รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเล: แหล่งกรดไขมันชนิดจำเป็น
Potential of Marine Microbes : As the Source of Essential Fatty Acids

ณิษา สิรนนท์ธนา
จารุนันท์ ประทุมยศ
จันทร์จรัส วัฒนะโชติ
สมรัฐ ทวีเดช

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2558A10803030
สัญญาเลขที่ 159/2558

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเล: แหล่งกรดไขมันชนิดจำเป็น
Potential of Marine Microbes : As the Source of Essential Fatty Acids

ณิษา สิรนนท์ธนา
จารุนันท์ ประทุมยศ
จันทร์จรัส วัฒนะโชติ
สมรัฐ ทวีเดช
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

พฤษภาคม พ.ศ. 2559

ศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเล: แหล่งกรดไขมันชนิดจำเป็น

ณิษา สิรนนท์ธนา จารุนันท์ ประทุมยศ จันทร์จรัส วัฒนะโชติ และสมรัฐ ทวีเดช

บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเลในครั้งนี้ มุ่งเน้นการหากรดไขมันชนิดจำเป็นจากตัวอย่างยีสต์ ตัวอย่างแอคติโนมัยซีท เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของกรดไขมันชนิดจำเป็น และได้มีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ ของสารสกัดจากเซลล์และน้ำเลี้ยงของแอคติโนมัยซีท เพื่อให้ได้ข้อมูลในการพัฒนาศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเลในด้านอื่นๆ ด้วย โดยทำการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ทะเล 6 ตัวอย่าง ที่คัดแยกจากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน จังหวัดชลบุรีในปี 2556 พบว่ายีสต์ทุกชนิดที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM มีการผลิตกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยคุณลักษณะกรดไขมันส่วนใหญ่จะเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ผลการศึกษาพบว่ายีสต์ BS1-2, BS6-2 มีการผลิตกรดไขมันจำเป็น Linoleic acid (C18:2n6) และ α - Linolenic acid (C18:3n3) สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ แต่ BS6-2 มีการเจริญที่ดีกว่า BS1-2 จึงเลือกตัวอย่างยีสต์ BS6-2 โดยพบว่าการเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อย ที่ความเค็ม 25 พีพีที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณกรดไขมันจำเป็นชนิด C18:2n6 สูงสุด (22.58 ± 1.24%) และจากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทคัดแยกจากดินป่าชายเลนและฟองน้ำทะเล จังหวัดจันทบุรี ระยอง ชลบุรี ชุมพร และ จังหวัดนครศรีธรรมราช (2556-2558) จำนวน 63 ตัวอย่าง ทำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP 2 เป็นระยะเวลา 3-14 วัน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียล ความเค็ม 20 ppt. เขย่า 100 rpm. ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างแอคทีโนมัยซีท NS 2-2 ที่คัดแยกจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราช มีปริมาณกรดไขมันโดยรวมสูงสุดคิดเป็นปริมาณร้อยละ 96.28 โดยพบกรดไขมันจำเป็น C18:2n6 ในปริมาณ 37.38 ±0.27 %TFA และพบกรดไขมัน C18:3n3 4.07±0.09 %TFA รองลงมาเป็นตัวอย่าง NS 4-6 ที่คัดแยกจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราชเช่นกัน พบกรดไขมันโดยรวมในปริมาณร้อยละ 87.94 โดยกรดไขมันชนิดจำเป็น C18:2n6 พบในปริมาณ 36.26±0.88 % TFA และ C18:3n3 พบปริมาณ2.75±0.14 %TFA และแอคทีโนมัยซีท WN POR 02-1 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเลพบกรดไขมันโดยรวมปริมาณร้อยละ 84.33 โดยพบกรดไขมัน C18:2n6 ปริมาณ 28.61±0.17 % และพบ C18:3n3 ปริมาณ 2.02±0.32 % แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าปริมาณกรดไขมัน C18:3n3 พบในปริมาณที่ต่ำ ดังนั้นเพื่อให้ได้ปริมาณ C18:3n3 ที่มากขึ้นควรมีการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงต่อไป

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus และ V. vulnificus* ที่ก่อโรคในปลาของสารสกัดจากเซลล์และในส่วนของน้ำเลี้ยงแอคติโนมัยซีทจำนวน 39 ไอโซเลต ด้วยเทคนิค disc diffusion ในปี 2556-2558 ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจำนวน 14 ไอโซเลต แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ โดยที่ไอโซเลต NS3-10, CP 58 5-2 แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อสูงสุดโดยมีขอบเขตการยับยั้งอยู่ระหว่าง 19-22 mm.

Potential of Marine Microbes: As the Source of Essential Fatty Acids

Nisa Siranonthana, Jarunan Pratoomyot, Janjarus Wattnachot and Somrat Taweedet

Abstract

Marine yeasts and Actinomyces grow rapidly in cultured media; both are sources of nutrients and are capable of producing a wide range of bioactive secondary compounds. The present study set out to determine the essential fatty acid (EFA) profiles of six samples of marine yeast and of 63 samples of Actinomyces. The marine yeasts were isolated from seawater collected at Bangsaen beach, Chonburi in 2014, whilst the Actinomyces were isolated from coastal mangrove soils and from marine sponges harvested within Chanthaburi, Rayong, Chonburi, Chumpon and Nakhornsrithammarat Provinces between 2013 to 2015. Each isolated marine yeast was cultured in yeast extract medium (YM) at 30 $^{\circ}$C 30 ppt for a period of 120 hours, whilst Actinomyces isolate was cultured in the IPS2 medium on an orbital shaker at 20 ppt and 30°C for a period of 3-14 days. Thereafter, the fatty acid composition of each sample was determined. The results showed that both marine yeasts and Actinomyces produce both saturated and unsaturated FAs. For the marine yeasts, most of the FA content was represented by monounsaturated FAs (MUFAs). Among the yeast isolates, samples “BS1-2” and “BS6-2”, cultured in YM at 30 ppt for a period of 120 hours, yielded the highest quantities of the essential n-3 PUFA (polyunsaturated FA) **α**-linolenic acid (C18:3n-3) and the n-6 PUFA linoleic acid (C18:2n-6) when compared to the other four yeast isolates. Isolate “BS6-2 was choose to study due to better growth than Isolate “BS1-2”, the result showed the highest concentration of C18:2n6 (22.58 ± 1.24%) within the total fatty acid (TFA) when cultured in sugarcane bagasse medium at 25 ppt for a period of 72 hours.

The Actinomyces samples obtained from mangrove sediments were found to contain higher levels of the n-3 and n-6 PUFA families when compared to those derived from sponges. Isolates “NS2-2” and “NS4-6” obtained from soils collected within Nakhornsrithmmarat Province, had the highest amounts of C18:2n-6 (37.38 ± 0.27 %TFA) and 36.26 ± 0.88 %TFA, but low quantities of C18:3n-3 (4.07 ± 0.09 %TFA) and (2.75 ± 0.14 %TFA) respectively.

