53 \pm 0.23\%$ TFA) ส่วน DHA พบสูงสุดใน glycolipids ($5.85 \pm 0.07\%$ TFA) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 12-13

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเลที่ทำการศึกษาในครั้งนี้กับตัวอย่างน้ำมันจากพืชชนิดต่างๆ พบว่าตัวอย่างฟองน้ำทะเลมีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมากกว่าน้ำมันมะพร้าว และฟองน้ำ *Clathria* (Thalysias) มีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนใกล้เคียงกับน้ำมันถั่วลิสง รายละเอียดแสดงในตารางที่ 14 ปริมาณกรดไขมัน omega-3 (EPA+DHA) ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้พบปริมาณสูงสุดในฟองน้ำ *Clathria* (Thalysias) reinwardti Vosmer, 1880 (CHUMP-A-POR03) 21.93 %TFA เมื่อเปรียบเทียบกับในปลาทะเลพบว่าปริมาณใกล้เคียงกับปลา Bass, striped Trout, brook Trout, rainbow และมีปริมาณน้อยกว่าปลา Mackerel Trout, lake, Herring, Tuna, Bluefin, Salmon, Sardines รายละเอียดแสดงในตารางที่ 15,16

ตารางที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda* TAO-POR-A-01 (%TFA)

สาร	TAO-A 01	TAO-A-01 -F1	TAO-A-01-F2	TAO-A-01-F3
C13:0				
C14:0	3.61 ± 0.16	3.71 ± 0.25	9.08 ± 0.34	1.33 ± 0.07
C14:1				
C15:0				
C15:1				
C16:0	6.99 ± 0.18	16.60 ± 0.69	11.85 ± 0.73	3.13 ± 0.13
C16:1n7	1.42 ± 0.07	2.83 ± 0.11	2.15 ± 0.35	0.91 ± 0.01
C17:0	1.77 ± 0.21	5.37 ± 0.09	2.92 ± 0.69	1.66 ± 0.09
C17:1				
C18:0	2.81 ± 0.98	6.74 ± 1.02	4.59 ± 0.25	2.13 ± 0.08
C18:1n9	2.30 ± 0.26	3.62 ± 0.44	3.84 ± 0.64	2.49 ± 0.14
C18:2n6	0.71 ± 0.12	1.66 ± 0.40	1.27 ± 0.01	0.89 ± 0.05
C18:3n6			0.76 ± 0.18	0.53 ± 0.01
C18:3n3	3.07 ± 0.29	4.39 ± 0.10	4.95 ± 0.86	2.77 ± 0.15
C20:0	1.07 ± 0.08	1.76 ± 0.01	1.28 ± 0.16	1.86 ± 0.06
C20:1n9				
C20:2	0.71 ± 0.05	1.27 ± 0.13	0.99 ± 0.20	0.89 ± 0.05
C20:3n6	1.31 ± 0.26		0.75 ± 0.01	1.21 ± 0.17
C21:0	1.12 ± 0.17			0.47 ± 0.01
C20:4n6	10.14 ± 0.04	12.60 ± 0.31	11.35 ± 0.02	17.71 ± 0.77
C20:3n3				0.39 ± 0.02
C20:5n3	3.02 ± 0.21	4.20 ± 0.10	3.24 ± 0.24	4.73 ± 0.02
C22:0	1.01 ± 0.01		1.69 ± 0.29	1.05 ± 0.06
C22:2				
C23:0				0.79 ± 0.31
C24:0	1.48 ± 0.15	1.27 ± 0.13	3.09 ± 0.63	0.55 ± 0.03
C22:6n3	2.02 ± 0.03	3.51 ± 0.25	0.98 ± 0.04	2.55 ± 0.02
SFAs	19.87	35.45	34.51	12.99
MUFAs	3.73	6.45	5.99	3.41
PUFAs	20.98	27.63	24.29	31.66

F1 = neutral lipids, F2= glycolipids, F3= phospholipids

ตารางที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Biemna fortis* TAO-POR-B-01 (%TFA)

สาร	TAO-B 01	TAO-B-01 F1	TAO-B-01-F2	TAO-B-01-F3
C13:0				
C14:0	5.11 ± 0.04	7.19 ± 0.00	2.88 ± 0.02	4.19 ± 0.82
C14:1			0.25 ± 0.35	
C15:0	0.67 ± 0.11	6.95 ± 0.18	0.62 ± 0.05	0.93 ± 0.17
C15:1				
C16:0	7.30 ± 0.25	15.84 ± 0.02	14.20 ± 0.85	8.49 ± 0.66
C16:1n7	4.14 ± 0.10	6.30 ± 0.30	4.33 ± 0.24	2.81 ± 0.79
C17:0	3.61 ± 0.18	4.88 ± 0.25	2.64 ± 0.37	17.14 ± 0.42
C17:1	0.49 ± 0.10	0.61 ± 0.09	0.58 ± 0.00	
C18:0	3.69 ± 0.06	6.14 ± 0.21	8.16 ± 0.77	6.55 ± 0.60
C18:1n9	4.58 ± 0.13	5.32 ± 0.09	6.76 ± 0.29	7.83 ± 0.76
C18:2n6	0.68 ± 0.23	1.03 ± 0.50	0.80 ± 0.09	1.19 ± 0.29
C18:3n6	0.58 ± 0.10	0.28 ± 0.40	0.53 ± 0.06	
C18:3n3	1.44 ± 0.48	2.02 ± 0.01	1.82 ± 0.03	1.92 ± 0.42
C20:0	0.45 ± 0.03	0.71 ± 0.05	0.53 ± 0.06	
C20:1n9	1.60 ± 0.02	1.23 ± 0.17		1.04 ± 0.33
C20:2		0.71 ± 0.05		0.68 ± 0.19
C20:3n6				
C21:0			0.49 ± 0.12	
C20:4n6	2.19 ± 0.21	1.82 ± 0.03	1.28 ± 0.04	2.17 ± 0.39
C20:3n3		0.60 ± 0.06	0.29 ± 0.41	
C20:5n3	3.04 ± 0.46	3.53 ± 0.23	0.74 ± 0.23	1.24 ± 0.22
C22:0			0.70 ± 0.17	
C22:1n9	0.71 ± 0.05	1.23 ± 0.17	0.53 ± 0.06	
C23:0		1.39 ± 0.38		
C24:0	0.49 ± 0.10	0.60 ± 0.06	1.26 ± 0.27	
C22:6n3	1.46 ± 0.09	1.50 ± 0.22	5.85 ± 0.07	1.26 ± 0.51
SFAs	21.32	43.68	31.48	37.30
MUFAs	6.94	9.36	5.68	3.86
PUFAs	9.39	11.49	11.32	8.46

F1 = neutral lipids, F2= glycolipids, F3= phospholipids

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืช (ที่มา : พศ.ดร.กัลยา กิจบุญชู มหาวิทยาลัยมหิดล)และฟองน้ำทะเล ที่ได้จากการศึกษาเป็นร้อยละ

ชนิดของไขมัน	กรดไขมันอิ่มตัว SFAs	กรดไขมันไม่อิ่มตัว เชิงเดี่ยว MUFAs	กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน PUFAs
น้ำมันมะพร้าว	85	6	2
น้ำมันข้าวโพด	13	25	58
น้ำมันปาล์ม	58	30	9
น้ำมันหมู	48	38	9
น้ำมันฝ้าย	26	29	51
น้ำมันมะกอก	14	72	9
น้ำมันถั่วลิสง	19	46	30
น้ำมันดอกคำฝอย	9	12	74
น้ำมันงา	15	40	40
น้ำมันถั่วเหลือง	15	23	58
น้ำมันดอกทานตะวัน	10	21	64
ฟองน้ำทะเล (หมู่เกาะสมุย สุราษฎร์ธานี)	มกราคม-กุมภาพันธ์ 2553		
<i>Spheciospongiacongenera</i> (MUS-A-01)	36.52	11.60	17.01
<i>Irciniamutans</i> (MUS-B-10)	31.47	3.85	4.29
<i>Irciniamutans</i> (MUS-B-11)	23.37	4.29	5.73
<i>Haliclona</i> (<i>Gellius</i>) <i>cymaeformis</i> Esper, 1794 (TAN-A-01)	40.36	10.60	3.11
<i>Cervicorniacuspidifera</i> (Lamarck, 1815) (TAN-D-01)	51.49	9.72	15.71
<i>Cacospongi</i> asp. (TAN-E-03)	22.45	11.04	-

ตารางที่ 14 (ต่อ) เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันพืชและฟองน้ำทะเล เป็นร้อยละ

ชนิดของไขมัน	กรดไขมันอิ่มตัว SFAs	กรดไขมันไม่อิ่มตัว เจริญเดี่ยว MUFAs	กรดไขมันไม่อิ่มตัวเจริญซ้อน PUFAs
ฟองน้ำทะเล หินหลักแรดทะเลชุมพร (6 มีนาคม 2554)			
<i>Petrosia</i> (<i>Petrosia</i>) <i>hoeksemai</i> Voogd & Soest, 2002 (CHUMP-A-POR02)	19.18	9.01	6.00
<i>Clathria</i> (<i>Thalysias</i>) <i>reinwardti</i> Vosmer, 1880 (CHUMP-A-POR03)	30.10	13.12	29.08
<i>Callyspongia</i> (<i>Cladochalina</i>) <i>subarmigera</i> Ridley, 1884 (CHUMP-A-POR04)	48.69	7.43	13.17
<i>Pseudoceratina</i> <i>purpurea</i> (Carter, 1880) (CHUMP-A-POR05)	34.43	14.72	4.52
<i>Cacospongia</i> sp. (CHUMP-A-POR06)	32.70	12.92	4.30
ฟองน้ำทะเล เกาะเต่า สุราษฎร์ธานี (25 มีนาคม 2555)			
<i>Spheciospongia</i> <i>vagabunda</i> (Ridley, 1884) TAO 55-A-POR-01	19.87	3.73	20.98
<i>Biemna</i> <i>fortis</i> (Topsent, 1897) TAO 55 B-POR-01	21.32	6.94	10.05

ตารางที่ 15 ปริมาณกรดไขมัน omega-3 ในปลาทะเล

Type of fish	Total omega-3 content per 3.5 ounces (grams)
Mackerel	2.6
Trout, lake	2.0
Herring	1.7
Tuna, bluefin	1.6
Salmon	1.5
Sardines, canned	1.5
Sturgeon, Atlantic	1.5
Tuna, albacore	1.5
Whitefish, lake	1.5
Anchovies	1.4
Bluefish	1.2
Bass, striped	0.8
Trout, brook	0.6
Trout, rainbow	0.6
Halibut, Pacific	0.5
Pollock	0.5
Shark	0.5
Sturgeon	0.4
Bass, fresh water	0.3
Catfish	0.3
Ocean perch	0.3
Flounder	0.2
Haddock	0.2
Snapper, red	0.2
Swordfish	0.2
Sole	0.1

Source: *The Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*

ตารางที่ 16 ปริมาณกรดไขมัน Total omega-3 (EPA+DHA) ในฟองน้ำทะเล %TFA

ฟองน้ำทะเล	Total omega-3 %TFA	Total omega-3 per 3.5 ounces (grams)
หมู่เกาะสมุย สุราษฎร์ธานีกรม-กุมภาพันธ์ 2553		
<i>Spheciospongiacongenera</i> (MUS-A-01)	1.29	0.045
<i>Irciniamutans</i> (MUS-B-10)	2.77	0.097
<i>Irciniamutans</i> (MUS-B-11)	1.16	0.04
<i>Haliclona</i> (<i>Gellius</i>) <i>cymaeformis</i> Esper, 1794 (TAN-A-01)	1.42	0.05
<i>Cervicorniacuspidifera</i> (Lamarck, 1815) (TAN-D-01)	2.59	0.09
<i>Cacospongiasp.</i> (TAN-E-03)	-	-
หินหลักแรดทะเลชุมพร (6 มีนาคม 2554)		
<i>Petrosia</i> (<i>Petrosia</i>) <i>hoeksemai</i> Voogd & Soest, 2002 (CHUMP-A-POR02)	4.64	0.16
<i>Clathria</i> (<i>Thalysias</i>) <i>reinwardti</i> Vosmer, 1880 (CHUMP-A-POR03)	21.93	0.77
<i>Callyspongia</i> (<i>Cladochalina</i>) <i>subarmigera</i> Ridley, 1884 (CHUMP-A-POR04)	8.36	0.29
<i>Pseudoceratinanpurpurea</i> (Carter, 1880) (CHUMP-A-POR05)	-	-
<i>Cacospongiasp.</i> (CHUMP-A-POR06)	1.19	0.04
เกาะเต่า สุราษฎร์ธานี (25 มีนาคม 2555)		
<i>Spheciospongiavagabunda</i> (Ridley, 1884) (TAO 55-A-POR-01)	5.04	0.18
<i>Biemnafortis</i> (Topsent, 1897) (TAO55 B-POR-01)	4.50	0.16

ปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย

จากการหาปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y, TAO-A-1-3g, TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9YW, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or ที่แยกจากฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* TAO-POR-A-1 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 48 ชม. พบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ0.35-4.30 น้ำหนักสด โดยปริมาณสูงสุดพบในเชื้อแบคทีเรีย TAO-A-1-12or ปริมาณต่ำสุดพบในเชื้อแบคทีเรีย TAO-A-1-9YW รายละเอียดแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda*

แบคทีเรีย	น.น.เซลล์	น.น.ไขมัน	ร้อยละของไขมัน
TAO-A-1-1Br	0.3946	0.0042	1.06
TAO-A-1-2y	0.7890	0.0029	0.37
TAO-A-1-3g	0.6279	0.0060	0.96
TAO-A-1-5	0.7857	0.0052	0.66
TAO-A-1-8	0.3097	0.0015	0.48
TAO-A-1-9YW	0.3684	0.0013	0.35
TAO-A-1-11w	0.4076	0.0025	0.61
TAO-A-1-12or	0.4234	0.0182	4.30

เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-A-POR03-2, CHUMP-A-POR03-6, CHUMP-A-POR03-7 ที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Clathria* (Thalysias) CHUMP-A-POR03 เก็บจากหินหลักแรดทะเลชุมพร (มีนาคม 2554) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เช่นกัน พบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ 0.52-4.06 น้ำหนักสด และในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำจากหมู่เกาะสมุย สุราษฎร์ธานี (มกราคม-กุมภาพันธ์ 2553) พบปริมาณไขมันมีค่าใกล้เคียงกัน (ร้อยละ 0.61-4.57 น้ำหนักสด) โดยปริมาณสูงสุดพบในเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจาก

ฟองน้ำทะเล *Cervicornia cuspidifera* order Hadromerida ปริมาณต่ำสุดพบในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Haliclona (Gellius) cymaeformis* Esper ใน order Haplosclerida และเปรียบเทียบกับการศึกษาในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำทะเล ที่เก็บจากจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด พบปริมาณไขมันมีค่า (ร้อยละ 0.37-10.12 น้ำหนักสด) โดยค่าสูงสุดพบในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Coelocarteria singaporensis* order Poecilosclerida และปริมาณต่ำสุดพบในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Halichondria* sp. order Halichondrida

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย

จากการหาชนิดและปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย 8 ตัวอย่าง TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y, TAO-A-1-3g TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or ที่แยกจากฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* (TAO-POR-A-1) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 48 ชม. พบชนิดและปริมาณกรดไขมันแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้ เชื้อ TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิด MUFA (C17:1, C18:1n9) เชื้อ TAO-A-1-3g มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิด PUFA (C18:3n3) ส่วน TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิด SFA (C16:0) โดยปริมาณกรดไขมันที่ตรวจพบปริมาณสูง ได้แก่ C16:0, C18:0 เนื่องจากมีกรดไขมันเหล่านี้ในแหล่งอาหาร โดยพบปริมาณ C16:0 ในวัตถุดิบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ proteos, yeast extract, Phytone ในปริมาณร้อยละ 27.46±1.76, 24.33±0.20, 33.23±0.15 พบ C18:0 ในปริมาณร้อยละ 8.87±0.69, 8.45±0.02, 14.42±0.06 ตามลำดับรายละเอียดแสดงในตารางภาคผนวกที่ 1, 2, 3 จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อที่ควรนำไปพัฒนาต่อได้แก่ เชื้อ TAO-A-1-3g กับเชื้อ TAO-A-1-5 ที่ตรวจพบกรดไขมัน Linolenic acid (ALA C18:3:n3) ในปริมาณที่สูง (ร้อยละ 16.26±0.04; 8.20±0.38) ซึ่งกรดไขมันชนิดนี้ไม่พบในแหล่งอาหารที่เลี้ยงเชื้อ และเป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญเนื่องจากเป็น parent compound ของ omega-3

การหาปริมาณกรดไขมันในจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นั้นจะพบกรดไขมันต่างชนิดกันน้อยแตกต่างกันไป ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ โดยมีรายงานว่าจุลินทรีย์พวกโปรคาริโอต ได้แก่ แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรีย และพวกยูคาริโอต ได้แก่ รา โปรโตซัว และสาหร่าย จะมีองค์ประกอบของกรดไขมันต่างกัน โดยแบคทีเรียต่าง ๆ นั้นจะพบว่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว oleic acid (C18:1) อยู่เป็นจำนวนมาก และในแบคทีเรียบางชนิดจะพบ EPA ประกอบอยู่ด้วย (Dennis, 1993)

ในการศึกษาครั้งนี้พบกรดไขมัน palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0) เป็นองค์ประกอบหลักของกรดไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล จากรายงานของ Dalsgaard J และคณะในปี 2003 กล่าวว่ากรดไขมันในเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) และชนิดไม่อิ่มตัว

เชิงเดี่ยว(MUFAs) กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) จะพบน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ De Rosa et al., (2000) ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำ *Dysidea fragilis* บริเวณทะเลดำ ซึ่งตรวจคุณลักษณะเป็นเชื้อ *Pseudomonas/Alteromonas* พบองค์ประกอบกรดไขมันเป็น C14:1 (40.3% ชั้น Neutral lipid, 37.8% ชั้น phospholipids) และ C16:0 (18.4%ชั้น Neutral lipid, 10.7%ชั้น phospholipids) ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด และจากการศึกษาของ Zheng และคณะในปี 2005 ที่ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียทะเลจากฟองน้ำ *Hymeniacidon perleve* จากเกาะ Nanji ชายฝั่งทะเลประเทศจีน เป็นเชื้อ *Pseudomonas* sp. พบกรดไขมันชนิดเลขคู่ร้อยละ 81.01 และเลขคี่ร้อยละ 17.49 เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวร้อยละ 53.90 และชนิดไม่อิ่มตัวร้อยละ 44.60 โดยมีองค์ประกอบหลักคือ C16:1(36.64%), C16:0(27.36%),C18:1, C18:0, C15:0, C14:0 โดยเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MA+G (marine agar+ glucose 1 g.) เป็นเวลา 6 วัน ใน bioreactor ที่ pH 7.2-7.4 ซึ่งผลที่ได้เหมือนกับที่เคยศึกษาในเชื้อ *Pseudomonas atlantica* และ *Pseudomonas putida* โดยผู้วิจัยกล่าวว่างค์ประกอบกรดไขมันในแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนแปลงได้เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาพบกรดไขมันที่จำเป็นในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปริมาณที่น้อยมาก อาจเป็นเพราะว่าสภาวะการเลี้ยง หรืออาหารที่ใช้ในการทดลองไม่เหมาะสม จากการศึกษาครั้งนี้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium เป็นเวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ซึ่งจากการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโต และการผลิตกรดไขมันของ De Rosa และคณะ ในปี 2003 ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำทะเล *Ircinia variabilis* ประเทศอิตาลี ความลึก 20 เมตร จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดลองได้แก่ microfeast extract(MF), Fish extract(ALI), Yeast extract(Y), และ Marine broth 2216 (MB) ได้เชื้อ 2 สายพันธุ์ พบกรดไขมัน C18:2n6 ในปริมาณสูงสุดในทุกอาหารเลี้ยงเชื้อ และพบกรดไขมันชนิด brance –odd-chain (C15-C17) ส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และพบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อเจริญเติบโตได้ดีกว่า 18.5 องศาเซลเซียส อาหารเลี้ยงเชื้อที่ดีที่สุดคือ MF+ALI (Microfeast extract+fish extract) pH 7.6 37 องศาเซลเซียส 5 วัน ผู้วิจัยกล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงแหล่งคาร์บอนทำให้ membrane เซลล์ไขมันของกรดไขมันในแบคทีเรียมีรูปแบบที่เปลี่ยนแปลง และรายงานยังกล่าวว่าในเชื้อแต่ละ genus มีองค์ประกอบกรดไขมันที่ต่างกัน ดังนั้นต้องมีการตรวจคุณลักษณะของเชื้อให้ถึงระดับ genus

จากการศึกษาครั้งนี้พบกรดไขมัน C16:0 ในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล ในปริมาณที่สูง ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียพบกรดไขมัน Vaccenic acid (C18:1n7) ในปริมาณที่สูง ไม่พบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-6 (AA; C18:2n6) ซึ่งกรดไขมัน C18:1 เป็นกรดไขมันที่พบเป็นส่วนใหญ่ในไขมันของแบคทีเรีย และจากการศึกษาที่ผ่านมาของบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบ C18:2n6 ในปริมาณที่สูง อาจเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันระหว่างชายฝั่งทะเลอ่าวไทยด้านตะวันออกและชายฝั่งทะเลอ่าวไทยด้านตะวันตก จึงทำให้มีผลต่อรูปแบบและปริมาณ

ของกรดไขมันในฟองน้ำและเชื้อแบคทีเรีย การศึกษาถึงระบบนิเวศน์ของบริเวณทั้งสองแห่ง อันได้แก่ ชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอน คุณภาพน้ำความขุ่น ความเค็ม อุณหภูมิของน้ำ และควรมีการศึกษาถึง อัตราการเจริญเติบโต (growth rate) ของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตเป็นเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนประชากรจากเดิมเป็น 2 เท่า เรียกว่า generation time (doubling time) จะแตกต่างกันไปในแต่ละ species ในสภาวะแวดล้อมหนึ่ง ๆ จึงควรมีการศึกษาไปด้วยกันเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ที่สุด

เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและเชื้อแบคทีเรีย

เมื่อเปรียบเทียบกับชนิดและปริมาณกรดไขมันที่ตรวจพบในตัวอย่างฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* TAO-POR-A-1 โดยการศึกษาในครั้งนี้ทำการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนจำนวน 37 ชนิด ในฟองน้ำพบชนิดกรดไขมันที่มากกว่าโดยพบ 17 ชนิดและในเชื้อแบคทีเรียตรวจพบ 9-10 ชนิด โดยคุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน PUFAs ส่วนในเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นชนิดอิ่มตัว SFAs และในฟองน้ำพบ C20:4n6 ปริมาณสูงสุดและมีองค์ประกอบหลักเป็น C16:0, C20:4n6, C20:5n3 และ C18:3n3 แต่ในเชื้อแบคทีเรียพบ C16:0 ปริมาณสูงสุดมีองค์ประกอบหลักเป็น C16:0, C17:1, C18:1n9 C18:0, C15:1 C18:3n3 รายละเอียดแสดงในตารางที่ 18, 19, 20, 21

