

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลิพิด (Lipid)

ลิพิดคือไขมันและน้ำมันรวมถึงสารอื่น ๆ ที่มีองค์ประกอบทางเคมีหรือลักษณะทางกายภาพคล้ายไขมัน เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลาย เช่น เบนซีน อีเธอร์ คลอโรฟอร์ม เป็นต้น โดยทั่วไปประกอบด้วย ธาตุคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน (O) ความสำคัญของไขมัน คือ เป็นแหล่งสะสมพลังงานสามารถนำออกมาใช้ได้ ในสภาวะร่างกายขาดแคลน ทำหน้าที่เป็นฉนวนป้องกันไม่ให้ร่างกายสูญเสียความร้อน ช่วยในการดูดซึมและเป็นแหล่งเก็บวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน และเป็นแหล่งให้กรดไขมันที่จำเป็นของร่างกาย แต่ประโยชน์ที่ได้รับนั้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของกรดไขมันที่มีอยู่ในลิพิดนั้น (บุญล้อม ชีวะอิสระกุล, 2542)

ประเภทของลิพิด ลิพิดแบ่งออกเป็น 3 ประเภทตามองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้

1. ไขมันธรรมดา (Simple Lipids) ได้แก่ เอสเทอร์ (Ester) ของกรดไขมัน แอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ ถ้าแอลกอฮอล์นั้นเป็นกลีเซอรอล (Glycerol) ไขมันนี้จะเรียกว่าเอซิลกลีเซอรอล (Acylglycerol) หรือกลีเซอไรด์ (Glyceride) ซึ่งถ้าอยู่ในสภาพของเหลวจะเป็นน้ำมัน (Oil) แต่ถ้าอยู่ในสภาพของแข็งเรียกว่าไขมัน (Fat) กลีเซอไรด์มีอยู่ 3 ชนิด คือ โมโนกลีเซอไรด์ (Monoglyceride) ไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride) และไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) ซึ่งมีจำนวนกรดไขมันต่อโมเลกุลเป็นหนึ่ง สองและสามตามลำดับ ถ้าแอลกอฮอล์นั้นมีขนาดใหญ่กว่ากลีเซอรอล ไขมันนั้นก็จะเป็นส่วนประกอบในสภาพปกติและเรียกว่าไข (Wax)

2. ไขมันประกอบ (Compound Lipids) ได้แก่ ไขมันที่มีสารอื่นเพิ่มเติมเข้ามามีอยู่ 3 ชนิดด้วยกันขึ้นอยู่กับส่วนที่เพิ่มเข้ามา ได้แก่

2.1 ฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) เป็นสารที่พบมากทั้งในพืชและสัตว์ เป็นส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ เนื่องจากสารนี้ประกอบด้วยกลีเซอรอล กรดไขมัน 2 โมเลกุล ฟอสเฟตและแอลกอฮอล์ บางครั้งจึงเรียกสารนี้ว่าฟอสโฟกลีเซอไรด์ (Phosphoglyceride) ซึ่งฟอสโฟกลีเซอไรด์แต่ละชนิดมีโครงสร้างแอลกอฮอล์ที่แตกต่างกันไป ตัวอย่างของไขมันชนิดนี้ได้แก่ เลซิทีนในไข่แดง ประกอบด้วย กรดฟอสฟอริกและโคลิน

2.2 ไกลโคลิพิด (Glycolipid) เป็นสารที่พบมากในเซลล์สมองและเส้นประสาท ประกอบด้วยกรดไขมัน คาร์โบไฮเดรตและแอลกอฮอล์ ตัวอย่างของไขมันชนิดนี้ เช่น ซีรีโบไซด์ (Cerebroside) เป็นต้น

2.3 ไลโปโปรตีน (Lipoprotein) เป็นไขมันที่มีโปรตีนจับอยู่ ทำหน้าที่ขนส่งไขมันในโลหิตและเป็นส่วนประกอบของเยื่อเซลล์ ไลโปโปรตีนมีส่วนประกอบคือ โปรตีนฟอสโฟลิพิด คอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

3. อนุพันธ์ไขมัน (Derived Lipids) คือ ลิพิดที่ได้จากการแตกตัวของลิพิดธรรมชาติหรือลิพิดประกอบ ลิพิดพวกนี้ได้แก่ กรดไขมัน กลีเซอรอล คอเลสเตอรอลและแอลกอฮอล์อื่น ๆ เป็นต้น (บุญล้อม ชีวะอิสระกุล, 2542)

กรดไขมัน (Fatty Acid)

กรดไขมันเป็นกรดอินทรีย์ที่ประกอบด้วยห่วงโซ่ไฮโดรคาร์บอนยาวต่อเนื่องกัน มีกลุ่มคาร์บอกซิล (COOH) อยู่ตรงปลายด้านหนึ่ง และมีหมู่เมทิล (CH_3) อยู่อีกปลายหนึ่ง กรดไขมันสามารถต่อความยาวของโมเลกุลได้ครั้งละ 2 อะตอมคาร์บอน โดยจะต่อเข้าด้านหมู่คาร์บอกซิลเสมอ การนับตำแหน่งพันธะคู่ หากเริ่มที่กลุ่มคาร์บอกซิล จะมีตัวเลขเปลี่ยนไปทุกครั้งที่มีการต่อความยาวของกรดไขมัน ในทางชีวเคมีจึงนิยมนับด้านเมทิลที่ตัวเลขคงที่และถาวรแบบนั้นเรียกเป็นโอเมก้า (Omega) ซึ่งเป็นพยัญชนะตัวสุดท้ายของละติน (วินัย คะห์ลัน, 2538) กรดไขมันมี 2 ประเภท คือ

1. กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fatty Acid) เป็นกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่ภายในโมเลกุล จุดหลอมเหลวสูง น้ำมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวมักอยู่ในรูปของไขและแข็งตัวเมื่ออยู่ในอุณหภูมิต่ำ เช่น น้ำมันหมู
2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated Fatty Acid) เป็นกรดไขมันที่โมเลกุลมีพันธะคู่อยู่ภายใน มีจุดหลอมเหลวต่ำ กรดไขมันไม่อิ่มตัวพบเป็นองค์ประกอบอยู่มากในน้ำมันพืชและน้ำมันจากสัตว์ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.1 Monounsaturated Fatty Acid คือกรดไขมันที่มีจำนวนพันธะคู่เพียงคู่เดียว เช่น 16: 1n-7 (Palmitoleic Acid), 18: 1n-9 (Oleic Acid)

2.2 Polyunsaturated Fatty Acid คือกรดไขมันที่มีจำนวนพันธะคู่ตั้งแต่ 2 คู่ขึ้นไป เช่น 18: 2n-6 (Linoleic Acid), 18: 3n-6 (γ -Linolenic Acid) และ 20: 5n-3 (Eicosapentaenoic Acid) เป็นต้น นอกจากนี้กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 20 อะตอมขึ้นไปเรียกว่า Highly Unsaturated Fatty Acid (HUFA) โดยทั่วไปจะใช้เรียกกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า-3 ซึ่งประกอบด้วยอีพีเอ (Eicosapentaenoic Acid, 20: 5n-3) และดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid, 22: 6n-3)

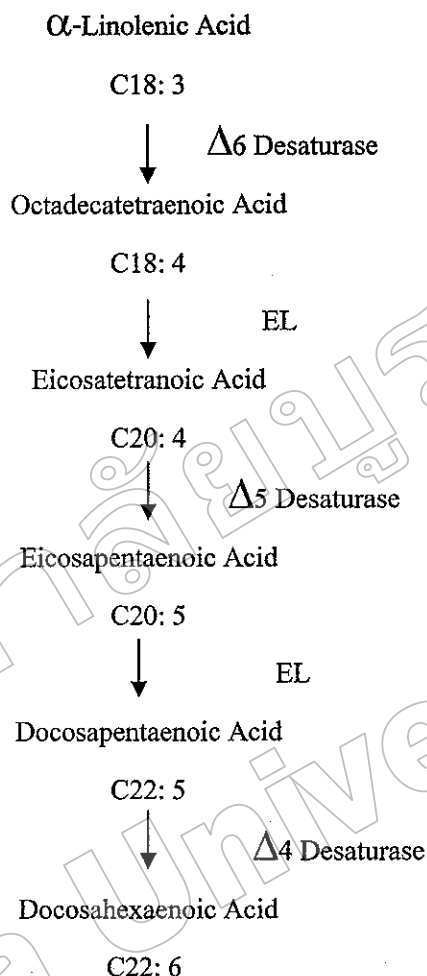
กรดไขมันไม่อิ่มตัวแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มโอเมก้า-9 (n-9) หรือครอบครัวกรดโอเลอิก (Oleic Acid Family) พบในสัตว์บก ได้แก่ น้ำมันหมู น้ำมันวัว กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ 18: 1n-9 (Oleic Acid), 20: 1n-9 (Gadoleic Acid) และ 20: 3n-9 (Eicosatrienoic Acid)
2. กลุ่มโอเมก้า-6 (n-6) หรือครอบครัวกรดลิโนเลอิก (Linoleic Acid Family) พบใน น้ำมันพืช ปลาน้ำจืด และน้ำกร่อยบางชนิด กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ 18: 2n-6 (Linoleic Acid)
3. กลุ่มโอเมก้า-3 (n-3) หรือครอบครัวกรดลิโนลินิก (Linolenic Acid Family) พบใน วัยพืชน้ำ สาหร่าย น้ำมันที่ได้จากสัตว์ทะเล กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ 18: 3n-3 (Alpha-Linolenic Acid), 20: 5n-3 (Eicosapentaenoic Acid) และ 22: 6n-3 (Docosahexaenoic Acid) (บุญล้อม ชีวอิสระกุล, 2542)

ดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid)

กรดไขมันดีเอชเอ เป็นองค์ประกอบที่มีความสำคัญในร่างกายและมีผลโดยตรงต่อ สุขภาพมนุษย์ คือมีส่วนในการพัฒนาการของสมองและดวงตาในทารกและเด็ก ป้องกันการเกิด โรคทางหัวใจและหลอดเลือด ช่วยบำบัดโรคที่เกี่ยวข้องกับความชราภาพ และมีผลทำให้การ ตั้งครรภ์และการคลอดบุตรเป็นไปโดยปกติ (ประสงค์ เทียนบุญ, 2543; วรณิพา วิเวโก, 2545)

ดีเอชเอเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ประกอบด้วยคาร์บอน 22 อะตอม ภายในมีพันธะคู่ 6 พันธะ ซึ่งนิยมเขียนในรูป C22: 6 ในร่างกายมนุษย์สามารถเปลี่ยนกรดลิโนลินิก ที่พบในผัก สีสเขียว น้ำมันจากพืช และเมล็ดพืช เป็นกรดไขมันดีเอชเอได้โดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ จาก 2 กระบวนการ คือ Elongation โดยการเพิ่มอะตอมคาร์บอน 2 อะตอม ที่ Acyl Chain ภายใน ไมโตรคอนเดรียและเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม และกระบวนการ Desaturation เป็นการเติมพันธะคู่ ระหว่างพันธะคู่ที่มีอยู่ใน Acyl Chain กลไกการเกิดปฏิกิริยาจะถูกกระตุ้นโดย Acyl - CoA Desaturases (Δ^6 , Δ^5 และ Δ^4) ซึ่งจะทำการปฏิกิริยากับหมู่อะตอมของกรดไขมันชนิดเดียวกันดังภาพ ที่ 1 แต่ในสภาวะร่างกายมีการสะสมกรดลิโนเลอิกมาก (Linoleic Acid) กระบวนการเปลี่ยนแปลง กรดไขมันดีเอชเอจะลดลง เนื่องจากกรดลิโนลินิกและกรดโอเลอิก มีความต้องการเอนไซม์ชนิด เดียวกัน (Hunt, 2000) โดยปกติร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ กรดไขมันดังกล่าวให้เพียงพอต่อ ความต้องการได้ ดังนั้นกรดไขมันดีเอชเอ ส่วนมากจึงได้รับมาจากอาหารที่มนุษย์บริโภคเข้าไป นั่นเอง



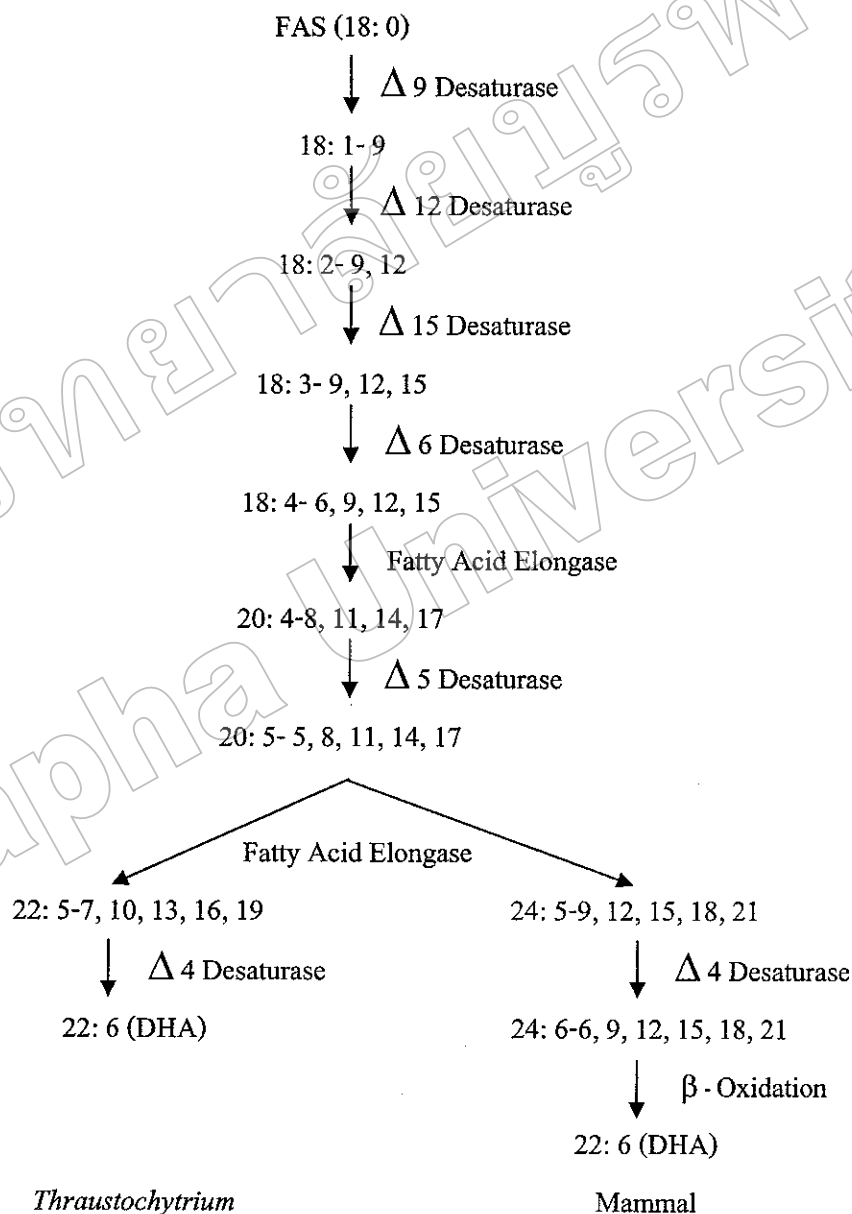
ภาพที่ 1 การสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid) จาก α -Linolenic Acid (Δ^n , Fatty Acyl Desaturase and EL, Elongase) (Hunt, 2000)

การสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทคิทริดส์

การสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทคิทริดส์ แบ่งเป็น 2 วิธี ดังนี้