From the samples isolated from sponges, “WN-POR-2-1” contained C18:2n-6 28.61 ± 0.17 %TFA and C18:3n-3 2.02 ± 0.32 %TFA. The level of C18:3n-3 in all

samples was found to be low suggesting that the conditions for the culture of these isolates within the laboratory requires further investigation.

In 2013-2015, the compounds produced by 39 isolates (includes the products that were extracted from the cells that were grown and then harvested from the media and also from the residual culture media) were tested against *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* and *V. vulnificus* using a disc diffusion technique. Of the compounds tested, 14 inhibited the growth of the bacterial species. Products derived from isolated “NS3-10” and “CP58-5-2” appeared to be the most efficacious in limiting growth with the largest clear zones around discs.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 159/2558

สารบัญ

หน้า

บทนำ 1
การทบทวนวรรณกรรม/ สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง 5
อุปกรณ์และวิธีการ 31
ผลการศึกษา 41
อภิปราย และสรุปผลการทดลอง 63
สรุปผลการศึกษา 79
เอกสารอ้างอิง 82
ภาคผนวก 94

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	กรดไขมันอิ่มตัวชนิดต่าง ๆ	9
2	กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดต่าง ๆ	10
3	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ผลิตโดยแอคติโนแบคทีเรีย	20
4	ชนิดและปริมาณกรดไขมันในแอคติโนมัยซีท NS 4-6 และในชั้นไขมัน	58
5	Inhibition zone diameter of actinomycetes extracts (2556-2557)	60
6	Inhibition zone diameter of actinomycetes extracts (2558)	62
7	Selected bioactivites of various saturated and unsaturated FFAs	78

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ก.1 การเตรียมน้ำทะเลเทียม 97
ก.2 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM 99
ก.3 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM 100
ก.4 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อยที่ความเค็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 101
ก.5 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA) 103
ก.6 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA) 104
ก.7 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA) 105
ก.8 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA) 106
ก.9 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA) 107
ก.10 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA) 108
ก.11 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA) 109
ก.12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง จังหวัดจันทบุรี (%TFA) 110
ก.13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี (%TFA) 111
ก.14 องค์ประกอบกรดไขมันในแอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS2-2, NS4-6 และ WN-POR-02-1 .. 112
ก.15 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทคัดแยกจากดินชายฝั่งจังหวัดชลบุรี และจันทบุรี (%TFA) 114
ก.16 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดชุมพร (%TFA) 115
ก.17 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดชุมพร (%TFA) 116
ก.18 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดชุมพร (%TFA) 117

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า
ก.19 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดชุมพร (%TFA) 118
ก.20 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง จังหวัดระยอง (%TFA) 119
ก.21 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง จังหวัดระยอง (%TFA) 120
ก.22 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง จังหวัดระยอง (%TFA) 121
ก.23 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินป่าชายเลนหมู่เกาะ จ.ชุมพร 123
ก.24 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินป่าชายเลนหมู่เกาะ จ.ชุมพร 124
ก.25 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินหมู่เกาะ จ.ชุมพร 125
ก.26 ชนิดและปริมาณกรดไขมันจากแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากฟองน้ำทะเลหมู่เกาะ จ.ชุมพร . 126
ก.27 ชนิดและปริมาณกรดไขมันจากแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากฟองน้ำทะเลหมู่เกาะ จ.ชุมพร . 127

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 การเขียนสัญลักษณ์กรดไขมัน 8
2 การสังเคราะห์กรดไขมัน 13
3 ขั้นตอนการสลายกรดไขมัน 14
4 กระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชั่น 17
5 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Yeast Malt extract (YM) 42
6 คุณลักษณะของกรดไขมันในเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Yeast Malt extract (YM) 42
7 ปริมาณของกรดไขมัน Linoleic acid (C18:2n6) และ α-linolenic acid (C18:3n3) ในเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Yeast Malt extract (YM) 43
8 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันชนิด Linoleic acid (C18:2n6) และ α-linolenic acid (C18:3n3) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS6-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM (Yeast malt extract) และอาหารกากชานอ้อย (Sugarcane bagasse) ความเค็ม 30 ppt 43
9 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันชนิด Linoleic acid (C18:2n6) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS6-2 ที่เลี้ยง อาหารกากชานอ้อย (Sugarcane bagasse) ที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 ppt 44
10 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดจันทบุรี ชลบุรี และนครศรีธรรมราช เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน 2556 (%TFA) 45
11 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี และนครศรีธรรมราช เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2556 45
12 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดจันทบุรี ระยอง และชุมพร เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2557 (%TFA)..... 46
13 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดจันทบุรี ระยองและชุมพร เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2557..... 47
14 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนและฟองน้ำ จังหวัดชุมพร เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน 2558 (%TFA) 48
15 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนและฟองน้ำ จังหวัดชุมพร เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2558 49
16 ปริมาณเซลล์และปริมาณไขมันในตัวอย่าง SK-08-5 ที่เลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน 51
17 ปริมาณกรดไขมันในตัวอย่าง SK-08-5 ที่เลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน 51
18 ปริมาณเซลล์และปริมาณไขมันในตัวอย่าง SK-08-5 ที่เลี้ยงด้วยความเค็มแตกต่างกัน 52
19 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคติโนมัยซีท SK-08-5 ที่ความเค็มที่แตกต่างกัน (%TFA) 53
20 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีท SK-08-5 ที่ความเค็มที่แตกต่างกัน (%TFA). 53
21 ชนิดและปริมาณกรดไขมัน C18:2n6, C18:3n3 ในตัวอย่าง SK-05-8 ที่เลี้ยง ด้วยความเค็มที่แตกต่างกัน 54

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

22 ปริมาณเซลล์และปริมาณไขมันในตัวอย่างแอคนิโนมัยซีทไอโซเลต CP 58 4-21 ที่เลี้ยงด้วยความเค็มแตกต่างกัน 55
23 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคทีโนมัยซีทไอโซเลต CP 58 4-21 ที่ความเค็มที่แตกต่างกัน (%TFA) 55
24 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทไอโซเลต CP 58 4-21 ที่ความเค็มที่แตกต่างกัน (%TFA) 56
25 คุณลักษณะกรดไขมันในแอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS 4-6 และใน Lipid class (%TFA) 57
26 ชนิดกรดไขมัน C18:2n6, C18:3n3 ใน Lipid class แอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS 4-6 (%TFA) 57
27 เชื้อ *Vibrio vulnificus* ที่ก่อโรคในปลา 59
28 Inhibition zone ของ NS3-10 against *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* 59
29 Inhibition zone ของ Actinomycete CP58 5-2 against *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* 60
30 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์ยีสต์ *Pichia sp.* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม *25* พีพีที ที่เวลา *72* ชั่วโมง (%*TFA)* 64
31 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคติโนมัยซีท *NS*2-2 (%*TFA)* 69
32 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคติโนมัยซีท NS 4-6 (%TFA) 70
33 Inhibition zone of drug sensitivity against *V. vulnificus* 77

ศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเล: แหล่งกรดไขมันชนิดจำเป็น
Potential of Marine Microbes : As the Source of Essential Fatty Acids

บทนำ

จุลินทรีย์ (Microorganisms) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีจำนวนชนิดหรือสปีชีส์มากที่สุดเมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น มีความหลากหลายทางชีวภาพ (Biological diversity) ในเชิงความหลากหลายของชนิด (Species diversity) ความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic diversity) และความหลากหลายของแหล่งที่อยู่อาศัย (Ecological diversity) สูงมาก เมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตกลุ่มอื่น เชื่อกันว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่นักจุลชีววิทยาพบและศึกษาจนถึงปัจจุบันคิดเป็นประมาณ1%ของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนโลก (http://www.environNet.in.th) จุลินทรีย์มีประโยชน์ในหลายด้าน เช่น ด้านสิ่งแวดล้อม นำมาบำบัดสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ ทางด้านการแพทย์ จุลินทรีย์ถูกนำมาใช้เป็นตัวกลางในการผลิตสารที่จำเป็นบางอย่างที่เกี่ยวข้องกับทางการแพทย์และการรักษาโรค ด้านอุตสาหกรรม ด้านการเกษตร เป็นต้น ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในทางการแพทย์ เช่น ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และแบคทีเรีย *E.coli* ใช้ผลิตสารอินซูลินซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญในการควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือด แบคที่เรีย *E.coli* ใช้ในการผลิตฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตในคน เป็นต้น แบคทีเรียทะเลแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ แบคทีเรียที่ถูกพัดพามาจากแหล่งอื่นและแบคทีเรียที่มีถิ่นกำเนิดในทะเลในบริเวณนั้น ๆ แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้อาศัยอยู่ที่ผิวน้ำ ในชั้นของน้ำ ตะกอนดิน และอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ เช่น *Psudomonas insolita* พบอยู่ในฟองน้ำคลาสเดโมสปองเจีย (Class demospongiae) ชนิด *Halichondria panacea* แบคทีเรียบางชนิดอาศัยอยู่ในลำไส้และทางเดินอาหารของสัตว์ทะเล เช่น *Clostridium welchii, C. sporogenes, C. tetani* พบในทางเดินอาหารของปลา ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ทำให้ปลาได้รับสารอาหารในการเจริญเติบโต (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) แบคทีเรียทะเลมีประโยชน์ต่อระบบนิเวศทางทะเล ช่วยให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุ ทำให้แหล่งน้ำอุดมสมบูรณ์ เป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน และแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสร้างสาร ซึ่งมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาทางเภสัชวิทยา สารที่สร้างจากแบคทีเรียเรียกว่า สารเมตาบอไรต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolites) นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โดยเฉพาะยีสต์มีการศึกษาถึงคุณสมบัติพบว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีปริมาณโปรตีนในเซลล์สูงและยังประกอบไปด้วยไขมัน วิตามินแร่ธาตุหลายชนิด และ แอคติโนมัยซีทจัดเป็นแบคทีเรียที่มีคุณค่าและมีคุณประโยชน์มหาศาลต่อเศรษฐกิจต่องานด้านทคโนโลยีชีวภาพเนื่องจากเป็นแหล่งของการผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารยับยั้งเซลล์มะเร็ง สารแอนติไบโอติก และสารยับยั้งระบบภูมิคุ้มกัน (Selvameenal et al., 2009)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งพบทั่วไปในธรรมชาติ ทั้งแหล่งที่อยู่บนบก ในน้ำ รวมทั้งแหล่งที่อยู่ที่มีความรุนแรง เช่น มีความเค็มสูง และมีความเย็นจัด แหล่งที่อยู่ซึ่งยีสต์ชอบคือ พืช โดยพบยีสต์

ได้ทั้งดอก ผล ใบ ลำต้น และยางไม้ ทั้งนี้เพราะพืชนอกจากจะมีความสามารถในการสังเคราะห์น้ำตาล และ พอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดแล้ว พืชยังสามารถสังเคราะห์สารประกอบคาร์บอนชนิดอื่น ๆ ได้อีกหลายชนิดนอกจากนี้พืชยังให้เกลือแร่ชนิดต่าง ๆ และสารอื่น ๆ ที่ยีสต์ต้องการปริมาณเล็กน้อย จึงทำให้มีซับสเตรทที่หลากหลายสำหรับการเจริญ ซึ่งยีสต์ต้องการแหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง ที่ทำให้ยีสต์เจริญเติบโต ได้รวดเร็ว สามารถให้จำนวนปริมาณเซลล์ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น เนื่องจากยีสต์ไม่กลายพันธุ์ มีความคงตัวทางพันธุกรรมสูงและไม่ก่อให้เกิดโรค (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549) ทำให้ยีสต์มีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรมในปัจจุบันเป็นอย่างมากในการเป็นตัวกลจักรในการผลิต โดยยีสต์จะเปลี่ยนวัตถุดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ ผลิตภัณฑ์เหล่านี้เกิดขึ้นจากกระบวนการสร้างและการสลายสารอินทรีย์โดยยีสต์ ปฏิกิริยาการเกิดแบบนี้เรียกว่า “การหมัก” อาทิ เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ได้แก่ เบียร์ สุรา และไวน์ อุตสาหกรรมอาหาร และอาหารเสริม ได้แก่ ซีอิ้ว เต้าเจี้ยว น้ำปลา นมเปรี้ยว และโยเกิร์ต อุตสาหกรรมด้านความสวยความงาม ได้แก่ เครื่องสำอาง อุตสาหกรรมการผลิตเชื้อเพลิง ได้แก่ ก๊าซชีวภาพที่ได้จากการหมักมูลสัตว์หรือเศษใบไม้ (Harley, 2004) รวมถึงอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ได้แก่ การนำยีสต์มาเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์เพื่อใช้ประโยชน์ในสองทางด้วยกันคือ เป็นแหล่งโปรตีนที่เราเรียกว่า “โปรตีนเซลล์เดียว” (Single cell protein) และอีกในแง่หนึ่งคือ เป็นตัวช่วยเสริมสุขภาพของสัตว์ หรือเราเรียกว่าเป็น “โปรไบโอติค” (Probiotic) ให้กับสัตว์เลี้ยง ซึ่งจะทำให้สัตว์แข็งแรง และมีภูมิต้านทานโรคสูงขึ้น (Moore & Landecker, 1996) นอกจากนี้ยีสต์ยังมีปริมาณกรดไขมันที่เป็นประโยชน์มากสำหรับมนุษย์และสัตว์ รวมทั้งสัตว์น้ำ ดังนั้น จึงมีการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการเพิ่มปริมาณกรดไขมันจากยีสต์ให้สูงขึ้น จากคุณสมบัติของยีสต์ ที่มีช่วงชีวิตสั้น และมีการใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย สิ่งที่สำคัญคือ ยีสต์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกันกับพืช เช่น กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นกรดไขมันจำเป็นที่ร่างกายมนุษย์เรานั้นไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ (สมถวิล จริตควร, สุดารัตน์ สวนจิตร และเศรษฐวัชร ฉ่ำศาสตร์, 2551) ดังนั้นจึงมีการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการเพิ่มปริมาณกรดไขมันจากยีสต์ให้สูงขึ้น