โดยฟองน้ำจัดอยู่ในจำพวกสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และเป็นสิ่งมีชีวิตที่เก่าแก่ที่สุดของพวกสัตว์หลายเซลล์ พบได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำทะเล แต่ส่วนใหญ่พบว่าจะจะเป็นฟองน้ำทะเล โดยที่ 95% ของฟองน้ำทั้งหมดจะเป็นฟองน้ำใน class demospongiae ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความหลากหลายทางชีวภาพมากที่สุด (Hooper, 1997) ฟองน้ำมีส่วนสำคัญต่อชีวมวลของระบบนิเวศวิทยาทางทะเล เพราะสามารถปรับตัวได้เป็นอย่างดีไม่ว่าจะเป็นทางด้านการสืบพันธุ์ และทางด้านสรีรวิทยา เป็นสัตว์ประเภทที่กรองกินอาหาร (filter feeding) อีกทั้งฟองน้ำมีรูปร่างที่ค่อนข้างอ่อนนุ่ม ไม่มีหนามแหลมหรือเปลือกห่อหุ้มร่างกาย แต่ยังสามารถดำรงชีวิตอยู่มาเป็นเวลาช้านานได้โดยที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างน้อยมาก ที่เป็นเช่นนี้เพราะฟองน้ำได้สร้างกลไกป้องกันตัวเองอย่างมีประสิทธิภาพโดยการผลิตสารพิษหรือสารเคมีอื่นๆเพื่อที่จะขับไล่หรือยับยั้งอันตรายจากผู้ล่าหรือพวก parasites ต่างๆ โดยสารเคมีที่ฟองน้ำผลิตมาเพื่อปกป้องตัวเองนี้ถูกเชื่อว่ามีส่วนที่วิวัฒนาการไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรคได้ โดยสารเหล่านี้รวมถึงไขมันด้วย โดยเฉพาะไขมันจากฟองน้ำเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยกรดไขมันชนิด unusual (Berge & Barnathan, 2005) จึงทำให้มีการศึกษารูปแบบและองค์ประกอบของกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำกันอย่างแพร่หลาย

ตารางที่ 18 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* (TAO55-POR-A-01) กับตัวอย่าง
แบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ

ฟองน้ำทะเล			
กรดไขมัน	TAO55- POR-A-01	แบคทีเรีย TAO-A-1-1 Br	แบคทีเรีย TAO-A-1-2y
C12:0		0.22 ± 0.02	0.30 ± 0.02
C13:0		0.60 ± 0.03	
C14:0	3.61 ± 0.16	1.16 ± 0.11	3.52 ± 0.04
C14:1			0.47 ± 0.38
C15:0		3.04 ± 0.12	0.84 ± 0.03
C15:1			
C16:0	6.99 ± 0.18	9.82 ± 0.25	16.36 ± 0.51
C16:1n7	1.42 ± 0.07	7.24 ± 0.25	12.73 ± 0.15
C17:0	1.77 ± 0.21	4.33 ± 0.05	2.58 ± 0.10
C17:1		12.65 ± 0.44	0.56 ± 0.02
C18:0	2.81 ± 0.98	5.85 ± 0.09	4.07 ± 0.59
C18:1n9	2.30 ± 0.26	11.85 ± 0.34	23.29 ± 0.40
C18:2n6	0.71 ± 0.12	0.60 ± 0.08	0.32 ± 0.04
C18:3n3	3.07 ± 0.29	0.84 ± 0.05	
C20:0	1.07 ± 0.08		0.28 ± 0.05
C20:1n9			2.26 ± 0.17
C20:2	0.71 ± 0.05		
C20:3n6	1.31 ± 0.26		
C21:0	1.12 ± 0.17		
C20:4n6	10.14 ± 0.04		
C20:5n3	3.02 ± 0.21		
C22:0	1.01 ± 0.01		
C22:1n9			0.22 ± 0.02
C24:0	1.48 ± 0.15		
C22:6n3	2.02 ± 0.03		
SFAs	19.87	25.03	27.93
MUFAs	3.73	31.75	39.53
PUFAs	20.98	1.44	0.32

ตารางที่ 19 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำ *Spherospongia vagabunda* (TAO55-POR-A-01) กับตัวอย่างแบบที่เรียบ
ที่คัดแยกจากฟองน้ำ

กรดไขมัน	TAO55- POR-A 01	TAO-A-1-3 yg	TAO-A-1-5
C13:0			
C14:0	3.61 ± 0.16	0.26 ± 0.01	0.34 ± 0.06
C14:1			
C15:0			0.18 ± 0.04
C15:1			
C16:0	6.99 ± 0.18	7.10 ± 0.01	6.40 ± 0.53
C16:1n7	1.42 ± 0.07	3.78 ± 0.00	2.31 ± 0.09
C17:0	1.77 ± 0.21	1.43 ± 0.11	1.69 ± 0.00
C17:1			
C18:0	2.81 ± 0.98	1.33 ± 0.03	2.27 ± 0.14
C18:1n9	2.30 ± 0.26	1.90 ± 0.04	1.79 ± 0.06
C18:2n6	0.71 ± 0.12	0.34 ± 0.00	0.27 ± 0.00
C18:3n6			
C18:3n3	3.07 ± 0.29	16.26 ± 0.04	8.20 ± 0.38
C20:0	1.07 ± 0.08		
C20:2	0.71 ± 0.05		
C20:3n6	1.31 ± 0.26		
C21:0	1.12 ± 0.17		
C20:4n6	10.14 ± 0.04		
C20:3n3		0.32 ± 0.02	0.15 ± 0.00
C20:5n3	3.02 ± 0.21		
C22:0	1.01 ± 0.01		
C24:0	1.48 ± 0.15		
C22:6n3	2.02 ± 0.03		
SFAs	19.87	10.11	10.88
MUFAs	3.73	5.69	4.11
PUFAs	20.98	16.92	8.62

ตารางที่ 20 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำ *Speciospongia vagabunda* (TAO55-POR-A-01) กับตัวอย่างแบคทีเรีย
ที่คัดแยกจากฟองน้ำ

กรดไขมัน	TAO55- POR-A 01		TAO-A-1-8		TAO-A-1-9	
C12:0			0.19	± 0.00	0.26	± 0.01
C13:0						
C14:0	3.61	± 0.16	1.24	± 0.00	0.64	± 0.01
C14:1			0.14	± 0.00	0.62	± 0.02
C15:0			0.44	± 0.00	0.89	± 0.03
C15:1						
C16:0	6.99	± 0.18	34.56	± 0.05	4.02	± 0.10
C16:1n7	1.42	± 0.07	2.62	± 0.00	3.12	± 0.07
C17:0	1.77	± 0.21	1.99	± 0.00	1.92	± 0.05
C17:1			0.28	± 0.05	0.09	± 0.02
C18:0	2.81	± 0.98	3.00	± 0.00	1.78	± 0.05
C18:1n9	2.30	± 0.26	3.27	± 0.05	2.70	± 0.06
C18:2n6	0.71	± 0.12	0.64	± 0.02	0.52	± 0.02
C18:3n3	3.07	± 0.29	2.11	± 0.00		
C20:0	1.07	± 0.08	1.12	± 0.00	0.19	± 0.09
C20:2	0.71	± 0.05				
C20:3n6	1.31	± 0.26				
C21:0	1.12	± 0.17				
C20:4n6	10.14	± 0.04				
C20:3n3			0.14	± 0.03		
C20:5n3	3.02	± 0.21				
C22:0	1.01	± 0.01	0.21	± 0.00	0.14± 0.00	
C22:1n9			0.19	± 0.00	0.31 ± 0.01	
C24:0	1.48	± 0.15				
C22:6n3	2.02	± 0.03				
SFAs	19.87		42.75		9.84	
MUFAs	3.73		6.80		6.85	
PUFAs	20.98		0.78		0.52	

ตารางที่ 21 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* (TAO55-POR-A-01) และในตัวอย่างแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ

กรดไขมัน	TAO55-			TAO-A-1-11W			TAO-A-1-12 OR		
	POR-A 01								
C12:0				0.60	±	0.12			
C13:0									
C14:0	3.61	±	0.16	2.79	±	0.62	1.29	±	0.15
C14:1									
C15:0				0.72	±	0.14	1.32	±	0.17
C15:1									
C16:0	6.99	±	0.18	12.72	±	0.50	16.11	±	0.25
C16:1n7	1.42	±	0.07	4.36	±	0.96	2.87	±	0.53
C17:0	1.77	±	0.21	3.14	±	0.05	2.79	±	0.14
C17:1							1.12	±	0.18
C18:0	2.81	±	0.98	3.86	±	0.52	4.65	±	0.66
C18:1n9	2.30	±	0.26	6.91	±	0.34	6.73	±	0.64
C18:2n6	0.71	±	0.12	0.94	±	0.25	0.61	±	0.02
C18:3n3	3.07	±	0.29				0.72	±	0.04
C20:0	1.07	±	0.08				0.19	±	0.09
C20:2	0.71	±	0.05						
C20:3n6	1.31	±	0.26						
C21:0	1.12	±	0.17						
C20:4n6	10.14	±	0.04						
C20:3n3									
C20:5n3	3.02	±	0.21						
C22:0	1.01	±	0.01	0.25	±	0.35			
C22:1n9									
C24:0	1.48	±	0.15						
C22:6n3	2.02	±	0.03						
SFAs	19.87			24.08			26.16		
MUFAs	3.73			11.27			10.72		
PUFAs	20.98			0.94			0.61		

การศึกษาสภาวะในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

จากการศึกษาสภาวะในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล *Clathria* (Thalysias) Reinwardti Vosmer, 1880 (CHUMP-POR -03) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium และ Marine Medium 2216 (ชุดควบคุม C/Z, C/M) จากนั้นเติมน้ำตาล glucose 3. ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1% (Z+0.25, Z+0.5, Z+1; M+0.25, M+0.5, M+1) และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48, 72, 96, 120, 144 ชม. พบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ 0.12-1.64 ที่สูตรอาหาร Zobell ปริมาณไขมันมีค่าสูงสุดที่เวลา 72 ชม. ส่วนสูตรอาหาร Marine 2216 ปริมาณไขมันมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 48 ชม. ยกเว้นชุดควบคุม รายละเอียดแสดงในตารางที่ 22 ส่วนปริมาณความชื้นพบว่ามีค่าร้อยละ 77.27 - 95.96 ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 23

ตารางที่ 22 ปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium และ Marine Medium 2216 (% wet wt.)

เวลาในการเลี้ยง	48 hr.	72hr.	96hr	120 hr	144 hr
control	0.74	1.20	0.31	0.71	1.12
Zobell+glucose0.25%	1.01	1.13	0.66	0.71	1.48
Zobell+glucose0.50%	0.94	0.98	0.20	0.36	1.43
Zobell+glucose1%	0.12	0.61	0.52	0.52	1.51
control	0.12	1.60	0.52	1.05	1.30
Marine+glucose0.25%	1.23	0.85	0.66	1.00	1.48
Marine+glucose0.50%	1.44	1.20	0.31	1.25	1.66
Marine+glucose1%	1.43	1.20	0.66	1.31	1.02

ตารางที่ 23 ปริมาณน้ำในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium และ Marine Medium 2216 (% wet wt.)

เวลาในการเลี้ยง	48 hr.	72hr.	96hr	120 hr	144 hr
control	85.96	84.93	86.60	86.01	81.97
Zobell+glucose0.25%	86.49	89.01	95.12	88.89	77.78
Zobell+glucose0.50%	77.27	80.59	91.67	87.76	81.65
Zobell+glucose1%	86.21	86.90	98.08	85.29	79.23
control	88.24	87.77	81.82	81.40	82.81
Marine+glucose0.25%	84.12	84.93	87.60	91.57	84.10
Marine+glucose0.50%	84.12	81.45	94.44	89.58	84.99
Marine+glucose1%	85.31	91.37	95.96	88.11	82.23

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหาร 2 ชนิด

จากการศึกษาสภาวะในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล *Clathria* (Thalysias) Reinwardti Vosmer, 1880 (CHUMP-POR -03) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium และ Marine Medium 2216 (ชุดควบคุม C/Z, C/M) จากนั้นเติมน้ำตาล glucose 3 ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1% (Z+0.25, Z+0.5, Z+1; M+0.25, M+0.5, M+1) และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48, 72, 96, 120, 144 ชม. ผลการศึกษาพบว่าปริมาณกรดไขมัน C13:0, C14:0, C14:1, C15:0, C15:1, C16:0, C16:1n9, C17:0, C17:1, C18:1, C18:2n6, C18:3n3 และปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) ชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) และชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดอาหาร ความเข้มข้นของน้ำตาล และเวลาในการเลี้ยง ยกเว้นกรดไขมัน C12:0 ที่พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน โดยการเพาะเลี้ยงที่ 48 ชม. ทั้ง 2 สูตรอาหาร ที่มีน้ำตาลกลูโคส 0.50 และ 1% ตรวจพบชนิดกรดไขมันมากที่สุด 20 ชนิดสาร แต่ชนิดกรดไขมันที่ตรวจพบเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม (C/Z, C/M) มีปริมาณที่ต่ำ โดยมีค่าน้อยกว่า 0.5% TFA โดยคุณลักษณะกรดไขมันที่พบในเวลา 48 ชม. เป็นชนิดอิ่มตัวทั้ง 2 สูตรอาหาร (C16:0, C17:0) รองลงมาเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (C18:1n9, C16:1n7, C17:1) แต่ในการเลี้ยงที่ 72 ชม. พบว่าคุณลักษณะกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (C16:1n7, C17:1, C18:1n9) ส่วนการเลี้ยงที่ 96, 120 และ 144 ชม. ของอาหารทั้ง 2 สูตรที่มีน้ำตาล 0.25 และ 0.5% มีคุณลักษณะกรดไขมันแบบไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว โดยตัวควบคุมและตัวที่เติมน้ำตาลกลูโคส 1% มีคุณลักษณะกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว รายละเอียดผลการศึกษาจากตารางที่ 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, และภาพที่ 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11

เมื่อเปรียบเทียบจากการศึกษาที่ผ่านมาถึงปริมาณไขมันของแบคทีเรีย CHUMP-POR03-2 CHUMP-POR03-6 และ CHUMP-POR03-7 ที่เลี้ยงในเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณไขมันในเชื้อมีค่าสูงสุดในเวลาการเลี้ยงที่ 7 วัน รายละเอียดแสดงดังตารางภาคผนวกที่ 4 และพบว่าชนิดและปริมาณของกรดไขมันในตัวอย่าง neutral lipids, glycolipids และ phospholipids ของเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR03-7 ที่เลี้ยงในเวลา 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน และเชื้อ CHUMP-POR03-2 ที่เลี้ยงในเวลา 5 วัน และ 7 วัน ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน พบคุณลักษณะเป็นกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว มีองค์ประกอบหลักกรดไขมันเป็น C18:1n7, C18:0, C16:0 โดยชนิดกรดไขมันมีแนวโน้มที่ไม่แตกต่างกัน แต่คุณลักษณะของกรดไขมันมีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงตามชนิดไขมันและระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง โดยใน neutral lipids ของตัวอย่างเชื้อ CHUMP-POR 03-7 กรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) และ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) จะมีปริมาณลดลงเมื่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงมากขึ้น และใน glycolipids กรดไขมัน SFAs, MUFAs, PUFAs จะลดลงในช่วงการเพาะเลี้ยง

5 วัน และปริมาณกลับเพิ่มขึ้น ในช่วงเวลาการเพาะเลี้ยง 7 วัน แต่ใน phospholipids กรดไขมัน MUFA's จะลดลงเมื่อเวลาในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น และกรดไขมัน SFA's และ PUFA's มีค่าสูงสุดในการเพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 5 วัน และตรวจไม่พบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 (EPA,DHA) รายละเอียดแสดงดังตาราง ภาคผนวกที่ 5-9 และภาพภาคผนวกที่ 1-3 ดังนั้นระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงน่าจะมีผลต่อคุณลักษณะของไขมันและกรดไขมัน และเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ดี ควรมีการศึกษาถึงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อด้วย ดังเช่นการศึกษา D Emdadi และ B Berland ในปี 1989 ที่พบว่าระยะเวลาในการเจริญเติบโตมีผลต่อชนิดไขมัน โดยศึกษาชนิดของไขมันในระหว่างระยะเวลาการเจริญเติบโตของ phytoplankton 2 ชนิดพบว่าช่วง lag phase ปริมาณไฮโดรคาร์บอนจะสูง แต่ปริมาณจะลดลงอย่างรวดเร็วใน exponential phase และไม่พบ lipid storage และพบว่าในระยะ stationary phase ปริมาณไขมันจะมากขึ้นถึงร้อยละ 50 และ 30 ปริมาณ triglyceride จะเพิ่มขึ้น และ polar lipid ในตัวอย่างก็ลดลง และจากการศึกษาของ Kock และ Botha ในปี 1998 พบว่าเชื้อราหลายชนิดมีการสะสมไขมันระหว่างระยะ stationary และผลของช่วงอายุในการเจริญเติบโตต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในเชื้อราที่เจริญที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเซลล์มีอายุมากขึ้นสัดส่วนของ C18:2 และ C18:3 ในระยะ stationary phase ต่ำกว่าในระยะ early lag phase ในขณะที่สัดส่วนของ C16:0 คงที่ในระยะ early lag phase จนถึงระยะ lag phase แล้วลดลงเมื่อเข้าสู่ stationary phase ซึ่งผู้วิจัยกล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของกรดไขมันอาจเป็นผลเนื่องมาจากเซลล์มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง ทำให้การสร้างไขมันแบบมีหัวซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์เมมเบรนลดลงด้วยเช่นกัน จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าปัจจัยเรื่องเวลาอย่างเดียวไม่มีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมัน และจากการวิจัยต่าง ๆ รายงานว่า แหล่งอาหาร อุณหภูมิ ความเค็ม มีผลต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบกรดไขมันในเชื้อ จากการศึกษาถึงสภาวะเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อรา 6 ชนิด *P. cactorum*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cinnamomi*, *P. cryptogea*, and *P. nicotianae* ต่อรูปแบบและการผลิตกรดไขมัน ของ Duan และคณะในปี 2011 โดยมีสภาวะดังนี้ growth medium (20% carrot broth, CB; 10% lima bean broth, LBB; 5% clarified V8 juice broth, V8B; ¼-strength potato dextrose broth, PDB; and ¼-strength Sabourand dextrose broth; SDB) และอุณหภูมิ 6 อุณหภูมิในการบ่มเพาะ (10, 15, 20, 25, 30, และ 35°C) เวลาในการเพาะเลี้ยง 4 ระยะ (4, 8, 12, และ 16 วัน) ผลการศึกษาพบกรดไขมัน 15 ชนิด พบกรดไขมัน 5 ชนิดที่เป็นตัวหลักและนำมาเปรียบเทียบกับสภาวะในการเพาะเลี้ยงได้แก่ myristic (14:0), palmitic (16:0), linoleic (18:2 n-6), oleic (18:1 n-7), และ eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลอย่างมากต่อการผลิตกรดไขมัน แต่อุณหภูมิในการบ่มไม่มีผลต่อ myristic acid แต่มีผลต่อ palmitic and linoleic acids โดยพบว่า ที่อุณหภูมิ 25°C หรือสูงกว่าจะผลิตได้มาก ส่วน oleic acid และ eicosapentaenoic

acid ผลิตได้ดีอุณหภูมิที่ 20°C หรือต่ำกว่า ส่วนเวลาในการเพาะเลี้ยงพบว่าเมื่อมีผลต่อกรดไขมัน Palmitic acid ซึ่งพบว่าผลิตได้ดีที่ระยะเวลา 4 วัน และ 8 วัน ส่วน oleic acid ผลิตได้ดีที่ 12 และ 16 วัน แต่ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงไม่มีผลต่อการผลิต linoleic และ eicosapentaenoic acids

จากการศึกษาผลของ culture media, incubation period และสัดส่วนของ C:N ที่มีต่อองค์ประกอบของเชื้อแบคทีเรีย ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล 8 ชนิด (Orissa, Bay of Bengal) ได้ 50 isolated จำแนกได้ 4 สายพันธุ์ พบแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* คัดแยกจากฟองน้ำ *Aurora globostellata* และ *Pseudomonas* spp. จากฟองน้ำ *Heteronema erecta* พบไขมันทั้งหมดร้อยละ 16.9 และ 31.7 (dry biomass) พบว่าเมื่อเพิ่มสัดส่วนของ C:N ปริมาณไขมันจะเพิ่มเป็นร้อยละ 33.4 และ 42.7 ตามลำดับ พบกรดไขมัน C18:3n6 ร้อยละ 4.5 และ 1.12 และ *Bacillus subtilis* ตรวจพบกรดไขมัน EPA ร้อยละ 3.8 (Patnayak and Sree, 2004) และจากการศึกษาผลของความเค็มและอุณหภูมิต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด DHA ของเชื้อ *Schizochytrium* spp. 3 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ใช้สูตรอาหารในการเลี้ยงคือ กลูโคสต่อยีสต์สกัด (6:1 %) เลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน ที่อุณหภูมิ 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียส และความเค็ม 5, 15 และ 25 ส่วนในพันส่วน ผลปรากฏว่า *Schizochytrium* BUCACD 302 มีปริมาณกรดไขมันดีเอสโอมากที่สุด โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตดีเอสโอคืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน เป็นเวลา 6 วัน ส่วนสภาวะในการเลี้ยงเชื้ออีก 2 สายพันธุ์ก็มีความแตกต่างกันในด้านความเค็ม และเวลาในการเพาะเลี้ยง (ลลิตา, 2548)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าคุณลักษณะกรดไขมันจากเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหาร 2 สูตร โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (น้ำตาลกลูโคส 0.25%, 0.5% และ 1%) เลี้ยงที่ 48, 72, 96, 120 และ 144 ชม. อาจสรุปได้ว่าถ้าต้องการกรดไขมันชนิด SFAs ควรเลี้ยงด้วยอาหาร Marine หรือ Marine+1.0%glucose และเลี้ยงที่ 48 ชม. ส่วนกรดไขมันชนิด MUFAs ควรเลี้ยงด้วยอาหาร Marine หรือ Marine+0.25%glucose ที่เวลา 144 ชม. และกรดไขมันชนิด PUFA ควรเลี้ยงด้วยอาหาร Marine+1.0%glucose ที่เวลา 48 ชม. แต่จากการศึกษาครั้งนี้ปริมาณกรดไขมันชนิด PUFA ตรวจพบในปริมาณที่ต่ำ และตรวจไม่พบกรดไขมันจำเป็นอย่าง EPA, DHA ซึ่งองค์ประกอบของกรดไขมันในจุลินทรีย์ทั้งชนิดและปริมาณของกรดไขมันจะขึ้นกับสภาพของการเพาะเลี้ยง ซึ่งปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มแสงในกรณีที่เป็นจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง และการให้อากาศ ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ องค์ประกอบของอาหาร ระดับของความดันออสโมติก (osmotic strength) นอกจากนี้สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ยังมีผลต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ สิ่งเหล่านี้มีผลต่อการสังเคราะห์และสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวของจุลินทรีย์อย่างมาก โดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดอาจมีความต้องการชนิดและปริมาณสารอาหารเพื่อการเจริญ และการสร้างผลิตภัณฑ์หรือสารต่าง ๆ แตกต่างกัน แม้แต่

