

กรดไขมันในทรอสโทลิทรีดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน
อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ

มยุรา ประยูรพันธ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวาริชศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

พฤษภาคม 2549

ISBN 974-502-7561

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ มยุรา ประยูรพันธ์ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

.....ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จริตควร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภารัตน์ สวนจิตร)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิญญัติ มั่นทะจิตร)

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จริตควร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภารัตน์ สวนจิตร)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิญญัติ มั่นทะจิตร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิรดี ปลื้มชนภาคย์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สุรินทร์ มัจฉาชีพ)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประทุม ม่วงมี)

วันที่ 31.....เดือน พฤษภาคม.....พ.ศ. 2549

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทั้งนี้ด้วยได้รับความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมถวิล จริตควรร ประธานควบคุมวิทยานิพนธ์ คอยให้คำปรึกษา แก้ไขข้อบกพร่องในการปฏิบัติงาน ตลอดจนช่วยเหลือสนับสนุนในทุก ๆ ด้าน รวมถึงคณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภารัตน์ สวนจิตร และ รองศาสตราจารย์ ดร. วิภูมิ ตัณฑะจิตร ที่กรุณาให้แนวทางในการค้นคว้าหาความรู้ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และน้องสาว ที่คอยสนับสนุนและให้คำปรึกษารวมทั้งเป็นกำลังใจในการศึกษาเสมอมา และขอขอบพระคุณ คุณเลติดา เขาว์เรืองฤทธิ์ คุณทศวรรณ ขาวสีงาน คุณธาริณี ผดุงศักดิ์ชกุล และคุณวันนิภา ศรีศิลป์กร ที่ให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวาริชศาสตร์ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือ ตลอดจนสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

มยุรา ประยูรพันธ์

44910635: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต)

คำสำคัญ: ทรอสโทคิทริดส์/ กรดไขมัน/ ใบไม้ป่าชายเลน

มยรา ประยูรพันธ์: กรดไขมันในทรอสโทคิทริดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน

อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ (FATTY ACID COMPOSITION IN THRAUSTOCHYTRIDS ISOLATED FROM FALLEN MANGROVE LEAVES AT MUEANG DISTRICT, SAMUT PRAKAN PROVINCE) อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์: สมถวิล จิตตวร, Ph.D., สุภารัตน์ สวนจิตร, Ph.D., วิญญิต มั่นทะจิตร, Ph.D. 122 หน้า. ปี พ.ศ. 2549. ISBN 974-502-7561

คัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ จากพันธุ์ไม้ 9 ชนิด พบทรอสโทคิทริดส์ 184 ไอโซเลท โดยตัวอย่างใบโกงกางใบเล็กและพังกาหัวส้ม ดอกแดงเป็นพันธุ์ไม้ที่มีเปอร์เซ็นต์พบสูงสุดคือ 75 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปอทะเลพบทรอสโทคิทริดส์ต่ำสุด 15 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาพบทรอสโทคิทริดส์ 3 ชนิด คือ *Schizochytrium mangrovei* (41.44%), *Schizochytrium limacinum* (10%) และ *Schizochytrium* sp. 8 (1.11%) โดย *S. mangrovei* เป็นชนิดที่พบสูงสุด และเมื่อเพาะเลี้ยงทรอสโทคิทริดส์ทั้ง 184 ไอโซเลท ในอาหาร GY (6% : 1%) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาที่ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์กรดไขมันพบว่าปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสูงโดยมีค่าอยู่ในช่วง 15.41-180.74 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง (8.79-48.60 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และมีกรดไขมันอีพีเอและเออาร์เอ ในปริมาณต่ำคือ 0.25-7.42 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง (0.15-6.17 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 0.16-3.85 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง (0.09-3.94 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ

44910635: MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS: THRAUSTOCHYTRIDS/ FATTY ACID/ MANGROVE LEAVES

MAYURA PRAYUNPUN: FATTY ACID COMPOSITION IN
THRAUSTOCHYTRIDS ISOLATED FROM FALLEN MANGROVE LEAVES AT MUEANG
DISTRICT, SAMUT PRAKAN PROVINCE. THESIS ADVISORS: SONTAWIN
JARITKHUAN, Ph.D., SUDARAT SUANJIT, Ph.D., VIPOOSIT MANTHACHITRA, Ph.D.
122 P. 2006. ISBN 974-502-7561