กรดไขมันจำเป็น (Essential fatty acids) เป็นกรดไขมันที่มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริม และใช้ในทางการแพทย์ โดยเฉพาะโอเมก้า 3 (Linolenic หรือ Alpha linoleic acid) ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและอัมพาต ลดการอักเสบ ของโรคไขข้อเสื่อม รูมาตอยด์ ลดอาการปวดหัวไมเกรนและปวดประจำเดือน เพิ่มภูมิคุ้มกันร่างกายและลดอาการของโรคภูมิแพ้ โอเมก้า 6 (Linoleic acid) ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ โดยการลดการแข็งตัวของเลือดด้วยการลดการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดทำให้หลอดเลือดที่หัวใจเป็นปกติ ลดอัตราการเกิดโรคความดันโลหิตสูง ลดการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง ป้องกันโรคสมองเสื่อมหรือโรคอัลไซเมอร์ โดยลดการแข็งตัวของเยื้อหุ้มเม็ดเลือดแดงทำให้สมองได้รับอ๊อกซิเจนมากขึ้นนอกจากนี้ยังพบว่า EPA และ DHA มีบทบาทในการควบคุมการตอบสนองการอักเสบผ่านการผลิตสารที่เรียกว่า Eicosanoids (Lee et al, 2009; Oliver et al, 2010) รวมทั้งยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์ องค์ประกอบคุณค่าทางอาหารที่ให้สัตว์น้ำกินมีบทบาทอย่างมากในการเพิ่มการรอดตายและการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยเฉพาะกรดไขมัน ซึ่งกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ได้แก่ Ecosapentaenoic acid และ Docosahexaenoic acid เนื่องจากสัตว์น้ำวัยอ่อนบางชนิด

ไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นได้จะต้องได้รับจากการกินอาหารเท่านั้น (สุพิศ ทองรอด, 2535) จากการที่มีความต้องการในการบริโภคกรดไขมันเหล่านี้เพิ่มขึ้น ทำให้มีการนำเทคนิคต่าง ๆ มาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์สิ่งมีชีวิตให้มีศักยภาพในการผลิตกรดไขมันได้ตามที่ต้องการ มีการค้นหาแหล่งกรดไขมันจากสิ่งมีชีวิตกันอย่างกว้างขวางและด้วยหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในทะเลก่อให้เกิดสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางทะเลมีศักยภาพที่ดีหลายชนิด เช่นกรดไขมันไม่อิ่มตัว Sterols โปรตีน Polysaccharides สารต้านอนุมูลอิสระและสี เป็นต้น สารเหล่านี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพสามารถต้านมะเร็งหรือป้องกันการอักเสบได้ (Bhatnagar & Kim, 2010; Sinéad Lordan et al, 2011) โดยเฉพาะจุลินทรีย์เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้รวดเร็วในอาหารที่ไม่ซับซ้อนใช้วัตถุดิบได้หลากหลายและราคาถูก การคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมจากธรรมชาติสามารถทำได้ง่ายเนื่องจากมีความหลากหลายสูง การปรับปรุงสายพันธุ์ก็สามารถทำได้ง่ายโดยอาจใช้วิธีเปลี่ยนแปลงระบบเอนไซม์หรือวิถีในการสังเคราะห์ อีกทั้งกรดไขมันจากจุลินทรีย์สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่ายกว่าจากแหล่งอื่น ซึ่งสามารถนำมาทดแทนการผลิตทางเกษตรกรรมหรือการผลิตจากน้ำมันสัตว์ได้ ปัจจุบันแหล่งวัตถุดิบในการสกัด DHA จะมาจากน้ำมันปลาทะเล แต่ปริมาณของ DHA ในน้ำมันปลามีอยู่จำกัด (ประมาณ 7-14%) (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2552) ทำให้ในการผลิตต้องใช้ปลาจำนวนมาก และมลพิษเกิดขึ้นในทะเล เช่น การปนเปื้อนโดยสารฆ่าแมลงและโลหะหนัก อาจส่งผลกระทบต่อทั้งคุณภาพและปริมาณของกรดไขมันที่ได้ ดังนั้นการผลิต DHA จากจุลินทรีย์ทะเลน่าจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ โดยเฉพาะเชื้อยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารหลายอย่างและชนิดและกรดไขมันจากยีสต์มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับกรดไขมันที่ได้จากพืช ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดจำเป็น (กอบกุล เหล่าเท้ง, 2001) การศึกษาในครั้งนี้มุ่งเน้นการใช้วัตถุดิบที่เหลือใช้ทางการเกษตร ในเขตจังหวัดชลบุรี เช่น ชานอ้อย กากมัน กากน้ำตาล มาใช้ในการหมักเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเหลือใช้ ปัจจุบันวัสดุที่เหลือใช้จากทางการเกษตรและอุตสาหกรรมถือเป็นแหล่งในการเจริญและการสร้างพลังงานที่ดี ทั้งนี้เพื่อลดต้นทุนและการใช้ทรัพยากรจากธรรมชาติอย่างคุ้มค่า จากการศึกษาพบว่าแหล่งที่พบยีสต์ที่เจริญเติบโตได้รวดเร็วและสามารถให้จำนวนเซลล์ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น คือ แหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง ปัจจุบันวัสดุที่เหลือใช้ ดังเช่น กากชานอ้อย พบว่ามีองค์ประกอบหลักของน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ที่ประกอบด้วยน้ำตาล 2 โมเลกุล คือ น้ำตาลกลูโคส (Glucose) และน้ำตาลฟรุกโตส (Fructose) กากชานอ้อยถือเป็นชีวมวลที่เหลือใช้จากทางการเกษตร จึงมีความเป็นไปได้ที่นำกากชานอ้อยมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตของยีสต์ ในการศึกษาครั้งนี้ จึงมีการเลี้ยงยีสต์โดยการใช้กากชานอ้อยเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน

เนื่องจากปัญหาการดื้อยา Antibiotic จึงมีการนำสารเสริมชีวนะ (Probiotic) มาใช้ในการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย โดยหาผลผลิตจากสารประกอบต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ต่อต้านเชื้อ สารประกอบที่นำมาศึกษาได้แก่ วิตามิน กรดไขมัน และ Digestive enzymes (Niall et al, 2006) และมีการศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวชนิดคาร์บอนสายยาว ซึ่งรายงานแสดงให้เห็นว่ากรดไขมันสายยาวคาร์บอนมากกว่า 10 ตัว จะ Induced lysis of bacterial protoplasts (Nieman, 1954; Galbbraith & Millter, 1973a-c) และจากงานวิจัยพบว่าอาหารที่มีกรดไขมันชนิด n-3 สูง จะเพิ่มอัตราการอยู่รอดและลดความรุนแรง

