บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลิพิด (Lipid)

ลิพิดเป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบไปด้วยคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน (O) โดยธรรมชาติพบทั่วไปทั้งในพืชและสัตว์ ลิพิดประกอบด้วย ไขมัน (fat) น้ำมัน (oil) และไข (waxes) คุณสมบัติที่สำคัญคือ ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน อีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น (บุญล้อม ชีวะอิสระกุล, 2542)

บทบาทและความสำคัญของลิพิด

1. เป็นโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์และอวัยวะเซลล์ (biological membrane)

2. เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานมากที่สุดเมื่อเทียบต่อน้ำหนักที่เท่ากัน โดยไขมัน 1 กรัม ให้พลังงานประมาณ 9 กิโลแคลอรี ส่วนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตให้พลังงานเพียง 4 กิโลแคลอรี ดังนั้นร่างกายจึงสะสมพลังงานในรูปของไขมันเป็นหลัก

3. เป็นสารให้ความอบอุ่นและช่วยป้องกันอวัยวะต่าง ๆ ภายในร่างกายไม่ให้กระทบกระเทือน และยังเป็นฉนวนป้องกันการสูญเสียความร้อนจากร่างกาย

4. เป็นตัวเคลือบหรือฉาบผิวสิ่งมีชีวิต เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำหรือป้องกันไม่ให้น้ำเข้าภายในและยังมีผลป้องกันการติดเชื้อด้วย

5. เป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญบางอย่างได้แก่ วิตามินที่ละลายในไขมัน (vitamin A, D, E, K) รวมทั้งฮอร์โมน เช่น พรอสทาเกลนดิน (prostaglandin) สเทอรอยด์ (steroid) และกรดไขมันที่จำเป็น

6. เป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ของแบคทีเรียและพืชชั้นสูง รวมทั้งผิวหนังและระบบประสาทของสัตว์มีกระดูกสันหลัง และเป็นองค์ประกอบของปีกและลำตัวแมลง (สมศักดิ์ สรั่งบิน, 2533)

ประเภทของลิพิด

ลิพิดแบ่งออกเป็น 3 ประเภทตามองค์ประกอบทางเคมีดังนี้

1. ลิพิดอย่างง่าย (simple lipid) จัดเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ เมื่อเกิดปฏิกริยาไฮโดรไลซิสได้กรดไขมันและแอลกอฮอล์ ดังปฏิกริยา

$$\text{ลิพิดอย่างง่าย} + \text{น้ำ} \xrightarrow{\text{ไฮโดรไลซิส}} \text{กรดไขมัน} + \text{แอลกอฮอล์}$$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ลิพิดอย่างง่าย แบ่งออกเป็น

1.1 น้ำมันและไขมัน เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล (glycerol) เช่น ไทรกลีเซอไรด์ (triglyceride) หรือฟอสโฟกลีเซอไรด์ (phosphoglyceride) น้ำมันและไขมันมีโครงสร้าง และคุณสมบัติทางเคมีเหมือนกัน แต่คุณสมบัติทางกายภาพต่างกัน โดยน้ำมันเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง แต่ไขมันเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ไขมันหรือน้ำมันจากพืชและสัตว์จะมีกรดไขมันแตกต่างกันไป

1.2 ไขหรือขี้ผึ้ง เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ชนิดอื่น (long chain alcohol) ที่ไม่ใช่กลีเซอรอล

2. ลิพิดเชิงประกอบ (compound lipid) จัดเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ และมีสารอื่นรวมอยู่ด้วยได้แก่

2.1 ฟอสโฟลิพิด (phospholipid หรือ phosphatides) เป็นไขมันที่มีกรดฟอสฟาทิดิค (phosphatidic acid) และสารประกอบพวกไนโตรเจนรวมอยู่ เช่น เลซิธิน (lecithin) เซฟาลิน (cephalin) และสปินโกไมอิลิน (spingomyelin)

2.2 ไกลโคลิพิด (glycolipid) เป็นไขมันที่มีคาร์โบไฮเดรต และสารพวกไนโตรเจนรวมกันในโมเลกุล เช่น ซีรีโบไซด์ (cerebroside) ที่พบในสมองจะมีคาร์โบไฮเดรตซึ่งประกอบด้วยกาแล็คโทส หรือกลูโคส

2.3 ไลโปโปรตีน (lipoprotein) เป็นไขมันที่มีโปรตีนจับอยู่ด้วย ทำหน้าที่ขนส่งไขมันในโลหิต และเป็นส่วนประกอบของเยื่อเซลล์

3. อนุพันธ์ลิพิด (derived lipid) คือ ลิพิดที่ได้จากการแตกตัวของลิพิดอย่างง่ายหรือลิพิดเชิงประกอบ ลิพิดพวกนี้ได้แก่ กรดไขมัน กลีเซอรอล คอเลสเทอรอล สเตอรอล และแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ ที่เป็นส่วนประกอบของลิพิดทั้งสองด้วย

กรดไขมัน (fatty acid)

กรดไขมันจัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิค (carboxylic acid) ที่มีหมู่–COOH เพียงหมู่เดียวต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาวเส้นตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคู่ ระหว่าง 4-24 อะตอม และพบในรูปกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) เล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน (saponifiable lipid)

การเรียกชื่อกรดไขมัน

1. กรดไขมันอิ่มตัว เป็นกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่ การเรียกชื่อจึงเรียกตามการ

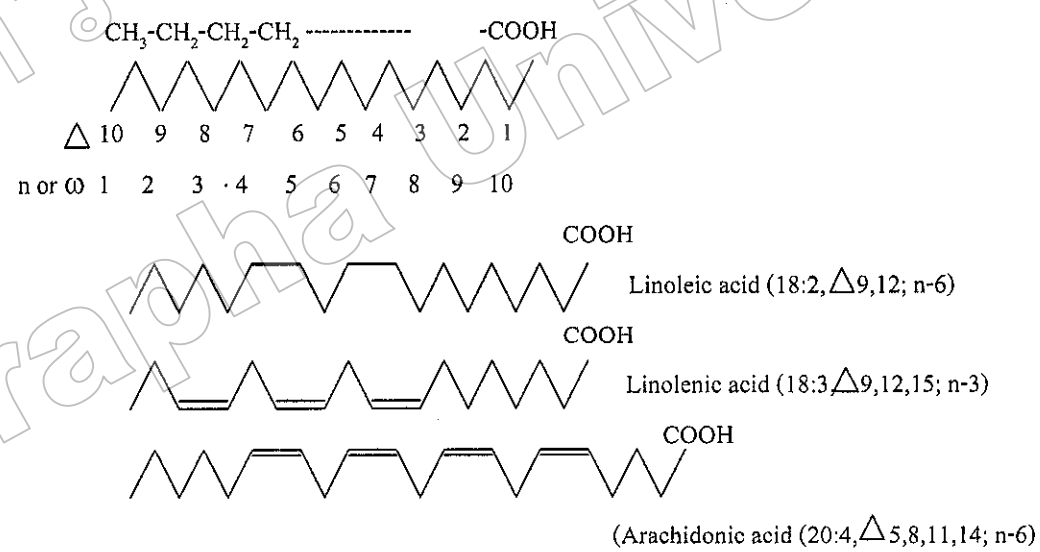
เพิ่มจำนวนคาร์บอนเข้าไปครั้งละ 2 อะตอม เช่น Mysteristic acid (14:0), Palmitic acid (16:0) และ Stearic acid (18:0) เป็นต้น

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวและชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน มีวิธีในการนับตำแหน่งดังนี้

การนับตำแหน่งของคาร์บอนเพื่อบอกตำแหน่งพันธะคู่ในสายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมี 2 วิธี

1. นับจากปลาย – COOH และนับทุกตำแหน่งของคาร์บอนตัวแรกที่มีพันธะคู่ใช้สัญลักษณ์การนับเป็น Δ (delta)

2. นับจากปลาย – CH_3 และนิยมนับตำแหน่งคาร์บอนของพันธะคู่แรกเพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น เนื่องจากพันธะคู่ถัดไปจะต่างกัน 3 คาร์บอนเสมอ ใช้สัญลักษณ์เป็น n หรือ ω (omega) ซึ่งการระบุตำแหน่งนี้มีประโยชน์ โดยทำให้ทราบว่ากรดไขมันชนิดนั้น ๆ อยู่ในกลุ่มเดียวกัน หรือมีความสัมพันธ์ทางด้านเมตาบอลิซึม (metabolism) หรือไม่ (รัศมี ศุภศรี, 2536) การนับตำแหน่งพันธะคู่แสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การนับตำแหน่งพันธะคู่ในสายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว
(ดัดแปลงจาก มนตรี จุฬาวัฒนกล, ชิษณุสรร สวัสดิวัฒน์, ยงยุทธ ยุทธวงศ์, ภิญโญ พานิชพันธ์, ประหยัด โกมารทัต, พิณทิพ รื่นวงษา, ธีรยศ วิทิตสุวรรณกุล, บุรชัย สนธยานนท์, สุมาลี ตั้งประดับสกุล และมธุรส พงษ์ลิขิตมงคล, 2542)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การจำแนกประเภทของกรดไขมันแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ

1. กรดไขมันชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีเพียงพันธะเดียว มีโมเลกุลโซ่คาร์บอนสั้น เนื่องจากไม่มีพันธะคู่ (double bond) จึงทำให้มีจุดหลอมเหลวสูง (มากกว่า 60 องศาเซลเซียส) ส่วนใหญ่จะพบในไขมันสัตว์และน้ำมันพืชบางชนิด โดยเฉพาะน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันปาล์ม (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542) ซึ่งมีสภาพเป็นไขหรือแข็งตัวเมื่ออุณหภูมิต่ำ

2. กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่รวมอยู่ด้วย โดยมีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 1-6 คู่ และโซ่คาร์บอนยาว 18-22 คาร์บอน กรดไขมันกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ ซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลและตำแหน่งของพันธะคู่ (อัคนิตย์ อิทธิอาภา, 2541) กรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่มคือ