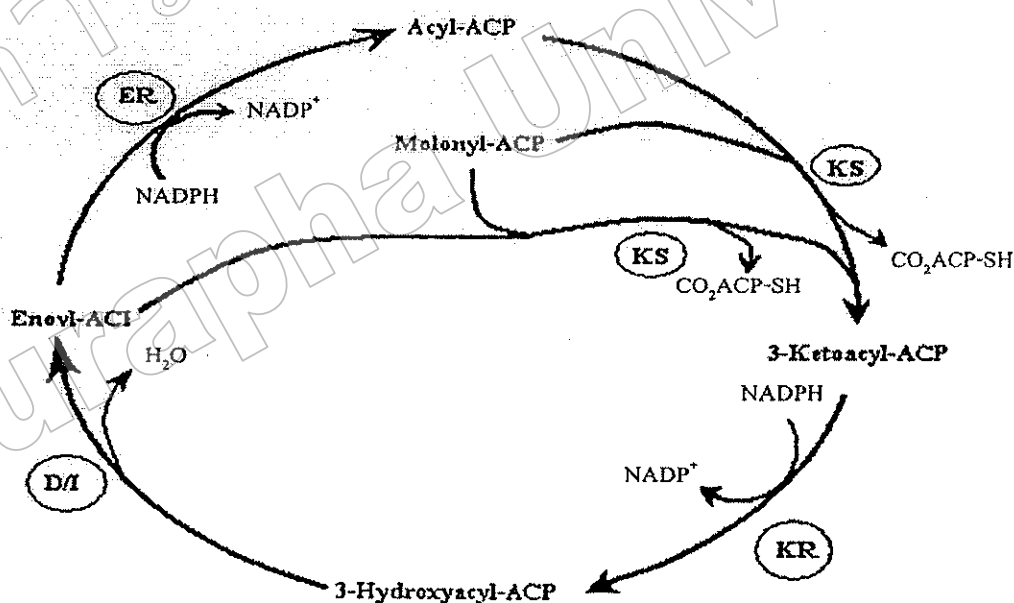
1. วิธีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic Pathway) เป็นวิธีการสังเคราะห์ที่ต้องการโมเลกุลของออกซิเจนเป็นโคแฟกเตอร์ในกระบวนการ พบการสังเคราะห์วิธีนี้ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ จากการศึกษาพบว่า *Thraustochytrium* มีกระบวนการผลิตกรดไขมันดีเอชเอผ่านวิธีการใช้ออกซิเจนเช่นเดียวกัน เริ่มกระบวนการโดยกรดไขมันลิโนลินิก (18: 3) เป็นสารตั้งต้น จากนั้นเพิ่มพันธะคู่โดย Δ^6 Desaturase เปลี่ยนจาก 18: 3 เป็น 18: 4 เพิ่มคาร์บอน 2 อะตอม ผ่านกระบวนการ Elongation เปลี่ยน 18: 4 เป็น 20: 4 แล้วเพิ่มพันธะคู่โดย Δ^5 Desaturase เปลี่ยนจาก 20: 4 เป็น 20: 5 เพิ่มคาร์บอน 2 อะตอม ผ่านกระบวนการ Elongation เปลี่ยน 20: 5 เป็น 22: 5 (DPA) และเพิ่มพันธะคู่โดย Δ^4 Desaturase เปลี่ยนจาก 22: 5 เป็น 22: 6 (DHA)

ซึ่งกระบวนการที่กล่าวมาเป็นการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอใน *Thraustochytrium* แต่ในสัตว์พบว่ากระบวนการจะแตกต่างออกไปคือ จาก 20: 5 ทำการเพิ่มคาร์บอน 4 อะตอม เปลี่ยน 20: 5 เป็น 24: 5 เพิ่มพันธะคู่โดย $\Delta 6$ Desaturase เปลี่ยนจาก 24:5 เป็น 24: 6 และลดจำนวนคาร์บอน 2 อะตอม จากปฏิกิริยา β - Oxidation เป็นกรดไขมันดีเอชเอ (22: 6) (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 วิธีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบใช้ออกซิเจน (Desaturation และ Elongation) ใน *Thraustochytrium* และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Qui, 2003)

2. วิธีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Pathway) เป็นวิธีการสังเคราะห์ที่ไม่ต้องการโมเลกุลของออกซิเจนเป็นโคแฟกเตอร์ในกระบวนการ พบการสังเคราะห์วิธีนี้ในแบคทีเรีย รา และทอราสโททริคัสสกุล *Schizochytrium* การสังเคราะห์กรดไขมันผ่านวิธีนี้อาศัยการทำงานของเอนไซม์ Polyketide Synthase (PKS) การสังเคราะห์เกิดจากการรวมตัวกันของ Acyl-ACP และ Malonyl-ACP โดยเอนไซม์ 3-Ketoacyl-ACP Synthase เกิดเป็น 3-Ketoacyl-ACP จากนั้นผ่านกระบวนการ Ketoreduction โดยเอนไซม์ 3-Hydroxyacyl-ACP Reductase เป็น 3-Hydroxyacyl-ACP เกิดกระบวนการ Dehydration จาก 3-Hydroxyacyl-ACP เป็น Unsaturated Enoyl-ACP และเกิดกระบวนการ Reduction เป็น Saturated Acyl Chain (ภาพที่ 3) แต่เนื่องจากกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันแบบไม่ใช้ออกซิเจนมักเกิดไม่ครบทั้งวงจร คือ อาจเกิดการข้ามกระบวนการ Dehydration และ Reduction ทำให้ผลิตภัณฑ์จากกระบวนการนี้มีความหลากหลายทางด้านโครงสร้างและผลิตภัณฑ์ที่ได้มักประกอบด้วยหมู่ Keto หมู่ Hydroxyl และพันธะคู่ (Qui, 2003)



ภาพที่ 3 วิธีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบไม่ใช้ออกซิเจนของ *Schizochytrium*

(ACP, Acyl Carrier Protein: KS, 3- Ketoacyl-ACP Synthase:

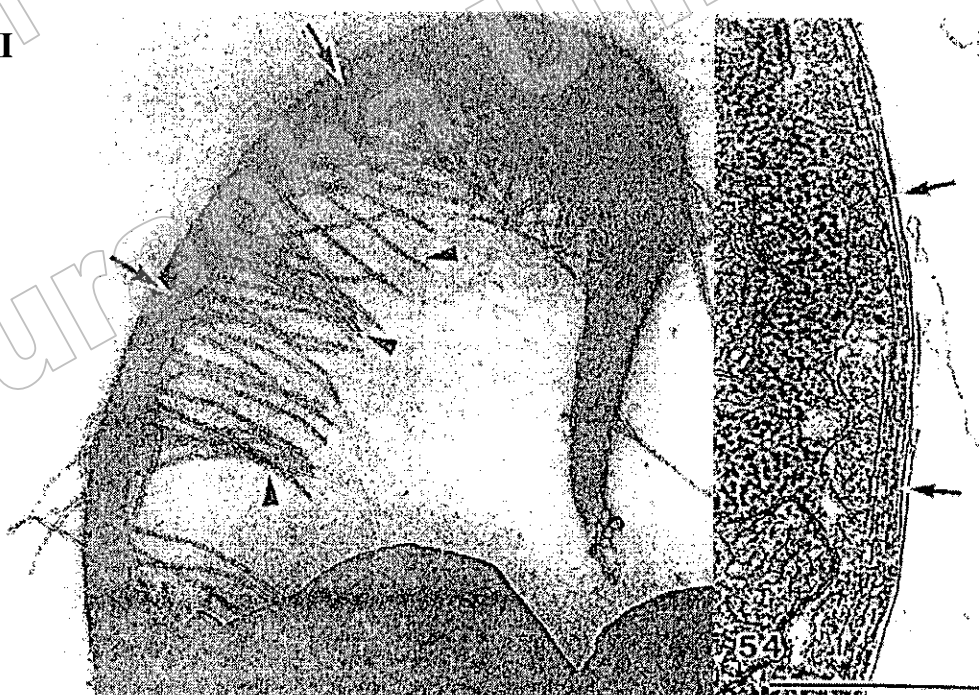
KR, 3-Hydroxyacyl-ACP Reductase, D/ I, Bifuntional Dehydratase/ Isomerase:

ER, Enoyl- ACP Reductase) (Qui, 2003)

ทรอสโทคิทริดส์ (Thraustochytrids)

1. ลักษณะทั่วไปของทรอสโทคิทริดส์

ทรอสโทคิทริดส์มีรูปร่างเป็นทรงกลมเดี่ยว ๆ ประกอบด้วยส่วนเอกโตพลาสมิคเนต (Ectoplasmic Net) สำหรับการดูดซึมธาตุอาหารและขนส่งเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยและบีบอัดกับชั้นสเตรท ผลิตมาจากส่วนที่เรียกว่าซาจิโนเจน (Sagenogen) (Alderman, Harrison, Bremer & Jones, 1974; Chilton, 1995; Honda et al., 1998) ลักษณะของเอกโตพลาสมิคเนตของทรอสโทคิทริดส์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ช่วงการสืบพันธุ์ส่วนหนึ่งของทลัสส์มีการเปลี่ยนเป็นโครงสร้างสืบพันธุ์ (Eucarpic) ขนาดของซูโอสปอร์แรงเจียมอาจมีขนาดเล็กตั้งแต่ 5 ไมโครเมตรหรืออาจมีขนาดใหญ่ถึง 120 ไมโครเมตร ช่วงการสร้างซูโอสปอร์ภายในซูโอสปอร์แรงเจียม พบโปรโตพลาสซึมและนิวเคลียสจำนวนมาก เมื่อเจริญเต็มที่โปรโตพลาสซึมจะห่อหุ้มแต่ละนิวเคลียส ซูโอสปอร์ทรอสโทคิทริดส์มีรูปร่างกลมหรือรีตามแนวยาว ด้านข้างพบแฟลกเจลลา 2 เส้น แฟลกเจลลาเส้นแรกมีขนาดยาวอยู่ด้านหน้าเป็นแบบทินเชิล (ภาพที่ 4) ทำหน้าที่ในการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าแฟลกเจลลาเส้นที่สองอยู่ด้านหลังมีลักษณะเรียบมีขนาดสั้นกว่าเส้นแรกใช้สำหรับเคลื่อนที่ย้อนกลับ (Alderman et al., 1974; Porter, 1989; อนุเทพ ภาสุระ, 2541)