ของเชื้อโรคที่เกิดตามธรรมชาติได้ (Ergas, 2002; Simupoulos, 2002) เช่นเดียวกับงานวิจัยผลของโภชนาการด้านกรดไขมันในการต่อต้านโรค (Autoimmune disease) ของ Harbige (1998) ที่กล่าวว่าอาหารที่มี กรดไขมันชนิด n-3 สูง จะเพิ่มอัตราการอยู่รอดและลดความรุนแรงของโรคในสัตว์ทดลองเช่นกัน ปลาตู้น้ำเค็มเป็นปลาที่ยอมรับต่อโรคติดเชื้อได้ง่าย เช่น เชื้อแบคทีเรีย โปรตัวซัว โรคปลาที่พบได้บ่อยในการเลี้ยงปลาตู้น้ำเค็มได้แก่ โรคพยาธิ โรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย และไวรัส ซึ่งโรคที่เกิดจากโปรตัวซัว จะสังเกตเห็นได้ช้า ก่อให้เกิดความเสียหายมากมายต่อการเพาะเลี้ยง ปัจจุบันมีการคิดค้นวัคซีนป้องกันโรคปลาและใช้สารเคมีบางชนิดเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกันต่อโรคให้ปลากิน เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะซึ่งมีราคาแพง ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาสารสกัดไขมันจากจุลินทรีย์ทะเล โดยเฉพาะจากยีสต์ทะเล หรือแบคทีเรียทะเล/ แอคติโนมัยซีท ซึ่งรูปแบบของไขมันและกรดไขมัน ที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อนำไปพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมาก และใช้เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเสริมสุขภาพสำหรับมนุนย์ ตลอดจนพัฒนาเป็นสารกระตุ้นภูมิสำหรับสัตว์น้ำ อันจะเป็นทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

การทบทวนวรรณกรรม/ สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

ลิปิด (Lipid)

ลิปิด หมายถึง กรดไขมันและอนุพันธ์รวมถึงสารอื่น ๆ ที่ทำหน้าที่คล้ายคลึงกับกรดไขมัน และอนุพันธ์ลิปิดเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญทางชีวเคมีของเมมเบรน มีผลต่อกระบวนการควบคุมของน้ำ และเกลือแร่ (Osmoregulation และ Ionic regulation) การสืบพันธุ์ การนำอาหารไปใช้ตลอดจนการลำเลียงสารอาหาร สามารถสกัดได้จากเซลล์หรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่ละลายได้ในสารอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ และเบนซีน เป็นต้น ลิปิดที่พบในธรรมชาติมักไม่อยู่ในสภาพอิสระ จะประกอบกับชีวมวลอื่น เช่น ถ้ารวมอยู่กับคาร์โบไฮเดรตเรียกว่า “ไกลโคลิปิด (Glycolipid)” และรวมอยู่กับโปรตีนเรียกว่า “ลิโปโปรตีน (Lipoprotein)” นอกจากนี้ ลิปิดแบ่งออกได้หลายประเภท ส่วนใหญ่ประกอบด้วยองค์ประกอบที่เรียกว่า “กรดไขมัน (Fatty acid)” (สุกัญญา สุนทรส และวิเชียร ริมพณิชยกิจ, 2553)

บทบาทและความสำคัญของลิปิด

1. เป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อหุ้มเซลล์และอวัยวะเซลล์ (Biological membrane)

2. เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานมากที่สุดเมื่อเทียบต่อน้ำหนักที่เท่ากัน โดยไขมัน 1 กรัม ให้พลังงานโดยประมาณ 9 กิโลแคลอรี โปรตีนให้พลังงานโดยประมาณ 5 กิโลแคลอรี และคาร์โบไฮเดรตให้พลังงานเพียง 4 กิโลแคลอรี

3. เป็นสารให้ความอบอุ่นและช่วยป้องกันอวัยวะต่าง ๆ ภายในร่างกายไม่ให้กระทบกระเทือน และยังเป็นฉนวนป้องกันการสูญเสียความร้อนจากร่างกาย

4. เป็นตัวเคลือบหรือฉาบผิวสิ่งมีชีวิต เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำหรือป้องกันไม่ให้น้ำเข้าภายในและยังมีผลป้องกันการติดเชื้อด้วย

5. เป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญบางอย่างได้แก่ วิตามินที่ละลายในไขมัน (Vitamin A, D, E, K) รวมทั้งฮอร์โมน เช่น พรอสทาเกลนดิน (Prostaglandin), สเทอรอยด์ (Steroid) และกรดไขมัน

6. เป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ของแบคทีเรียและพืชชั้นสูง รวมทั้งผิวหนังและระบบประสาทของสัตว์มีกระดูกสันหลัง และเป็นองค์ประกอบของปีกและลำตัวแมลง (พัชรี บุญศิริ และคณะ, 2551)

ชนิดของลิปิด

ลิปิดสามารถจำแนกได้หลายแบบคือ

1. ลิปิดจำแนกตามโครงสร้างทางเคมี แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

1.1 Simple lipid เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย ๆ ได้แก่

1.1.1 ไขมัน (Fat) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน 3 โมเลกุล กับ กลีเซอรอล 1 โมเลกุล เรียกว่า “ไตรกลีเซอรอล หรือ ไตรเอซิลกลีเซอรอล” ไขมันมีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง หากมีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง เรียกว่า “น้ำมัน (Oils)”

1.1.2 แวกซ์ (Waxes) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเพียงหมู่เดียว (Monohydric alcohol) และมีน้ำหนักโมเลกุลสูง

1.2 Compound lipid เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์และมีสารอื่นรวมอยู่ด้วย ได้แก่

1.2.1 ฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) เป็นกลุ่มของลิปิดที่โมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมัน แอลกอฮอล์ กรดฟอสฟอริค เบสที่มีไนโตรเจน และอาจมีสารประกอบอื่น ๆ

1.2.2 ไกลโคลิปิด (Glycolipid) เป็นกลุ่มของลิปิดที่โมเลกุลประกอบด้วย กรดไขมัน คาร์โบไฮเดรต เบสที่มีไนโตรเจน แต่ไม่มีกรดฟอสฟอริค

1.2.3 ลิปิดเชิงประกอบอื่น ๆ ได้แก่ ไลโปโปรตีน และอะมิโนลิค

1.3 Derived lipid เป็นสารประกอบที่ได้จากไฮโดรไลซิสของลิปิด 2 กลุ่มแรก ซึ่งได้แก่ กรดไขมัน กลีเซอรอล โมโนกลีเซอไรค์ สเตอรอยด์ โคเลสเตอรอล วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน แคโรทีนอยด์ พรอสตาแกลนดิน เทอร์ปีน ควีโนน และคีโตนบอดีส์ (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549)