2.1 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acid) ซึ่งมีพันธะคู่ 1 คู่ ที่สำคัญและพบมากมี 2 ชนิดคือ 16:1n-7 (palmitoleic acid) และ 18:1n-9 (oleic acid) พบได้ในไขมันแทบทุกชนิด

2.2 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid) ซึ่งมีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 2 คู่ขึ้นไป นอกจากนี้กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 20 คาร์บอนอะตอมขึ้นไปเรียกว่า Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) โดยทั่วไปจะใช้เรียกกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า-3 ดังนั้นโอเมก้า-3 HUFA จึงประกอบไปด้วย 20:3n-3, 20:4n-3, 20:5n-3 และ 22:6n-3 กรดไขมัน ในกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ และจุดหลอมเหลวของกรดไขมันแต่ละชนิดขึ้นกับจำนวนของคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล และตำแหน่งของพันธะคู่ (สุพิศ ทองรอด, 2535)

โดยทั่วไปแล้วกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีสภาพเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องและบางชนิดยังคงเป็นของเหลวที่จุดเยือกแข็ง เช่น กรดไลโนลีนิค (18:3n-3) กรดไขมันไม่อิ่มตัวมักพบทั้งในน้ำมันจากพืช (ยกเว้นน้ำมันมะพร้าว) เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำ เป็นต้น และน้ำมันจากสัตว์ เช่น น้ำมันตับปลา และที่นิยมนำมาสกัดกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 มากที่สุดคือน้ำมันปลา (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536)

สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ตามตำแหน่งของคาร์บอนตัวแรกที่มีพันธะคู่คือ

1. กลุ่มกรดโอลีอิค (oleic acid series) หรือกลุ่มโอเมก้า-9 (n-9 หรือ ω-9) กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดโอลีอิค (18:1n-9) ซึ่งนิยมนำมาใช้สังเคราะห์กรดไขมันอื่น ๆ เช่น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

18:2n-9, 20:1n-9 (gadoleic acid) และ 20:2n-9 โดยทั่วไปพบมากในสัตว์บก เช่น น้ำมันหมู (lerd oil) และน้ำมันวัว (beef tallow oil) เป็นต้น

2. กลุ่มไลโนลีอิค (linoleic acid series) หรือกลุ่มโอเมก้า-6 (n-6 หรือ ω-6) กรดไขมันในกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดไลโนลีอิค (18:2n-6) ซึ่งนำมาสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น ๆ เช่น 18:3n-6 (γ-linolenic acid), 20:3n-6 (dihomo-γ-linolenic acid) และ 20:4n-6 (arachidonic acid) เป็นต้น สัตว์น้ำมีความสามารถในการสังเคราะห์กรดไขมันแตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น ปลาน้ำจืด และปลาน้ำกร่อยบางชนิดสามารถสังเคราะห์ 18:2n-6 หรือสร้างกรดอะราคิโดนิค (20:4n-6) ได้ ในขณะที่ปลาทะเลต้องได้รับโดยตรงจากอาหารเท่านั้น (สุพิศ ทองรอด, 2535) โดยทั่วไป กรดไขมันกลุ่มนี้พบในน้ำมันพืชมากกว่าไขมันจากสัตว์ ซึ่งน้ำมันพืชส่วนใหญ่จะมีกรดไลโนลีอิคมากกว่ากรดไลโนลีนิค 87-99 เท่า (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542)

3. กลุ่มไลโนลีนิค (linolenic acid series) หรือกลุ่มโอเมก้า-3 (n-3 หรือ ω-3) กรดไขมันในกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดไลโนลีนิค (18:3n-3) ซึ่งนำมาสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น ๆ เช่น 18:4n-3, 20:3n-3, 20:4n-3, 20:5n-3 และ 22:6n-3 เป็นต้น

กรดไลโนลีนิคจะถูกใช้สังเคราะห์อีพีเอและดีเอชเอ ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของ n-3 PUFA ซึ่งพบมากในวัชพืชน้ำ สาหร่าย และสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสัตว์ทะเล (marine oil) ได้แก่ น้ำมันปลา (fish oil) และน้ำมันตับปลา (fish liver oil) เป็นต้น กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในไขมันสัตว์และน้ำมันพืชต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 1 (สุพิศ ทองรอด, 2535)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงในไขมันสัตว์และน้ำมันพืชต่าง ๆ (%โดยน้ำหนัก) (สุพิศ ทองรอด, 2535)

ไขมันหรือน้ำมัน	กรดไลโนลีอิก (n-6)	กรดไลโนลีนิค (n-3)	n-3/n-6
ไขมันสัตว์:			
หมู	11.0	0.6	0.1
วัว	2.0	0.5	0.3
ปลาเมนเฮเดน (menhaden)	3.9	23.9	8.4
ปลาเฮริง (herring)	3.3	16.8	5.1
ปลาแซลมอน	5.0	26.4	5.3
ปลากดหลวง	26.3	6.4	0.2
กุ้งทะเล	14.9	23.2	1.6
น้ำมันพืช:			
รำข้าว	32.1	1.4	0.0
ข้าวโพด	455.0	0.5	0.0
เมล็ดฝ้าย	51.1	0	0.0
ถั่วเหลือง	54.4	7.0	0.1
ถั่วลิสง	27.5	0.0	0.0
งา	14.5	56.0	3.9
ปาล์ม	9.0	-	-
มะกอก	9.0	-	-
มะพร้าว	1.6	0.0	0.0

ความสำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3

กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร ถ้าขาดไปอาจก่อให้เกิดโรคหรืออาการผิดปกติ (บุญล้อม ชีวะอิสระกุล, 2542) จึงเรียกได้ว่าเป็นกรดไขมันจำเป็น (essential fatty acid) สามารถพบได้ในไขมันจากพืชและสัตว์ในปริมาณที่แตกต่างกันไป

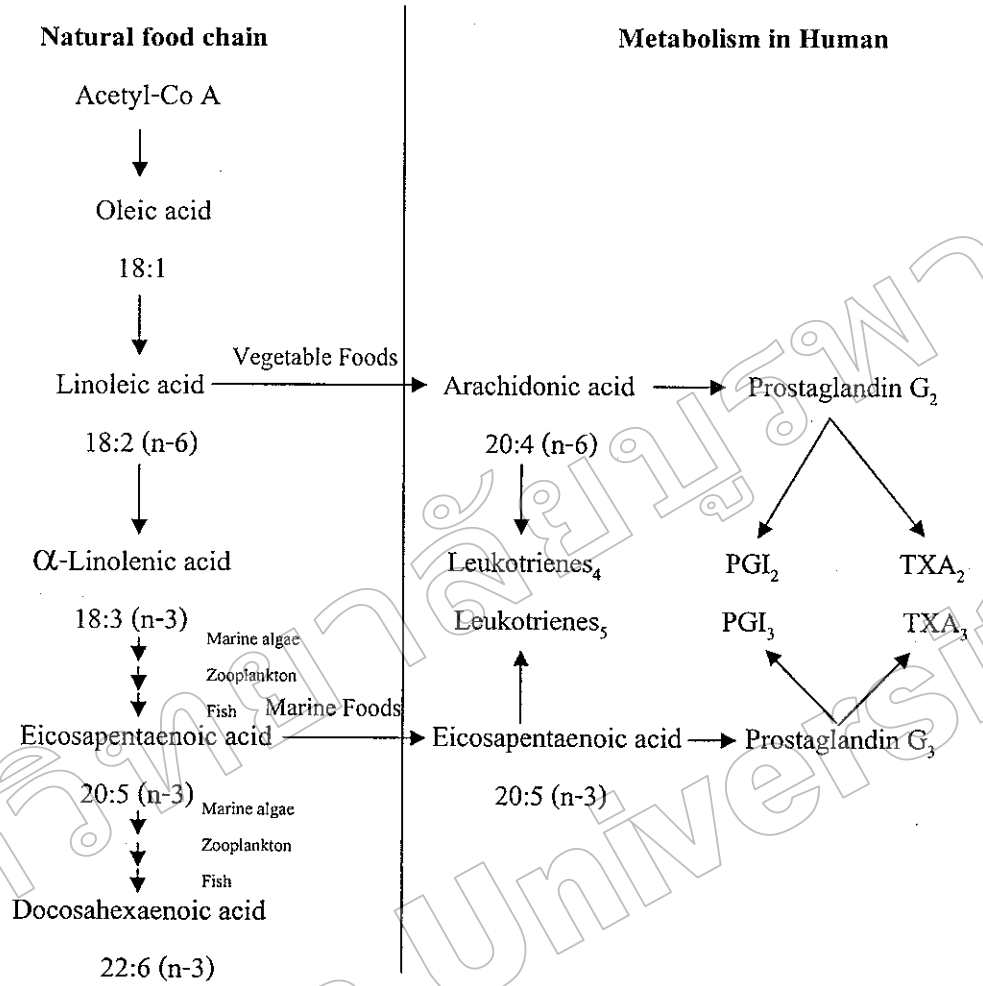
อีพีเอ (EPA) อีพีเอเป็นคำที่ย่อมาจาก Eicosapentaenoic Acid (20:5n-3) เป็นกรดไขมันที่มีคุณสมบัติ ลดการจับตัวของเกล็ดเลือด และสร้างสารที่ทำให้เส้นเลือดขยายตัวได้ดี จึงลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้ จากสมมติฐานทางการแพทย์ของการเกิดโรคหัวใจอุดตัน พบว่า การเกิดลิ่มเลือด (thrombogenesia) เป็นสาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งของปัญหาโรคหัวใจและหลอดเลือด กลไกในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดมีอยู่หลายประการ โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง 2 กลุ่มที่เกี่ยวข้องคือ กลุ่มโอเมก้า-6 และโอเมก้า-3 ซึ่งจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นของ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การสร้างไอโคซานอยด์ (eicosanoid) ที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกันมาก แต่ไอโคซานอยด์ที่ได้จากกรดไขมัน ทั้งสองกลุ่มนี้จะมีหน้าที่ในทางตรงกันข้ามกัน เช่น การสร้าง thromboxanes A_2 จากอะราคิโดนิค จะทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือดซึ่งจะถูกยับยั้งด้วย thromboxanes A_3 ที่สร้างมาจากอีพีเอ ที่มีคุณสมบัติต้านการรวมตัวของเกล็ดเลือดบริเวณผนังหลอดเลือด (เดือนทิพย์ ปียรัตน์, 2538) ทำให้สามารถลดความหนืดของเลือดลง และช่วยเพิ่มระดับของเหลวในเมมเบรน ดังภาพที่ 2 ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถพบได้ในน้ำมันปลาชนิดต่าง ๆ โดยทั้งปลาน้ำจืดและปลาทะเลต่างมีอีพีเอเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง คิดเป็น 5.9 เปอร์เซ็นต์ และ 8.1เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, อ้างอิงจาก Hepher, 1988) ดังนั้นการบริโภคปลาเป็นประจำย่อมลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้