ในสายพันธุ์เดียวกันหากเลี้ยงด้วยสารอาหารต่างกันก็อาจทำให้การเจริญและการสร้างผลิตภัณฑ์หรือสารต่าง ๆ แตกต่างกันไป (นลินี เพชรเทียนชัย 2545) จากการศึกษาการเจริญและการสร้างกรดไขมัน EPA ของแบคทีเรียที่แยกได้จากปลาไส้ปลาแมคเคอเรลโดย Akimoto และคณะ (1990) พบว่าการเจริญสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารอาหารเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณกรดไขมัน EPA ต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งลดลง และกรดไขมันบางชนิด เช่น oleic acid, LA และ ALA มีผลต่อการสร้างกรดไขมัน EPA ของจุลินทรีย์บางชนิด ซึ่งเป็นผลมาจากการที่กรดไขมันเหล่านี้มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในกลไกการทำ ให้กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Ward, 1995) ดังนั้นองค์ประกอบและปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมจึงจะทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญและสร้างกรดไขมัน EPA และ DHA ได้ดี และมีการเติมน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน โดยคาร์บอนเป็นแร่ธาตุที่สำคัญต่อการเจริญและการสังเคราะห์กรดไขมันของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปพบว่าจุลินทรีย์สามารถใช้กลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเจริญและการเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ratledge, 1989) นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N) สูงหมายความว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีคาร์บอนสูงและมีไนโตรเจนต่ำจะส่งผลในการสะสมไขมันเกิดขึ้นได้ดีด้วย (Ratledge, 1989) ในแบคทีเรีย *Flexibacter* strain Inp (Intriago และ Floodgate, 1991) ชนิดของคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีผลต่อปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะที่แบคทีเรียผลิต พบว่าเมื่อใช้ casamino acid, Tween 80, glycerol, glucose, starch, lactose และ gluconate เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า glucose ให้ผลผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะสูงที่สุด (LA; 17.7 เปอร์เซ็นต์ และ ALA; 2.25 เปอร์เซ็นต์) และการใช้ Tween 80 เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีการผลิตเฉพาะ LA เท่านั้นไม่พบว่าการผลิต ALA Singh และคณะ (1997) รายงานผลของชนิดของแหล่งคาร์บอนต่อการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะบางชนิดโดยเฉพาะ DHA พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงรา *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี glucose, fructose และ lactose เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าการเจริญและการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะสูงที่สุดเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนแหล่งคาร์บอนอื่นๆการเจริญและการผลิตกรดไขมันในเซลล์ก็ต่ำด้วยซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าแหล่งคาร์บอนเหล่านี้จะจำกัดการเจริญและการสร้างกรดไขมันของรา Yokochi คณะ (1998) ได้รายงานผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต DHA ในรา พบว่าเมื่อใช้ glucose, fructose, glycerol, oleic acid หรือ linseed oil เป็นแหล่งคาร์บอนจะให้น้ำหนักเซลล์แห้งและกรดไขมันในระดับสูง แต่เมื่อใช้ disaccharides และ polysaccharide จะให้การเจริญที่ไม่ดี ในกรณีที่ใช้ glucose, fructose และ glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนจะได้ปริมาณ DHA เท่ากับ 32.5 เปอร์เซ็นต์, 30.9 เปอร์เซ็นต์ และ 43.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว โดยเฉพาะ palmitic acid จะอยู่ในช่วง 45-60 เปอร์เซ็นต์ และที่เหลือเกือบทั้งหมดจะเป็น DHA และ DPA ส่วนปริมาณของ EPA และ AA พบว่ามีน้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อใช้ oleic acid หรือ linseed oil เป็นแหล่งคาร์บอนจะให้น้ำหนักเซลล์แห้งและกรดไขมันทั้งหมดในระดับสูง แต่ปริมาณ DHA จะลดลงต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ และได้ผลผลิตน้อย ดังนั้นการศึกษาแหล่งคาร์บอนสัดส่วนที่เหมาะสมและสภาวะอื่นๆ เพื่อการได้มาของ n-3 PUFAs ควรมีการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 24 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (48 ชั่วโมง)

กรดไขมัน	Zobell	Z+0.25	Z+0.5	Z+1
C12:0				
C13:0	0.47 ± 0.06		0.52 ± 0.01	0.26 ± 0.37
C14:0	1.98 ± 0.17	1.64 ± 0.01	1.60 ± 0.01	1.11 ± 1.58
C14:1	0.27 ± 0.07		0.23 ± 0.04	0.13 ± 0.19
C15:0	2.84 ± 0.24	3.28 ± 0.03	3.11 ± 0.29	1.66 ± 2.34
C15:1	0.47 ± 0.06	0.61 ± 0.01	0.58 ± 0.02	0.29 ± 0.41
C16:0	11.73 ± 0.27	7.91 ± 0.48	8.65 ± 0.16	4.69 ± 6.64
C16:1n7	7.58 ± 0.70	8.53 ± 0.11	8.09 ± 0.73	3.96 ± 5.60
C17:0	11.84 ± 0.39	13.70 ± 0.65	10.86 ± 0.56	3.48 ± 4.92
C17:1	6.39 ± 0.76	7.63 ± 0.13	7.24 ± 0.71	3.70 ± 5.23
C18:0	8.07 ± 0.28	2.42 ± 0.46	3.60 ± 0.78	1.53 ± 2.16
C18:1n9	10.07 ± 0.37	8.35 ± 0.58	6.36 ± 0.39	3.73 ± 5.27
C18:2n6	1.16 ± 0.10	1.39 ± 0.05	0.93 ± 0.01	0.59 ± 0.83
18:3n3			0.55 ± 0.03	0.10 ± 0.15
C20:0				0.40 ± 0.56
C20:2			0.30 ± 0.05	
C21:0			0.41 ± 0.07	
C20:3n3			0.44 ± 0.03	
C22:0				0.57 ± 0.80
C23:0			0.32 ± 0.01	0.64 ± 0.90
C24:0			0.30 ± 0.05	0.71 ± 1.00
C22:6n3				
SFAs	36.93	28.94	29.36	15.03
MUFAs	24.78	25.11	22.51	11.81
PUFAs	2.01	1.39	2.89	1.41

ตารางที่ 25 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (72 ชั่วโมง)

กรดไขมัน	Zobell			Z+0.25			Z+0.5			Z+1		
C12:0										0.52	±	0.01
C13:0	0.73	±	0.11	0.67	±	0.05	0.84	±	0.01	0.59	±	0.01
C14:0	1.60	±	0.32	2.20	±	0.06	1.91	±	0.04	3.75	±	0.03
C14:1							0.30	±	0.03			
C15:0	3.26	±	0.12	3.59	±	0.20	4.03	±	0.02	3.27	±	0.02
C15:1	0.65	±	0.00	0.78	±	0.05	0.78	±	0.00	0.74	±	0.02
C16:0	7.18	±	0.45	8.48	±	0.95	6.22	±	0.18	8.94	±	0.03
C16:1n7	8.56	±	0.36	10.05	±	0.54	9.85	±	0.10	10.38	±	0.01
C17:0	5.19	±	0.18	3.77	±	0.05	3.84	±	0.25	4.49	±	0.01
C17:1	7.04	±	0.14	8.26	±	0.53	8.54	±	0.08	8.83	±	0.02
C18:0	3.34	±	0.63	2.81	±	0.34	1.56	±	0.17	2.13	±	0.04
C18:1n9	4.57	±	0.33	4.75	±	0.37	5.35	±	0.04	3.38	±	0.03
C18:2n6	0.44	±	0.11	0.49	±	0.12	0.78	±	0.00			
C18:3n3	0.58	±	0.21									
C20:0							0.33	±	0.01			
C20:2	0.44	±	0.11									
C21:0	0.44	±	0.11									
C20:3n3	0.44	±	0.11									
C22:2												
C22:6n3												
SFAs	21.74			21.52			18.73			23.69		
MUFAs	20.82			23.84			24.82			23.33		
PUFAs	323			1.42			1.70			0.99		

ตารางที่ 26 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (96 ชั่วโมง)

กรดไขมัน	Zobell			Z+0.25			Z+0.5			Z+1		
C12:0	0.32	±	0.01				0.20	±	0.01	0.46	±	0.00
C13:0	0.88	±	0.00	0.61	±	0.06	0.89	±	0.01	0.46	±	0.00
C14:0	2.10	±	0.05	2.21	±	0.02	2.22	±	0.01	3.38	±	0.01
C14:1	0.36	±	0.01				0.26	±	0.02	0.33	±	0.00
C15:0	3.94	±	0.09	3.40	±	0.08	4.15	±	0.00	2.88	±	0.04
C15:1	0.77	±	0.03	0.74	±	0.01	0.85	±	0.01	0.66	±	0.00
C16:0	7.38	±	0.15	8.31	±	0.12	7.02	±	0.01	9.90	±	0.02
C16:1n7	9.75	±	0.28	9.78	±	0.25	10.85	±	0.09	9.11	±	0.03
C17:0	3.78	±	0.11	4.38	±	0.09	3.25	±	0.02	4.01	±	0.04
C17:1	7.54	±	0.19	7.74	±	0.23	8.43	±	0.03	7.75	±	0.02
C18:0	1.79	±	0.04	1.31	±	0.01	1.23	±	0.00	2.88	±	0.05
C18:1n9	2.42	±	0.06	3.81	±	0.09	2.16	±	0.04	2.85	±	0.01
C18:2n6	0.29	±	0.02	0.53	±	0.06	0.24	±	0.01			
C22:0	0.23	±	0.01									
C22:2												
C24:0	0.25	±	0.02									
C22:6n3												
SFAs	20.66			20.22			18.96			23.98		
MUFAs	20.84			22.07			22.55			20.70		
PUFAs	1.11			1.60			0.73			0.83		

ตารางที่ 27 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (120 ชั่วโมง)

กรดไขมัน	Zobell			Z+0.25			Z+0.5			Z+1		
C12:0										0.41	±	0.01
C13:0	0.77	±	0.01	0.67	±	0.00	0.88	±	0.00	0.49	±	0.01
C14:0	1.78	±	0.06	2.42	±	0.01	2.52	±	0.01	3.68	±	0.07
C14:1										0.26	±	0.02
C15:0	3.55	±	0.16	3.69	±	0.01	3.93	±	0.02	3.04	±	0.14
C15:1	0.91	±	0.07	0.99	±	0.00	0.85	±	0.04	0.66	±	0.05
C16:0	6.53	±	1.18	7.42	±	0.03	7.67	±	0.03	11.25	±	0.29
C16:1n7	11.48	±	0.42	12.51	±	0.04	11.45	±	0.09	9.25	±	0.44
C17:0	3.56	±	0.30	2.18	±	0.01	1.96	±	0.30	2.64	±	0.28
C17:1	8.69	±	0.26	9.41	±	0.03	8.70	±	0.08	8.01	±	0.36
C18:0	4.47	±	0.17	1.03	±	0.00	2.17	±	0.01	4.90	±	0.59
C18:1n9	3.31	±	0.05	2.94	±	0.01	3.05	±	0.01	3.42	±	0.11
C18:2n6				0.28	±	0.00	0.35	±	0.00	0.38	±	0.05
C22:2												
C22:6n3												
SFAs	20.65			17.43			19.13			26.41		
MUFAs	24.40			25.84			24.05			21.61		
PUFAs	0.77			0.60			0.35			0.76		

ตารางที่ 28 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell medium (144 ชั่วโมง)

กรดไขมัน	Zobell	Z+0.25	Z+0.5	Z+1
C12:0				
C13:0	0.72 ± 0.02			
C14:0	1.60 ± 0.00	2.24 ± 0.05	2.17 ± 0.01	3.68 ± 0.14
C14:1				
C15:0	3.36 ± 0.02	3.75 ± 0.20	3.59 ± 0.15	3.54 ± 0.33
C15:1	0.98 ± 0.01	1.10 ± 0.14	0.46 ± 0.65	
C16:0	4.99 ± 0.01	7.03 ± 0.27	6.73 ± 0.35	10.01 ± 0.26
C16:1n7	12.32 ± 0.01	13.75 ± 0.11	12.40 ± 0.58	11.11 ± 0.52
C17:0	2.12 ± 0.02	3.81 ± 0.84	3.91 ± 0.94	4.49 ± 1.44
C17:1	9.69 ± 0.02	10.67 ± 0.07	9.70 ± 0.47	10.03 ± 0.55
C18:0	1.69 ± 0.01	1.00 ± 0.28	1.23 ± 0.42	2.80 ± 0.33
C18:1n9	4.99 ± 0.01	3.14 ± 0.09	3.47 ± 0.33	3.39 ± 0.12
C18:2n6	0.64 ± 0.02			
C22:2				
C24:0			3.04 ± 1.25	
C22:6n3				
C24:1n9				
SFAs	14.49	17.83	20.67	24.52
MUFAs	27.97	28.67	26.03	24.53
PUFAs	1.26	2.18	1.55	1.83

ตารางที่ 29 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหารMarine medium 2216 (48 ชั่วโมง)

กรดไขมัน	Marine	M+0.25	M+0.5	M+1
C12:0				
C13:0	0.47 ± 0.01			
C14:0	1.51 ± 0.04	1.53 ± 0.02	1.70 ± 0.19	1.91 ± 0.00
C15:0	3.09 ± 0.09	3.06 ± 0.04	2.74 ± 0.22	2.41 ± 0.38
C15:1	0.47 ± 0.01	0.33 ± 0.10		
C16:0	7.45 ± 0.55	7.91 ± 0.24	8.77 ± 0.35	12.48 ± 0.87
C16:1n7	9.20 ± 0.26	8.68 ± 0.13	7.56 ± 0.66	6.72 ± 1.06
C17:0	12.65 ± 0.28	14.29 ± 0.89	14.17 ± 0.45	13.60 ± 0.79
C17:1	7.51 ± 0.25	7.32 ± 0.03	6.40 ± 0.67	5.44 ± 0.97
C18:0	1.70 ± 0.31	1.87 ± 0.16	5.36 ± 0.44	7.77 ± 0.87
C18:1n9	4.72 ± 0.50	5.22 ± 0.27	8.77 ± 0.70	9.43 ± 0.06
C18:2n6	0.79 ± 0.07	0.83 ± 0.07	1.45 ± 0.05	1.36 ± 0.11
C18:3n3				0.91 ± 0.06
C20:2				0.76 ± 0.01
C21:0				0.78 ± 0.12
C20:3n3				0.78 ± 0.12
C22:0				2.01 ± 0.54
C22:2				
C23:0				
C22:6n3				
SFAs	26.86	28.66	33.13	40.97
MUFAs	21.90	21.56	22.73	21.59
PUFAs	1.72	1.93	2.12	4.65

ตารางที่ 30 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหารMarine medium 2216 (72 ชั่วโมง)

กรดไขมัน	Marine			M+0.25			M+0.5			M+1		
C12:0												
C13:0	0.62	±	0.01	0.50	±	0.01	0.51	±	0.02	0.55	±	0.04
C14:0	1.45	±	0.01	1.57	±	0.04	1.63	±	0.09	1.44	±	0.02
C14:1												
C15:0	3.91	±	0.07	3.53	±	0.09	3.60	±	0.18	3.92	±	0.05
C15:1	0.58	±	0.04	0.50	±	0.01	0.51	±	0.02	0.59	±	0.01
C16:0	6.05	±	0.10	7.42	±	0.40	7.21	±	0.92	6.17	±	0.22
C16:1n7	10.40	±	0.14	9.08	±	0.24	8.86	±	0.32	9.79	±	0.13
C17:0	4.35	±	0.06	4.12	±	0.06	4.39	±	0.20	4.08	±	0.01
C17:1	9.06	±	0.07	8.05	±	0.25	7.85	±	0.29	8.84	±	0.07
C18:0	1.01	±	0.04	3.23	±	0.65	2.72	±	0.16	0.98	±	0.11
C18:1n9	2.32	±	0.06	4.28	±	0.25	7.37	±	0.11	3.36	±	0.18
C18:2n6				0.43	±	0.02	0.91	±	0.02	1.01	±	0.06
C18:3n3				0.50	±	0.01						
C20:2	0.19	±	0.27	0.29	±	0.05						
C21:0	0.19	±	0.27	0.34	±	0.02						
C20:3n3	0.19	±	0.27	0.37	±	0.02						
C22:2												
C22:6n3												
SFAs	17.59			20.72			20.05			17.13		
MUFAs	22.36			21.92			24.59			22.58		
PUFAs	1.36			2.45			1.92			1.93		

ตารางที่ 31 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Marine medium 2216 (96 ชั่วโมง)

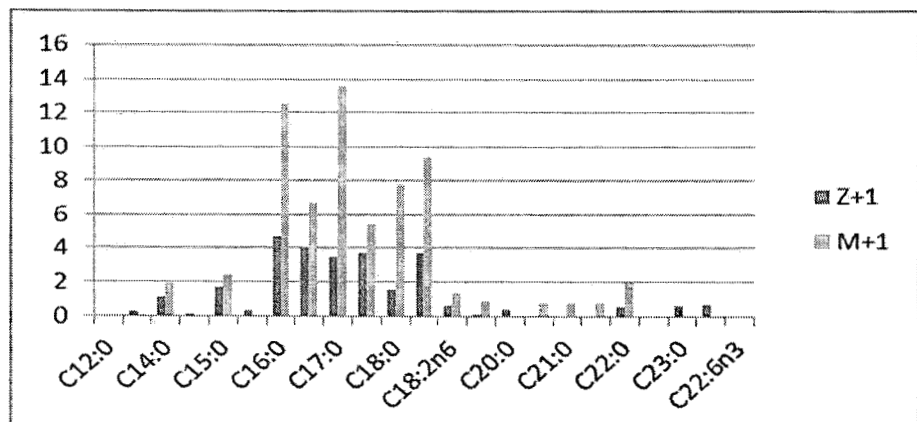
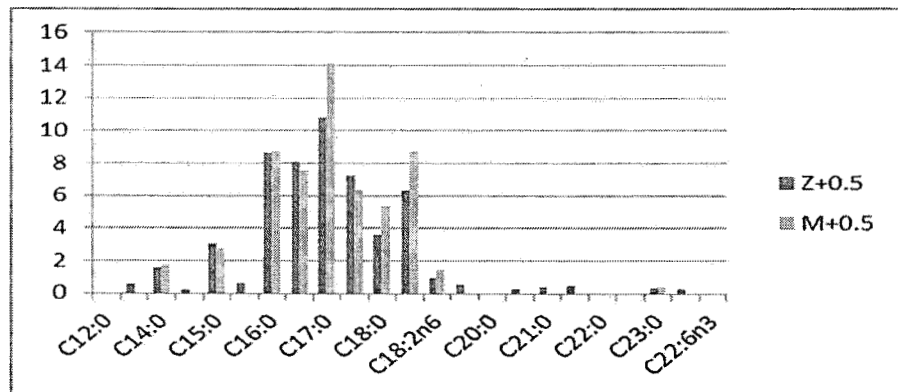
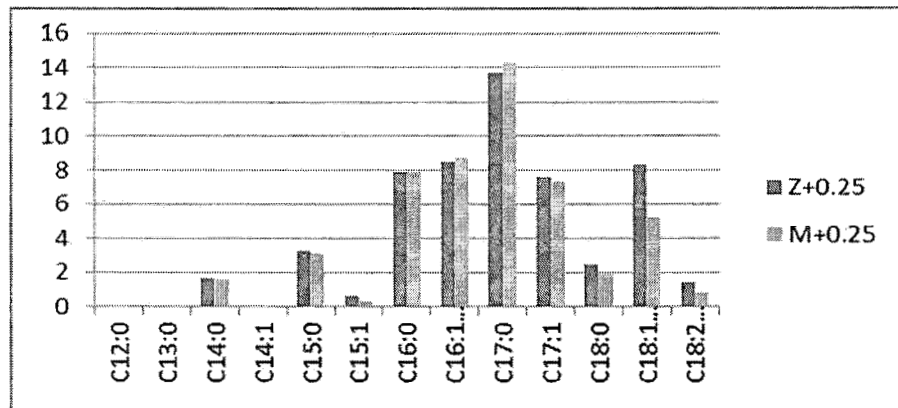
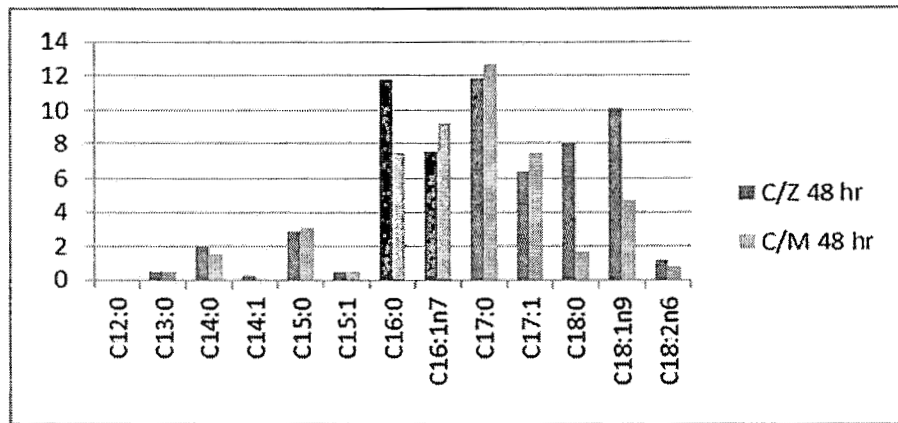
กรดไขมัน	Marine	M+0.25	M+0.5	M+1
C12:0				
C13:0	0.59 ±0.03	0.53 ± 0.02	0.60 ± 0.00	0.60± 0.03
C14:0	1.32 ±0.06	1.57 ± 0.11	1.43 ± 0.00	1.36 ±0.00
C14:1	0.34 ±0.01	0.25 ± 0.01		
C15:0	3.94 ±0.17	3.96 ± 0.15	4.23 ± 0.08	4.29±0.00
C15:1	0.65 ±0.03	0.61 ± 0.02	0.66 ± 0.00	0.62±0.01
C16:0	5.84 ±0.54	7.54 ± 0.98	5.96 ± 0.35	6.00±0.05
C16:1n7	9.61±0.35	8.74 ± 0.28	9.39 ± 0.11	9.75±0.02
C17:0	4.54±0.04	4.02 ± 0.00	3.91 ± 0.05	3.59±0.04
C17:1	8.45±0.33	7.73 ± 0.30	8.74 ± 0.11	9.04±0.02
C18:0	1.58±0.66	3.99 ± 0.03	1.40 ± 0.38	1.11±0.02
C18:1n9	2.74±0.49	5.46 ± 0.00	3.82 ± 0.34	3.59±0.04
C18:2n6	0.31±0.05	0.68 ± 0.09	0.51 ± 0.04	0.46±0.01
C18:3n3	0.31±0.05	0.43 ± 0.12		
C20:3n3		0.15 ± 0.22		
C22:2				
C22:6n3				
SFAs	17.82	21.61	17.53	16.95
MUFAs	21.78	22.78	22.60	23.00
PUFAs	1.35	1.90	1.31	1.17