2. ลิปิดจำแนกตามคุณสมบัติ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

2.1 Neutral lipid ได้แก่ ไตรกลีเซอไรค์ โคเลสเตอรอล สเตอรอยด์อื่น ๆ รวมทั้งวิตามินที่ละลายในไขมันคือ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค ลิปิดกลุ่มนี้มีสมบัติเป็นกลาง

2.2 Amphiphilic lipid ได้แก่ ฟอสโฟลิปิดชนิดต่าง ๆ เช่น เลซิติน และสฟิงโกมัยอิลิน ลิปิดกลุ่มนี้มีสมบัติเป็น Bilayer เนื่องจากส่วนของโมเลกุลมีทั้งเป็นโพลาร์ (Polar) ซึ่งละลายน้ำได้ และส่วนที่เป็นนอนโพลาร์ (Nonpolar) ซึ่งไม่ละลายน้ำ ดังนั้นสารประกอบพวกฟอสโฟลิปิดจึงหมุนตัวอยู่ที่ผิวของสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าหรือบนผิวน้ำ หรือแทรกตัวอยู่ระหว่างผิวของของเหลว 2 ชนิดที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน สมบัติของฟอสโฟลิปิดเหล่านี้ จึงมีความสำคัญต่อการทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของเซลล์เมมเบรนและการนำไปใช้ประโยชน์เป็น Surfactants หรือ Emulsifying agent (สมศักดิ์ วรคามิน, 2552)

3. ลิปิดจำแนกตามหน้าที่ในสิ่งมีชีวิต แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

3.1 ลิปิดที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมพลังงาน ลิปิดส่วนใหญ่ที่สะสมอยู่ในร่างกายจะอยู่ในรูปไตรกลีเซอไรด์ นอกจากนี้ยังพบได้ตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั้งของพืชและสัตว์ เป็นแหล่งสะสมพลังงานให้แก่เซลล์ กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ที่ร่างกายสะสมไว้จะแปรผันตามชนิดกรดไขมันในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ที่ได้รับจากอาหาร

3.2 ลิปิดที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง ได้แก่ ฟอสโฟลิปิด และ โคเลสเตอรอล ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในร่างกาย และเนื้อเยื่อสมอง ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบมีความสำคัญต่อชนิดของเนื้อเยื่อซึ่งมีความจำเพาะเจาะจง ถึงแม้ว่าชนิดของกรดไขมันจะผันแปรตามชนิดและปริมาณอาหารที่ร่างกายได้รับก็ตาม แต่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ลิปิดบางชนิดได้ (ประดิษฐ์ มีสุข, 2547)

กรดไขมัน (Fatty acid)

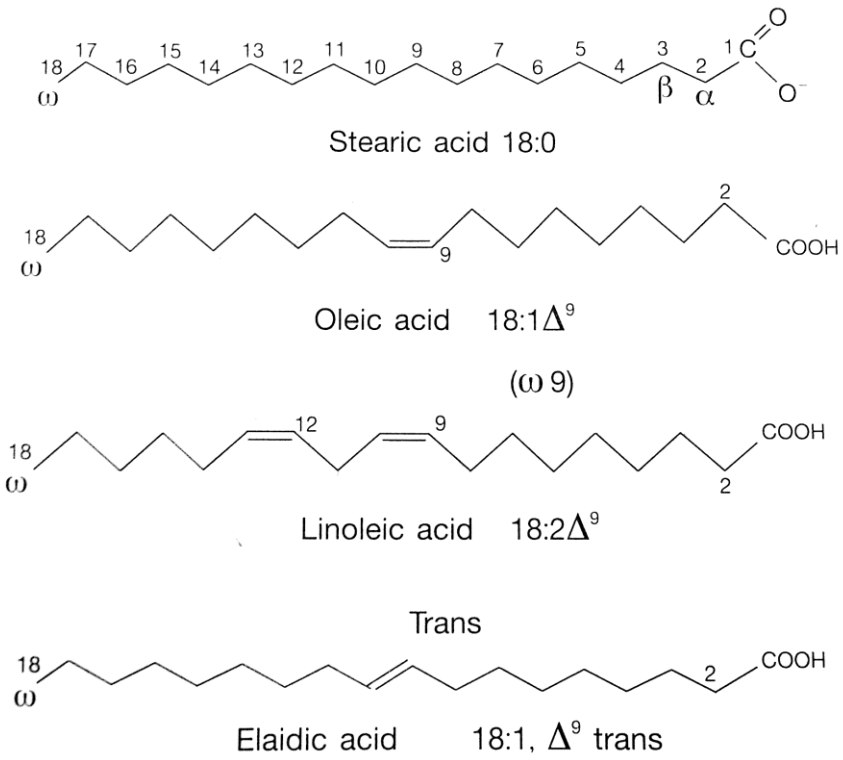
กรดไขมันจัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิค (Carboxylic acid) ที่มีหมู่ –COOH เพียงหมู่เดียวต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาวเส้นตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็น

จำนวนคู่ ระหว่าง 4-24 อะตอม และพบในรูปกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) เล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน (Saponifiable lipid) (ศุภศิษฏ์ อรุณรุ่งสวัสดิ์, 2541)

การเรียกชื่อกรดไขมันและการเขียนสัญลักษณ์

กรดไขมันแต่ละชนิดต่างกันที่ความยาวของโมเลกุล จำนวนพันธะและตำแหน่งพันธะคู่ การเรียกชื่อกรดไขมันมีทั้งการเรียกชื่อสามัญ เรียกตามระบบ และการใช้สัญลักษณ์ ชื่อสามัญเป็นชื่อที่ ผู้ค้นพบตั้งขึ้นโดยมีที่มาแตกต่างกัน ชื่อตามระบบใช้เรียกชื่อกรดไขมันเพื่อให้มาตรฐานเดียวกัน โดยการแสดงจำนวนคาร์บอนเป็นภาษากรีก และตามด้วย –anoic สำหรับกรดไขมันอิ่มตัว และ –enoic สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัว การเรียกชื่อกรดไขมันนิยมเรียกชื่อสามัญ ตามด้วยการใช้สัญลักษณ์ เพราะสัญลักษณ์สามารถบอกความยาวโมเลกุล จำนวนคาร์บอนและตำแหน่งพันธะคู่ในกรณีที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว การใช้สัญลักษณ์ประกอบด้วยเลข 2 ชุดซึ่งมีเครื่องหมาย : คั่น ตัวเลขข้างหน้าเครื่องหมาย : แสดงจำนวนคาร์บอน ตัวเลขข้างหลังเครื่องหมาย : แสดงจำนวนพันธะคู่ ในการนับจำนวนคาร์บอนเพื่อบอกตำแหน่งพันธะคู่ ในปัจจุบันใช้อยู่ 3 ระบบคือ ระบบ Δ, n และ ω (Omega) โดยระบบ Δ และ n นับคาร์บอนทุกอะตอมแต่มีทิศทางที่แตกต่างกัน ขณะที่ระบบ ω ไม่นับคาร์บอนของฟังก์ชัน (คาร์บอกซิล) ระบบ Δ เริ่มนับจากหมู่คาร์บอกซิลขณะที่ระบบ ω เริ่มนับจากคาร์บอนอะตอมแรกที่อยู่ติดกับหมู่คาร์บอนซิล (หมู่ฟังก์ชั่น) ส่วนระบบ n เริ่มนับจากปลายโมเลกุลด้านเมทิล ($-CH_3$) จะเห็นได้ว่าระบบการนับจำนวนคาร์บอนเพื่อบอกตำแหน่งพันธะคู่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากถูกตั้งขึ้นมาจากกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ที่สนใจบทบาททางชีวภาพที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ระบบ Δ และ ω นิยมใช้ในกระบวนการสลายไขมันที่เรียกว่า “วิถี β-ออกซิเดชั่น” ส่วนระบบ n นิยมใช้ในกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน

ปลายเมทิล	CH_3–	CH_2–	CH_2–	CH_2–	CH_2–	CH_2–	CH_2–	CH_2–	CH_2–COOH	ปลายคาร์บอกซิล
ระบบ Δ	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
ระบบ n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ระบบ ω	ω	ω-1.....				δ	γ	β	α	



ภาพที่ 1 การเขียนสัญลักษณ์กรดไขมัน

ภาพที่ 1 ตัวอย่างกรดไขมันอิ่มตัวมีชื่อสามัญว่า กรดไขมันสเตียริกมีคาร์บอน 18 อะตอมมีสัญลักษณ์เป็น 18:0 สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีชื่อสามัญว่ากรดไขมันโอเลอิก มีคาร์บอน 18 อะตอม มี 1 พันธะคู่ (cis-) ที่ระหว่างตำแหน่งที่ 9 กับ 10 จะใช้สัญลักษณ์เป็น 18:1 n9 หรือกรดไขมันไลโนเลอิกที่มีคาร์บอน 18 อะตอม มี 2 พันธะคู่ (cis-) ที่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 9 กับ 10 และที่ตำแหน่งที่ 12 กับ 13 เขียนสัญลักษณ์เป็น 18:2 $\Delta^{9, 12}$ หรือ $\Delta^{-6, -9}$ จะเห็นได้ว่าปลายพันธะคู่แบบ cis ไม่ต้องเขียนคำว่า cis ไว้ แต่ถ้าเป็นแบบ trans ต้องเขียนคำว่า trans ไว้ด้วย เช่น กรดไขมันอีไรดิก (Elaidic acid) มีคาร์บอน 18 อะตอม มี 1 พันธะคู่ (trans) เขียนสัญลักษณ์เป็น 18:1$\Delta^{9(trans)}$ (ดาวัลย์ ฉิมภู่, 2550)

กรดไขมันที่พบมากที่สุดในกลุ่มลิปิด แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

1. กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids) เป็นกรดไขมันที่มีโซ่คาร์บอนสายสั้นและยาวและไม่มีพันธะคู่ (Double bond) จึงทำให้มีจุดหลอมเหลวสูง (กรดไขมันอิ่มตัวที่มีโซ่คาร์บอนยาวบางชนิดอาจมีจุดหลอมเหลวมากกว่า 60 องศาเซลเซียส) ดังนั้นกรดไขมันชนิดนี้จึงแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง และกรดอะซิติก (Acetic, CH_3COOH) เป็นต้นกำเนิดของการสังเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวโดยขบวนการ Elongation คือ การเพิ่มจำนวนคาร์บอนเข้าไปครั้งละ 2 อะตอม น้ำมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่มากจะอยู่ในสภาพที่เป็นไขและมีสภาพแข็งตัวเมื่ออุณหภูมิต่ำ หรือในฤดูหนาว เช่น น้ำมันหมู น้ำมันวัว เป็นต้น กรดไขมันอิ่มตัวที่พบเป็นองค์ประกอบในน้ำมันทั่วไป เช่น

กรดไขมันไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) และกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0)

ตารางที่ 1 กรดไขมันอิ่มตัวชนิดต่าง ๆ (อาภัสสรา ชมิดท์, 2543)

ชื่อสามัญ	สูตร	สัญลักษณ์ย่อ	จุดหลอมเหลว (องศาเซลเซียส)
กรดบิวไทริก (Butyric)	$C_4H_8O_2$	4:0	- 7.9
กรดคาโพรอิก (Capoic)	$C_6H_{12}O_2$	6:0	- 3.4
กรดคาไพริก (Caprylic)	$C_8H_{16}O_2$	8:0	16
กรดคาพริก (Capric)	$C_{10}H_{20}O_2$	10:0	31
กรดลอริก (Lauric)	$C_{12}H_{24}O_2$	12:0	44
กรดไมริสติก (Myristic)	$C_{14}H_{28}O_2$	14:0	54
กรดปาล์มิติก (Palmitic)	$C_{16}H_{32}O_2$	16:0	63
กรดสเตรียริก (Stearic)	$C_{18}H_{36}O_2$	18:0	70
กรดอะราซิติก (Arachidic)	$C_{20}H_{40}O_2$	20:0	76

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) เป็นกรดไขมันที่มีโซ่คาร์บอนยาว (16-22 อะตอม) และมีพันธะคู่ตั้งแต่ 1-6 กรดไขมันกลุ่มนี้ มีจุดหลอมเหลวต่ำ โดยจุดหลอมเหลวของกรดไขมันแต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลและตำแหน่งของพันธะคู่โดยทั่วไปกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่ในสภาพที่เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง และบางชนิดยังเป็นของเหลวที่จุดเยือกแข็ง เช่น กรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) ซึ่งมีจุดหลอมเหลวที่ -11 องศาเซลเซียส ในขณะที่กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) มีโซ่คาร์บอนโมเลกุลยาวถึง 20 โมเลกุล มีพันธะคู่ 5 คู่ จึงทำให้กรดไขมันชนิดนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำคือ-54 องศาเซลเซียส เป็นต้น กรดไขมันไม่อิ่มตัวพบเป็นองค์ประกอบอยู่มากในน้ำมันพืชและน้ำมันจากสัตว์น้ำ (พัชรี บุญศิริ, เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์ และอุบล ชาอ่อน, 2551)

กรดไขมันไม่อิ่มตัว สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

2.1 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated fatty acid, MUFA) เป็นกรดไขมันที่โซ่คาร์บอนเชื่อมกันในสายด้วยพันธะคู่เพียง 1 ตำแหน่ง พบได้ในไขมันแทบทุกชนิด และพบมากมี 2 ชนิด คือ กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7) และกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9)