ดีเอชเอ (DHA) ดีเอชเอเป็นกรดไขมันที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับอีพีเอ โดยดีเอชเอย่อมาจาก Docosahexaenoic Acid (22:6n-3) สำหรับดีเอชเอสามารถพบได้ที่บริเวณเรตินาของดวงตาและผนังเซลล์ทั่วร่างกาย ทำให้เซลล์มีความไวต่อการรับสัญญาณประสาท และที่สำคัญที่สุดคือ เป็นส่วนประกอบของเซลล์สมองซึ่งพบในปริมาณสูง (Bajpai et al., 1991a) ทั้งนี้เชื่อกันว่าดีเอชเอผ่านเข้าไปในสมองและเสริมสร้างการเจริญเติบโตของปลายประสาทที่เรียกว่าเดนไดรต์ (dendrite) ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดสัญญาณและส่งผ่านข้อมูลระหว่างสมองด้วยกัน ทำให้เกิดการเรียนรู้และความจำ ในสมองของทารกในครรภ์มีดีเอชเอเป็นส่วนประกอบอยู่ครึ่งหนึ่งก่อนคลอด ส่วนที่เหลือจะได้รับจากอาหารในช่วงปีแรก ดังนั้นดีเอชเอจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อสตรีในระยะตั้งครรภ์ และมารดาในระยะให้นมบุตร เนื่องจากในน้ำนมมารดามีดีเอชเอในปริมาณสูง จึงเชื่อว่าดีเอชเอมีผลต่อการพัฒนาสมอง การมองเห็นและการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ในช่วงที่เป็นทารก (Barclay, 1992)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2 วิถีของการสร้างกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 และเมตาบอลิซึมในมนุษย์ (เดือนทิพย์ ปิยรัตน์, 2538)

ส่วนในสัตว์น้ำ Suwanich et al. (1996) ศึกษาปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (PUFAS) และอัตราส่วนอีพีเอต่อดีเอชเอที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ (*Penaens monodon)* พบว่าอาหารที่มีการเสริมกรดไขมันไม่อิ่มตัว (HUFAS) ที่ระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด โดยมีอัตราส่วนอีพีเอต่อดีเอชเอเท่ากับ 1 : 2 เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ (*Penaens monodon)* ส่วนในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดถ้าได้รับกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ประมาณ 1.72 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหารแห้ง (จารุรัตน์ บูรณะพาณิชย์กิจ, มะลิ บุณยรัตผลิน, ทะเคะชิ วาตานาเบ, ธิดา เพชรมณี และเรณู ยาชิโร, 2531) และถ้ามีการเพิ่มโอเมก้า-3 ลงไปในอาหารปลากะพงขาวมากขึ้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นและไม่พบการตาย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

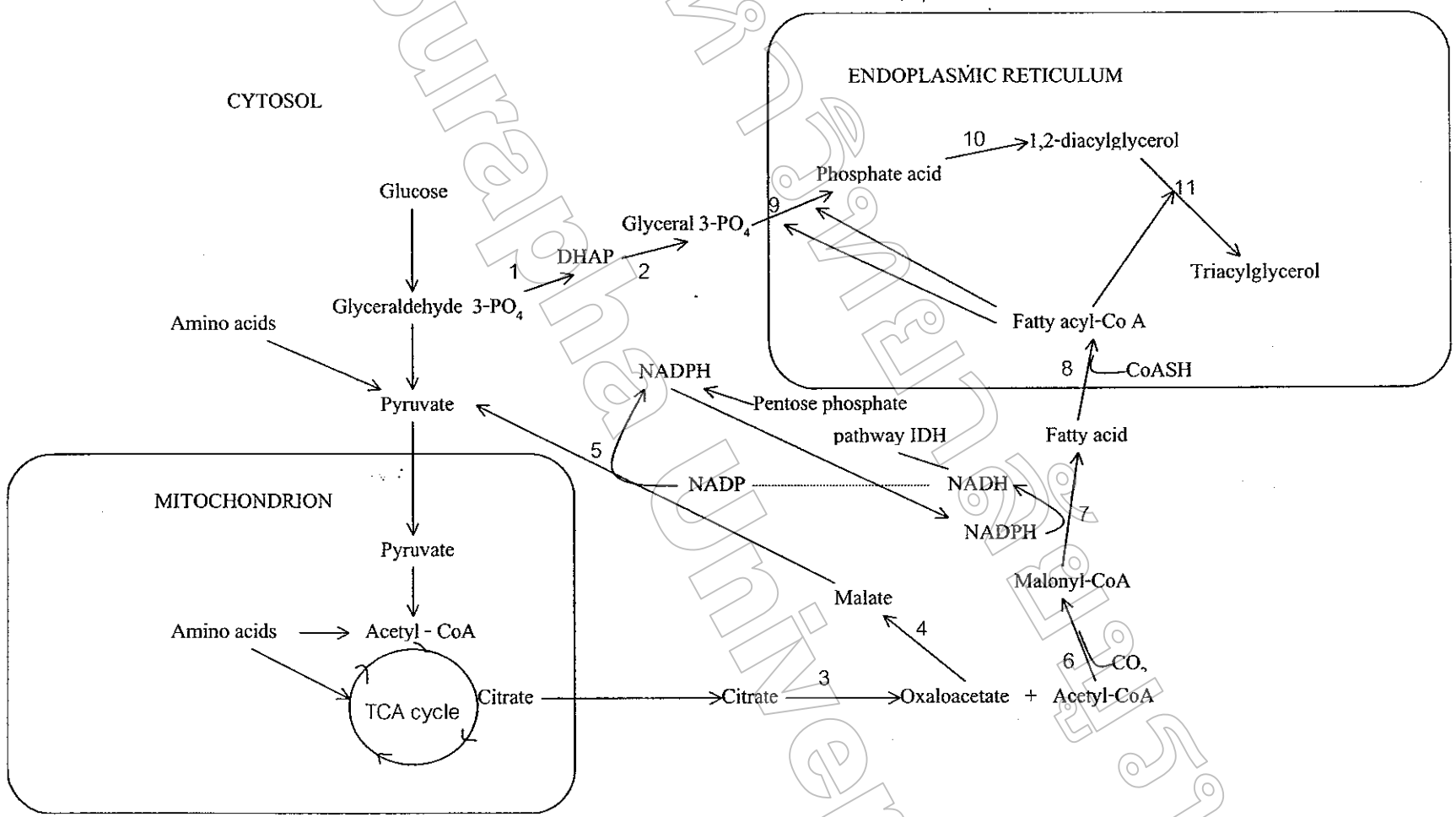
(ทัณฑิมา พรหมดิเรก, 2539) แต่ถ้าสัตว์น้ำได้รับอาหารที่ไม่มีอีพีเอและดีเอชเอจะทำให้สัตว์น้ำเกิดความผิดปกติ เช่น ปลาไนมีอัตราการฟักของไข่ลดต่ำลงหรือแม่กุ้งทะเล (*Penaeus setiferus*) ไม่สามารถสร้างไข่ได้ (Middleditch et al., 1980 อ้างถึงในเวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542)

เมตาบอลิซึมของกรดไขมัน (fatty acid metabolism)

ไขมันที่อยู่ในรูปไทรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟกลีเซอไรด์ เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยไขมันจนเป็นกรดไขมันที่มีหน่วยเล็กที่สุด จากนั้นจะถูกดูดซึมผ่านผนังท่อทางเดินอาหาร เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในร่างกาย โดยปฏิกริยาทางชีวเคมี เช่น นำไปผลิตฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ หรือเอนไซม์ บางชนิดและนำไปสะสมในอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น บริเวณเรตินา เส้นประสาทสมอง ตับ และกล้ามเนื้อ เป็นต้น เพื่อให้ร่างกายทำหน้าที่ได้ตามปกติ รวมทั้งจะถูกนำไปเผาผลาญให้เกิดพลังงานเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตหรือการดำรงชีวิต

การสังเคราะห์กรดไขมัน (fatty acid synthesis) การสังเคราะห์กรดไขมัน โดยการนำอะซิติลโคเอนไซม์เอ (acetyl-co a) ที่ได้จากการสลายกรดอะมิโน การสลายกรดไขมันหรือการสลายกลูโคสมาใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมัน การสังเคราะห์ดังกล่าวเกิดขึ้นในไซโทพลาสซึม เพราะเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมัน พบเฉพาะในไซโทพลาสซึมเท่านั้น การสังเคราะห์กรดไขมันจำเป็นต้องใช้พลังงานจำนวนหนึ่ง ในการนำเอาคาร์บอนมาต่อกันทีละ 2 อะตอม (elongation) หรือสร้างพันธะคู่ (desaturation) ซึ่งแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด จึงมีผลทำให้องค์ประกอบกรดไขมันที่พบในเนื้อเยื่อเช่น ตับ กล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อไขมันมีความแตกต่างกัน