ตารางที่ 32 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหารMarine medium 2216 และเพิ่ม glucose 3 ความเข้มข้น (120 ชั่วโมง)

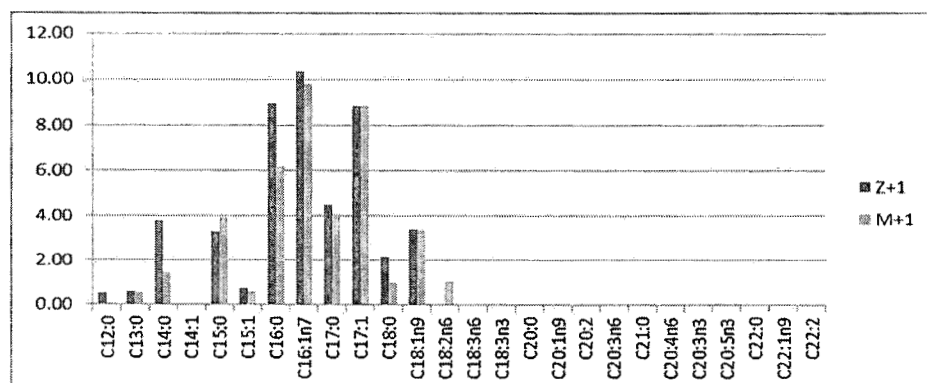
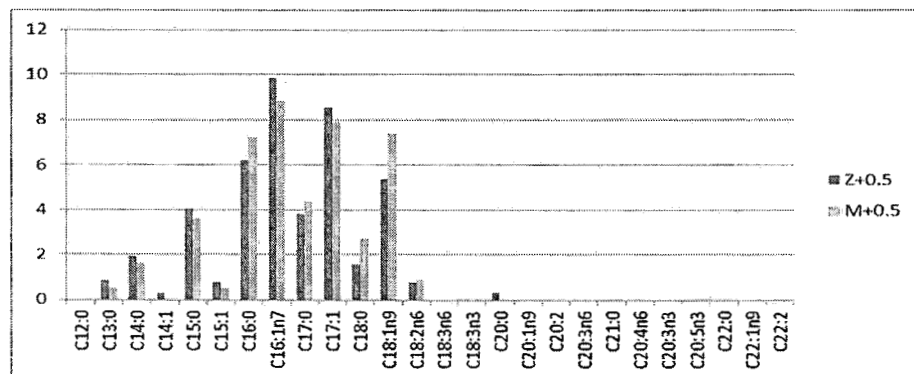
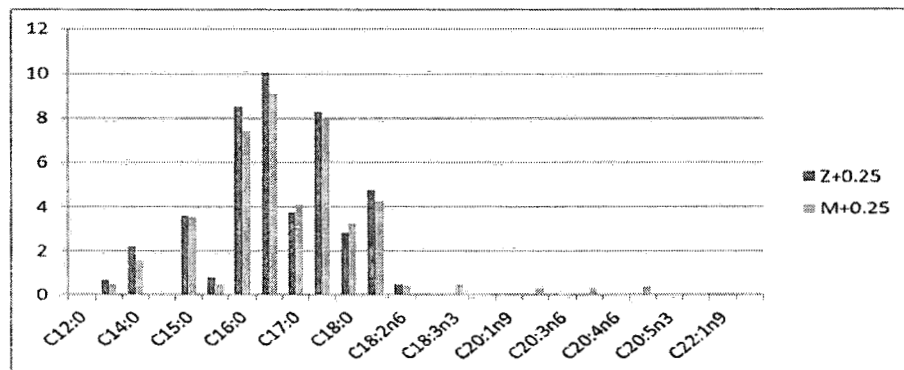
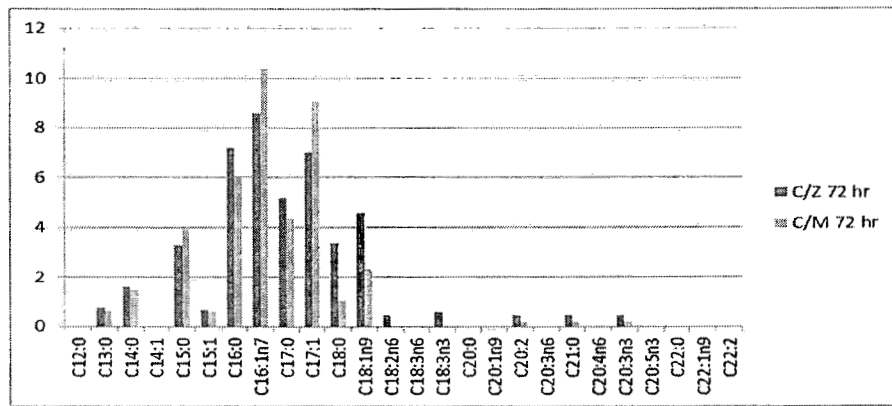
กรดไขมัน	Marine	M+0.25	M+0.5	M+1
C12:0				
C13:0	0.51 ± 0.03	0.49 ± 0.02	0.56 ± 0.02	0.56 ± 0.02
C14:0	1.50 ± 0.04	1.38 ± 0.05	1.43 ± 0.00	1.43 ± 0.00
C14:1				
C15:0	3.78 ± 0.50	4.31 ± 0.19	4.44 ± 0.09	4.44 ± 0.09
C15:1	0.66 ± 0.04	0.67 ± 0.05	0.72 ± 0.07	0.72 ± 0.07
C16:0	7.72 ± 0.24	6.99 ± 0.46	7.35 ± 0.02	7.35 ± 0.02
C16:1n7	10.28 ± 0.19	10.35 ± 0.50	10.27 ± 0.24	10.27 ± 0.24
C17:0	3.74 ± 0.64	3.93 ± 0.44	4.32 ± 0.36	4.32 ± 0.36
C17:1	9.58 ± 0.20	9.83 ± 0.53	9.75 ± 0.19	9.75 ± 0.19
C18:0	4.11 ± 0.47	3.49 ± 0.08	2.34 ± 0.05	2.34 ± 0.05
C18:1n9	4.56 ± 0.28	3.32 ± 0.02	3.36 ± 0.09	3.36 ± 0.09
C18:2n6				
C22:6n3				
SFAs	21.37	20.59	20.44	20.44
MUFAs	25.08	24.17	24.10	24.10
PUFAs	0.69	0.67	0.77	0.77

ตารางที่ 33 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหารMarine medium 2216 (144 ชั่วโมง)

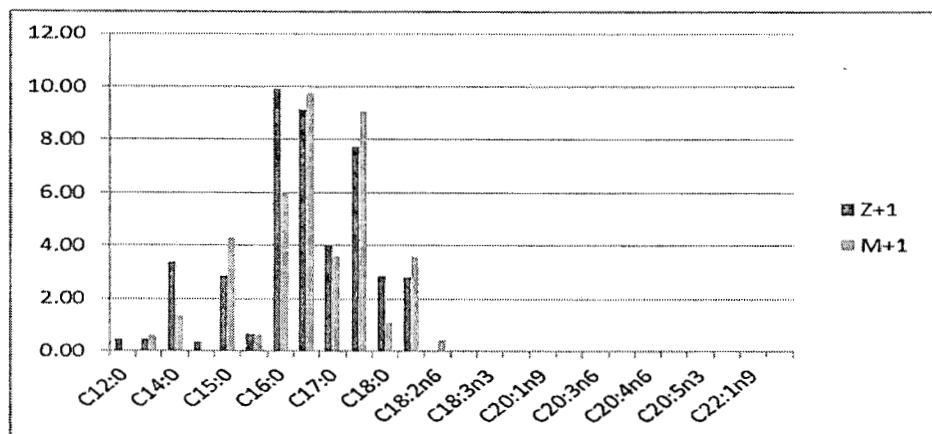
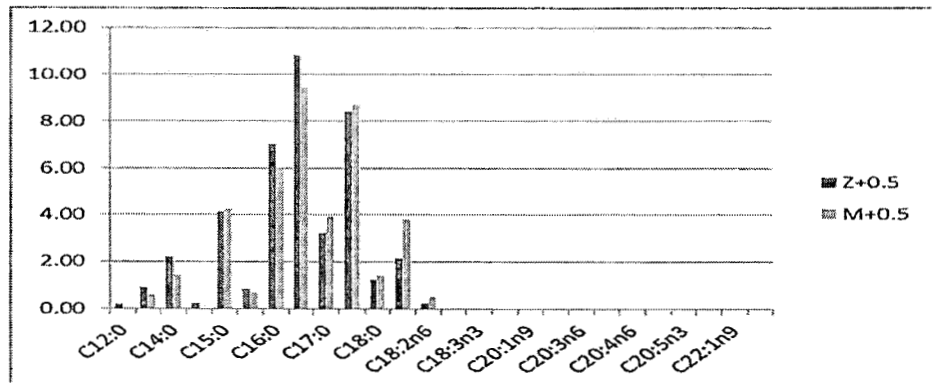
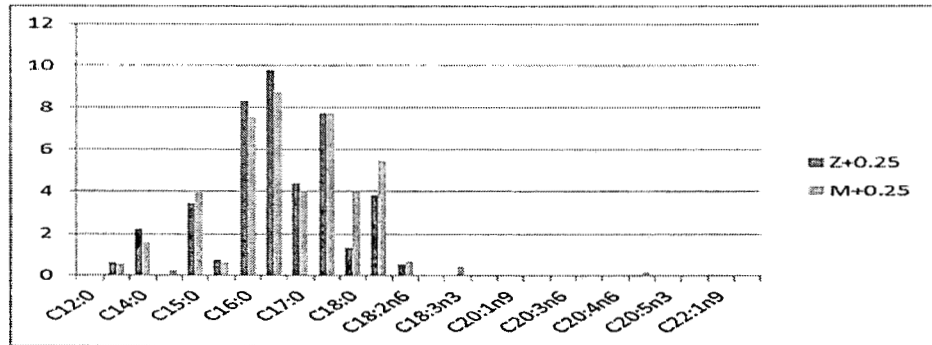
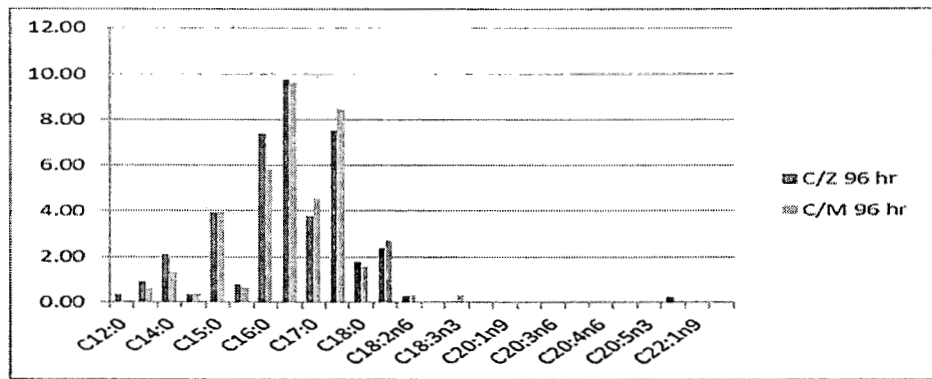
กรดไขมัน	Marine	M+0.25	M+0.5	M+1
C12:0				
C13:0	0.73 ± 0.13	0.75 ± 0.16	0.75 ± 0.15	1.05 ± 0.14
C14:0	1.45 ± 0.03	1.61 ± 0.17	1.48 ± 0.10	1.36 ± 0.03
C14:1				
C15:0	5.13 ± 0.06	5.41 ± 0.33	5.23 ± 0.59	5.29 ± 0.16
C15:1	0.85 ± 0.04	0.37 ± 0.53	0.43 ± 0.61	0.88 ± 0.11
C16:0	5.34 ± 0.57	8.29 ± 0.02	6.83 ± 0.30	5.57 ± 0.24
C16:1n7	13.40 ± 0.17	12.42 ± 0.49	12.02 ± 0.95	12.13 ± 0.08
C17:0	3.56 ± 0.53	3.49 ± 0.43	4.40 ± 0.09	4.02 ± 0.00
C17:1	12.27 ± 0.20	12.68 ± 0.13	11.96 ± 0.88	12.55 ± 0.14
C18:0	0.85 ± 0.42	3.02 ± 0.36	2.12 ± 0.40	0.98 ± 0.24
C18:1n9	2.63 ± 0.23	4.61 ± 0.06	4.29 ± 0.24	2.55 ± 0.19
C18:2n6				
C18:3n6				
C18:3n3				
C22:2				
C22:6n3				
SFAs	17.05	22.56	20.82	18.28
MUFAs	29.15	30.08	28.70	28.10
PUFAs	1.06	1.18	0.98	1.02



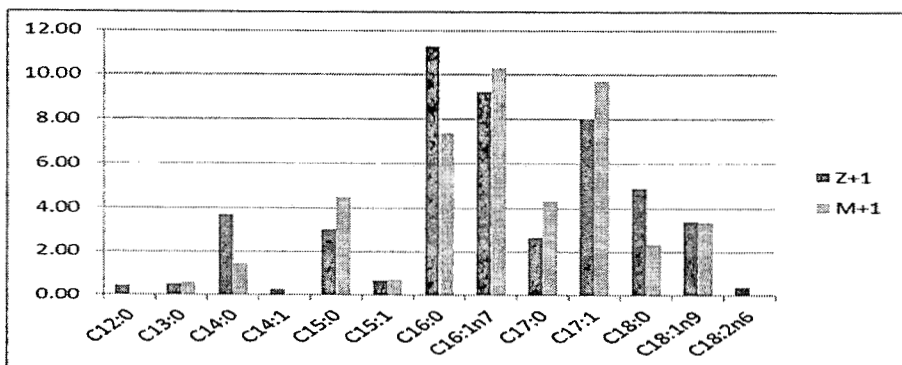
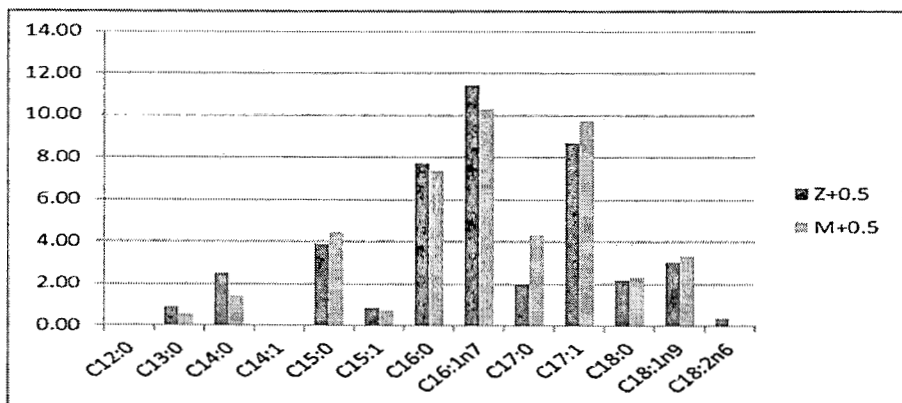
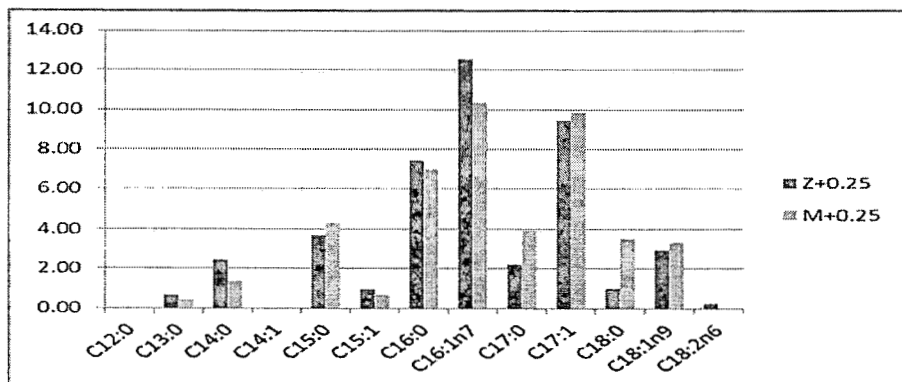
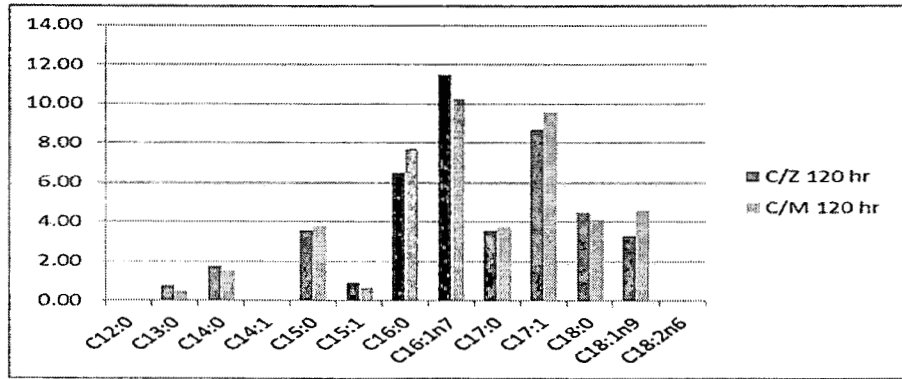
ภาพที่ 3 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 48 ชั่วโมง (%TFA)



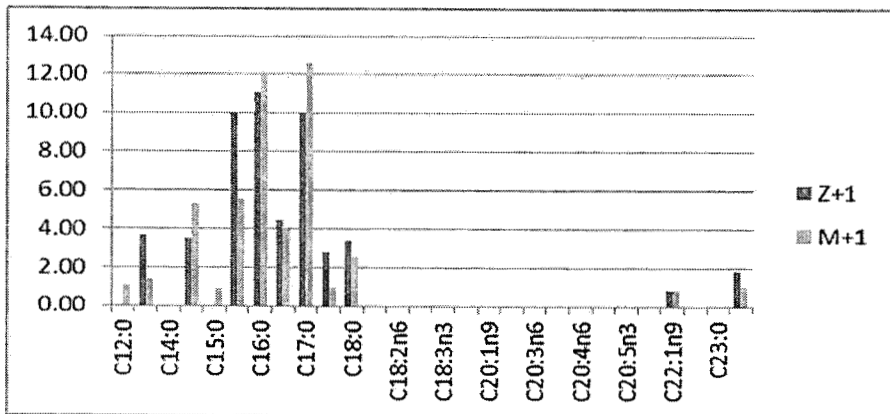
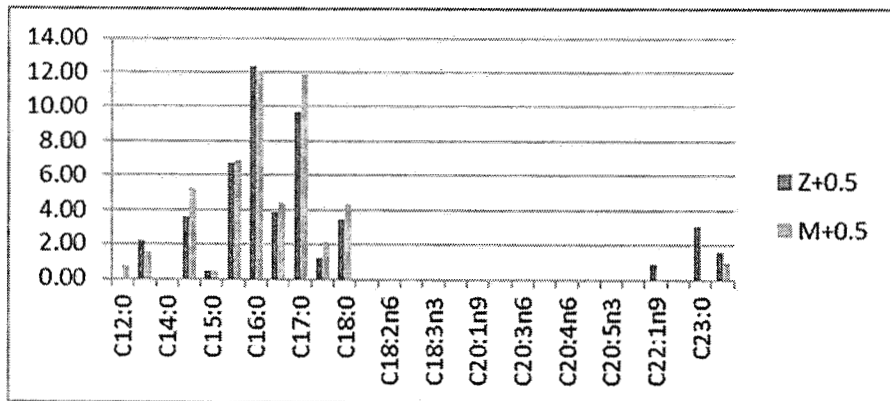
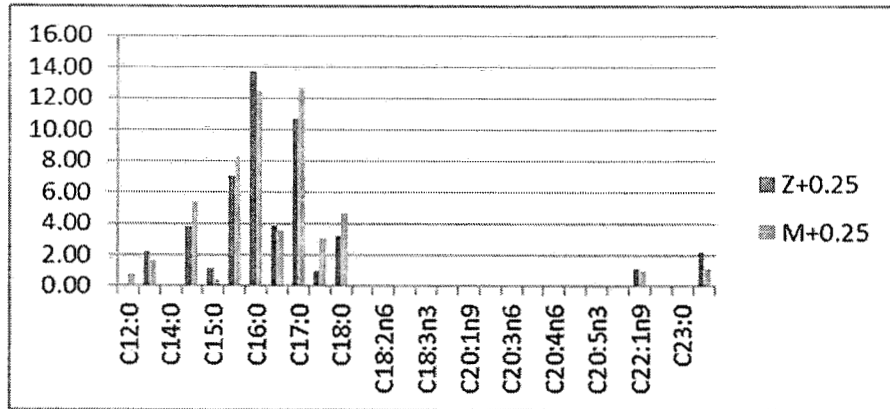
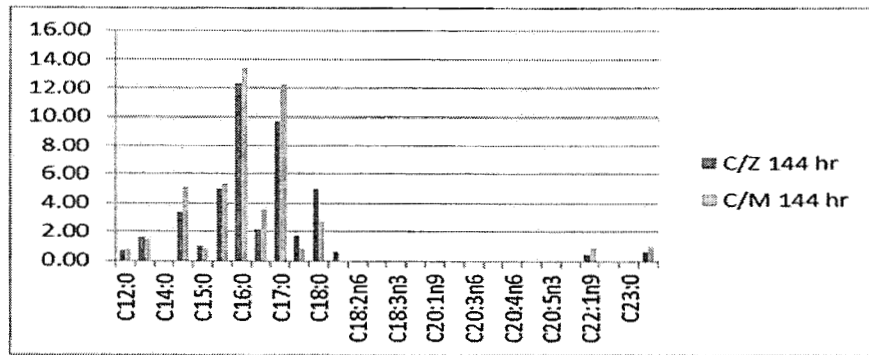
ภาพที่ 4 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 72 ชั่วโมง (%TFA)