ภาพที่ 4 (I) ลักษณะขนแบบทินเชิล และ (II) ผนังเซลล์ทรอสโทคิทริดส์ (Honda et al., 1998)

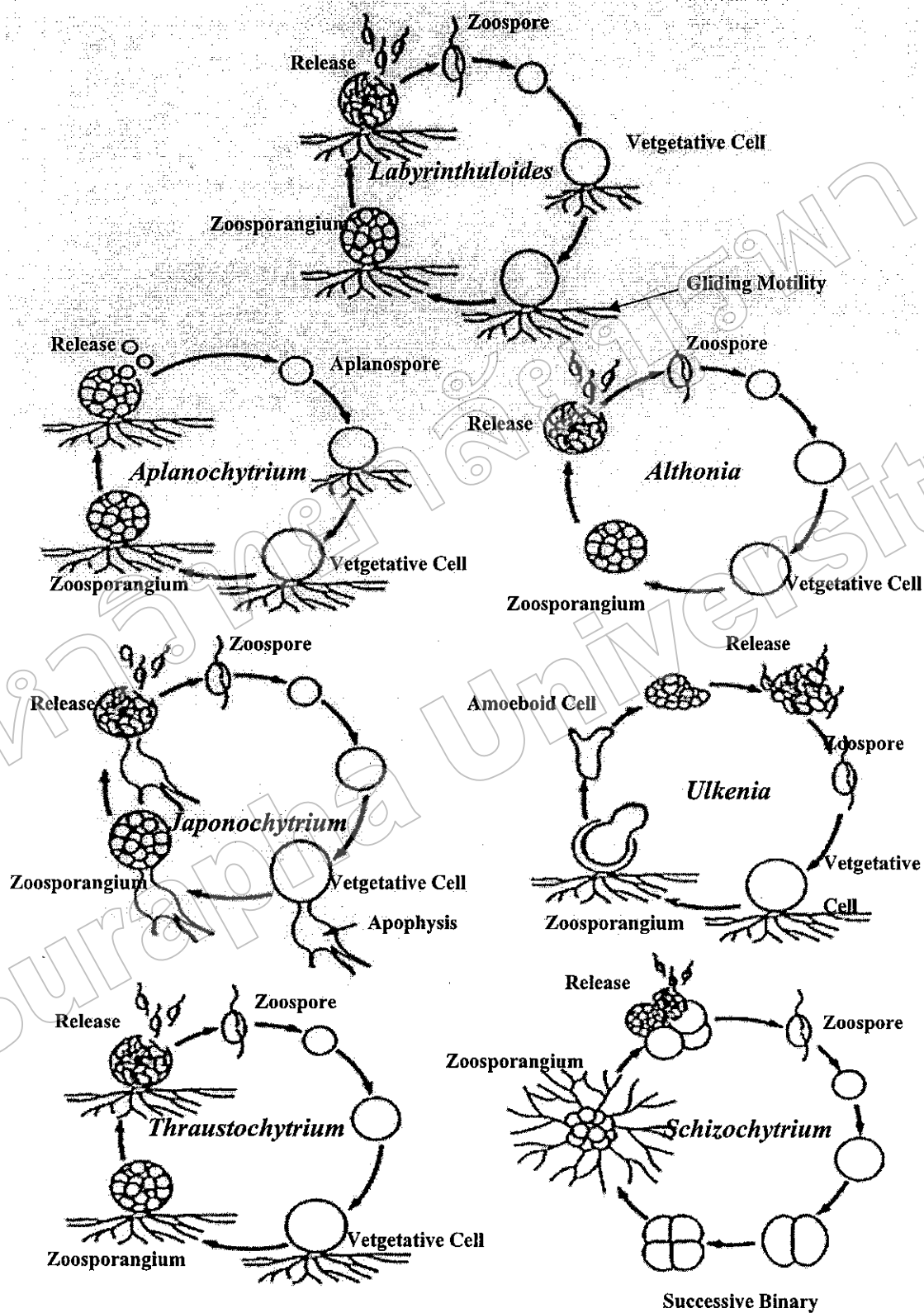
การปล่อยซุโอสปอร์เกิดจากการเกิดช่อง รู หรือการฉีกขาด สูญสลายของผนังเซลล์ของ ซุโอสปอร์แรงเจียม (Alderman et al., 1974) จากนั้นซุโอสปอร์จะว่ายน้ำในระยะทางสั้น ๆ เมื่อพบ ซับสเตรทที่เหมาะสม ซุโอสปอร์จะสลับทางทิ้ง ก่อนลงเกาะซับสเตรทและเจริญเป็นเซลล์ปกติ (Vegetative Cell) และเข้าสู่วงจรชีวิตช่วงต่อไป (Bowles, 1997) การจัดจำแนกชนิดของ ทรอสโทคิทริดส์สามารถใช้การสร้างและการปล่อยซุโอสปอร์จากเซลล์แม่ ร่วมกับลักษณะทาง สัณฐานวิทยา เช่น รูปร่าง ขนาดของเซลล์ และวงจรชีวิต

2. การจัดจำแนกทรอสโทคิทริดส์

Sparrow (1973) ได้จัดทรอสโทคิทริดส์ไว้ในกลุ่ม Oomycetes (Saprolegniales) และได้ ให้คำจำกัดความไว้ว่า เป็นกลุ่มราทะเลที่มีความต้องการเกลือ ทดลัสเมื่อเจริญพันธุ์บางส่วนจะ พัฒนาเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (Eucarpic) มีส่วนร่างแหภายนอกเซลล์หรือเอกโตพลาสมิกเนต (Ectoplasmic net) สร้างโดยซาจิโนเจน (Sagenogen) สปอร์แรงเจียม (Sporangium) ประกอบด้วย ผนังหลายชั้น ผลิตซุโอสปอร์ (Zoospore) หรืออะพลาโนสปอร์ (Aplanospore) ไม่พบการสืบพันธุ์ แบบอาศัยเพศและการพักตัว (Alderman et al., 1974) เริ่มแรก Sparrow จัดทรอสโทคิทริดส์ไว้ใน ไฟลัม Oomycota โดยใช้ลักษณะของซุโอสปอร์ที่มีรูปร่างคล้ายเมล็ดถั่วและมีแฟลกเจลลา 2 เส้น ในการจัดจำแนก ต่อมา Olive (1975) ได้จัดทรอสโทคิทริดส์อยู่ในไฟลัม Labyrinthulidae โดยใช้ พื้นฐานองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์และโครงสร้างภายในเซลล์ (Ultrastructure) เป็นตัว จัดจำแนก (Honda et al., 1998) การจัดจำแนกทรอสโทคิทริดส์ได้มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับช่วงระยะเวลาและกลุ่มผู้จัดจำแนก (Porter, 1989) Honda (2001a) ได้ทำการจัดจำแนก กลุ่มทรอสโทคิทริดส์ดังนี้

Kingdom Chromista
Phylum Sagenista
Class Labyrinthulea
Order Labyrinthulales
Family Thraustochytriaceae

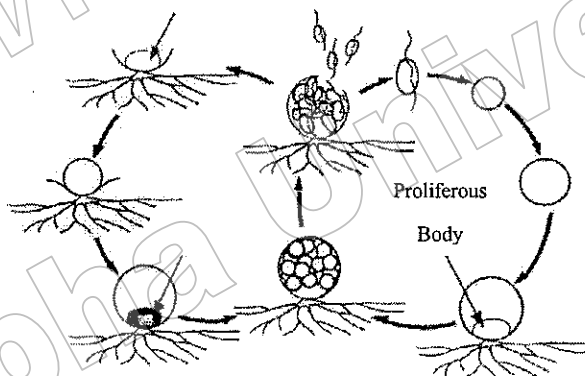
ทรอสโทคิทริดส์พบทั้งหมด 7 สกุล คือ *Thraustochytrium*, *Japonochytrium*, *Schizochytrium*, *Althonia*, *Aplanochytrium*, *Ulkenia* และ *Labyrinthuloides* (Honda, 2001a) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 วงจรชีวิตของทรอสโทคิทริดส์ (Honda, 2001)