ขั้นตอนการสังเคราะห์กรดไขมัน (ภาพที่ 3) อะซิติลโคเอนไซม์เอ ซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากส่วนที่เหลือจากการสลายกรดไขมัน จะถูกนำออกมาจากไมโทคอนเดรีย เพื่อนำมาสังเคราะห์กรดไขมันในไซโทพลาสซึม (cytoplasm) เริ่มจากอะซิติลโคเอนไซม์เอรวมกับออกซาโลอะซิเตท (oxaloacetate) ได้เป็นซิเตรท (citrate) ซึ่งจะถูกนำออกจากไมโทคอนเดรียมาอยู่ในไซโทพลาสซึม แล้วถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซิเตรทคลีเวจ (citrate clevage enzyme หรือ citrate lyase) ได้เป็นออกซาโลอะซิเตรทและอะซิติลโคเอนไซม์เอ ต่อมาออกซาโลอะซิเตรทจะถูกรีดิวซ์เป็นมาเลท (malate) โดยเอนไซม์มาเลทดีไฮโดรจิเนส (malate dehydrogenase) แล้วมาเลทก็จะถูกออกซิไดส์ด้วยเอนไซม์มาลิค (malic enzyme) ได้เป็นไพรูเวท (pyruvate) ซึ่งจะกลับเข้าไปในไมโทคอนเดรียอีกครั้ง ส่วนอะซิติลโคเอนไซม์เอจะทำปฏิกริยากับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเอนไซม์ อะซิติลโคเอนไซม์เอ คาร์บอกซิเลส (acetyl-co a carboxylase) ได้เป็นมาโลนิลโคเอนไซม์เอ (malonyl-co a) ซึ่งต่อมาจะถูกนำมาสังเคราะห์ให้เป็นกรดไขมัน โดยการใช้เอนไซม์

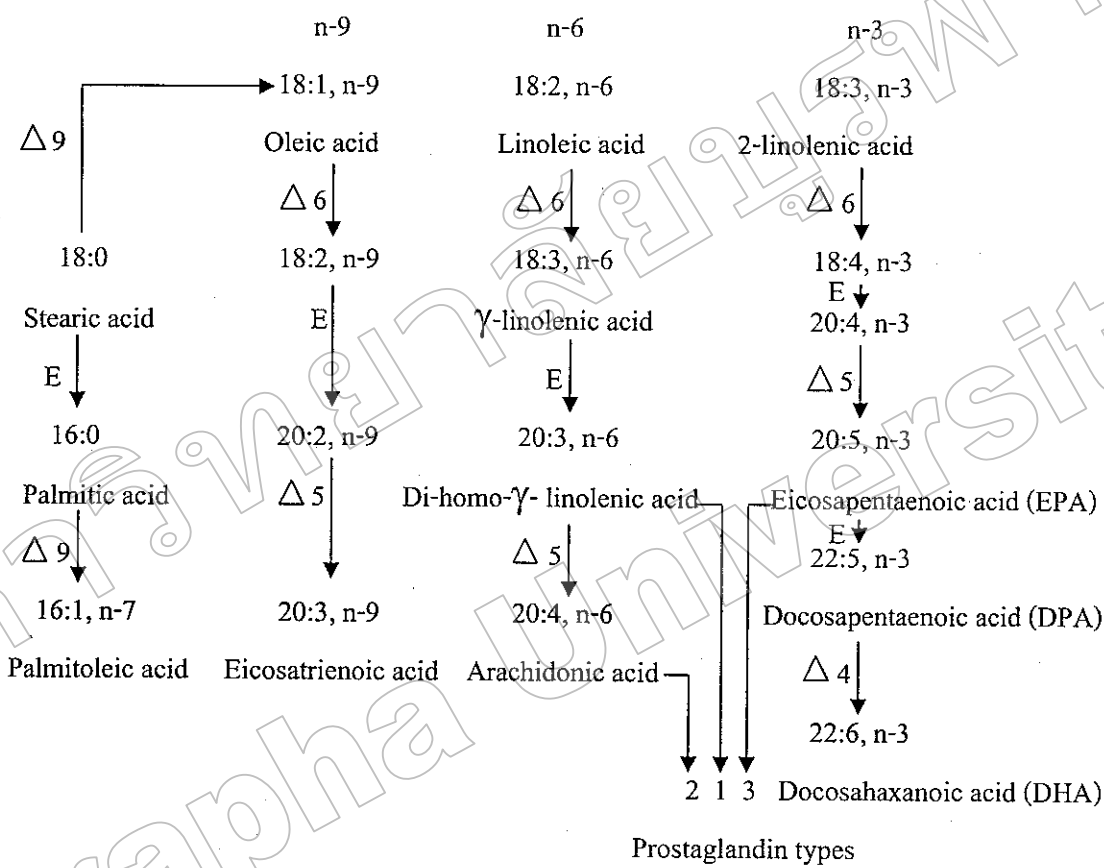


ภาพที่ 3 ขั้นตอนการสังเคราะห์กรดไขมัน (Henderson & Sargent, 1985 อ้างถึงในวีรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แฟตตีเอซิดซินทีเทส (fatty acid synthetase) และพลังงาน (NADPH)

กรดไขมันต้นกำเนิดของแต่ละกลุ่มจะถูกนำไปสังเคราะห์กรดไขมันที่มีความสำคัญต่อร่างกาย ซึ่งจะมีจำนวนคาร์บอนที่สูงขึ้น (โดยขบวนการ elongation) และมีความไม่อิ่มตัวสูงขึ้นคือมีจำนวนพันธะคู่มากขึ้น (โดยขบวนการ desaturation) ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การเติมคาร์บอน (elongation, e) และตำแหน่งของการเติมพันธะคู่ (desaturation, Δ delta) ของกรดไขมัน (รัศมี ศุภศรี, 2536)

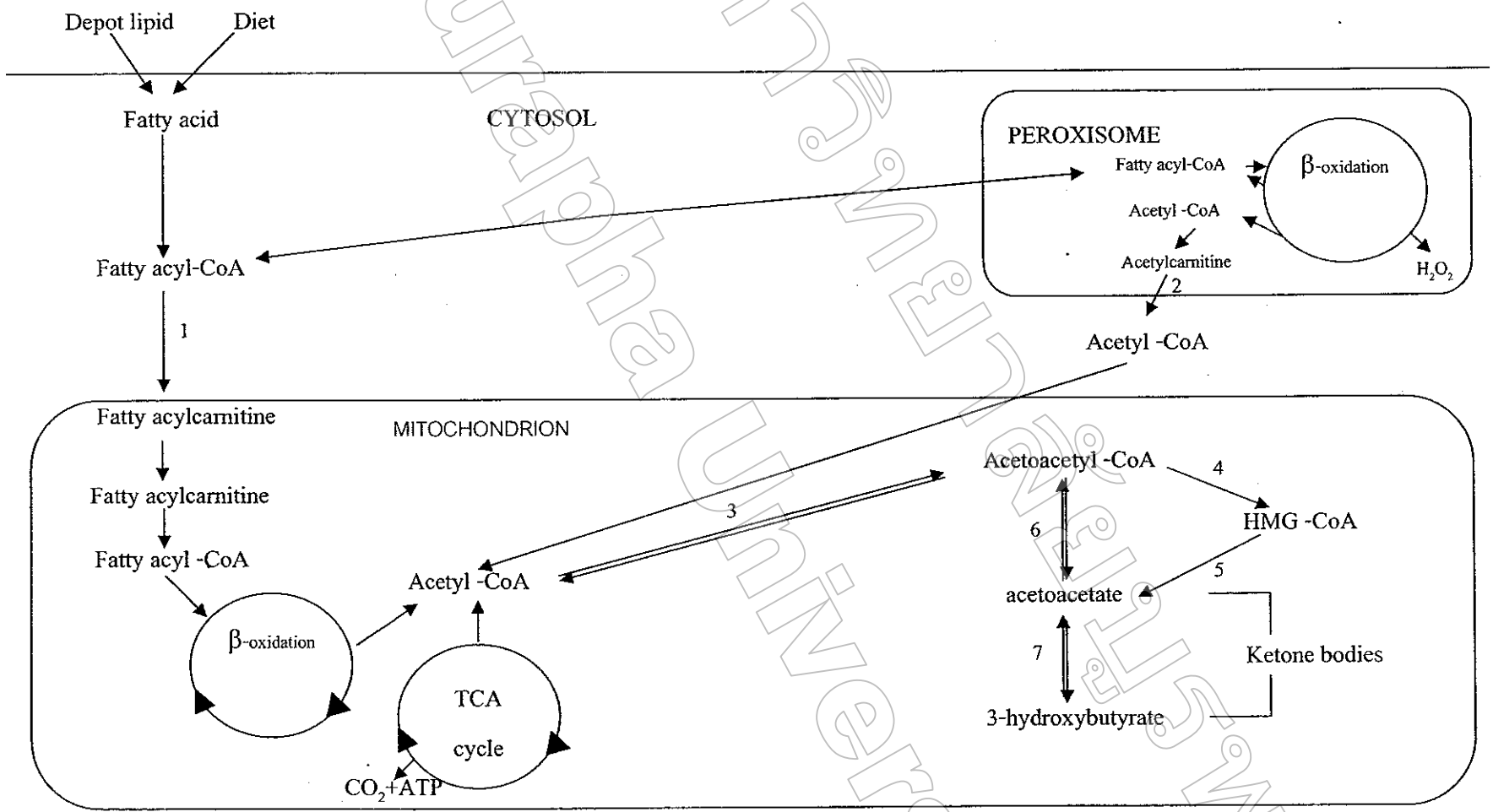
การสลายกรดไขมัน หรือการเผาผลาญกรดไขมัน หมายถึง การนำกรดไขมันมาออกซิไดส์ เพื่อให้ได้พลังงานออกมา โดยอาจเกิดได้ทั้งในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และเพอร์ออกซิโซม (peroxisome) ดังภาพที่ 5