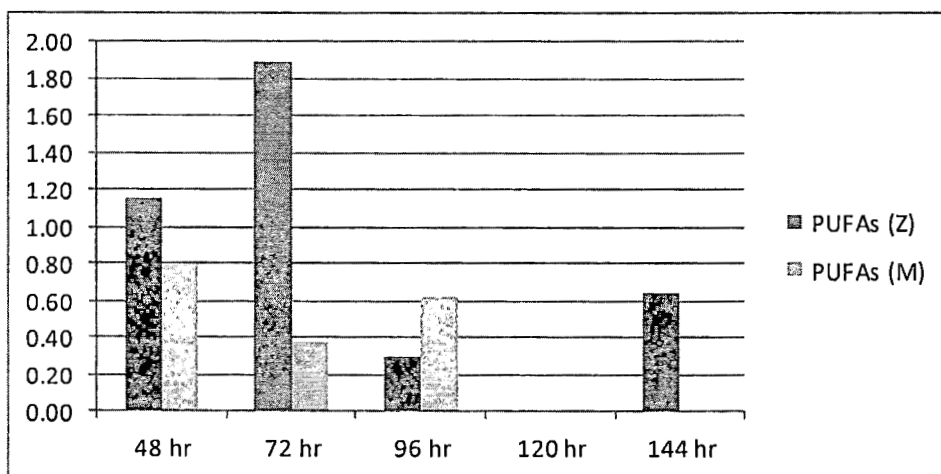
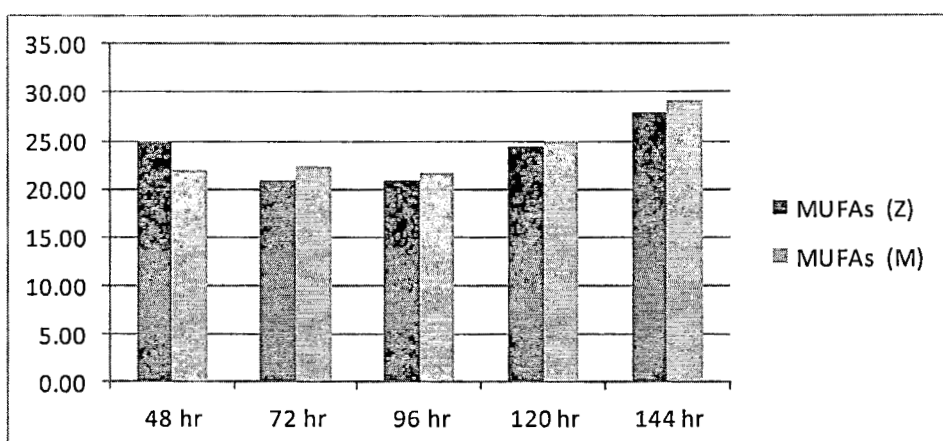
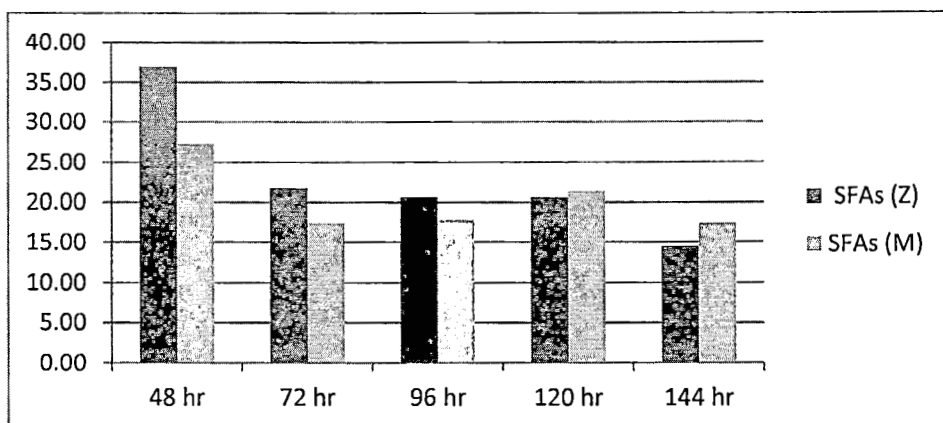
ภาพที่ 5 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 96 ชั่วโมง (%TFA)



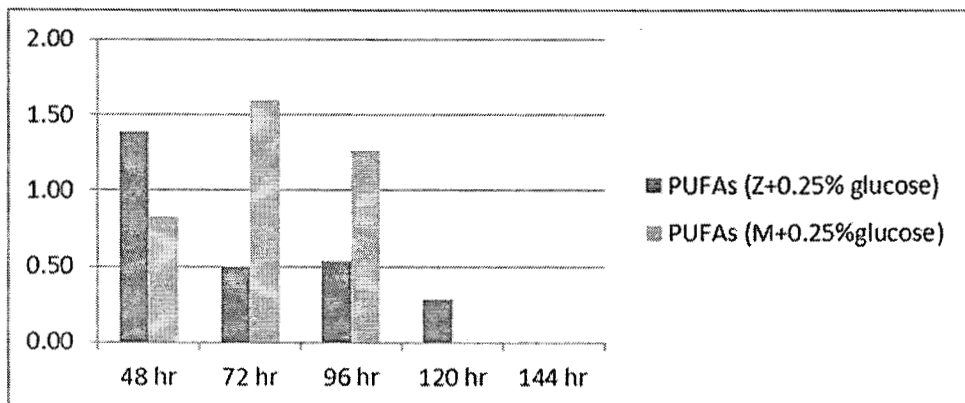
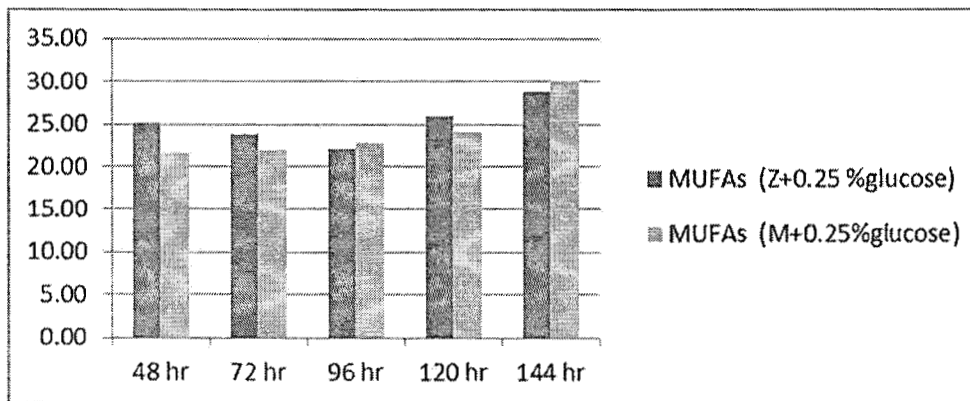
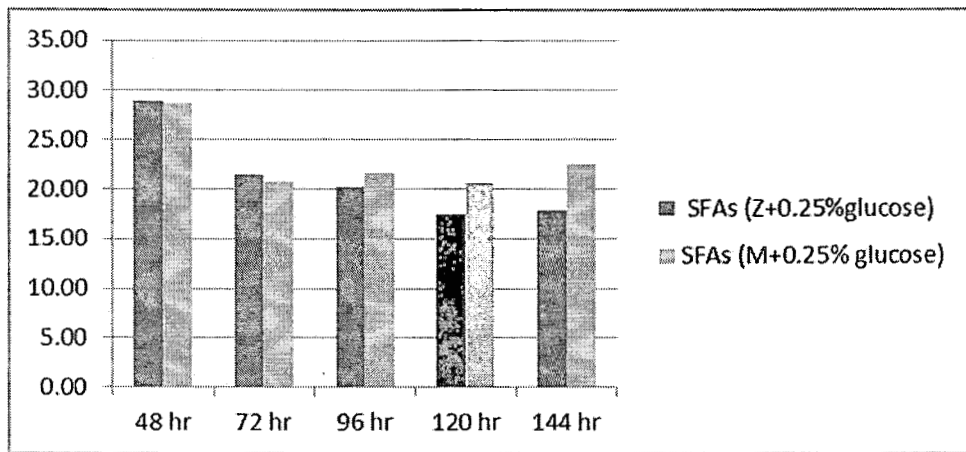
ภาพที่ 6 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 120 ชั่วโมง (%TFA)



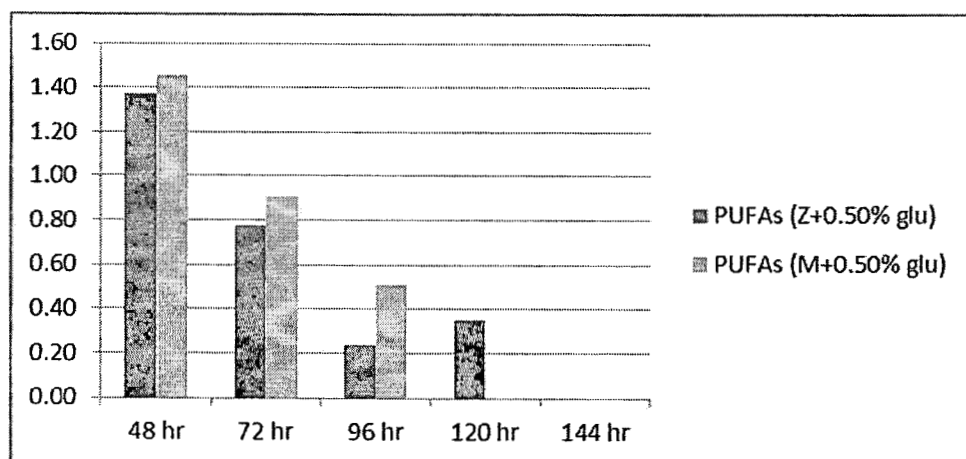
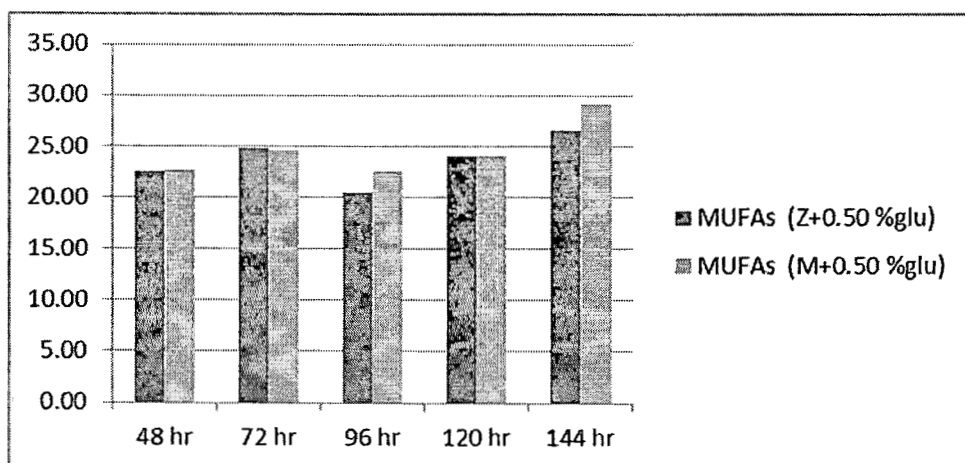
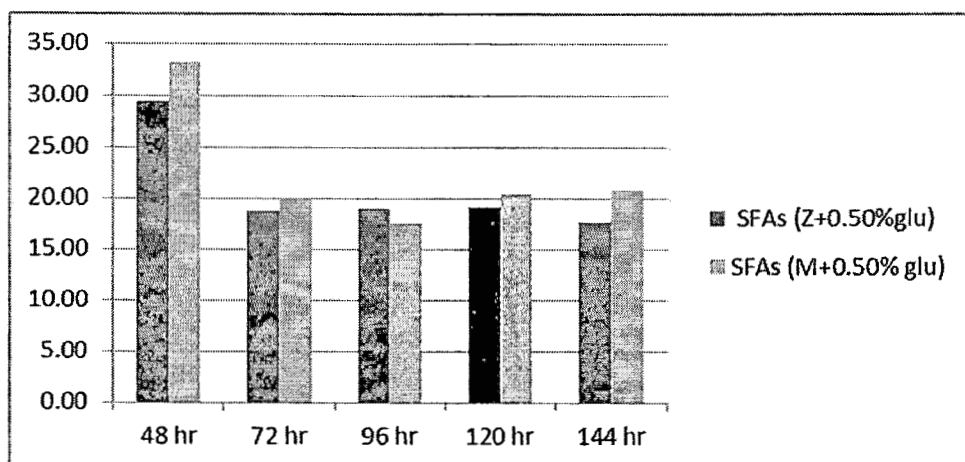
ภาพที่ 7 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เวลา 144 ชั่วโมง (%TFA)



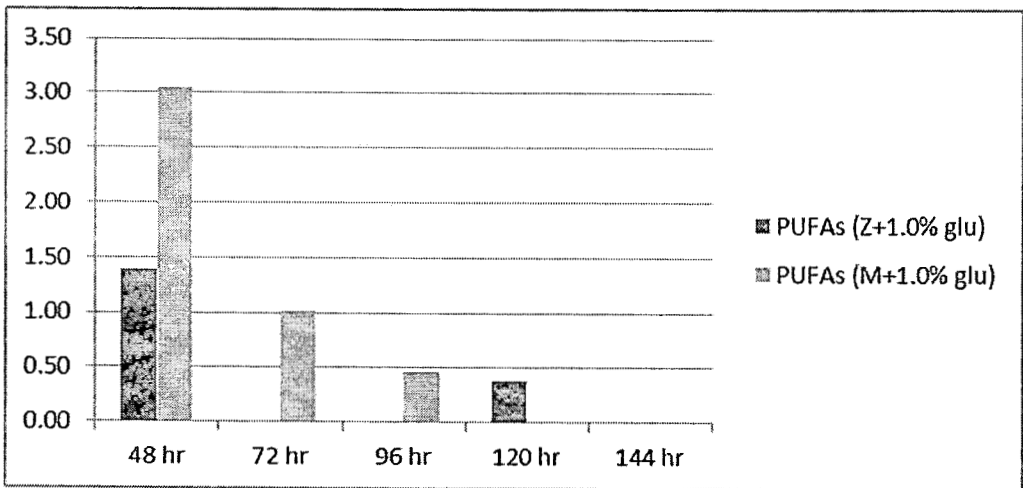
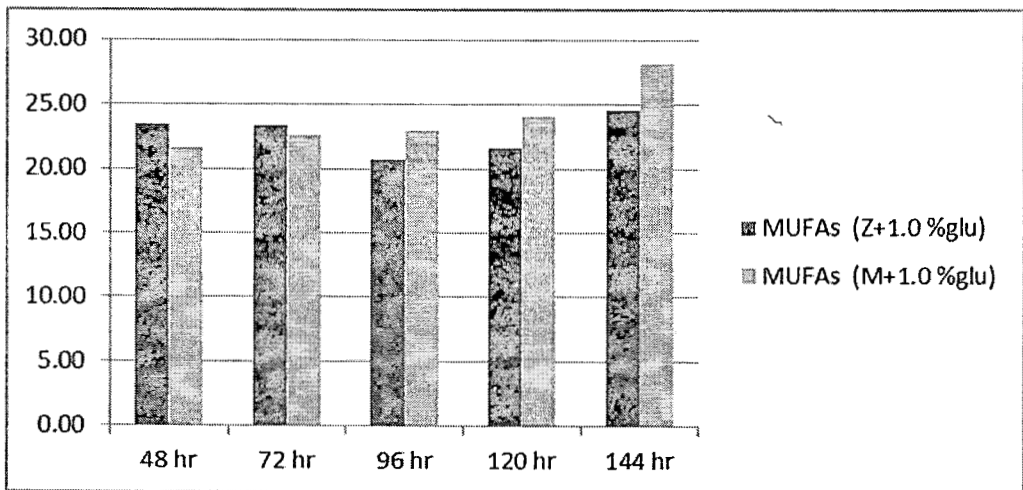
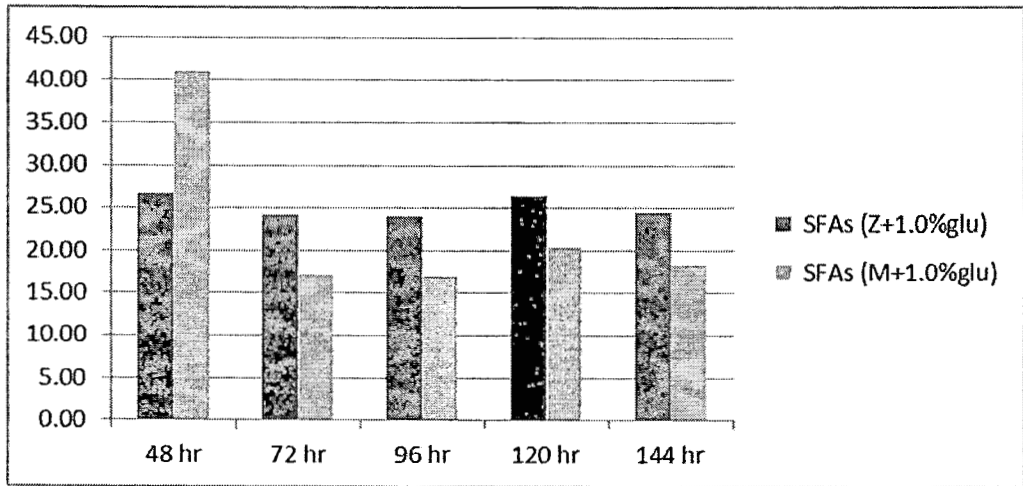
ภาพที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ในเวลาที่แตกต่างกัน (%TFA)



ภาพที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เพิ่มปริมาณน้ำตาล glucose 0.25% ในเวลาที่แตกต่างกัน (%TFA)



ภาพที่ 10 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เพิ่มปริมาณน้ำตาล glucose 0.50% ในเวลาที่แตกต่างกัน (%TFA)



ภาพที่11 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR-03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับอาหาร Marine medium 2216 ที่เพิ่มปริมาณน้ำตาล glucose 1.0% ในเวลาที่แตกต่างกัน (%TFA)

(SFAs = saturated fatty acid; MUFAs= monounsaturated fatty acid; PUFAs= polyunsaturated fatty acid Z= Zobell medium ; M = Marine medium 2216)

เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Clathria* (Thalysias) (CHUMP-A-POR-03) กับเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-A-POR-03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับ Marine medium 2216 ที่ 48 ชั่วโมง ในตัวอย่างฟองน้ำพบชนิดกรดไขมันมากกว่าในแบคทีเรีย (ฟองน้ำพบ 15 ชนิด เชื้อแบคทีเรียพบ 11 ชนิด) และมีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวเช่นเดียวกัน และในเชื้อแบคทีเรียตรวจพบกรดไขมันจำนวน Carbon สูงสุดเพียง C18:2n6 แต่ในฟองน้ำตรวจพบ ชนิดกรดไขมันสูงสุดคือ C22:6n3 และในตัวอย่างฟองน้ำพบกรดไขมันโอเมก้า 3 (EPA, DHA) ในปริมาณ 9.06 ± 0.24 , 7.56 ± 0.10 ตามลำดับ แต่ในเชื้อแบคทีเรียตรวจไม่พบกรดไขมันโอเมก้า 3 (EPA, DHA) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 34

คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำทะเลที่ทำการศึกษาในพื้นที่อ่าวไทยตอนล่าง

จากการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณอ่าวไทยตอนล่าง (มกราคม 2553-มีนาคม 2555) รายชื่อตัวอย่างและจุดเก็บตัวอย่างแสดงในตารางภาคผนวกที่ 10 พบว่า คุณลักษณะกรดไขมันส่วนใหญ่จะเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) ยกเว้นตัวอย่าง TAO55-A-POR-01 ที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) มากกว่า และฟองน้ำ *Clathria* (Thalysias) CHUMP-A-POR03 จากหินหลักแรด ทะเลชุมพรเป็นตัวอย่างที่พบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวปริมาณสูงสุด (29.08%TFA) และกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 พบปริมาณสูงสุดในตัวอย่างฟองน้ำ *Clathria* (Thalysias) CHUMP-A-POR03 เช่นกัน (EPA = 9.06%TFA; DHA = 12.87%TFA) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 35, 36, 37 และภาพที่ 12, 13, 14 ซึ่งรูปแบบกรดไขมัน มาจากผู้ผลิตเบื้องต้นใน marine food web อันได้แก่ macroalgae และ phytoplankton ซึ่ง phytoplankton ในสิ่งแวดล้อมส่วนใหญ่จะเป็น Bacillariophyceae (diatoms), Dinoflagellates และ Prymnesiophyceae ซึ่งกรดไขมันในสาหร่ายจะถูกสังเคราะห์ใน Chloroplasts ที่ประกอบไปด้วย thylakoid membranes และจะเปลี่ยนเป็น glycolipid ที่อุดมไปด้วย n-3 PUFA และช่วงระยะเวลาการเจริญของสาหร่ายก็มีผลต่อปริมาณ n-3 PUFA ด้วย โดยในระยะ Exponential growth phase ปริมาณ n-3 PUFA จะสูงถึง 50% ของไขมันทั้งหมด และสาหร่ายเหล่านี้เป็นกลุ่ม ที่สามารถสังเคราะห์ กรดไขมัน C18:2n6 , C18:3n3 ซึ่งกรดไขมัน 2 ชนิดนี้เป็นกรดไขมันหลักในการเกิดกรดไขมันตัวอื่น ๆ ได้แก่ AA, EPA, DHA ต่อไป ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นของสิ่งมีชีวิต (Jean-Pascal Berge, 2005) ดังนั้นชนิดและปริมาณกรดไขมันในการศึกษานี้มีความแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากชนิดและปริมาณที่แตกต่างกันของ macroalgae และ phytoplankton ในแหล่งน้ำที่อยู่อาศัยของฟองน้ำนั้น ๆ เพื่อความสมบูรณ์ของข้อมูล ควรมีการศึกษาถึงชนิดและปริมาณของสาหร่ายและแพลงก์ตอน ตลอดจนคุณภาพของน้ำ(ความเค็ม, อุณหภูมิ, pH เป็นต้น)

ตารางที่ 34 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำ CHUMP-A-POR-03 กับเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-A-POR-03-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Modified Zobell Medium กับ Marine medium 2216 ที่ 48 ชั่วโมง