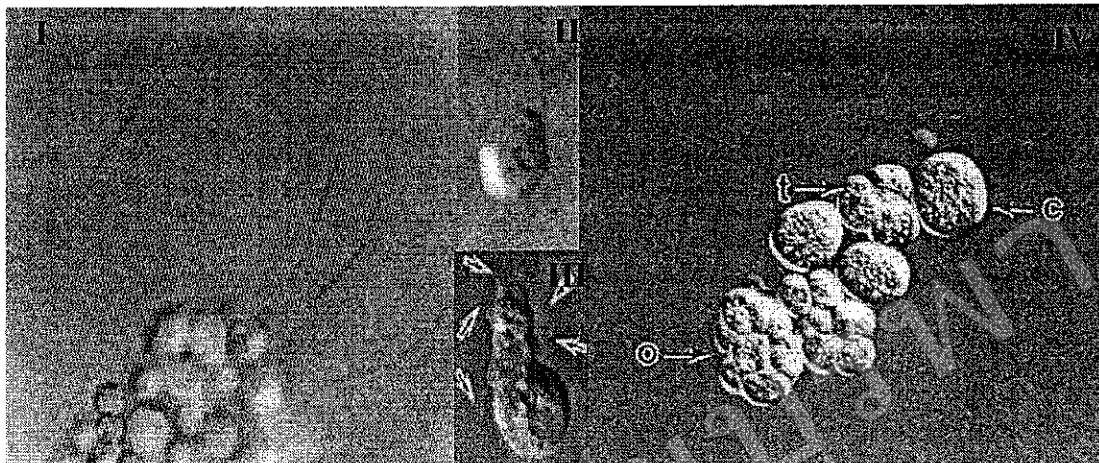
3. การจัดจำแนกทอสมโททริคัส ทอสมโททริคัสพบทั้งสิ้น 7 สกุล ดังนี้

Thraustochytrium ทัลลัสมีรูปร่างกลมขนาดเล็ก ผนังเซลล์มีหลายชั้น ทัลลัสส่วนล่างมีส่วนของเอกโตพลาสติกเนโทใช้ในการยึดติดกับซับสเตรทซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ ผลิตโดยซาจิโนเจน (Alderman et al., 1974; Porter, 1989) ภายในซูโอสปอร์แรงเจียมมีการสร้างผนังกัน เรียกส่วนนี้ว่าพอลิเฟอรัสบอดี (Proliferous Body) (ภาพที่ 6) ซึ่งถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ และ *Thraustochytrium* แต่ละชนิดจะมีจำนวนพอลิเฟอรัสแตกต่างกันไป เช่น *Thraustochytrium kinner* พบเพียง 1 พอลิเฟอรัส แต่ *T. multirudimentale* พบพอลิเฟอรัสจำนวนมาก และบางชนิดกลับไม่พบการสร้างพอลิเฟอรัสเลย เช่น *T. roesum* ซูโอสปอร์แรงเจียมของ *Thraustochytrium* ผลิตซูโอสปอร์ 50-100 ซูโอสปอร์ การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากแรงดันภายในทำให้ผนังเซลล์แม่แตกออก (Alderman et al., 1974) โดยหลังการปล่อยซูโอสปอร์แล้ว พบว่าส่วนของพอลิเฟอรัสยังคงอยู่และสร้างซูโอสปอร์แรงเจียมขึ้นมาใหม่ (Honda, 2001)



ภาพที่ 6 วงจรชีวิตและส่วนพอลิเฟอรัสของ *Thraustochytrium* sp. (Honda, 2001a)

Schizochytrium เซลล์ปกติมีรูปร่างกลม อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือหลายเซลล์เกาะรวมกันเป็นกลุ่ม มีส่วนของเอกโตพลาสติกเนโทยึดเกาะกับซับสเตรท (Raghumar, 1988) ซูโอสปอร์แรงเจียมมีการแบ่งครึ่งเซลล์แบบทวิคูณ (Successive Binary Division) จำนวน 4-5 ครั้ง ซึ่งแต่ละเซลล์จะผลิตซูโอสปอร์ และในชนิด *S. limacinum* พบว่าบางเซลล์มีลักษณะแบบอะมีบอยด์เซลล์ (Amoeboid Cell) คือเซลล์มีรูปร่างยาวขึ้น (Elongate) และหดตัวเป็นทรงกลมก่อนแบ่งตัวสร้างซูโอสปอร์ (Honda et al., 1998) ซูโอสปอร์มีรูปร่างรีหรือเกือบกลมมีแฟลกเจลลา 2 เส้นทางด้านข้าง การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากส่วนปลายของซูโอสปอร์แรงเจียมฉีกขาดออก (Alderman et al., 1974; Honda, 1998) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 (I) เอคโตพลาสโมนิกเนทจากเซลล์ปกติ

(II) ลักษณะซูโอสปอร์

(III) อะมิบอยด์เซลล์ของ *Shizochytrium limacinum* (Honda et al., 1998)

(IV) ซูโอสปอร์แรงเจียมของ *Schizochytrium mangrovei* (C = Mature Cell, T = Tetrad, O = Octad) (Leano, 2001a)

Japonochytrium ทัลลัสมีรูปร่างกลม ส่วนล่างยึดติดกับซับสเตรทโดยส่วนของเอคโตพลาสโมนิกเนทที่มีลักษณะบวมพองออก ถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ เรียกส่วนนี้ว่า อะโพฟิซิส (Apophysis) ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากรูหรือช่องว่างของซูโอสปอร์แรงเจียม (Alderman et al., 1974)

Ulkenia เป็นกลุ่มที่ย้ายมาจากสกุล *Thraustochytrium* มีรูปร่างกลม ผนังเซลล์บาง การสืบพันธุ์ เซลล์แม่จะสร้างอะมิบอยด์เซลล์และปล่อยอะมิบอยด์เซลล์ออกมา จากนั้นอะมิบอยด์เซลล์จะสร้างซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เมื่อซูโอสปอร์เจริญเต็มที่ก็จะดันจนผนังเซลล์แม่แตกออก (Hunt, 2000)

Aplanochytrium เป็นอีกกลุ่มที่ย้ายมาจากกลุ่ม *Thraustochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลม ซูโอสปอร์แรงเจียมสร้างสปอร์รูปร่างกลม ไม่พบส่วนของแฟลกเจลลา เรียกว่า อะพลาโนสปอร์ (Aplanospore) จำนวน 50-100 สปอร์ ซึ่งถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ (Alderman et al., 1974) การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการขยายขนาดของสปอร์จนผนังเซลล์แม่แตกออก (Porter, 1989)

Althonia ซูโอสปอร์แรงเจียมมีรูปร่างกลมลอยเป็นอิสระ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-120 ไมโครเมตร ไม่พบส่วนของเอคโตพลาสโมนิกเนท ผนังเซลล์มีความหนา 3-8 ไมครอน (Alderman and Jones, 1971) ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น จำนวน 10-100 ซูโอสปอร์ การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการเสื่อมสลายของผนังเซลล์ซูโอสปอร์แรงเจียม

หลังปล่อยออกจากเซลล์แม่ซูโอสปอร์จะเคลื่อนที่เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 36 ชั่วโมง เมื่อพบ
 ซับสเตรทที่เหมาะสมจะสัปดาห์ออกและเจริญเป็นเซลล์ปกติ ซึ่งจีนัสนี้ไม่พบระยะลงเกาะ (Jones
 & Alderman, 1971)

Labyrinthuloides ทดลัสมีรูปร่างกลม มีส่วนของเอกโตพลาสซึมที่ซึ่งใช้ในการ
 เคลื่อนที่ (Honda, 1998; Leander & Porter, 2000) การเคลื่อนที่เป็นแบบคืบคลานซึ่งถือเป็น
 ลักษณะเด่นของสกุลนี้ ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เมื่อเซลล์
 เจริญเติบโตเต็มที่ก็จะถูกปล่อยออกจากเซลล์แม่ (Porter, 1989; Leander & Porter, 2000)