การสลายกรดไขมันเริ่มจากกรดไขมันรวมกับโคเอนไซม์เอ (coenzyme a) ได้เป็นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอ (fatty acyl-co a) จากนั้นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอจะเปลี่ยนเป็น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

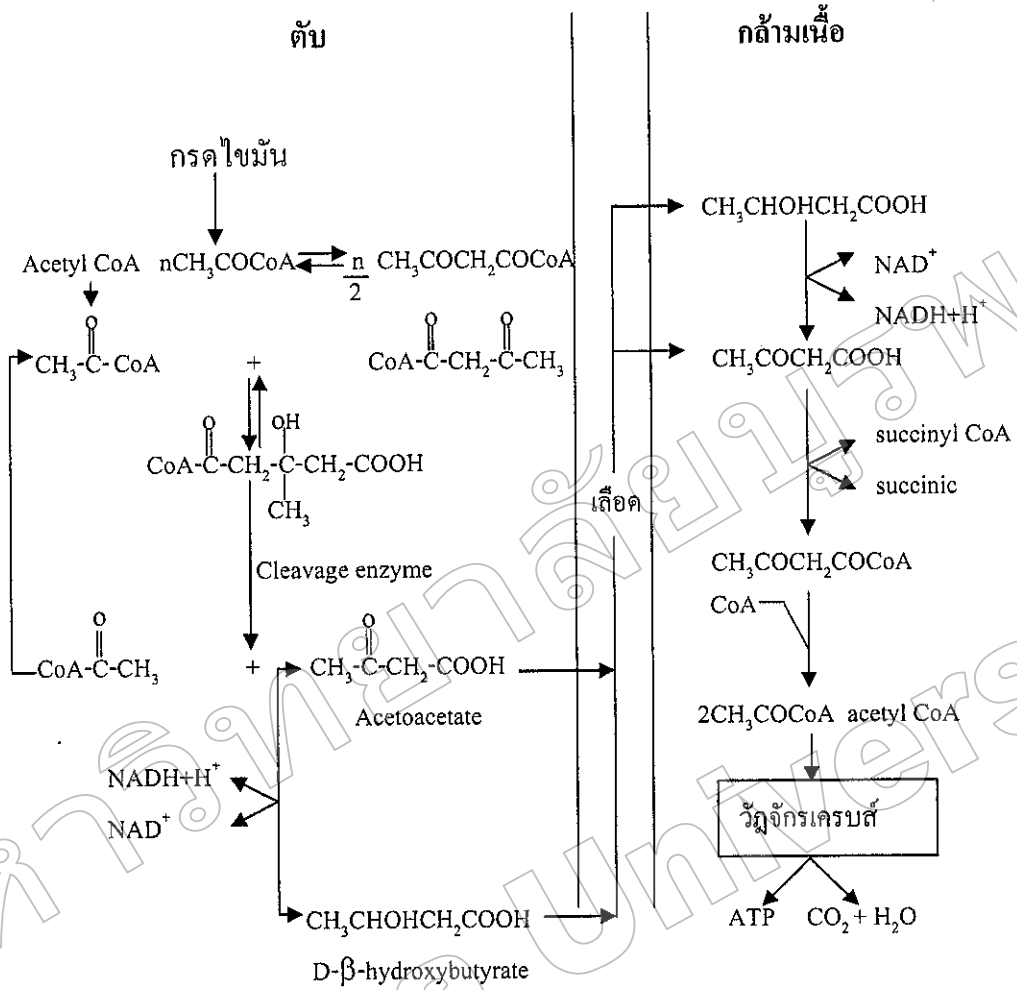
แฟตตีเอซิลคาร์นิทีน (fatty acylcarnitine) โดยอาศัยเอนไซม์คาร์นิทีนเอซิลทรานเฟอเรส (carnitine acyltransferase) เป็นตัวนำกรดไขมันเข้าผนังไมโทคอนเดรีย แล้วจึงกลับมาเป็นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เออีกครั้งหนึ่ง ต่อมาแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอจะถูกนำไปสลายในไมโทคอนเดรียโดยกระบวนการเบตา-ออกซิเดชั่น (β-oxidation) ได้อะซิติลโคเอนไซม์เอ (acetyl-co a) ซึ่งจะถูกนำเข้าวัฏจักรไทรคาร์บอกซิลิค (TCA cycle) เพื่อให้ได้พลังงานออกมา ในบางครั้งอะซิติลโคเอนไซม์เอไม่ได้ถูกสลายให้เกิดพลังงานทำให้อะซิติลโคเอนไซม์เอ 2 ตัวรวมกันเป็นอะซิโตอะซิติลโคเอนไซม์เอ (acetoacetyl-co a) เพราะขาดออกซาโลอะซิเตท (oxaloacetate) โดยการรวมตัวกันอาศัยเอนไซม์อะซิโตอะซิติลโคเอนไซม์เอไทโอเลส (acetoacetyl-co a thiolase) จากนั้นอะซิโตอะซิติลโคเอนไซม์เอจะถูกเร่งโดยเอนไซม์เอชเอ็มจี-โคเอนไซม์เอซินทีเทส (HMG-co a systhetase) เป็นเอชเอ็มจีโคเอนไซม์เอ (HMG-co a) และเปลี่ยนเป็นอะซิโตอะซิเตท (acetoacetate) และ 3-ไฮดรอกซีบิวไทเรท (3-hydroxybutyrate) ซึ่งจัดเป็นสารคีโตนบอดี (ketone body) โดยคีโตนบอดีจะถูกส่งผ่านไปยังกระแสเลือดเข้าสู่เซลล์ เพื่อให้เกิดปฏิกริยาออกซิเดชั่นอย่างสมบูรณ์ในวัฏจักรเครบส์ (ดังภาพที่ 6) ปกติเลือดจะมีปริมาณ คีโตนบอดีต่ำมาก ในขณะที่ร่างกายขาดพลังงานจากสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ลิพิดจะถูกย่อยสลายเป็นกรดไขมันเพื่อนำไปใช้ในการสร้างพลังงานทดแทนทำให้ปริมาณอะซิติลโคเอนไซม์-เอสูง มีผลให้ปริมาณคีโตนบอดีสูงขึ้นด้วย ถ้าหากมีปริมาณคีโตนบอดีสะสมอยู่มากในเลือดจะทำให้เกิดภาวะคีโตซิส (ketosis) (ดาวัลย์ ฉิมภู่, 2538)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการสลายกรดไขมัน (Henderson & Sargent, 1985 อ้างถึงในวีรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536)

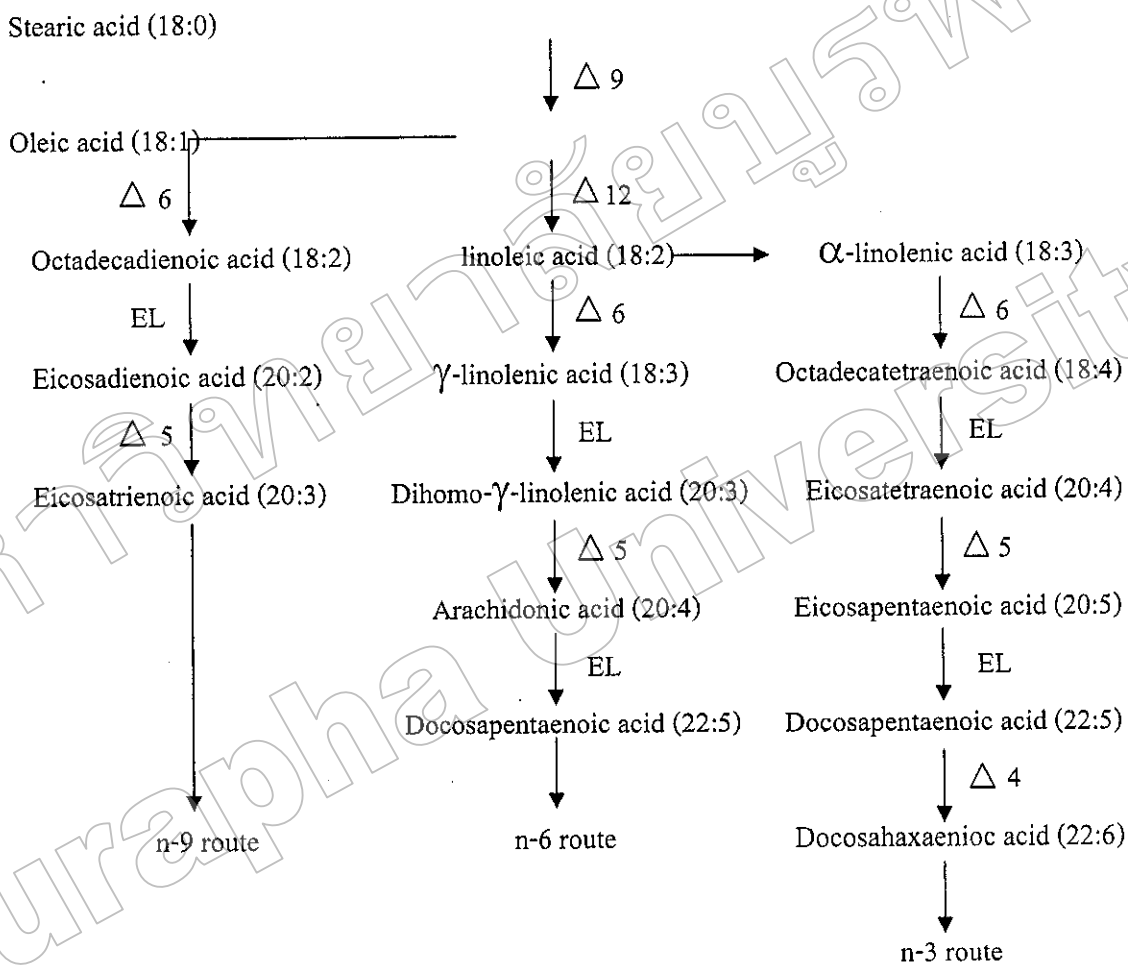
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 6 การสังเคราะห์และการเผาผลาญคีโตนบอดี (ดาวัลย์ ฉิมภู่, 2538)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่วนในจุลินทรีย์จะมีกระบวนการสังเคราะห์และสลายกรดไขมันคล้ายกับในสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ โดยกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันจะมีขบวนการ Elongation (จำนวนคาร์บอนที่สูงขึ้น) และขบวนการ Desaturation (มีความไม่อิ่มตัวสูงขึ้นคือมีจำนวนพันธะคู่มากขึ้น) ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันในจุลินทรีย์ (elongation-desaturation) (Alison, 2000)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แหล่งที่สำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3