กรดไขมัน	<i>Clathria</i> (Thalysias) (CHUMP-A-POR-03)	CHUMP-A- POR-03-2 (Zobell)	CHUMP-A- POR-03-2 (Marine)
C13:0		0.47 ± 0.06	0.47 ± 0.01
C14:0	4.14 ± 0.11	1.98 ± 0.17	1.51 ± 0.04
C14:1		0.27 ± 0.07	
C15:0		2.84 ± 0.24	3.09 ± 0.09
C15:1		0.47 ± 0.06	0.47 ± 0.01
C16:0	11.52 ± 0.18	11.73 ± 0.27	7.45 ± 0.55
C16:1n7	6.08 ± 0.21	7.58 ± 0.70	9.20 ± 0.26
C17:0	4.00 ± 0.59	11.84 ± 0.39	12.65 ± 0.28
C17:1	1.40 ± 0.00	6.39 ± 0.76	7.51 ± 0.25
C18:0	4.73 ± 0.15	8.07 ± 0.28	1.70 ± 0.31
C18:1n9	5.64 ± 0.26	10.07 ± 0.37	4.72 ± 0.50
C18:2n6	0.89 ± 0.16	1.16 ± 0.10	0.79 ± 0.07
C18:3n6	0.97 ± 0.05		
C18:3n3			
C20:0	2.12 ± 0.13		
C20:4n6	5.28 ± 0.19		
C20:5n3	9.06 ± 0.24		
C22:0	1.15 ± 0.08		
C22:2			
C24:0	2.45 ± 0.06		
C22:6n3	7.56 ± 0.10		
SFAs	30.10	36.93	26.86
MUFAs	13.12	24.78	21.90
PUFAs	23.77	2.01	1.72

SFAs = saturated fatty acid; MUFAs= monounsaturated fatty ; PUFAs = polyunsaturated fatty

ตารางที่ 35 คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำจากหมีเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี (มกราคม-กุมภาพันธ์ 2553) %TFA

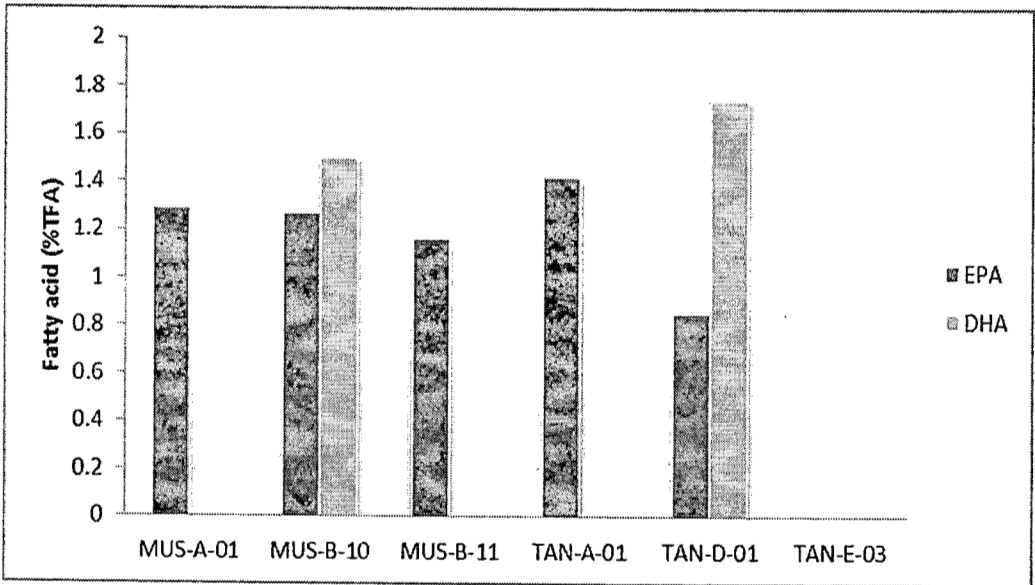
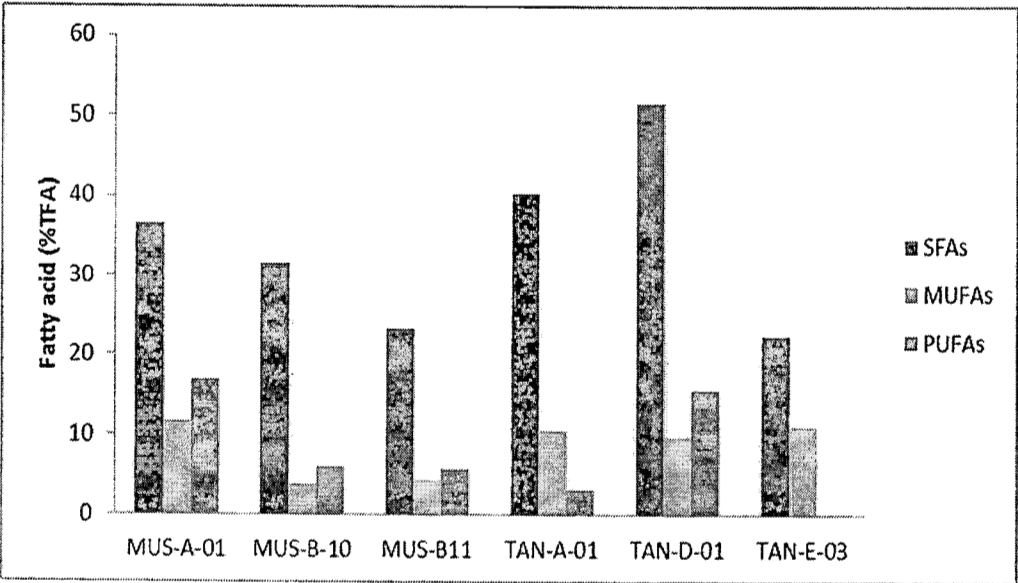
Fatty acid	MUS-A-01	MUS-B-10	MUS-B11	TAN-A-01	TAN-D-01	TAN-E-03
SFAs	36.52	31.47	23.37	40.36	51.49	22.45
MUFAs	11.6	3.85	4.29	10.6	9.72	11.04
PUFAs	17.01	5.98	5.73	3.11	15.71	0
EPA	1.29	1.27	1.16	1.42	0.85	0
DHA	0	1.5	0	0	1.74	0

ตารางที่ 36 คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำจากหินหลักแร่ด จังหวัดชุมพร (มีนาคม 2554)

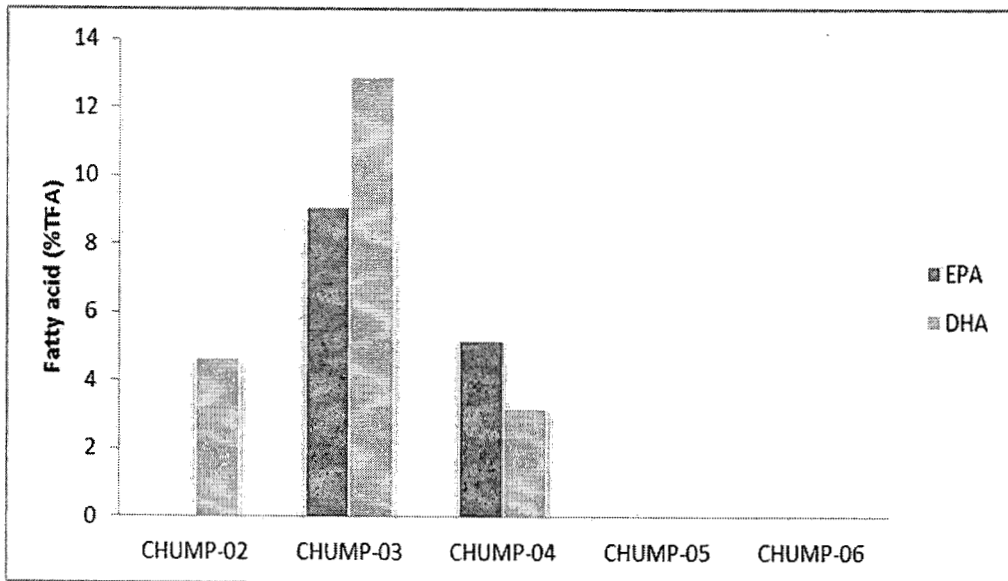
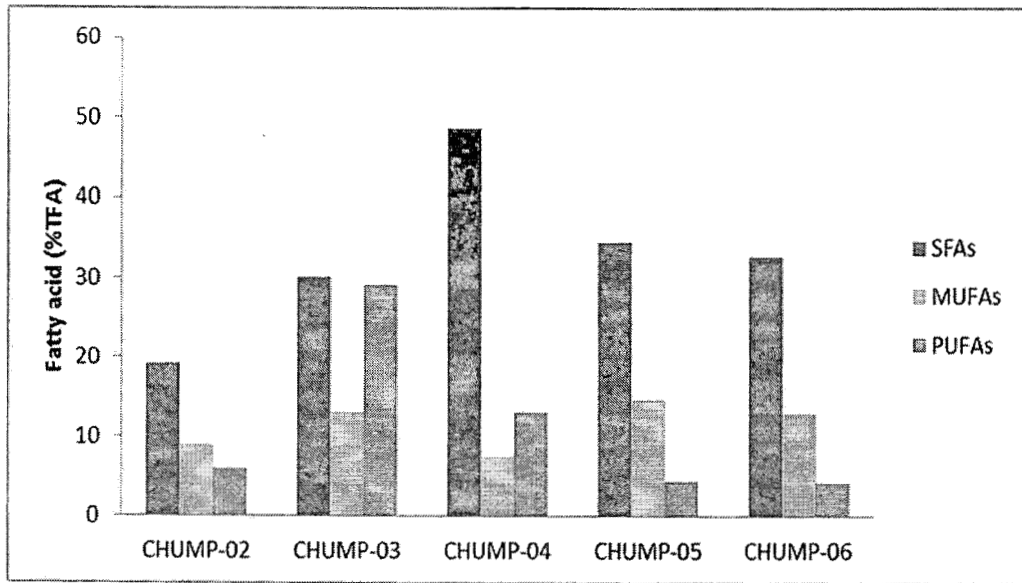
Fatty acid	CHUMP-02	CHUMP-03	CHUMP-04	CHUMP-05	CHUMP-06
SFAs	19.18	30.1	48.69	34.43	32.7
MUFAs	9.01	13.12	7.43	14.72	12.92
PUFAs	6	29.08	13.17	4.52	4.3
EPA	0	9.06	5.17	0	0
DHA	4.64	12.87	3.19	0	0

ตารางที่ 37 คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำจากเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี (มีนาคม 2555)

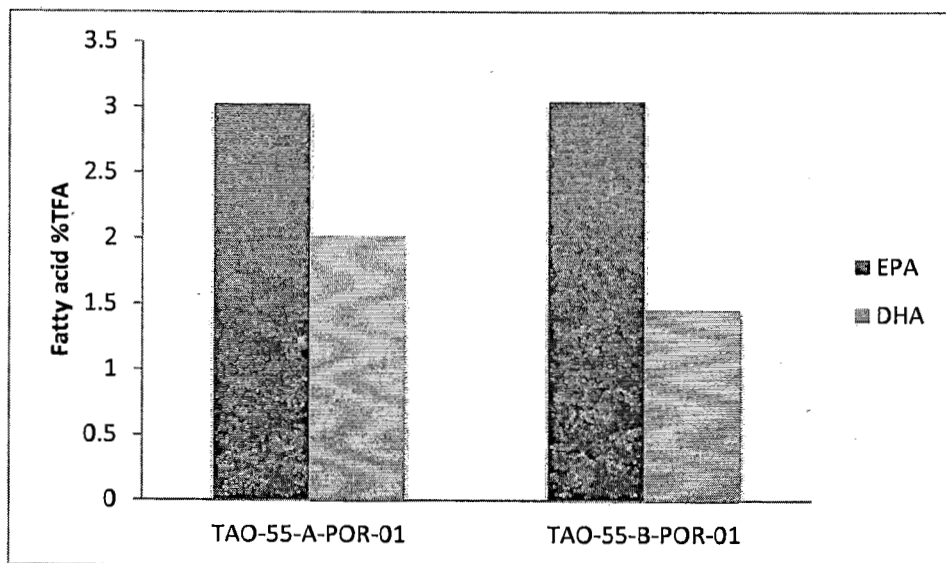
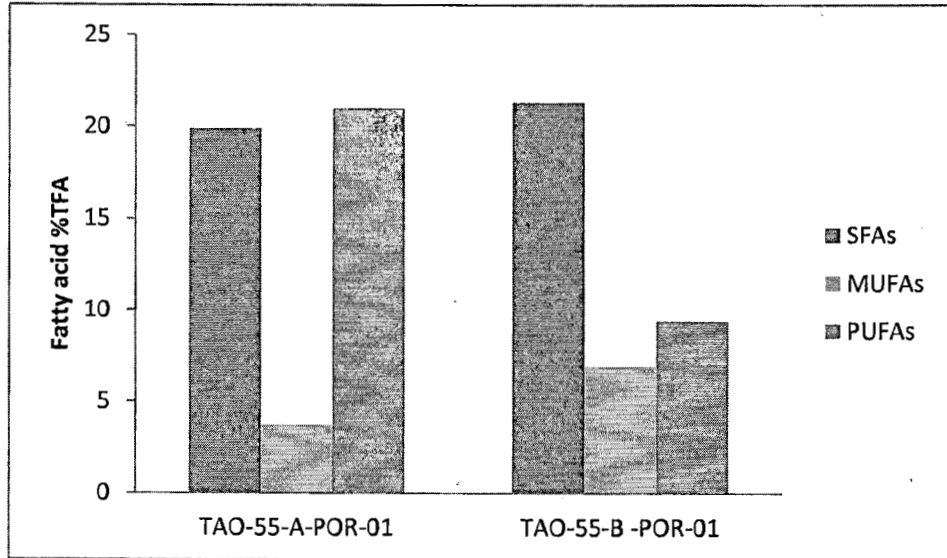
Fatty acid	TAO55-A-POR-01	TAO55-B-POR-01
SFAs	19.87	21.32
MUFAs	3.73	6.94
PUFAs	20.98	9.39
EPA	3.02	3.04
DHA	2.02	1.46



ภาพที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำจากหมีเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี



ภาพที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำจากหินหลักแรด ทะเลชุมพร



ภาพที่ 14 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำจากเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี

สรุปผลการศึกษา

1. ปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda* (TAO55-A-POR-01) และฟองน้ำ *Biemna fortis* (TAO55-B-POR-01) จากเกาะเต่าจังหวัดสุราษฎร์ธานี (มีนาคม 2555) พบไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ 0.14 - 0.23 น้ำหนักสด ปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่าง ฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* order Hadromerida
2. องค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda* พบคุณลักษณะเด่นของกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs=20.98% ; C20:4n6, C20:5n3 และ C18:3n3) โดยพบกรดไขมัน Arachidonic acid (C20:4n6) ปริมาณสูงสุด 10.14±0.04 %TFA ส่วนตัวอย่าง *Biemna fortis* มีคุณลักษณะเด่นเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs = 21.32%; C16:0, C14:0 และ C18:0)
3. กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 (EPA, DHA) จากตัวอย่างฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda* และตัวอย่าง *Biemna fortis* พบในปริมาณร้อยละ 3.02 -3.04, 1.46-2.02
4. จากตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda* นำมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 8 ตัวอย่าง TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y, TAO-A-1-3g, TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9YW, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or พบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ 0.35-4.30 น้ำหนักสด โดยปริมาณสูงสุดพบในเชื้อแบคทีเรีย TAO-A-1-12or ปริมาณต่ำสุดพบในเชื้อแบคทีเรีย TAO-A-1-9YW
5. พบคุณลักษณะกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้ เชื้อ TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิด MUFA (C17:1, C18:1n9) เชื้อ TAO-A-1-3g มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิด PUFA (C18:3n3) ส่วน TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิด SFA โดยปริมาณกรดไขมันที่ตรวจพบปริมาณสูงได้แก่ C16:0, C18:0 จากการศึกษาค้นพบว่าเชื้อที่ควรนำไปพัฒนาต่อได้แก่ เชื้อ TAO-A-1-3g กับเชื้อ TAO-A-1-5 ที่ตรวจพบกรดไขมัน Linolenic acid (ALA C18:3:n3) ในปริมาณที่สูง (ร้อยละ 16.26±0.04; 8.20±0.38) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญเนื่องจากเป็น parent compound ของ omega-3
6. จากการศึกษาสภาวะในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล *Clathria* (Thalysias) (CHUMP-POR -03) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium และ Marine Medium 2216 จากนั้นเติมน้ำตาล glucose 3 ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1% และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48, 72, 96, 120 , 144 ชม. ผลการศึกษาพบว่าปริมาณกรดไขมัน C13:0, C14:0, C14:1, C15:0, C15:1, C16:0 C16:1n9 C17:0, C17:1, C18:1, C18:2n6, C18:3n3 และปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) ชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) และชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดอาหาร ความเข้มข้นของน้ำตาล และเวลาในการเลี้ยง ยกเว้นกรดไขมัน C12:0
7. คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำทะเลที่ทำการศึกษาในพื้นที่อ่าวไทยตอนล่างบริเวณหมู่เกาะสมุย เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี หินหลักแรด ทะเลชุมพร (มกราคม 2553-มีนาคม 2555) พบคุณลักษณะกรดไขมันส่วนใหญ่จะเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) ยกเว้นตัวอย่าง *Spheciospongia vagabunda* (TAO55-A-POR-01)

ที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) มากกว่า และฟองน้ำ *Clathria* (Thalysias) CHUMP-A-POR03 จากหินหลักแรด ทะเลชุมพรเป็นตัวอย่างที่พบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวปริมาณสูงสุด (29.08%TFA) และกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 พบปริมาณสูงสุดในตัวอย่างฟองน้ำ *Clathria* (Thalysias) CHUMP-A-POR03 เช่นกัน(EPA = 9.06%TFA; DHA = 12.87%TFA)

เอกสารอ้างอิง

ไขมันเรืองใกล้ตัว. บริษัท กู๊ดเฮลท์ ประเทศไทย จำกัด. เข้าถึงได้จาก

http://www.goodhealth.co.th/new_page_75.htm เข้าถึงเมื่อ 26 มีนาคม 2554

ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา และ Usio simidu. 2530. รายงานการศึกษาคูงานทุนองค์การส่งเสริมความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยที่ญี่ปุ่น เสนอต่อ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
 นลินี เพชรเทียนชัย 2545 การคัดเลือกและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัว

หลายพันธะจากแบคทีเรียน้ำเค็ม วิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 136 หน้า

บัญญัติ สุขศรีงาม 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

พนิดา พงศ์ภาณุมาพร 2543. การจำแนกราสกุล *Cordyceps* โดยใช้กรดไขมัน ข้าวเทคโนโลยีชีวภาพ
 (BIOTEC NEWS) 6:1-15

ลลิตา เชาวน์เรืองฤทธิ์. 2548. ผลของความเค็มและอุณหภูมิต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงตัวชนิด ดีเอชเอ
 โดย *Schizochytrium* spp. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ บัณฑิต
 วิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา. 98 หน้า

วิเชษฐ์ ติลามานิตย์. 2539. เกษตรกับอาหารเพื่อสุขภาพและอาหารทางการแพทย์ พิมพ์ครั้งที่ 1
 กรุงเทพมหานคร: คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุพิศ ทองรอด 2535. ความสำคัญของไขมันในอาหารสัตว์น้ำ วารสารการประมง 45(4) หน้า 943-950.

Ackman, R.G. 1982. Fatty acid composition of fish oils, pp. 25-28. In S.M. Barlow and M.E. Standby
 (eds.). Nutritional Evaluation of Long Chain Fatty Acids in Fish Oil. Academic Press, Inc.
 (London), Ltd., London.104.

Adams, R.L. and N.J. Russell. 1992. Interactive effects of salt concentration and temperature on growth
 and lipid composition in the moderately halophilic bacterium *Vibrio costicola*. Can. J.
 Microbiol. 38: 823-827.

Akimoto, M., T. Ishii, K. Ohtaguchi, K. Koide and K. Yazawa. 1990. Production of eicosapentaenoic acid by
 a bacteria isolated from mackerel intestines. J.A.O.A.C.S. 67: 911-915.

Anamnart, S., I. Tolstorukov., Y. Kaneko and S. Harashima. 1998. Fatty acid desaturation in
 methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* strain CBS 1976 and unsaturated fatty acid
 auxotrophic mutants. J. Fermentation and Bioengin. 85(5): 476-482.

Barbara, G.M. and Mitchell, J.G. 2003. Marine bacterial organisation around point-like sources of amoni
 acids. FEMS Microbiology Letters 43. 33-109.

- Barnathan G. Genin E., Velosaotsy N. E., Koenprobst JM., Sultan Al-Lihaibi, Abdulmohsin Al-Sofyani, Nongonierma R. 2003. Phospholipid fatty acids and sterols of two *Cinachyrella* sponges from the Saudi Arabian Red Sea: comparison with *Cinachyrella* species from other origins. *Comparative Biochemistry and Physiology* part B 135 p.297-308.
- Berge, J.P., Barnathan G. 2005. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds and economical aspects. *Adv Biochem Engin/Biotechnol* 96:49-125.
- Bergquist. P. R., M.P.Lawson, A. Lawvis and R.C. Cambie. 1984. Fatty acid composition and the classification of the Porifera. *Biochemical Systematics and Ecology*,12(1), 63-84 pp.
- Bligh, E. G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemical and Physiology*. 37(8), 911-917.
- Brown, M.R., Barrett,S.M. Volkman, J.K., Nearhos, S.P., Nell, J.A. and Allan,G.L. 1996. Biochemical composition of new yeasts and bacteria evaluated ad food for bivalve aquaculture *Aquaculture* 143. 341-360.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, G.A. Dunstan.1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*,151,315-331.
- Burkholder, P.R., Pfister, R.M. and Leitz, F.H. 1966. Production of a pyrrole antibiotic by Marine bacterium. *Applied Microbiology*. 14, 649-653 pp.
- Carballeira, N.M. and Pagan, M. 2001. New Methoxylated fatty acids from the caribbean sponge *Callyspongia fallax*. *Journal of Natural product*. 64. 620.623
- Cavanaugh, C.1983. Symbiotic chemoautotrophic bacteria in marine invertebrates from sulphide habitats. *Nature*. 302, 58-61pp.
- Cavanaugh, C., Gardiner, S.L., Jones, M.L., Jannash, H.W. and Waterburg, J.B.1981. Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tubeworm *Riftia pachyptila* Jones: Possible chemoautoprophic symbionts. *Science*, 213. 340-342 pp.
- Choi, S.Y., D.D.Y. Ryu and J.S. Rhee. 1982. Production of microbial lipid : efect of growth rate and oxygen on lipid synthesis and fatty acid composition of *Rhodotorula gracilis*. *Biotech. Bioeng.* 24: 1165-1172.
- Christie, W. W. 1993. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. in "Advances in Lipid Methodology - Two". (Christie, W.W. ed.) Oily Press: Dundee, Scotland, 69-111.