Screening and isolation of thraustochytrids from fallen senescent leaves of 9 mangrove trees collected from Mueang District, Samut Prakan Province were investigated. The total of 184 isolates of thraustochytrids obtained with the highest percentage of occurrence (75 percent) were found from leaves of *Rhizophora apiculata* and *Brugueira gymnorrhiza*, while the presence of thraustochytrids on *Hibicus tiliaceus* leaves was the lowest (15 percent). Three species of *Schizochytrium* were found, namely *Schizochytrium mangrovei* (41.44%), *Schizochytrium limacinum* (10%), and *Schizochytrium* sp. 8 (1.11%) where as *S. mangrovei* was the predominant species. The culture of 184 isolates in GY medium (6% : 1%) at 25°C, 200 rpm for 4 days were carried out for fatty acid profiles. The results showed that docosahexaenoic acid (DHA) was the highest fatty acid of 15.41-180.74 mg/g. dry weight (8.79-48.60 % of total fatty acids) while eicosapentaenoic acid and arachidonic acid were found of 0.25-7.42 mg/g dry weight (0.15-6.17 % of total fatty acids) and of 0.16- 3.85 mg/g. dry weight (0.09-3.94 % of total fatty acids), respectively.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
สมมติฐานของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ลิพิด (Lipid).....	4
กรดไขมัน (Fatty Acid).....	5
ดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid).....	6
การสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอในทอรอสโทคิทริดส์.....	7
ทอรอสโทคิทริดส์ (Thraustochytrids).....	10
ป่าชายเลน.....	16
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	18
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย.....	23
วิธีการวิจัย.....	24
4 ผลการวิจัย.....	29
ชนิดพันธุ์ไม้ป่าชายเลน.....	29
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกทอรอสโทคิทริดส์.....	30
เปอร์เซ็นต์การพบทอรอสโทคิทริดส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน.....	34

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
กรดไขมันในทรอสโทคิทรินส์ 184 ไอโซเลท.....	39
การเจริญของทรอสโทคิทรินส์.....	44
5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย.....	51
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกทรอสโทคิทรินส์.....	51
เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทรินส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน.....	52
กรดไขมันในทรอสโทคิทรินส์ 184 ไอโซเลท.....	55
การเจริญของทรอสโทคิทรินส์.....	58
สรุปผลการทดลอง.....	60
ข้อเสนอแนะ.....	61
บรรณานุกรม.....	62
ภาคผนวก.....	69
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	70
ภาคผนวก ข ขาปฏิชีวนะและบัฟเฟอร์.....	72
ภาคผนวก ค การเตรียม Internal Standard.....	74
ภาคผนวก ง การคำนวณปริมาณกรดไขมัน.....	76
ภาคผนวก จ การเจริญของทรอสโทคิทรินส์.....	81
ภาคผนวก ฉ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและปริมาณกรดไขมันของทรอสโทคิทรินส์ 184 ไอโซเลท.....	83
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	122