น้ำมันปลา (fish oil) อุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า-3 ชนิดที่พบและมีความสำคัญคือ แอลฟา-ไลโนลีนิค อีพีเอและดีเอชเอ ไขมันที่มีอยู่ในเนื้อปลาจะเป็นส่วนประกอบของเซลล์ต่าง ๆ โดยเฉพาะเซลล์สมอง มีส่วนช่วยป้องกันการแข็งตัวของไขมันในเส้นเลือด ส่วนวิตามินและแร่ธาตุที่มีอยู่ในเนื้อปลาจะควบคุมการทำงานของร่างกายให้ทำหน้าที่ได้ตามปกติ (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) นอกจากนี้ขบวนการเมตาบอลิซึมของปลาก็มีส่วนอย่างมาก ในการสร้างและรักษากรดไขมันเหล่านี้ไว้ เนื่องจากปลามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า-3 สูง ทำให้ไขมันปลาแตกต่างจากไขมันสัตว์ชนิดอื่น ๆ คือ มีสภาพเป็นของเหลวที่อุณหภูมิต่ำ มีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของปลาคงสภาพเป็นของเหลวอยู่ได้ในน้ำแข็ง ปลาจึงสามารถย่อยและดูดซึมไขมันไปใช้ได้ จึงทำให้ปลาทะเลยังคงมีระดับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมาก จากการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณอีพีเอและดีเอชเอในปลาชนิดต่าง ๆ กัน พบว่า มีปริมาณอีพีเอและดีเอชเอระหว่าง 4-37 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (รัศมี ศุภศรี, 2536 อ้างอิงจาก Kinesella, 1986)

ถึงแม้ว่าปลาทะเลจะได้ชื่อว่าเป็นแหล่งสำคัญของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 แต่ปริมาณกรดไขมันภายในตัวปลาก็มีความแปรปรวนค่อนข้างสูง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ คือ ชนิดของปลา เพศ ฤดูกาล หรือแม้แต่แหล่งที่อยู่อาศัย ทั้งในธรรมชาติและการเพาะเลี้ยง (รัศมี ศุภศรี, 2536; Sargent et al., 1999) รวมทั้ง กลิ่น รส และคุณภาพที่ลดลง เนื่องจากน้ำมันปลาถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายจึงทำให้ไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค

จากปัญหาข้างต้นจึงทำให้นักวิทยาศาสตร์ได้หันมาให้ความสนใจแหล่งไขมันที่ได้จากสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำพวกสาหร่ายและแพลงก์ตอนต่าง ๆ Yongmanitchai and Ward (1989) รายงานว่าสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Isochrysis* spp. มีกรดไขมันชนิด 18:4 และดีเอชเอในปริมาณสูง แต่มีปริมาณอีพีเอเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ *Monochrysis luteri, Coccolithus huxleyi* และ *Cricosphaera elongata* มีปริมาณอีพีเอ 17-28 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และจากการศึกษาปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในสาหร่ายเซลล์เดียวพบว่า *Chaetoceros* sp., *Isochrysis* sp. และ *Tetraselmis* sp. มีปริมาณอีพีเอเท่ากับ 8.43±0.29, 0.41± 0.21 และ 3.34± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดย *Chaetoceros* sp. และ *Isochrysis* sp. มีปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 0.70±0.03 และ 7.13±0.23 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปริมาณรวมอีพีเอและดีเอชเอพบสูงสุดใน *Chaetoceros* sp. เท่ากับ 9.13±0.32 รองลงมาคือ *Isochrysis* sp. มีปริมาณ 8.54±0.44 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ศิริวรรณ เพชรสมบัติ, 2541)

นอกจากนี้ไดอะตอมบางชนิดเช่น *Phaeodactylum tricornutum* ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน สามารถผลิตอีพีเอได้ 3 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร และยังมีรายงานด้วยว่าไดโนแฟลกเจลเลตหลายชนิดสามารถผลิตอีพีเอและดีเอชเอได้ ส่วนในแบคทีเรียชนิด *Shewanella purtefaciens* ที่แยกได้จากลำไส้ปลาทะเลสามารถผลิตอีพีเอ แต่ไม่พบดีเอชเอ (วรพจน์ สุนทรสุข, 2541) ขณะที่ยีสต์หลายสกุลเช่น *Candida, Crytococcus, Hansenula, Lipomyces* และ *Rhodotorula* เป็นแหล่งผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้แก่ กรดไลโนลีอิคและกรดไลโนลีนิค (Zelles, 1997 อ้างถึงใน Bowles et al., 1999) ต่อมาได้หันมาให้ความสนใจจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทคิทริด เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 โดยเฉพาะอีพีเอและดีเอชเอในปริมาณสูง โดยเฉพาะดีเอชเอมีปริมาณสูงถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด เช่น *Thraustochytrium aureum* สายพันธุ์ ATCC 34304 และ *Thraustochytrium aureum* ATCC 28211 สามารถผลิตดีเอชเอสูงถึง 47.4 และ 52.3 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ (Bajpai et al., 1991a, 1991b, Bowles et al., 1999) และ *Schizochytrium mangrovei* สายพันธุ์ KF5 และ KF6 มีปริมาณดีเอชเอ 41.1 และ 40.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ (Fan et al., 2001) จะเห็นได้ว่าทรอสโทคิทริดสามารถผลิตดีเอชเอได้ในปริมาณสูง รวมทั้งไม่ก่อให้เกิดปัญหาเช่นในน้ำมันปลา จึงทำให้เกิดทางเลือกใหม่ที่จะสกัดโอเมก้า-3 จากจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทคิทริด

จุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทคิทริด

การจัดลำดับทางอนุกรมวิธานของทรอสโทคิทริดมีดังนี้ (Honda, 2001)

Superkingdom Eucaryota

Kingdom Stramenopila

Phylum Labyrinthulomycota

Order Labyrinthulida

Family Thraustochytriidae

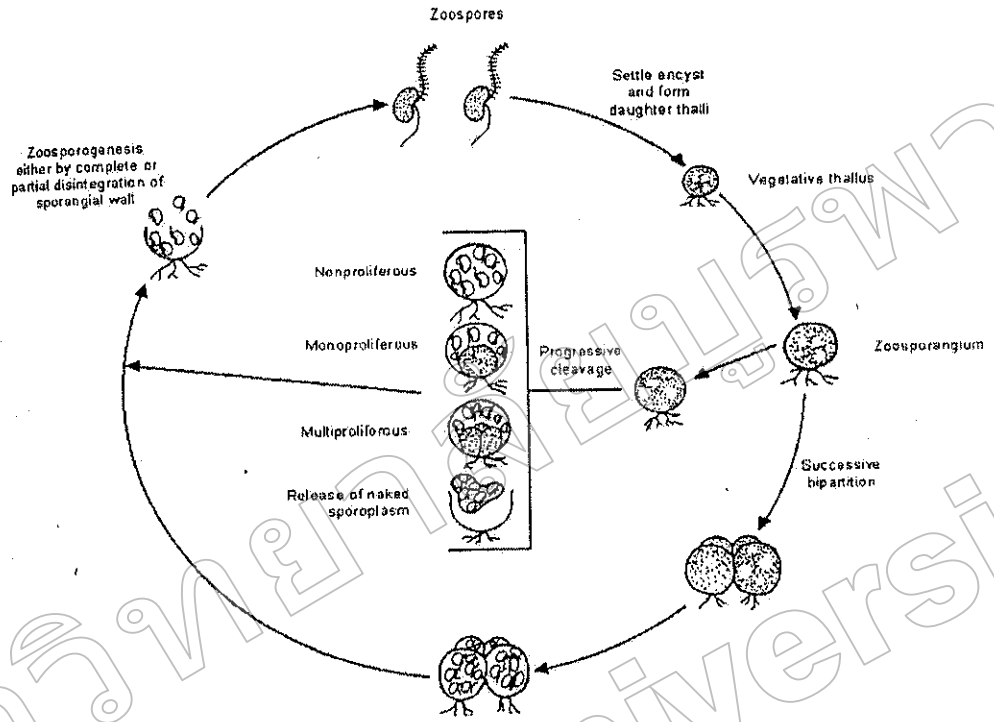
สมาชิกในกลุ่ม Thraustochytrids แบ่งออกเป็น 8 สกุล คือ *Thraustochytrium, Japonochytrium, Schizochytrium, Althornia, Aplanochytrium, Labyrinthulids, Ulkenia* และ *Corollochytrium* ซึ่งในแต่ละสกุลสามารถแบ่งได้อีกหลายสปีชีส์ (Moss, 1986)

ลักษณะทั่วไป ทรอสโทคิทริดมีทัลลัสที่มีลักษณะเป็นทรงกลมเดี่ยว ๆ (monocentric) และมีส่วนของเส้นตาข่ายที่แตกแขนง (ectoplasmic net) ที่ยื่นยาวออกมายึดเกาะพื้นผิว โดย