- Cohen, Z. 1994. Production potential of eicosapentaenoic acid by *Monodus subterraneus*. J.A.O.C.S. 71: 941-945.
- Dechsakulwatana, C. 1994. Inhibitory Effect of Marine Bacteria on Barnacle larvae. A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for a Ph.D. The University of Tokyo, Tokyo, Japan. 120 p.
- Dennis, J., Michael, J. Kurantz, and Raymond, K. 1993. Production of eicosapentaenoic acid by filamentous fungus *Pythium irregulare*. Applied Microbiology and biotechnology. 20(5):211-214.
- Dennis, C., Collin W.G., Breteche A., Ruiz n., Rabesaotra V., Esnault B.W., Kornprobst M.J., Barnathan G. (2009). New-17-Methyl-13-Octadecenoic and 3,16-Docosadienoic Acids from the sponge *Polymastia penicillus*. *Lipids*. 44:655-663.
- De Rosa, S., Milone, A., Kujumgiev, A., Stefanov, K., Nechev, I., and Popov, S. 2000. Metabolites from a marine bacterium *Pseudomonas/ Alteromonas*, associated with the sponge *Dysidea fragilis*. *Comparative Biochemistry and Physiology part B* p.391-396.
- De Rosa, S., Mitova M., Tommonaro G. 2003. Marine Bacteria associated with sponge as source of cyclic peptides. *Biomolecular Engineering*. 20: p. 311-316.
- De Rosa, S., Seizova, K., Kamenarska, Z., Petrova, A., Iodice, C., Stefanov, K., and Popov, S. 2006. Sterol and lipid composition of three Adriatic Sea sponges. *Z Naturforsch [C]* 61(1-2):129-134.
- Doumenq, P., Acquaviva, M., Asia, L., Durbec, J.P., Dreau, Y.L., Mille, G. and Bertrand, J.C. 1999. Changes in fatty acids of *Pseudomonas nautica*, a marine denitrifying bacterium, in response to n- eicosane as carbon source and various culture conditions. *FEMS Microbiology Letters* 28. 151-161.
- Duan, C. H.; Riley, M. B.; Jeffers, S. N. 2011. Effects of growth medium, incubation temperature, and mycelium age on production of five major fatty acids by six species of *Phytophthora*. 44, Number 2, pp. 142-157(16).
- Emdadi, D and Berland, B. 1989. Variation in lipid class composition during batch growth of *Nannochloropsis salina* and *Pavlova lutheri*. Biological Sciences Microbiology Papers Volume: 26, Issue: 3, Pages: 215-225.
- Enomoto, K. and N. Koyama. 1999. Effect of growth pH on the phospholipid contents of the membranes from alkaliphilic bacteria. *Current Microbiol*. 39: 270-273.

- Erwin, J.A. 1973. Comparative biochemistry of fatty acids in eukaryotic microorganisms, pp. 41-143. In J.A. Erwin (ed.). *Lipids and Biomembranes of Eucaryotic Microorganisms*. Academic Press, New York.
- Fractionation of lipid extracts <http://www.cyberlipid.org/fraction> เข้าถึงเมื่อ 29 มีนาคม 2553.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanlet, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
- Fulks, W and Main KL. 1991 . The design and operation of commercial scale live feeds production systems. In Fulks W, Main KL.(eds), *Rotifer and Microalgae Culture Systems*. The Oceanic Institute, Honolulu, 3-52.
- Gellerman, J.L. and K. Schlenk. 1979. Methyl directed desaturation of arachidonic acid to eicosapentaenoic acid in the fungus *Saprolegnia parasitica*. *Biochem. Biophys. Acta.* 573: 23-30.
- Genin E. et al. 2008. New trends in phospholipids class composition of marine sponges. *Comparative Biochemistry and Physiology, part B.* 427-431.
- Halstead, B.W. 1968. Marine botixins, new foods and new drugs from the sea. In " *Drugs from the sea*, Freudenthl, H.D., ed, *Marine Technology and society*, Washington, D.C., p.229-239.
- Hamamoto, T., N. Takeda, T, Kudo and K. Horikoshi. 1994. Effect of temperature and growth phase on fatty acid composition of the psychrophilic *Vibrio* sp. Strain no.5710. *FEMS Microbiol. Lett.* 119: 77-82.
- Harwood, J.L. and N.J. Russell. 1984. *Lipids in Plants and Microbe*. George Allen and Unwin, London. 162 p.
- Hooper, J.N.A. 1997. *Sponge Guide: guide to sponge collection and identification*. Old. Meseum: Australia, p. 21-49.
- Imamura, N., Adachi, K., Nishijima, M. and Sano, H. 1993. Antibiotics produces by marine Bacteria. MBI Report. 1992. Marine Biotechnology Institute co., LTS, Tokyo. Japan. 78-87.
- Intriago, Pablo and D.A. Jones, 1993. Bacteria as food for artemia. *Aquaculture* 113, 115-127.
- Intriago, P. and G.D. Floodgate. 1991. Fatty acid composition of the estuarine strain of *Flexibacter* sp. Strain Inp. : effect of salinity, Temperature and carbon source for growth. *J. Gen. Microbiol.* 137: 1503-1508.
- Intriago, P. 1992. The regulation of fatty acid biosynthesis in some estuarine strain of *Flexibacter*. *J. Gen. Microbiol.* 138: 109-114.

- Jiang, Y. and F. Chen. 2000b. Effects of temperature and temperature shift on docosahexaenoic acid production by the marine microalga *Cryptocodinium cohnii*. *J.A.O.C.S.* 77(6): 613-617.
- Kaneko, H., H. Takami, A. Inoue and K. Horikoshi. 2000. Effects of hydrostatic pressure and temperature on growth and lipid composition of the inner membrane of barotolerant *Pseudomonas* sp. BT1 isolated from the deep-sea. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64(1): 72-79.
- Kock, J.L.F., Botha, A. 1998. *Chemical Fungi Texonomy America: Mareel Dekker, Inc.*
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., and Cox, M.M. 1993. *Principle of Biochemistry*. 2nd ed. New York.: <http://www.matichon.co.th/news> online เมื่อ 29 มกราคม 2554.
- Leonardos, N and Lucas, A.N.I. 2000. The use of larval fatty acids as an index of growth in *mytilus edulis* L. larvae. *Aquaculture* 184, 155-166.
- Litchfield, C., Greenberg, A. J., Noto, G. and Morales, R.W. 1976. Unusually high levels of C_{24} - C_{30} fatty acids in sponges of the class demospongiae. *Biomedical and Life Sciences Springer Berlin / Heidelberg* 11(7): 567-570.
- Luzia, L.A. Sampaio, G.R., Castellucci, C.M.N., and Elizabeth A.F.S. Torres. 2003. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry*. 83(1). p. 93-97.
- Lynch, D.V. and Thompson. 1982. Low temperature-induced alterations in the chloroplast and microsomal membrane of *Dunaliella salina*. *J. Plant Physiol.* 69: 1369-1375
- Marcus, J. 1984. The eicosanoid in biology and medicine. *J. Lipid. Res.* 25: 1511-1518.
- McGinnis, K.M., T.A. Dempster and M.R. Sommerfeld. 1997. Characterization of the growth and lipid content of the diatom *Chaetoceros muelleri*. *J. Appl. Phycol.* 9 : 19-24. 110
- Mishra Manjari Pravat, Sree Aginampudi, Acharya Madhusmita, Anurog Pratap Das. 2009. Fatty acid profiles and antibacterial screening of lipid of sponge *Fasciospongia cavernosa* (Schmidt) collected from the bay of Bengal. *Journal of the Serbian chemical Society*. <http://www.doaj.org/> online เมื่อ 5 กุมภาพันธ์ 2553.
- Nair, S. and Simidu, U. 1987. Distribution and significance of heterotrophic bacteria with antibacterial activity. *Appl. Amd Environ. Miceobiol.* 53(12), 2957-2962.
- Nechev, J., Christie, W.W., Robaina, R., De Diego, F., Popov, S., Stefanov, K. 2004. Chemical composition of the sponge *Hymeniacidon sanguinea* from the Canary Islands. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 137(2):365-374.

- Nichols P.D., Holdsworth D.G., Volkman, J.K., Daintith, M. and Allanson, S. 1989. High Incorporation of Essential Fatty Acids by the Rotifer *Brachionus plicatilis* Fed on the Prymnesiophyte Algal *Palvova lutheri*. Aust.J.Mar.Freshwater Res. 40, 645-655.
- Nichols, D.S., P.D. Nichols and T.A. McMeekin. 1992. Anaerobic production of polyunsaturated fatty acids by *Shewanella putrifaciens* ACAM strain 324. FEMS Microbiol. Lett. 98: 117-122.
- Nichols, D.S., T.A. McMeekin and P.D. Nichols. 1994. Manipulation of polyunsaturated, brached-chain and trans-fatty acids production in *Shewanella putrifaciens* ACAM 324. Microbiol. 140: 577-584.
- Nichol David S. 2003. Prokaryotes and the input of polyunsaturated fatty acids to the marine food web. FEMS Microbiology Letters 219. 1-7.
- Nichol, D. and McMeekin,T.A. 2002. Biomarker techniques to screen for bacteria that produce polyunsaturated fatty acids. Journal of Microbiological Methpds 48. 161-170.
- Oliver E., McGillicuddy F., Phillips C., Sinead Toomey and Helen M.Roche. 2010. The role of inflammation and macrophage accumulation in the development of obesity-induced type 2 diabetes mellitus and the possible therapeutic effects of long-chain n-3 PUFA. Proceedings of the Nutrition Society. 69,232-243.
- Patnayak S., and Sree, A. 2004. Screening of bacterial associates of marine sponges for single cell oil and PUFA. Letters in Applied Microbiology. 40, p.358-363.
- Piorreck, M., K-H. Baasch and P. Pohl. 1984. Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue green algae under different nitrogen regimes. J. Phytochem. 23: 207-216.
- Pratoomyot J., Srivilas P., and Noiraksar T. 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. Songklanakarin J. Sci. Technol. 27(6):1179-1187.
- Ratledge, C. 1989. Microbiol oils and fats : perpectives and prospects, pp. 263-283. In R.C. Cambie (ed.). Fats For the Future. Ellis Horwood Ltd, London.
- Raymond, M.G., and Maxey, J.E. 1994. Microalgal feeds for aquaculture. Journal of Applied Phycology. 6,131-141.
- Rod kina, SA., Latyshev, NA., and Imbs, AB. 2003. Fatty acids from the sponge *Halichondria panacea* from the Sea of Japan. *Bioorg Khim* 29(4): 419-424.
- Schreiber, A., Worheide, G., and Thiel, V. 2006. The fatty acids of calcareous sponges (Calcarea, Porifera). *Chem Phys Lipids* 143(1-2):29-37.

- Selvameenal L, Radhakrishnan M, and Balagurunathan R. 2009. Antibiotic pigment from desert soil actinomycetes; biological activity, purification and chemical screening. *Indian Journal of Pharmaceutical* 71 (5) p. 499-504.
- Seto, A., H.L. Wong and C.W. Hesseltine. 1984. Culture condition affect EPA content of *Chlorella minutissima*. *J.A.O.C.S.* 61: 892-894. 112.
- Shigemori, H., Bae, M.A., Yazawa, K., Sadaki, T. and Kobayashi, J. 1992. Aiternamide A, a new Tetracyclic Alkaloid from a Bacterium *Alteromonas* sp. Associated with the marine sponge *Halichondria okadai*. *J.org. Chem.* 57, 4317-4320.
- Shinmen, Y., S. Shimizu, K. Akimoto and H. Yamada. 1989. Production of arachidonic acid by *Motrierella* fungus. *Appl. Microbiol.* 21: 161-181.
- Shirasaka, N., Nishi, K. and Shimizu, S. 1995. Occurrence of a furan fatty acid in marine bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta* 1258. 225-227.
- Shirasaka, N. and S. Shimizu. 1995. Production of eicosapentaenoic acid by *Saprolegnia* sp. 28YTF-1. *J.A.O.C.S.* 72: 1545-1549.
- Sinéad Lordan, R. Paul Ross, and Catherine Stanton. 2011. Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases *Mar Drugs*; 9(6): 1056–1100.
- Singh, A. and O.P. Ward. 1997. Microbial production of dacosahexaenoic acid (DHA, c22:6), pp. 271-313. In S.L. Neidemen and A.I. Laskin (eds). *Advances in Applied Microbiology*. Academic Press, Newyork.
- Simidu, U and Ezura Y. 1988. Taxonomy of microorganisms with special reference to marine bacteria. *Electrical and Chemical Association of Japan* p. 24.
- Stredansky, M., E. Conti and A. Salaris. 2000. Production of polyunsaturated fatty acid by *Pythium ultimum* in solid-state cultivation. *Enzyme and microbial technology.* 26: 304-307.
- Sukenik, A. and Y. Carmeli. 1991. Lipid synthesis and fatty acid composition in *Nannochloropsis* sp. (*Eustigmatophyceae*) growth in a light- dark cycle. *J. Phycol.* 26: 463-469.
- Sul, D., E.S. Kaneshiro, K. Jayasimhulu and J.A. Erwin. 2000. Neutral lipid, their fatty acids, and the sterols of the marine ciliated protozoan, *Parauremona acutum*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 47(4):373-378.
- Sukenik, A. and Y. Carmeli. 1991. Lipid synthesis and fatty acid composition in *Nannochloropsis* sp. (*Eustigmatophyceae*) growth in a light- dark cycle. *J. Phycol.* 26: 463-469.

- Vacelet, J. 1975. Etude en microscopie électronique de l'association entre bactéries et spongiaires du genre *Verongia* (Dictyo ceratida). *J. Microscopic Biob. Cell.* 23, 271-288
- Volkman J.K., Jeffrey, S.W., Nichols, P.D., Rogers, G.I. and Garland, C.D. 1989. Fatty acid and Lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 128, 219-240.
- Ward, O. 1995. Microbial production of long chain PUFAs. *Inform.* 6: 685-688.
- Wijffels H.R. (2007). Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology. *Trands in Biotechnology*. Vol 26 no.1, 26-30. Online available 26 November 2007.
- Wilkinson, C. 1978.a. Microbial association in sponges. I. Ecology, physiology and microbial populations of coral reef sponges. *Marine Biology*. 30, 301-314.
- Williams, S.T., Sharpe M.E. and Holt J.G. 1989. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 4. Williams & Wilkins. USA. P2314-2315.
- Wilkinson, C. 1978.b. Microbial association in sponges. II. Numerical analysis of sponge and water bacterial populations. *Marine Biology*. 49, 169-147.
- Yokochi, T., D. Honda, T. Higashihara and T. Nakahara. 1998. Optimization of docosahexaenoic acid production by *Shizochytrium limacinum* SR21. *Appl Microbiol Biotechnol.* 49: 72-76. 115
- Yongmanitchai, W. and O.P. Ward. 1991. Growth of and omega-3 fatty acids production by *Phaeodactylum tricornutum* under different culture condition. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 57: 419-425.
- Zheng, L., Yan, X., Xu, J., Chen, H., and Lin, W. 2005. *Hymeniacidon perleве* Associated Bioactive Bacterium *Pseudomonas* sp. NJ6-3-1. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 41(1): pp. 29-33.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในอาหารModified Zobell Medium/ Marine medium 2216(%TFA)		
กรดไขมัน	Zobell	Marine medium 2216
C12:0	2.02 ± 0.05	
C14:0	3.58± 0.08	
C14:1	1.56± 0.03	
C15:0	1.40± 0.02	
C16:0	18.14 ± 0.5	14.42 ± 0.1
C16:1n7	3.89± 0.09	
C17:0	13.54 ± 0.3	12.86 ± 0.1
C18:0	7.16 ± 0.2	7.41 ± 0.8
C18:1n9	3.81± 0.02	
C18:2n6	1.09± 0.03	
C20:0	1.55± 0.2	
C22:0	0.86± 0.1	
C22:1n9	2.80± 0.06	

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงชนิดและปริมาณกรดไขมันในสูตรอาหารZobellที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (ในน้ำทะเล)

กรดไขมัน	proteose		yeast extract		Phytone	
C12:0						
C13:0						
C14:0	6.24 ±	0.05			3.41 ±	0.07
C14:1						
C15:0	2.92 ±	0.25			2.65 ±	0.06
C15:1						
C16:0	29.43 ±	0.58	34.43 ±	0.76	22.92 ±	0.22
C16:1n7	8.19 ±	0.07	6.12 ±	0.02		
C17:0	7.21 ±	0.22	7.60 ±	0.53	7.01 ±	0.12
C17:1						
C18:0	9.55 ±	0.20	11.66 ±	0.01	11.93 ±	0.01
C18:1n9	7.21 ±	0.22	5.85 ±	0.41	3.22 ±	0.20
C18:2n6						
C18:3n6						
C18:3n3						
C20:0						
C20:1n9						
C20:3n6						
C21:0						
C20:4n6						
C20:3n3	1.95±	0.02	4.09±	0.29		
C20:5n3						
C22:0						
C22:1n9	7.60±	0.21	12.83±	0.07	8.14±0.00	
C22:2						
C22:6n3						
SFAs	55.36		53.69		47.92	
MUFAs	23.00		24.80		11.36	
PUFAs	1.95		4.09		0.00	

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงชนิดและปริมาณกรดไขมันในสูตรอาหารZobellที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (ในน้ำกลั่น)

กรดไขมัน	protease	yeast extract	Phytone
C12:0			
C13:0			
C14:0	5.61 ± 0.28	3.71 ± 0.12	5.02 ± 0.02
C14:1			
C15:0	3.10± 0.18		
C15:1			
C16:0	27.46 ± 1.76	24.33± 0.20	33.23± 0.15
C16:1n7	7.38 ± 0.51	2.89± 0.09	5.02± 0.02
C17:0	4.72 ± 0.17	7.22± 0.06	8.15 ± 0.04
C17:1			
C18:0	8.87 ± 0.69	8.45 ± 0.02	14.42 ± 0.06
C18:1n9	7.09 ± 0.47	2.89 ± 0.09	5.96 ± 0.42
C18:2n6			
C18:3n6			
C18:3n3			
C20:0			
C20:1n9			
C20:2			
C20:3n6			
C21:0			
C20:4n6			
C20:3n3		2.89± 0.09	3.45± 0.43
C20:5n3			
C22:1n9	7.38± 0.51	8.25± 0.26	11.91± 0.05
C22:6n3	3.83± 0.06	3.91± 0.75	
SFAs	49.75	43.72	60.82
MUFAs	21.86	14.03	22.88
PUFAs	3.83	6.79	3.45

ตารางภาคผนวกที่ 4 ปริมาณไขมันในเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในเวลาที่แตกต่างกัน

ตัวอย่าง	ระยะเวลา	ปริมาณเชื้อ (กรัม)	ปริมาณไขมัน(%) น้ำหนักสด
CHUMP-A-POR03-2	5 day	5.9792	1.08
CHUMP-APOR-03-2	5 day	3.7742	1.08
CHUMP-A-POR03-2	5 day	3.5711	2.0
CHUMP-A-POR03-2	5 day	2.7104	4.06
CHUMP-A-POR03-2	10day	5.5407	4.06
CHUMP-A-POR03-2	5day	5.6298	0.71
CHUMP-A-POR03-2	5day	5.7937	0.71
CHUMP-A-POR03-2	10day	5.76	0.71
CHUMP-A-POR-05-7	5day	5.5407	5.76
CHUMP-A-POR06-13	5day	2.0114	0.71

ตารางภาคผนวกที่ 5 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำที่เก็บจากจังหวัดชุมพร

ชนิดกรดไขมัน	CHUMP-A-POR-03-7-5day		
	Neutral lipids	glycolipids	phospholipids
C14:0	0.36±0.04	nd	nd
C14:0	8.36±0.04	6.98±0.09	8.79±0.00
C16:1n7	0.36±0.04	6.98±0.09	8.79±0.00
C16:2n4	nd	nd	nd
C16:2n4	nd	nd	nd
C18:0	0.36±0.04	6.98±0.09	8.79±0.00
C18:1n9	nd	nd	nd
C18:1n9	15.36±0.22	14.13±0.37	11.79±0.37
C16:2n4	nd	nd	nd
C18:1n9	nd	nd	nd
C18:1n9	nd	nd	nd
C18:4n3	nd	6.98±0.09	8.79±0.00
C18:4n3	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd
C18:4n3	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd
other	69.18	72.78	70.01
SFAs	69.18	72.78	70.01
MUFAs	69.18	72.78	70.01
PUFAs	69.18	nd	nd

SFAs = saturated fatty acid; MUFAs= monounsaturated fatty ; PUFAs = polyunsaturated fatty acid

ตารางภาคผนวกที่ 7 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำที่เก็บจากจังหวัดชุมพร

ชนิดกรดไขมัน	CHUMP-A-POR-03-2-5day		
	Neutral lipids	glycolipids	phospholipids
C14:0	0.92±0.01	1.03±0.03	2.41±0.06
C14:0	0.92±0.01	1.03±0.03	2.41±0.06
C16:1n7	14.28±0.01	12.43±0.11	2.41±0.06
C16:2n4	nd	nd	nd
C16:2n4	0.92±0.01	1.03±0.03	1.66±0.05
C18:0	0.92±0.01	1.03±0.03	2.41±0.06
C18:1n9	0.92±0.01	1.03±0.03	1.66±0.05
C16:1n7	0.92±0.01	1.03±0.03	2.41±0.06
C18:2n6	nd	nd	nd
C18:3n4	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd
C18:3n3	0.92±0.01	1.03±0.03	nd
C10:1n9	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd
C22:5n3	nd	nd	nd
C22:5n3	nd	nd	nd
other	nd	65.19	77.12
SFAs	8.10	65.19	77.12
MUFAs	21.06	65.19	77.12
PUFAs	nd	65.19	nd

SFAs = saturated fatty acid; MUFAs= monounsaturated fatty ; PUFAs = polyunsaturated fatty acid