บทบาทของทรอสโทคิทริดส์ยังไม่เป็นที่เข้าใจทั้งหมด แต่ในทางนิเวศวิทยา พบว่า
 ทรอสโทคิทริดส์เป็นผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ ทำให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุในระบบนิเวศ
 และพบว่าบางกลุ่มเป็นปรสิต เช่น หอย หมึก และฟองน้ำ (Alderman & Jones, 1971)

4. การแพร่กระจายทรอสโทคิทริดส์

ทรอสโทคิทริดส์เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำเค็ม เช่น ปากแม่น้ำชายฝั่งทะเล
 อ่าว และมหาสมุทรทั่วโลก (Bremer, 1974; Bahnweg, 1979; Chilton, 1995) โดยพบทั้งในดิน น้ำ
 พืช สาหร่าย ชากเน่าเปื่อย (Porter, 1989; Chilton, 1995) และบางชนิดเป็นปรสิตของหอย หมึก
 และฟองน้ำ (Alderman & Jones, 1971; Porter, 1989) การแพร่กระจายของทรอสโทคิทริดส์
 มีการศึกษาดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ทรอสโทคิทริดส์ที่พบจากซับสเตรท และสถานที่ที่แตกต่างกัน

ชนิด	ซับสเตรท	สถานที่	ผู้ค้นพบ
<i>Thraustochytrium</i> <i>proliferum</i>	สาหร่ายทะเล (<i>Bryopsis plumose</i>)	Woods Hole, Massachusetts, USA	Sparrow (1936) อ้างตาม Behnweg (1979)
<i>Schizochytrium</i> <i>aggregatum</i>	น้ำทะเล	Long Island Sound, New Haven, Connecticut, USA	Goldstein and Belsky (1964) อ้างตาม Behnweg (1979)
<i>Althornia crouchii</i>	หอยนางรม (<i>Ostrea edulis</i>)	Althorne Creek, River Crouch, Essex, UK	Jones and Alderman (1971)
<i>Thraustochytrium</i> <i>striatum</i> และ <i>S. mangrovei</i>	เมล็ดสน (pine pollen)	Mangrove, Goa, India	Raghukumar (1992)
<i>Ulkenia visurgensis</i> และ <i>Labyrinthuloides minuta</i>	สาหร่ายทะเล (<i>Sargassum cinereum</i>)	Dona Paula Jetty, Goa, India	Sharma et al. (1994)
<i>S. limacinum</i>	น้ำทะเล	Mangrove area in, West Pacific Ocean	Honda et al. (1998)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด	ชั้นสเตรท	สถานที่	ผู้ค้นพบ
<i>T. roseum</i>	ดิน	Lang Island, Papua New Guinea	Ulken (1981)
<i>S. mangrovei</i> , <i>T. striatum</i> และ <i>Ulkenia</i> KF-13	ใบรังกะเท้ (<i>Kandelia candel</i>)	Mai Po, Three Fathoms Cove and Tingkok, Hong Kong	Fan, Chan, Jones and Vrijmoed (2000)
<i>Aplanochytrium</i> sp. SC1 - 1	ใบไม้ป่าชายเลน	Sweetings Cay, Bahamas	Leander, Porter and Leander (2004)
<i>S. mangrovei</i> , <i>S. limacinum</i> , <i>Schizochytrium</i> spp., <i>Ulkenia</i> spp. and Unknown 1	ใบไม้ป่าชายเลน	Eastern Coast of Gulf of Thailand	Jaritkhuan, Suanjit and Manthachitra (2004)
<i>S. mangrovei</i> , <i>S. limacinum</i> , <i>Schizochytrium</i> sp.1, <i>Schizochytrium</i> sp.2, <i>Schizochytrium</i> sp.4, <i>Schizochytrium</i> sp.6, <i>Ulkenia</i> sp. 1, <i>Ulkenia</i> sp. 2, <i>Ulkenia</i> sp. 3 และ Unknown 2	ใบไม้ป่าชายเลน	บ้านปรัดใน จังหวัดตราด	ศุภพิชญ์ บุญแดง (2548)

ป่าชายเลน

ป่าชายเลนเป็นกลุ่มสังคมพืชที่ขึ้นอยู่ตามแนวชายฝั่งที่มีลักษณะดินเป็นดินเลน และมีน้ำทะเลท่วมถึงสม่ำเสมอ พบได้บริเวณปากแม่น้ำ ปากอ่าว ทะเลสาบ และบริเวณรอบเกาะต่าง ๆ ระบบนิเวศป่าชายเลน เป็นระบบนิเวศที่เชื่อมโยงระหว่างบกกับทะเล เกิดเป็นระบบนิเวศที่มีลักษณะเฉพาะ สิ่งมีชีวิตที่พบนอกจากพันธุ์ไม้ป่าชายเลนชนิดต่าง ๆ เช่น โกงกาง แสม ลำพู เป็นต้น ยังมีสิ่งมีชีวิตอื่นอาศัยร่วมเป็นจำนวนมาก เช่น จุลินทรีย์ สาหร่าย แพลงก์ตอน เป็นต้น ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ป่าชายเลนอุดมสมบูรณ์เนื่องจากมีความหลากหลายของดินที่อยู่และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่ได้จากการย่อยสลายของซากพืชซากสัตว์ เศษใบไม้ร่วงหล่นกลายเป็นแหล่งอาหารปฐมภูมิสำหรับผู้บริโภคชั้นต้นในห่วงโซ่อาหารของป่าชายเลน (ศิริลักษณ์ ช่วยพินิจ, 2543) ป่าชายเลนของประเทศไทยมีอยู่กระจัดกระจายตามชายฝั่งทะเลภาคใต้ ภาคกลาง และภาคตะวันออก ประเทศไทยมีพื้นที่ป่าชายเลนทั้งหมดประมาณ 1,054,194 ไร่ ภาคกลาง 2.2% ภาคตะวันออก 7.7% และภาคใต้ 89.1% (สุพรรณิ อัครศิริเลิศ, 2541)

ป่าชายเลนประกอบด้วยพืชหลายชนิด พันธุ์ไม้โดยส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ไม้ไม่ผลัดใบ และมีลักษณะทางสรีระวิทยาและการปรับตัวทางโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน พืชที่ขึ้นอยู่ในป่าชายเลนเป็นพวกที่ทนทานต่อสภาพความเค็มได้ดี (สนธิ อักษรแก้วและคณะ, 2541) พันธุ์ไม้ในป่าชายเลนพบส่วนใหญ่แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 พันธุ์ไม้ที่สำคัญในป่าชายเลน (ฉัตรรัตน์ ปภาวสิทธิ์และคณะ, 2546)

ชื่อไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์
โกงกางใบใหญ่	<i>Rhizophora mucronata</i>
โกงกางใบเล็ก	<i>Rhizophora apiculata</i>
แสมขาว	<i>Avicennia alba</i>
แสมดำ	<i>Avicennia officinalis</i>
แสมทะเล	<i>Avicennia marina</i>
ลำแพน	<i>Sonneratia ovata</i>
พังกาหัวส้มดอกแดง	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>
โปรงขาว	<i>Ceriops decandra</i>
ตะบูนขาว	<i>Xylocarpus granatum</i>

การกระจายของพันธุ์ไม้ในป่าชายเลนมีความแตกต่างจากพันธุ์ไม้ในป่าบกอย่างชัดเจน เนื่องจากป่าชายเลนมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ การขึ้นลงของน้ำทะเล การท่วมถึงของน้ำทะเลแต่ละพื้นที่ ลักษณะของดิน คุณภาพน้ำความเค็มเป็นต้น (สนธิ อักษรแก้ว, 2541; ฉัตรรัตน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ, 2546) การแบ่งเขตพันธุ์ไม้ป่าชายเลนของประเทศไทย มีการศึกษาจากบริเวณชายฝั่งลึกเข้าไปด้านในสุดจดปากบ่อพอสรุปได้ดังนี้

โซนแรก เป็นพวกไม้ป่าโกงกาง ทั้งโกงกางใบเล็กและโกงกางใบใหญ่ ซึ่งเป็นบริเวณที่ใกล้กับชายฝั่งน้ำ

โซนที่สอง เป็นบริเวณที่ถัดจากไม้โกงกาง เป็นไม้แสมและประสัก ซึ่งแสมบางครั้งก็พบว่าขึ้นอยู่ติดกับชายฝั่งน้ำ

โซนที่สาม เป็นโซนที่ลึกเข้าไปจากโซนแสมและประสัก พบกลุ่มไม้ตะบูนขึ้นอย่างหนาแน่น พบว่าดินบริเวณนี้มีลักษณะแข็ง