ทำหน้าที่ส่งเอนไซม์ไลติก (lytic) ไปยังซับสเตรท แล้วย่อยสลายดูดซึมสารอาหารเพื่อไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของทัลลัส (Perkin, 1973 cited in Bowles, 1997) ส่วนที่เป็นเอคโตพลาสมิกเน็ทไม่มีผนังเซลล์ และออแกนแนล (คือหน่วยเล็ก ๆ ที่อยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ ทำหน้าที่เสมือนหนึ่งเป็นอวัยวะของเซลล์) ส่วนไซโทพลาสซึมของทัลลัสจะแยกจากรูเมนของเอคโตพลาสมิกเน็ท โดยไปรวมกับซาจีโนเจน (sagenogen) (Moss, 1986) ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของทรอสโทคิทริด แม้ว่าจะยังไม่สามารถยืนยันหน้าที่ของซาจีโนเจนได้ชัดเจน แต่คาดว่าน่าจะเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยในระบบการทำงานของเอคโตพลาสมิกเน็ท และช่วยป้องกันไม่ให้ออแกนแนลภายในทัลลัสไหลไปยังเอคโตพลาสมิกเน็ท (Bowles, 1997)

การสืบพันธุ์ของทรอสโทคิทริด เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยทั่วไปทัลลัส (vegetative thallus) จะพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียม (sporangium) ลักษณะการแบ่งของสปอร์แรงเจียมแตกต่างกันในแต่ละสกุลคือ สามารถแบ่ง bipartitioning หรือ คลีเวท (cleavage) ภายในสปอร์แรงเจียม (sporangium) มีซูโอสปอร์ (zoospore) ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส จากนั้นผนังเซลล์จะแตกออกและปล่อยซูโอสปอร์ออกมา มีลักษณะคล้ายเมล็ดถั่ว มีแฟลกเจลา 2 เส้น แฟลกเจลาเส้นหนึ่งเรียกว่า Mastigonemes ลักษณะเป็นขนขนาดเล็กจำนวน 2 แถวตลอดเส้น ขณะที่แฟลกเจลาอีกเส้นหนึ่งไม่มีขนและขนาดสั้นกว่า หน้าที่ของแฟลกเจลาคือช่วยในการว่ายน้ำ จากนั้นซูโอสปอร์จะเจริญพัฒนาเป็นทัลลัส (Moss, 1986) รูปแบบการสร้างซูโอสปอร์มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด ซึ่งเป็นลักษณะที่ใช้จำแนกลักษณะทางอนุกรมวิธานได้ (Gaertner, 1972 cited in Bowles, 1997)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 8 วงจรการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) ของทรอสโทคิทริด (Moss, 1986)

ทรอสโทคิทริดแต่ละชนิดจะมีการสืบพันธุ์แตกต่างกัน เช่น *Thraustochytrium kinnei* เมื่อผนังเซลล์สปอร์แรงเจียมแตกจะปล่อยซูโอสปอร์ออกมา แต่ยังเหลือส่วนที่เรียกว่า poriferous body ซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียมได้อีกครั้ง ซึ่งลักษณะพิเศษเช่นนี้จะพบเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้น และบางสายพันธุ์สามารถมี poriferous body ได้มากกว่าหนึ่ง เช่น *Thraustochytrium multirudimentale* ซึ่งการมีจำนวน poriferous body เพิ่มมากขึ้นนั้น จะมีผลต่อการพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียมมากขึ้นเช่นกัน ส่วน *Thraustochytrium roseum* จะไม่มีลักษณะเช่นนี้ (Alison, 2000)

การแพร่กระจายของทรอสโทคิทริด พบแพร่หลายทั่วไปในสภาพแวดล้อมทางทะเลเช่น ดินตะกอนบริเวณชายฝั่ง ปากแม่น้ำ และใบไม้บริเวณป่าชายเลน เป็นต้น (Nakahara et al., 1996, Naganuma et al., 1998) โดยพบทรอสโทคิทริดในบริเวณปากแม่น้ำที่มีสารอินทรีย์อุดมสมบูรณ์มากกว่าน้ำที่อยู่ห่างชายฝั่งออกไป และพบว่าพืชที่มีระบบท่อลำเลียง เช่น สาหร่ายทะเลและ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หญ้าทะเล จัดเป็นแหล่งที่อยู่ที่สำคัญของทรอสโทคิทริด (Alexopoulos, 1996) ซึ่งการแพร่กระจายของทรอสโทคิทริดแต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามแหล่งที่อยู่อาศัย (Bremer, 2000)

บทบาทของทรอสโทคิทริดในระบบนิเวศน์ จุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทคิทริดจัดเป็นพวกเฮเทอโรโทรฟคือ ต้องการสารอินทรีย์และออกซิเจนเพื่อใช้ในการเจริญ ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตเป็นแซโพรไฟต์ (saprophyte) ใช้เอคโตพลาสมิกเน็ททำหน้าที่ส่งเอนไซม์ออกมาย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อยจากโมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุลที่เล็ก แล้วดูดซึมกลับไปยังทัลลัส เพื่อใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544) ทรอสโทคิทริดจึงทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์สาร ซึ่งเป็นการเพิ่มและหมุนเวียนแร่ธาตุต่าง ๆ ในระบบนิเวศน์ (Naganuma et al., 1998, อนิวัฒน์ เฉลิมพงษ์, 2544) เนื่องจากทรอสโทคิทริดมีปริมาณดีเอชเอสูงถึง 30-40 เปอร์เซนต์ของกรดไขมันทั้งหมด จึงทำให้มีความสำคัญในแง่ของแหล่งกรดไขมันในธรรมชาติ ซึ่งกรดไขมัน เหล่านี้สามารถถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหาร ทำให้เกิดความอุดมสมบูรณ์ในระบบนิเวศน์ (Findlay et al., 1986 cited in Bremer, 2000)

บทบาทของทรอสโทคิทริดในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ปัจจุบันที่ใช้ในทางการค้าประกอบไปด้วย 3 แหล่งใหญ่ ๆ คือ น้ำมันปลา สาหร่ายขนาดเล็ก และทรอสโทคิทริด ซึ่งพบว่าทรอสโทคิทริดมี สัดส่วนดีเอชเอสูงกว่าอีพีเอ ขณะที่น้ำมันที่ได้จากปลานั้นมีสัดส่วนดีเอชเอต่ำกว่าอีพีเอ โดยทั่วไปสัตว์น้ำมีความต้องการปริมาณดีเอชเอสูง (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542) จึงได้มีการนำทรอสโทคิทริดมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย เพื่อให้มีปริมาณ n-3 PUFAs สูง ก่อนที่จะนำไปใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของสัตว์น้ำวัยอ่อน ดังนั้นการเสริมปริมาณดีเอชเอให้กับสัตว์น้ำถือเป็นการถ่ายทอดดีเอชเอไปตามห่วงโซ่อาหารเพื่อเพิ่มหรือเสริมปริมาณดีเอชเอให้กับมนุษย์ทางอ้อม (Barclay & Zeller, 1996)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวของทรอสโทคิทริด

เมื่อนำทรอสโทคิทริดมาทำการเพาะเลี้ยงภายใต้ห้องปฏิบัติการ จึงจำเป็นต้องควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ในปริมาณสูง ซึ่งปัจจัยที่สำคัญได้แก่ แสง อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรด-เบส (pH) ความต้องการคาร์บอนและไนโตรเจน เป็นต้น (Li & Ward, 1994)

แสง (light) (Bajpai et al., 1991b) ศึกษาเปรียบเทียบการเลี้ยงระหว่างการให้แสงกับอยู่ในที่มืดพบว่า *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 เลี้ยงในที่มีแสง สามารถผลิตดีเอชเอได้สูงถึง 269.6 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อเลี้ยงในที่มืดสามารถผลิตดีเอชเอได้เพียง 183.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และในการศึกษาของ Bowles (1997) พบว่าแสงมีส่วนในการกระตุ้นการเจริญของ *Thraustochytrium roseum* แต่การสัมผัสแสงติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจะยับยั้งการเจริญของ *Althornia crouchii*

ออกซิเจน (oxygen) โดยทั่วไปทรอสโทคิทริดเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน พบว่า *Schizochytrium aggregatum* ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ขาดออกซิเจน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทรอสโทคิทริดมีความต้องการออกซิเจนในปริมาณสูง นอกจากนั้นยังใช้ทรอสโทคิทริดเป็นตัวชี้วัดสภาวะขาดออกซิเจนในน้ำที่เกิดการปนเปื้อนได้ (Bowles, 1997)

ความเป็นกรด-เบส (ph) ความเป็นกรด-เบสมีผลต่อการเจริญเติบโตของทรอสโทคิทริด Behnweg (1979) พบว่า ทรอสโทคิทริดสามารถเจริญได้ในช่วง pH 6.0-11.0 แต่ไม่สามารถเจริญได้ในช่วง pH ต่ำกว่า 5.0 และสูงกว่า 11.0 เพราะระดับ pH ที่สูงทำให้ผนังเซลล์หนาขึ้น สำหรับ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตดีเอชเออยู่ในช่วง pH 6.0-8.9 และ Bajpai et al. (1991b) พบว่า *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 เจริญและผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ดีที่ pH 6.0 ในขณะที่ *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892 เจริญได้ดีและผลิตดีเอชเอได้สูงถึง 67.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 7.0 (Singh et al., 1996)