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ทรอสโทคิทรินส์ที่พบจากซัสเตรท และสถานที่ที่แตกต่างกัน.....	15
2 พันธุ์ไม้ที่สำคัญในป่าชายเลน.....	17
3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดค่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการ.....	25
4 พันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่พบบริเวณวัดอโศการาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ.....	29
5 เปรียบเทียบการพบทรอสโทคิทรินส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนบริเวณวัดอโศการาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ.....	37
6 ปริมาณกรดไขมันของทรอสโทคิทรินส์ <i>S. mangrovei</i> , <i>S. limacinum</i> และ <i>Schizochytrium</i> sp. 8.....	39
7 ผลการเจริญของ <i>S. mangrovei</i> BUSPRA 161.....	46
8 ผลการเจริญของ <i>S. limacinum</i> BUSPTP 143.....	48
9 ผลการเจริญของ <i>Schizochytrium</i> sp. 8 BUSPRA 122	50
10 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทคิทรินส์.....	57
11 โคโรมาโตแกรมกรดไขมันของ <i>Schizochytrium mangrovei</i> BUSPRA 041 จาก เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี	78
12 การเจริญของและระดับความหวานของอาหาร GY (6 %: 1 %) ของทรอสโทคิทรินส์ 3 ชนิด คือ <i>Schizochytrium mangrovei</i> BUSPRA 161, <i>Schizochytrium limacinum</i> BUSPTP 143 และ <i>Schizochytrium</i> sp. 8 BUSPRA.....	82
13 ลักษณะสัณฐานวิทยาของทรอสโทคิทรินส์ 184 ไอโซเลท ที่คัดแยกจากตัวอย่างใบไม้ ป่าชายเลนบริเวณวัดอโศการาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ.....	84
14 กรดไขมันในทรอสโทคิทรินส์ 184 ไอโซเลท.....	103

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid) จาก α -Linolenic Acid (Δ^n , Fatty Acyl Desaturase and EL, Elongase).....	7
2 วิธีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบใช้ออกซิเจน (Desaturation และ Elongation) ใน <i>Thraustochytrium</i> และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม.....	8
3 วิธีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบไม่ใช้ออกซิเจนของ <i>Schizochytrium</i> (ACP, Acyl Carrier Protein: KS, 3-Ketoacyl-ACP Synthase: KR, 3-Hydroxyacyl-ACP Reductase, D/ I, Bifunctional Dehydrase/Isomerase: ER, Enoyl -ACP Reductase).....	9
4 ลักษณะขนแบบพินเซลล์ และผนังเซลล์ทอโรสโทลิทรีดส์.....	10
5 วงจรชีวิตของทอโรสโทลิทรีดส์.....	12
6 วงจรชีวิตและส่วนเพอริเฟอรัลของ <i>Thraustochytrium</i> sp.	13
7 ลักษณะเอกโตพลาสติกเนท ซูโอสปอร์ และอะมิบอยด์เซลล์ของ <i>Schizochytrium limacinum</i> และ <i>Schizochytrium mangrovei</i>	14
8 ลักษณะกลุ่มเซลล์ของ <i>Schizochytrium mangrovei</i>	31
9 ลักษณะกลุ่มเซลล์ของ <i>Schizochytrium limacinum</i>	32
10 ลักษณะกลุ่มเซลล์ของ <i>Schizochytrium</i> sp. 8	33
11 ลักษณะ โกล์ดีนของ <i>Schizochytrium mangrovei</i> , <i>Schizochytrium limacinum</i> และ <i>Schizochytrium</i> sp. 8	33
12 เปอร์เซ็นต์การพบทอโรสโทลิทรีดส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน บริเวณวัดโคโศการาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ.....	34
13 เปอร์เซ็นต์การพบทอโรสโทลิทรีดส์แต่ละชนิดจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้ง 9 ชนิด จากวัดโคโศการาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ.....	35
14 เปอร์เซ็นต์การพบทอโรสโทลิทรีดส์ทั้ง 184 ไอโซเลท จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้ง 9 ชนิดจากวัดโคโศการาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ.....	36
15 ปริมาณกรดไขมันของทอโรสโทลิทรีดส์ 184 ไอโซเลท.....	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
16 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอของทรอสโทคิทรินส์ 184 ไอโซเลท	41
17 ปริมาณกรดไขมันอีพีเอของทรอสโทคิทรินส์ 184 ไอโซเลท	42
18 ปริมาณกรดไขมันดีเอเอของทรอสโทคิทรินส์ 184 ไอโซเลท	43
19 การเจริญของ <i>Schizochytrium mangrovei</i> BUSPRA 161.....	45
20 การเจริญของ <i>Schizochytrium limacinum</i> BUSPTP 143	47
21 การเจริญของ <i>Schizochytrium</i> sp. 8 BUSPRA 121	49
22 โครมาโตแกรมกรดไขมันของ <i>Schizochytrium mangrovei</i> BUSPRA 041.....	77