โซนสุดท้าย เป็นพื้นที่ซึ่งเป็นดินเลนแข็ง และเป็นบริเวณที่มีน้ำท่วมถึงในบางครั้งเฉพาะเวลาที่ระดับน้ำทะเลขึ้นสูงสุดเท่านั้น คือโซนของไม้เสม็ดจะขึ้นอย่างหนาแน่น ซึ่งโซนนี้ถือเป็นแนวติดต่อระหว่างป่าชายเลนและป่าบก (สนิท อักษรแก้ว, 2541)

พืชที่อาศัยอยู่ในป่าชายเลนล้วนแต่เป็นผู้ผลิตขั้นต้นในระบบนิเวศทางทะเล จากส่วนของใบที่ร่วงหล่นทับถมกัน การย่อยสลายเศษซากอินทรีย์วัตถุของแบคทีเรียและราถือว่ามีความสำคัญในการเพิ่มธาตุอาหารต่อระบบอย่างมาก (Sarma & Vittal, 2000) ทรอสโทคิทริดส์มีหน้าที่เป็นผู้ย่อยซากพืช ซากสัตว์ ซึ่งมีบทบาทอย่างมากในการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจากการย่อยสลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน ซึ่งพบว่าทรอสโทคิทริดส์เป็นกลุ่มแรกที่เข้าทำการย่อยสลาย ก่อนที่จะมีการย่อยสลายจากจุลินทรีย์กลุ่มอื่น (Raghukumar, 1988; Chilton, 1995) และ Ulken (1981b) รายงานการพบเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลสและโพลีกลูแคนเนสของ *Schizochytrium mangrovei* ใช้ในการย่อยสลายใบไม้ป่าชายเลน หลังการย่อยสลาย ทรอสโทคิทริดส์จะปลดปล่อยธาตุอาหารในรูปสารอินทรีย์ค้ำสู่ระบบและตัวทรอสโทคิทริดส์เองยังเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นในบริเวณนั้นอีกด้วย (Honda, 2001b)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทรอสโทคิทริดส์เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดไขมันกลุ่มดีเอชเอได้สูงถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (Bowles, 1997) และการควบคุมคุณภาพของกรดไขมันและปริมาณดีเอชเอทำได้ง่ายและสะดวกกว่ากรดไขมันจากปลาทะเล อีกทั้งทรอสโทคิทริดส์เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำเค็มทั่วทุกมุมโลก (Chilton, 1995; Bowles, 1997) ทำให้นักวิทยาศาสตร์มีความสนใจศึกษาทรอสโทคิทริดส์ เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า-3 ทดแทนแหล่งผลิตเดิม

ทรอสโทคิทริดส์เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่พบได้โดยทั่วไปบริเวณป่าชายเลนทั่วทุกมุมโลก เช่น อินเดีย (Raghukumar, 1992) ญี่ปุ่น (Honda et al., 1998) ฮองกง (Fan, Vrijmoed, & Jones, 2000) ฟิลิปปินส์ (Leano, 2001) มาเลเซีย (Bremer, 1995) และไทย (Jaritkhuan, Suanjit, & Manthachitra, 2004) เป็นต้น

Raghukumar (1988) พบทรอสโทคิทริดส์ชนิดใหม่คือ *S. mangrovei* จากใบไม้ป่าชายเลนที่กำลังย่อยสลายจากป่าชายเลน Goa ในประเทศอินเดีย พบว่ามีแตกต่างจาก *Schizochytrium* ชนิดอื่น คือหลังจากเซลล์มีการแบ่งตัวแบบ Binary Division แต่ละเซลล์จะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์ ในขณะที่ *Schizochytrium minutum*, *S. octosprum* และ *S. aggregatum* หลังจากแบ่งเซลล์พบว่าแต่ละเซลล์จะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมและผลิตซูโอสปอร์ 2-64 ซูโอสปอร์

Honda et al. (1998) รายงานพบทอัสโทคิทริดส์ชนิดใหม่คือ *S. limacinum* จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณป่าชายเลน แถบมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตก ในประเทศญี่ปุ่น และได้มีการศึกษาวงจรชีวิตพบว่ามียักษ์เซลล์คล้าย *S. aggregatum* แต่ *S. limacinum* พบระยะการสร้างอะมิบอยด์เซลล์ในอาหารแข็งและในน้ำทะเลที่ไม่เติมอาหาร ในขณะที่ *Schizochytrium* ชนิดอื่นไม่พบลักษณะดังกล่าว

Leano (2001) เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน 11 ชนิด จากป่าชายเลน Panay ประเทศฟิลิปปินส์ พบทอัสโทคิทริดส์ 85-100% จากตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษา โดยชนิดทอัสโทคิทริดส์ที่พบสูงสุดคือ *S. mangrovei* (40-100% จากตัวอย่างใบไม้ทั้งหมด) นอกจากนี้ยังพบ *Thraustochytrium* sp. แต่คัดแยกได้เฉพาะจากใบตะบูนขาวและโกงกางใบเล็ก

Leano (2002) พบว่ากลุ่ม Straminipilous เป็นกลุ่มแรกที่เข้าทำการย่อยสลายใบไม้ป่าชายเลน หลังจากที่ย่อยลงน้ำและพบว่ามีความสัมพันธ์ทุกช่วงของการย่อยสลายใบไม้ (Bremer, 1995) เนื่องจากทอัสโทคิทริดส์ทนทานต่อสารฟีนอลิกที่ใบไม้ป่าชายเลนขับออกมาช่วงการย่อยสลายและมีรายงานพบว่าทอัสโทคิทริดส์สามารถผลิตเอนไซม์ เซลลูเลส โพลีกลูเทอรูโรเนส และอะไมเลส ที่มีความสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในใบไม้ป่าชายเลน (Raghukumar et al., 1994) และ *S. mangrovei* เป็นทอัสโทคิทริดส์ชนิดที่พบมากที่สุดจากป่าชายเลนทั้งในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน (Leano, 2002)

Fan and Jones (2002) พบทอัสโทคิทริดส์ 8 สายพันธุ์ คือ *Schizochytrium* sp. KF-1, *S. mangrovei* KF-12, KF-7, KF-12, *T. striatum* KF-9 และ *Ulkenia* KF-19 จากตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน ประเทศฮ่องกง นอกจากนี้ Fan, Chan, Jones and Vrijmoed (2000a) ได้มีการทดลองการตอบสนองทางเคมีของซูโอสปอร์ทอัสโทคิทริดส์ที่แยกได้จากป่าชายเลนประเทศฮ่องกง พบว่าซูโอสปอร์มีการตอบสนองสารสกัดที่ได้จากใบไม้ของพืชป่าชายเลนมากที่สุด โดยเฉพาะในใบพืชที่เริ่มแก่ ตามมาด้วยแป้ง และกรดอะมิโน ตามลำดับ

Sharma et al. (1994) พบ *Ulkenia visurgensis* และ *Labyrinthuloides minuta* จากตัวอย่างสาหร่ายทะเล *Sargassum cinereum* ที่ Dona Paula Jetty, Goa ประเทศอินเดีย และพบว่า *L. Minuta* เจริญได้ดีในสาหร่ายที่กำลังย่อยสลาย 14 วัน

Bongiorni (2004) เก็บตัวอย่างดินทรายบริเวณชายฝั่งทะเล Ligurian Sea ประเทศอิตาลี ที่ระดับความลึก 5 เมตรจากผิวดิน พบความหนาแน่นทอัสโทคิทริดส์ 61 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และในช่วงหลังฤดูฝนความหนาแน่นจะเพิ่มขึ้นเป็น 200 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

นอกจากงานวิจัยเกี่ยวกับการคัดแยกทอัสโทคิทริดส์แล้วยังมีรายงานอีกจำนวนมากที่ศึกษาปริมาณกรดไขมันในทอัสโทคิทริดส์

Bajpai et al. (1991a) ศึกษาแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมของ *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 พบว่า *T. aureum* ATCC 34304 เจริญได้ดีในอาหารที่มี กลูโคสและโซเดียมกลูตาเมต เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนตามลำดับ มีมวลชีวภาพเท่ากับ 3.8 กรัม/ ลิตร ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 70.4 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง และเมื่อนำมา ทดลองเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 300 รอบ/ นาที ภายใต้สภาวะให้แสง 40 ชั่วโมง จากการทดลอง 6 วัน ผลการศึกษาพบว่าสูตรอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคส 20 กรัม โซเดียมกลูตาเมต 2 กรัม และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2 กรัม ให้ผลผลิตดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 280 มิลลิกรัม/ ลิตร (Bajpai et al., 1991b)