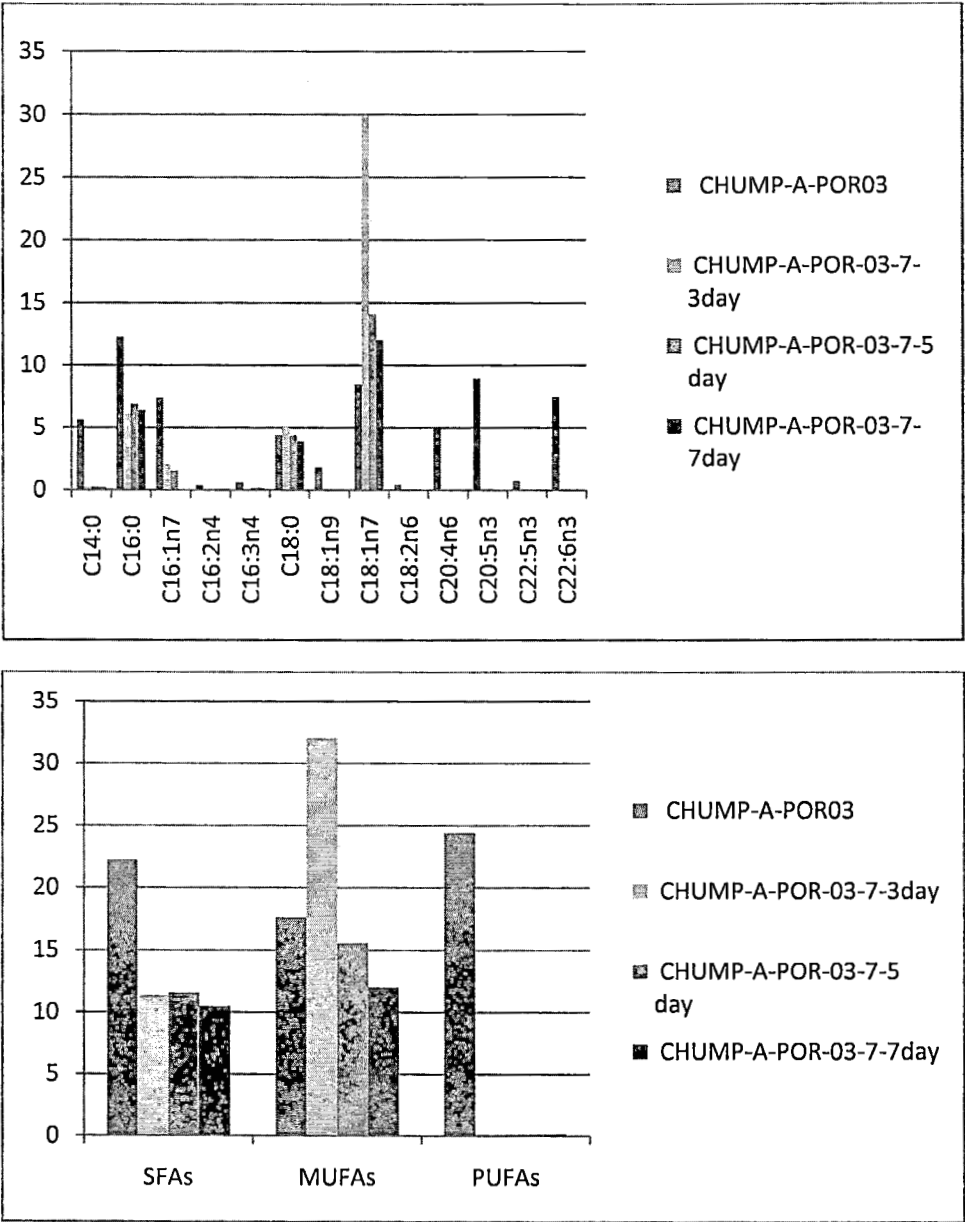
ตารางภาคผนวกที่ 8 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำที่เก็บจากจังหวัดชุมพร

ชนิดกรดไขมัน	CHUMP-A-POR-03-2-7day		
	Neutral lipids	glycolipids	phospholipids
C14:0	0.99±0.10	1.11±0.26	1.67±0.05
C14:0	0.99±0.10	10.96±1.11	1.67±0.05
C16:1n7	12.33±0.89	1.11±0.26	8.00±0.20
C16:2n4	nd	nd	nd
C16:3n4	0.99±0.10	1.11±0.26	8.00±0.20
C18:0	0.99±0.10	5.42±1.56	1.67±0.05
C16:3n4	0.99±0.10	5.42±1.56	1.67±0.05
C16:1n7	0.99±0.10	1.11±0.26	8.00±0.20
C18:2n6	nd	nd	nd
C18:2n6	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd
C16:3n4	nd	nd	nd
C16:1n7	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd
C10:3n3	nd	nd	nd
C22:5n3	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd
other	70.38	68.73	nd
SFAs	70.38	68.73	10.48
MUFAs	70.38	68.73	10.48
PUFAs	70.38	68.73	10.48

SFAs = saturated fatty acid; MUFAs= monounsaturated fatty ; PUFAs = polyunsaturated fatty acid

ตารางภาคผนวกที่ 9 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำ CHUMP-A-POR-03 และเชื้อแบคทีเรีย (CHUMP-A-POR-03-7)

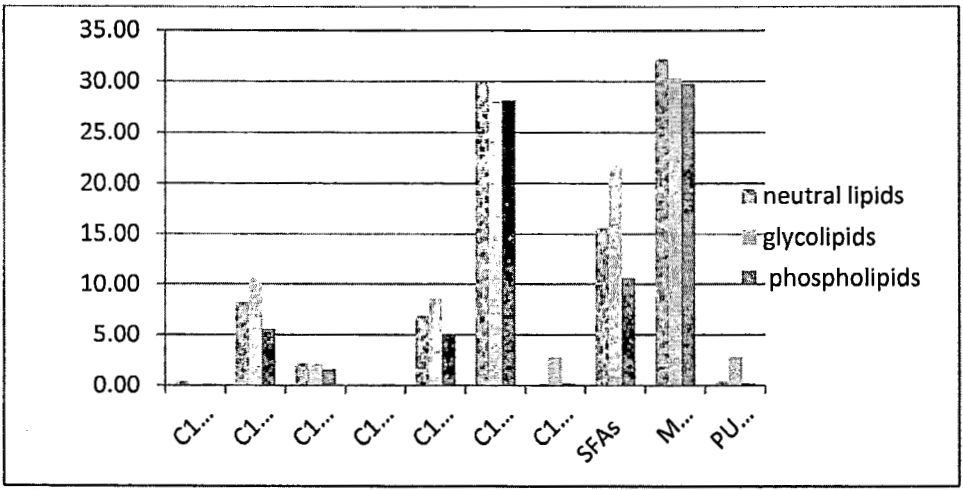
ชนิดกรดไขมัน	ฟองน้ำClathria(Thalysias)	เชื้อแบคทีเรีย CHUMP-A-POR-03-7		
		3day	5day	7day
C14:0	4.14 ±0.11	0.20±0.03	0.25±0.04	0.21±0.01
C14:0	11.52 ± 0.18	6.07±0.54	6.87±0.61	6.35±0.02
C16:1n7	6.08 ± 0.21	6.07±0.54	1.50±0.15	nd
C14:0	6.03 ± 0.21	0.16	0.15	0.16
C17:1	1.40 ± 0.00	0.16	0.15	nd
C14:0	1.40 ± 0.00	6.07±0.54	6.87±0.61	3.91±0.01
C18:1n9	1.40 ± 0.00	nd	nd	nd
C18:1n7	nd	29.96±0.54	14.08±0.39	11.98±0.25
C18:1n9	6.08 ± 0.21	nd	nd	nd
C18:3n6	0.97± 0.05			
C18:3n3				nd
C20:0	2.12 ±0.13			nd
C20:4n6	5.28 ± 0.19			nd
C20:5n3	0.97± 0.05			nd
C20:0	1.15 ± 0.08			
C20:0	0.97± 0.05			nd
C22:6n3	7.56± 0.10	nd	nd	nd
SFAs	30.10	11.33	11.55	10.47
MUFAs	30.10	11.33	11.55	11.98
PUFAs	30.10	0.16	0.16	0.15



ภาพภาคผนวกที่ 1 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Clathria*(*Thalysias*) CHUMP-A-POR-03 และแบคทีเรีย CHUMP-A-POR-03-7 ที่คัดแยกจากฟองน้ำที่เพาะเลี้ยงในระยะเวลาที่แตกต่างกัน(%Fatty acid)

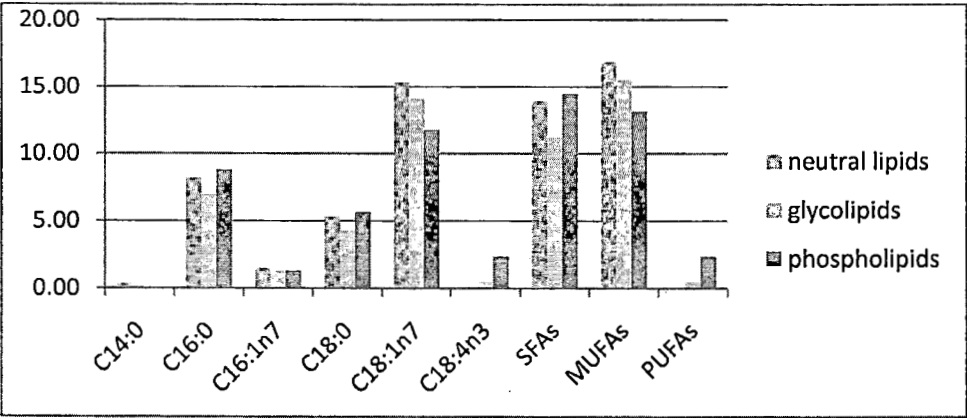
CHUMP-A-POR-03-7

3 วัน



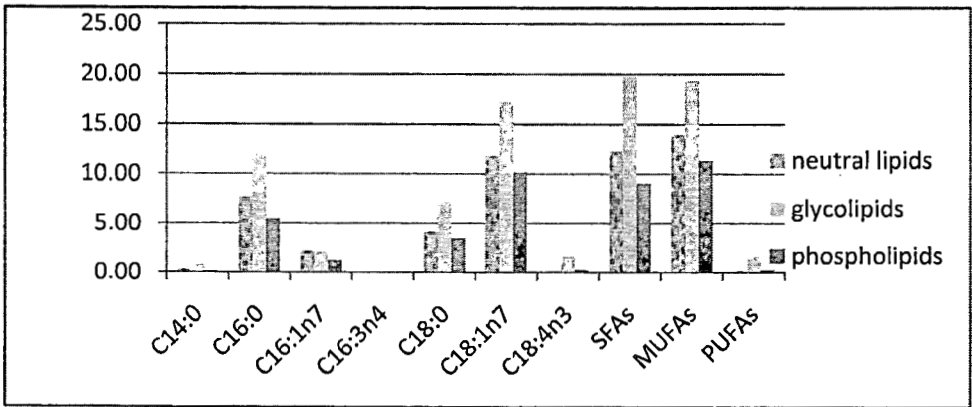
CHUMP-A-POR-03-7

5 วัน



CHUMP-A-POR-03-7

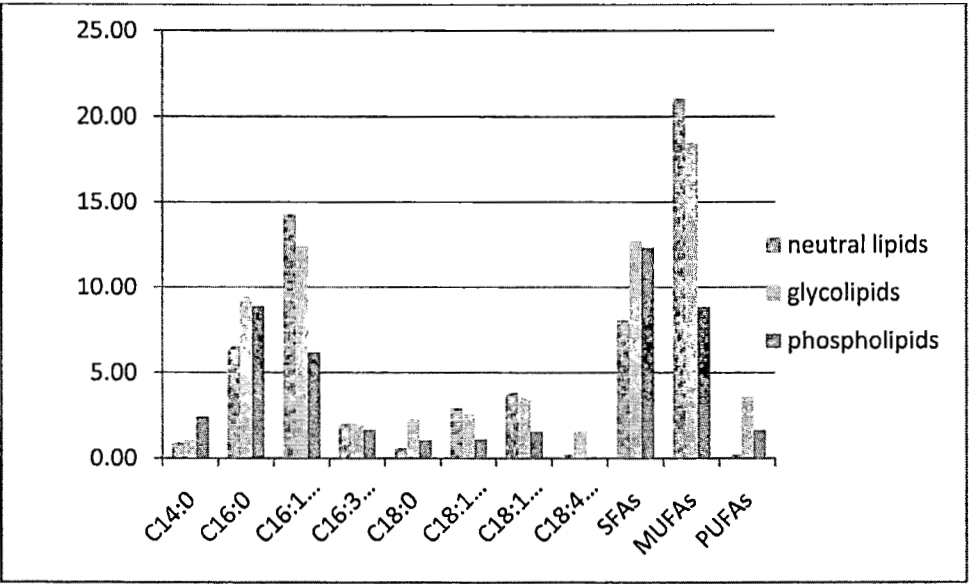
7 วัน



ภาพภาคผนวกที่ 2 กราฟเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันแต่ละชนิดของเชื้อแบคทีเรีย (CHUMP-A-POR-03-7) ที่เพาะเลี้ยงในเวลาที่แตกต่างกัน(%TFA)

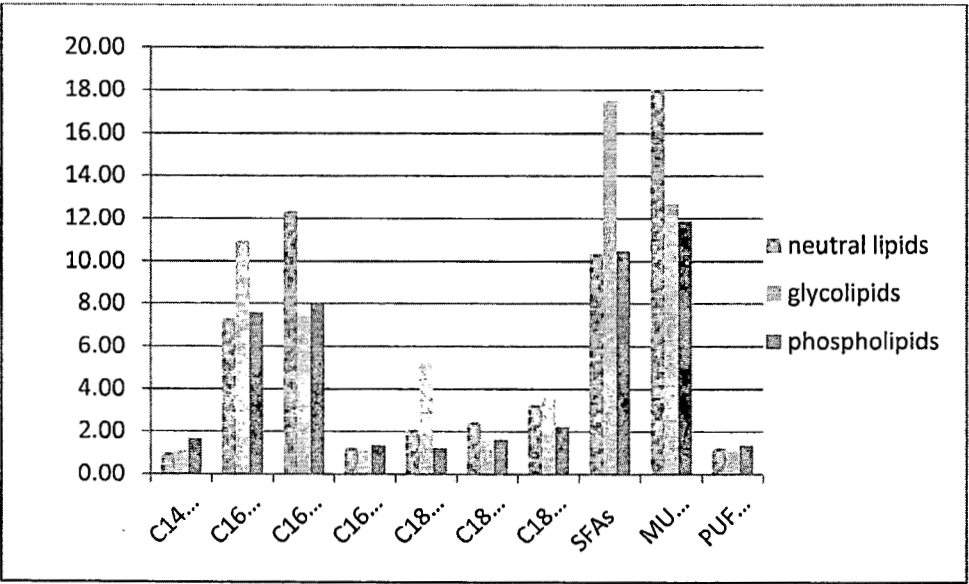
CHUMP-A-POR-03-2

5 วัน



CHUMP-A-POR-03-2

7 วัน



ภาพภาคผนวกที่ 3 เปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างไขมันแต่ละชนิดของเชื้อแบคทีเรีย (CHUMP-A-POR-03-2) ที่เพาะเลี้ยงในเวลาที่แตกต่างกัน(%TFA)

ตารางภาคผนวกที่ 10 รายชื่อตัวอย่างฟองน้ำที่ทำการศึกษา

Code	Order	Scientific name	Date	Collection site	BIMS Code
MUS-A-01	Hadromerida	<i>Sphaciospongia</i> <i>congenera</i> (Ridley, 1884)	31 มค 53	เกาะมัดลุ่มทิศเหนือหมู่ เกาะสมุย	BIMS-I-2095
MUS-B-10	Dictyoceratida	<i>Ircinia</i> <i>mutans</i> (Wilson, 1925)	1 กพ 53	เกาะมัดลุ่มทิศตะวันตก เฉียงเหนือหน้าแพเลี้ยงมุก เดิม หมู่เกาะสมุย	BIMS-I-2119
MUS-B-11	Dictyoceratida	<i>Ircinia</i> <i>mutans</i> (Wilson, 1925)	1 กพ 53	เกาะมัดลุ่มทิศตะวันตก เฉียงเหนือหน้าแพเลี้ยงมุก เดิม หมู่เกาะสมุย	BIMS-I-2119
TAN-A-01	Haplosclerida	<i>Haliclona</i> (Gellius) <i>cymaeformis</i> Esper, 1794	29 มค 53	เกาะแตนทิศตะวันตกหมู่ เกาะสมุย	BIMS-I-2050
TAN-D-01	Hadromerida	<i>Cervicornia</i> <i>cuspidifera</i> (Lamarck, 1815)	27 มค 53	อ่าวออกเกาะแตนทิศ ตะวันออก หมู่เกาะสมุย	BIMS-I-2092
TAN-E-03	Dictyoceratida	<i>Cacospongi</i> sp.	2 กพ 53	อ่าวหัวไทรเกาะแตนทิศ เหนือ หมู่เกาะสมุย	BIMS-I-2134

ตารางภาคผนวกที่10 (ต่อ) รายชื่อตัวอย่างฟองน้ำที่ทำการศึกษา

Field code	Order	Scientific name	Date	Collection site	BIMS Code
CHUMP-A-POR02	Haplosclerida	<i>Petrosia</i> (<i>Petrosia</i>) <i>hoeksemai</i> Voogd & Soest, 2002	6 มีค 54	หินหลักแรดทะเล ชุมพรบนก้อน หินปูนที่เป็นซาก ปะการังเก่า	BIMS-602-2501
CHUMP-A-POR03	Poecilosclerida	<i>Clathria</i> (<i>Thalysias</i>) <i>reinwardti</i> Vosmer, 1880	6 มีค 54	หินหลักแรดทะเล ชุมพรบนซาก ปะการังดำ	BIMS-602-2502
CHUMP-A-POR04	Haplosclerida	<i>Callyspongia</i> (<i>Cladochalina</i>) <i>subarmigera</i> Ridley, 1884	6 มีค 54	หินหลักแรดทะเล ชุมพรบนปะการังดำ มีชีวิต	BIMS-602-2503
CHUMP-A-POR05	Verongida	<i>Pseudoceratina</i> <i>purpurea</i> (Carter, 1880)	6 มีค 54	หินหลักแรดทะเล ชุมพรบนฟองน้ำสีดำ	BIMS-602-2504
CHUMP-A-POR06	Dictyoceratida	<i>Cacospongia</i> sp.	6 มีค 54	หินหลักแรดทะเล ชุมพรบนซาก ปะการังหรือก้อนหิน	BIMS-602-2505
TAO 55-A-POR-01	Hadromerida	<i>Spheciospongia</i> <i>vagabunda</i> (Ridley, 1884)	25 มีค 55	กองทรายแดง (หิน ฉลาม) เกาะเต่า ทิศ ใต้	BIMS-602-2627
TAO55 B-POR-01	Poecilosclerida	<i>Biemna</i> <i>fortis</i> (Topsent, 1897)	25 มีค 55	จากบริเวณ อ่าวลึก ทิศเหนือ เกาะเต่า ทิศ ตะวันออกเฉียงใต้	BIMS-602-2640

ตารางภาคผนวกที่ 11 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำจากหมีทะเลสมุยจังหวัดสุราษฎร์ธานี (กุมภาพันธ์-มีนาคม 2553)

กรดไขมัน	Mus-A-01	Mus-B-10	Mus-B-11
C13:0			
C14:0	2.45±0.01	1.48±0.04	1.83±0.06
C14:1			
C15:0		0.79±0.09	1.20±0.36
C15:1			
C16:0	15.69±0.23	8.99±0.78	8.44±0.17
C16:1n7	1.81±0.14	1.96±0.05	2.85±0.67
C17:0	2.96±0.05	1.27±0.13	2.24±0.53
C17:1			
C18:0	13.89±0.37	8.64±0.67	6.49±0.07
C18:1n9	9.80±0.40	0.94±0.04	1.44±0.02
C18:2n6	1.55±0.12	1.23±0.08	1.28±0.04
C18:3n6			
C18:3n3	2.19±0.01	0.84±0.03	1.22±0.04
C20:0			
C20:1n9			
C20:2			
C20:3n6		0.50±0.06	1.14±0.44
C21:0	1.53±0.24	0.64±0.01	
C20:4n6	10.57±0.46	0.64±0.01	0.94±0.15
C20:3n3	1.41±0.07		
C20:5n3	1.29±0.10	1.27±0.13	1.16±0.13
C22:0		7.99±0.39	3.16±0.07
C22:1n9		0.94±0.18	
C22:2			
C23:0			
C24:0		1.67±0.08	
C22:6n3		1.50±0.46	
SFAs	36.52	31.47	23.37
MUFAs	11.60	3.85	4.29
PUFAs	17.01	5.98	5.73

ตารางภาคผนวกที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำจากหมู่เกาะสมุยจังหวัดสุราษฎร์ธานี (กุมภาพันธ์-มีนาคม 2553)

กรดไขมัน	TAN-A-01	TAN-D-01	TAN-E-03
C13:0			3.71±0.37
C14:0	3.21±0.50	2.52±0.19	3.42±0.50
C14:1			
C15:0			1.86±0.19
C15:1			
C16:0	20.93±0.16	35.36±0.40	7.12±0.50
C16:1n7	7.56±0.30	0.80±0.07	6.45±0.72
C17:0	1.95±0.45	1.54±0.07	1.76±0.32
C17:1			2.93±0.35
C18:0	3.31±0.35	5.35±0.04	4.59±0.02
C18:1n9	3.05±0.27	8.92±0.17	1.66±0.09
C18:2n6		11.41±0.33	
C18:3n6			
C18:3n3			
C20:0		4.03±0.43	
C20:1n9			
C20:2		0.84±0.29	
C20:3n6			
C21:0			
C20:4n6	1.69±0.36	0.87±0.03	
C20:3n3			
C20:5n3	1.42±0.28	0.85±0.15	
C22:0	6.71±0.33	1.24±0.06	
C22:1n9			
C22:2			
C23:0		0.71±0.26	
C24:0	4.26±0.84	0.75±0.00	
C22:6n3		1.74±0.50	
SFAs	40.36	51.49	22.45
MUFAs	10.60	9.72	11.04
PUFAs	3.11	15.71	0.00

ตารางภาคผนวกที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำจากชายฝั่งทะเลจังหวัดชุมพร (มีนาคม 2554)

กรดไขมัน	CHUMP-02	CHUMP-03	CHUMP-04	CHUMP-05	CHUMP-06
C13:0					
C14:0	1.46±0.26	4.14±0.11	2.26±0.20	2.46±0.12	3.81±0.25
C14:1	0.000.00				
C15:0	1.47±0.09			1.53±0.36	1.86±0.44
C15:1					
C16:0	7.33±0.26	11.52±0.18	18.86±0.05	19.17±0.17	13.62±0.21
C16:1n7	3.53±0.66	6.08±0.21	2.26±0.20	8.13±0.17	4.25±0.14
C17:0	1.83±0.07	4.00±0.59	3.60±0.23	3.61±0.06	2.93±0.47
C17:1		1.40±0.00			
C18:0	7.09±0.07	4.73±0.15	8.41±0.25	7.68±0.37	10.49±0.54
C18:1n9	5.49±0.54	5.64±0.26	3.08±0.02	6.59±0.34	8.67±0.54
C18:2n6	1.35±0.25	0.89±0.16		1.22±0.38	1.55±0.37
C18:3n6		0.97±0.05			
C18:3n3			1.56±0.22	1.61±0.19	1.55±0.37
C20:0		2.12±0.13	2.09±0.04		
C20:1n9					
C20:2					
C20:3n6					
C21:0					
C20:4n6		5.28±0.19	3.25±0.27	1.68±0.14	
C20:5n3		9.06±0.24	5.17±0.02		
C22:0		1.15±0.08	6.73±0.20		
C22:1n9			2.09±0.04		
C22:2					
C23:0			2.43±0.45		
C24:0		2.45±0.06	4.30±0.25		
C22:6n3	4.64±0.07	12.87±0.55	3.19±0.14		1.19±0.15
SFAs	19.18	30.10	48.69	34.43	32.70
MUFAs	9.01	13.12	7.43	14.72	12.92
PUFAs	6.00	29.08	13.17	4.52	4.30