อุณหภูมิ (temperature) Jones and Harrison (1976) พบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Althornia crouchii* ที่แพร่กระจายในเขตร้อน Behnweg (1979) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของทรอสโทคิทริด 19 สายพันธุ์ พบว่าทรอสโทคิทริดสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างคือ 9-30 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อเจริญและการผลิตกรดไขมันอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม *Schizochytrium aggregatum, Ulkenia sudariana* และ *Thraustochytrium roseum* เจริญเติบโตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 และ *Thraustochytrium* sp. 20892 สามารถผลิตดีเอชเอได้ 45.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 52.3 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Bajpai et al., 1991a; Singh et al., 1996) ในขณะที่ Bajpai et al. (1991b) พบว่า อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 สามารถผลิตดีเอชเอได้สูงถึง 43.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่วน Bowles et al. (1999) คัดแยกทรอสโทคิทริด (marine fungoid protists) 57 สายพันธุ์ จาก 3 บริเวณคือ เขตหนาว (cold temperate) เขตอบอุ่น (cool temperate) และกึ่งเขตร้อน (sub-tropical) พบว่าบริเวณเขตหนาวทรอสโทคิทริดผลิตดีเอชเอสูงสุดคือ 50 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือเขตอบอุ่นและบริเวณกึ่งเขตร้อนมีปริมาณดีเอชเอต่ำสุดเท่ากับ 40 และ 34 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ในขณะที่ทรอสโทคิทริดที่คัดแยกได้จากบริเวณเขตร้อนมีมวลชีวภาพสูงสุด (น้ำหนักแห้ง) เท่ากับ 710-3140 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของอุณหภูมิในการเลี้ยงทรอสโทคิทริดเพื่อให้สามารถเจริญและผลิตกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ในปริมาณสูง ย่อมขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และแหล่งที่อยู่อาศัยดั้งเดิมด้วย

ความเค็ม (salinity) ในระยะแรกของการศึกษาทรอสโทคิทริดจะสนใจผลกระทบของความเค็มต่อการเจริญและด้านสัญฐานวิทยา Vishniac (1960) ศึกษาความเค็มที่มีผลต่อการเจริญของทรอสโทคิทริด 3 สายพันธุ์ พบว่าทรอสโทคิทริดทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้ดีที่ 2.5 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ แต่ที่ 0.5 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ มีทรอสโทคิทริดเพียงสองสายพันธุ์เท่านั้นที่เจริญได้ Goldstein (1973) ศึกษา *Thraustochytrium motirum* และ *Thraustochytrium multirudiment* พบว่าทรอสโทคิทริดทั้งสองสายพันธุ์ไม่สามารถเจริญได้ ถ้าขาดโซเดียมคลอไรด์หรือมีโซเดียมคลอไรด์ปริมาณต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Yokochi et al. (1998) พบว่า *Schizochytrium limacinum* SR 21 สามารถเจริญได้ดีที่ความเค็ม 50-200 เปอร์เซ็นต์ของน้ำทะเล ขณะที่ Bowles (1997) ศึกษาทรอสโทคิทริด 2 สายพันธุ์คือ G13 และ MP3 พบว่าโซเดียมคลอไรด์ในน้ำทะเลทั่วไปมีระดับที่เหมาะต่อการเจริญ แม้บริเวณป่าชายเลนที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับความเค็มของน้ำทะเลอย่างมาก ทรอสโทคิทริดก็สามารถเจริญได้ นอกจากนี้ยังพบว่าโซเดียมคลอไรด์มีส่วนช่วยให้เอคโตพลาสมิกเน็ท (ectoplasmic net) แทรกซึมลงไปในซับสเตรทได้ง่าย

ความต้องการไนโตรเจน (nitrogen requirement) ไนโตรเจนในธรรมชาติจะพบทั้งในรูปสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบหลักในกรดอะมิโน และ Nitrogenous bases ไนโตรเจนที่สิ่งมีชีวิตได้รับในรูปสารอินทรีย์มาจากการสลายตัวของสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว ทรอสโทคิทริดจัดเป็นแซโพรไฟต์ (saprophyte) ต้องการสารอินทรีย์ไนโตรเจนเพื่อใช้ในการเจริญ อย่างไรก็ตามไนโตรเจนที่พบได้มากในธรรมชาติจะอยู่ในรูปสารอนินทรีย์เช่น แอมโมเนีย ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียวได้ ขณะที่ Goldstein (1973) พบว่า *Thraustochytrium aureum* และ *Thraustochytrium kinnei* มีอัตราการเจริญต่ำลงถ้าได้รับเกลือแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว และ Behnweg (1979) ศึกษาการเจริญของทรอสโทคิทริด พบว่า *Thraustochytrium autarticum* สามารถเจริญได้ในแหล่งไนโตรเจน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หลายชนิด โดยเฉพาะแอล-กลูตาเมท (l-glutamate) ที่ทำให้ *Thraustochytrium autarticum* มีการเจริญได้ในระดับสูงสุด Bajpai et al. (1991b) ทดลองเลี้ยง *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 โดยใช้ยีสต์สกัดและโซเดียมกลูตาเมต เป็นแหล่งของไนโตรเจนในอัตราส่วน 0.2 เปอร์เซ็นต์ต่อ 2 เปอร์เซ็นต์กลูโคส พบว่า *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 ที่เลี้ยงด้วยยีสต์สกัดสามารถผลิตดีเอชเอได้ในปริมาณ 269.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยงด้วยโซเดียมกลูตาเมตมีค่าเท่ากับ 247.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Iida (1996) พบว่าเมื่อเลี้ยง *Thraustochytrium aureum* ด้วยกลูตาเมต 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.36 กรัมต่อลิตร ส่วน Bowles (1997) พบว่าเพปโทน (peptone) 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้มีมวลชีวภาพสูงสุด โดยมีดีเอชเอ 157 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทั่วไปความต้องการธาตุไนโตรเจนจะแตกต่างกันในแต่สายพันธุ์ บางสายพันธุ์สามารถใช้สารประกอบได้ทั้งในรูปอินทรีย์ไนโตรเจนหรืออนินทรีย์ไนโตรเจน ขณะที่อีกสายพันธุ์หนึ่งมีความเฉพาะเจาะจงต้องการเพียงอินทรีย์ไนโตรเจนเท่านั้น

ความต้องการคาร์บอน (carbon requirement) จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ต้องการสารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ในขบวนการเมตาบอลิซึมของทรอสโทคิทริดนั้นคือเมื่อกลูโคสเข้าไปภายในเซลล์จะไม่ถูกเมตาบอไลต์ทันทีในตอนแรก แต่จะเก็บสะสมไว้เพื่อเป็นแหล่งพลังงาน Goldstein (1973) ทดลองนำแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ มาเลี้ยง *Thraustochytrium roseum* พบว่ากลูโคสและกูลตาเมต เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งของไนโตรเจนที่ดี Jones and Harrison (1976) พบว่ากลูโคส มอลโทสและน้ำแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีช่วยทำให้ทรอสโทคิทริดเจริญดีขึ้น Yokochi et al. (1998) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของทรอสโทคิทริด (*Schizochytrium limacinum* SR21) เพื่อเพิ่มผลผลิตดีเอชเอ พบว่าโมโนแซคคาไรด์ (กลูโคส และฟรุกโตส) และกลีเซอรอลทำให้เซลล์มี การเจริญได้ดีและมีปริมาณดีเอชเอสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด แต่ถ้าเลี้ยงด้วยไดแซคคาไรด์และพอลีแซคคาไรด์ พบว่ามีปริมาณดีเอชเอลดต่ำลง โดยปริมาณกลูโคส 9 เปอร์เซ็นต์ สามารถให้ผลผลิตดีเอเอสูงถึง 4 กรัมต่อลิตร ขณะที่ Yaguchi et al. (1997) ศึกษาการเพิ่มผลผลิตดีเอชเอใน *Schizochytrium* sp. SR21 ที่ได้จากการเลี้ยงในถังหมักพบว่าการเพิ่มขึ้นของกลูโคสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนทำให้ปริมาณดีเอชเอเพิ่มขึ้น โดยเมื่อเลี้ยงด้วยกลูโคส 12 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณดีเอชเอเพิ่มขึ้น 3.3 กรัมต่อลิตรต่อวัน แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณดีเอชลดลงเป็น 3.1 กรัมต่อลิตรต่อวัน และ Bajpai et al. (1991a) ศึกษา *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 โดยใช้กลูโคสความเข้มข้น 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปริมาณไขมันในมวลชีวภาพเพิ่มขึ้นเป็น 2.7-16.5 เปอร์เซ็นต์ และดีเอชเอ

เพิ่มขึ้นเป็น 26-270 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ Singh et al. (1996) ทดลองเลี้ยง *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892 โดยใช้แหล่งคาร์บอนคือ กลูโคส แป้ง หรือมอลโตส 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้ดีเอชเอ 52.3, 33.7 และ 46.2 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ส่วน Bajpai et al. (1991b) ทดลองเลี้ยง*Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 โดยใช้ กลูโคส แป้ง หรือมอลโตส 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถผลิตดีเอชเอได้เท่ากับ 270, 325 และ 334 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Bowles et al. (1999) ศึกษาอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน โดยแหล่งคาร์บอนคือกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนคือยีสต์สกัด พบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 40 ต่อ 20 กรัมต่อลิตร ทำให้ทรอสโทคิทริดเจริญดีที่สุดคือมีมวลชีวภาพ (น้ำหนักแห้ง) เท่ากับ 5.87 กรัมต่อลิตร และผลิตดีเอชเอได้ปริมาณ 38.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนั้น *Schizochytrium mangrovei* เมื่อเลี้ยงด้วยกลูโคสต่อยีสต์สกัดในอัตราส่วน 60 ต่อ10 กรัมต่อลิตร พบว่า *Schizochytrium mangrovei* สามารถผลิตดีเอชเอได้สูงถึง 203 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเลี้ยงด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานอาหาร (food waste) มีดีเอชเอเท่ากับ 6.2-12.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Fan et al., 2000) จากการศึกษาทางด้านสารอาหารแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนชนิดต่าง ๆ ได้อย่างหลากหลาย แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์นั้น ๆ ด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University