Nagahara et al. (1996) ศึกษา *Schizochytrium* sp. คัดแยกจากน้ำแนวปะการังบริเวณเกาะ Yap Islands ในประเทศญี่ปุ่น เลี้ยงในถังหมัก ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส อาหารประกอบด้วย กลูโคส 60 กรัม Corn Steep Liquor 0.7 กรัม และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2 กรัม เป็นเวลา 56 ชั่วโมงมวลชีวภาพ เท่ากับ 21 กรัม/ ลิตร เมื่อนำมาวิเคราะห์กรดไขมันพบสามารถผลิตกรดไขมันดีเอชเอได้สูงถึง 34 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 4.7 กรัม/ ลิตร

Bowles et al. (1998) เก็บตัวอย่างน้ำทะเล ดินและใบไม้ป่าชายเลน จาก 3 เขต คือ กิ่งเขตร้อน เขตอบอุ่นและเขตหนาว พบทรอสโทคิทริดส์ทั้งหมด 57 สายพันธุ์ จากทุกเขตที่ ทำการศึกษา ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอที่พบอยู่ในช่วง 13.7-35.9 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

Fan et al. (2000) ศึกษา *S. mangrovei* KF6 ในอาหารสูตรต่าง ๆ จากการทดลองพบว่า *S. mangrovei* KF6 เจริญดีที่สุดในอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส 60 กรัม และ ยีสต์สกัด 10 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/ นาที ในวันที่ 4 มวลชีวภาพเท่ากับ 15.2 กรัม/ ลิตร ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอคือ 203.0 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง ผลผลิตดีเอชเอ เท่ากับ 3094.0 มิลลิกรัม/ ลิตร

Fan et al. (2001) นำทรอสโทคิทริดส์ 9 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากใบรังกะเที จาก ป่าชายเลนประเทศฮ่องกง มาเพาะเลี้ยงในอาหารกลูโคส 60 กรัม ยีสต์สกัด 10 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 5 วัน จากการศึกษามวลชีวภาพ ของ *S. mangrovei* (6.6-13.5 กรัม/ ลิตร) มีปริมาณสูงกว่า *T. stratum* KF9 (0.8 กรัม/ ลิตร) และ *Ulkenia* sp. KF13 (4.6 กรัม/ ลิตร) และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันพบว่า *S. mangrovei* มีปริมาณดีเอชเอสูงในช่วง 118.1-208.8 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง โดย *S. mangrovei* KF2 และ *S. mangrovei* KF6 เป็นสายพันธุ์ที่มีปริมาณดีเอชเอสูงสุดคือ 208.8 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง (ผลผลิตดีเอชเอ 2778.9 มิลลิกรัม/ ลิตร) และ 204.3 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง (ผลผลิตดีเอชเอ 2762.0 มิลลิกรัม/ ลิตร) ตามลำดับ

Yaguchi et al. (1997) เลี้ยง *Schizochytrium* sp. SR21 ในอาหาร 5 สูตร ที่มีความแตกต่างของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในถังหมัก ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เวลาที่ความเร็ว 300 รอบ/ นาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าสูตรอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคส 120 กรัม Corn Steep Liquor 1.4 กรัม และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 4 กรัม ให้มวลชีวภาพเท่ากับ 48.1 กรัม/ ลิตร และมีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 276.5 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง ผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 13.3 กรัม/ ลิตร

Bowles, Hunt, Bremer, Duchars and Eaton (1999) นำ *S. mangrovei* G13 ที่คัดแยกได้จากใบลำพูทะเล เลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่ามีผลผลิตดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 2.17 กรัม/ ลิตร เมื่อเลี้ยงในอาหารกลูโคส 40 กรัม ยีสต์สกัด 5 กรัม และ โซเดียมซัลเฟต 20 กรัม ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เวลาที่ความเร็ว 150 รอบ/ นาที เป็นเวลา 107 ชั่วโมง

Kamlungdee and Fan (2003) ศึกษา *Schizochytrium* 5 สายพันธุ์ (N-1, N-2, N-5, N-6 และ N-9) ที่คัดแยกได้จากใบรังกะแท้วที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนเกาะสองกง นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารกลูโคส 60 กรัม ยีสต์สกัด 10 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาที่ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 52 ชั่วโมง มวลชีวภาพอยู่ในช่วง 10.8-13.2 กรัม/ ลิตร และปริมาณกรดไขมัน ดีเอชเออยู่ในช่วง 157.9-203.6 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง โดย *Schizochytrium* N-2 เป็นสายพันธุ์ที่มีมวลชีวภาพและปริมาณกรดไขมันสูงสุด

Sigh and Ward (1996) ศึกษาปริมาณกรดไขมัน *T. roseum* 28210 เพาะเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง 25 กรัม ยีสต์สกัด 2 กรัม โซเดียมกลูตาเมต 2 กรัม และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาที่ความเร็ว 200 รอบ/ นาที มีมวลชีวภาพและผลผลิตดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 10.4 กรัม/ ลิตร และ 1061 มิลลิกรัม/ ลิตร ตามลำดับ

Singh, Wilson and Ward (1996) ทำการศึกษาปริมาณกรดไขมัน *Thraustochytrium* และ *Schizochytrium* 5 สายพันธุ์ คือ *Thraustochytrium* sp. 20890, *Thraustochytrium* sp. 20891, *Thraustochytrium* sp. 20892, *Schizochytrium* sp. 20888 และ *Schizochytrium* sp. 20889 เพาะเลี้ยงในอาหาร กลูโคส 20 กรัม, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2 กรัม และ โซเดียมกลูตาเมต 2 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลาที่ความเร็ว 200 รอบ/ นาที ผลการศึกษาพบว่า *Thraustochytrium* sp. 20892 มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเออยู่ในช่วง 157.9-203.6 มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง (ผลผลิตดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 67.6 มิลลิกรัม/ ลิตร)

Yokochi et al. (1998) ศึกษาแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและปริมาณกรดไขมันของ *S. limacinum* SR21 ผลการศึกษาพบว่า *S. limacinum* SR21 ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารกลูโคส 90 กรัม (แหล่งคาร์บอน) และ Corn Steep Liquor 20 กรัม (แหล่งไนโตรเจน) โดยให้ผลผลิตดีเอชเอสูงสุด คือ 4.2 กรัม/ ลิตร

Li and Ward (1994) ศึกษาปริมาณกรดไขมัน *Thraustochytrium* 3 สายพันธุ์ ในอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง 2.5 % และยีสต์สกัด 0.2 % ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 250 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน ผลการศึกษาพบว่ามวลชีวภาพอยู่ในช่วง 9.7-10.3 กรัม/ ลิตร ส่วนปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ พบว่าสายพันธุ์ *T. roseum* 28210 มีผลผลิตดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.85 กรัม/ ลิตร

Wu, Yu and Lin (2005) ศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนต่อมวลชีวภาพและปริมาณกรดไขมันดีเอชเอของ *S. limacinum* sp. S31 ผลการศึกษาพบว่า *S. limacinum* sp. S31 มีมวลชีวภาพและปริมาณดีเอชเอสูงสุดในสูตรอาหารกลูโคส 20 กรัม และยีสต์สกัด 4 กรัม โดยมีมวลชีวภาพและปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 5.9 กรัม/ ลิตร และ 328 มิลลิกรัม/ ลิตร ตามลำดับ

นอกจากนี้ได้มีรายงานการนำจุลินทรีย์กลุ่มทรอสโทคิทริดส์คือ *Schizochytrium* sp. ซึ่งมีปริมาณไขมันดีเอชเอ 30-40 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยนำมาทำอาหารเสริมให้กับอาร์ทีเมีย พบว่าอาร์ทีเมียที่ได้รับการเสริมทรอสโทคิทริดส์ลงในอาหารมีปริมาณกรดไขมันโอเมก้า-3 เพิ่มขึ้น (Barclay & Zeller, 1996) และ Jaritkhun (2001) พบว่าอาร์ทีเมียกลุ่มที่มีการเสริม *Schizochytrium* MP3 มีปริมาณกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 สูงกว่าอาร์ทีเมียที่เสริมด้วย *Chaetoceros* และน้ำมันตับปลา และเมื่อนำอาร์ทีเมียกลุ่มดังกล่าวมาเป็นอาหารของลูกปลาและกุ้งวัยอ่อน พบว่าลูกปลาและกุ้งวัยอ่อนมีปริมาณกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 สูงขึ้น