2.2 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) เป็นกรดไขมันที่โซ่คาร์บอนเชื่อมกันในสายด้วยพันธะคู่ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป นอกจากนี้กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 20 คาร์บอนอะตอมขึ้นไป และมีจำนวนพันธะคู่มากกว่า 2 ตำแหน่งขึ้นไป เรียกกรดไขมันกลุ่มนี้ว่า “Highly unsaturated fatty acid, HUFA” โดยทั่วไปจะใช้เรียกกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 เช่น กรดไขมันอิโคซะไตรอีโนอิก (Eicosatrienoic acid, C20:3n3), กรดไขมันไอโค

ซะไตรอีโนอิก (Eicosatetraenoic acid, C20:4n3), กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) และกรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid, C22:6n3) หรือกลุ่มโอเมก้า 6 เช่น กรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic acid, C20:4n6) เป็นต้น กรดไขมันในกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวที่ต่ำ และจุดหลอมเหลวของกรดไขมันแต่ละชนิดขึ้นกับจำนวนของคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล และตำแหน่งของพันธะคู่ (พิทักษ์ สูตอนันต์, 2552)

ตารางที่ 2 กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดต่าง ๆ (พัชรี บุญศิริ และคณะ, 2551)

ชื่อสามัญ	สูตร	สัญลักษณ์ย่อ	จุดหลอมเหลว (องศาเซลเซียส)
กรดปาล์มิโตเลอิก (Palmitoleic)	$C_{16}H_{30}O_2$	16:1, n-7	0.5
กรดโอเลอิก (Oleic)	$C_{18}H_{34}O_2$	18:1, n-9	13.4
กรดไลโนเลอิก (Linoleic)	$C_{18}H_{32}O_2$	18:2, n-6	- 5.0
กรดไลโนเลนิก (Linolenic)	$C_{18}H_{30}O_2$	18:3, n-3	- 11.0
กรดอะราซิโดนิก (Arachidonic)	$C_{20}H_{32}O_2$	20:4, n-6	- 49.5
กรดอิโคซะเพนตะอีโนอิก (Eicosapentaenoic)	$C_{20}H_{30}O_2$	20:5, n-3	- 54.0
กรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก (Docosahexaenoic)	$C_{22}H_{32}O_2$	22:6, n-3	- 44.0

ความสำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6

กลุ่มโอเมก้า 3

กรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นกลุ่มของกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง เป็นหนึ่งในกรดไขมันที่จำเป็น (Essential fatty acid) สำหรับร่างกาย ซึ่งในสูตรโครงสร้างโมเลกุลจะมีพันธะคู่อยู่ไม่น้อยกว่า 3 ตำแหน่ง โดยพันธะคู่แรกจะอยู่ที่ตำแหน่งของคาร์บอนตัวที่ 3 นับจากปลายโมเลกุลด้านที่มีกลุ่มของเมธิล (Methyl group) เข้าไป และส่วนพันธะคู่ต่อไปจะอยู่ตรงตำแหน่งคาร์บอนถัดไปครั้งละ 3 ตำแหน่ง (Anderson, 1994)

กรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid) เป็นกรดไขมันชนิดกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม และมีพันธะคู่ (double bond) 3 ตำแหน่ง ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9, 12 และ 15 เป็น Polyunsaturated fatty acid กรดไขมันไลโนเลนิก เป็นกรดไขมันที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย (Essential fatty acid) เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นของกรดไขมันกลุ่มเดียวกันที่มีโซ่คาร์บอนสายยาว (Anderson, 1994) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบน้ำมันพืช เช่น น้ำมันเมล็ดแฟลก น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันคาโนลา และสาหร่าย สไปรูลินา (Spirulina) ส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันและไขมันที่ใช้รับประทาน เช่น น้ำมันปลา และน้ำมันตับปลา

กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) เป็นกรดไขมันที่สร้างมาจากกรดไขมัน ไลโนเลนิกและเป็นสารตั้งต้นของ Eicosanoids อีพีเอเป็นกรดไขมันที่มีคุณสมบัติ ลดการจับตัว

ของเกล็ดเลือด และสร้างสารที่ทำให้เส้นเลือดขยายตัวได้ดี จึงลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้จากสมมติฐานทางการแพทย์ของการเกิดโรคหัวใจอุดตัน พบว่าการเกิดลิ่มเลือด (Thrombogenesia) เป็นสาเหตุที่สำคัญประการหนึ่งของปัญหาโรคหัวใจและหลอดเลือด Thromboxanes A_3 ที่สร้างมาจากกรดไขมันอีพีเอที่มีคุณสมบัติต้านการรวมตัวของเกล็ดเลือดบริเวณผนังหลอดเลือด ทำให้สามารถลดความหนืดของเลือดลง และช่วยเพิ่มระดับของเหลวในเมมเบรน ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้สามารถพบได้ในน้ำมันปลาชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะปลาทะเล ดังนั้นการบริโภคปลาเป็นประจำย่อมลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้ (สมศักดิ์ วรคามิน, 2552) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบมากในน้ำมันปลา (Fish oil), น้ำมันลินสีด (Linseed oil), น้ำมันวอลนัท (Walnut oil), น้ำมันคาโนล่า (Canola oil), น้ำมันถั่วเหลือง (Soybean oil), น้ำมันข้าวโพด และสาหร่าย (Aslan and Triadafilopoulos, 1992)

กรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid, C22:6n3) เป็นกรดไขมันที่สร้างมาจากกรดไขมันไลโนเลนิกเช่นเดียวกับกรดไขมันอีพีเอ มีความสำคัญต่อร่างกายและมีผลโดยตรงต่อสุขภาพมนุษย์ (โดยเฉพาะทารก) พบได้ที่บริเวณเรตินาของดวงตาและผนังเซลล์ทั่วร่างกาย ทำให้เซลล์มีความไวต่อการรับสัญญาณประสาทและที่สำคัญที่สุดคือ เป็นส่วนประกอบของเซลล์สมองซึ่งพบในปริมาณสูง กรดไขมันดีเอชเอที่เข้าไปในสมองจะเสริมสร้างการเจริญเติบโตของปลายประสาทที่เรียกว่า “เดนไดรต์ (Dendrite)” ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดสัญญาณส่งผ่านข้อมูลระหว่างสมองด้วยกันทำให้เกิดการเรียนรู้และการจดจำ นอกจากนี้กรดไขมันดีเอชเอยังช่วยป้องกันการเกิดโรคทางหัวใจและหลอดเลือด ช่วยบำบัดโรคที่เกี่ยวข้องกับความชราภาพ และมีผลทำให้การตั้งครรภ์และการคลอดบุตรเป็นไปตามปกติ (สมศักดิ์ วรคามิน, 2552) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบในปลาทะเล น้ำนมแม่ ไข่แดง และสาหร่ายทะเล

กลุ่มโอเมก้า 6

โครงสร้างของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 6 เป็นกลุ่มของกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง เป็นกรดไขมันที่จำเป็น (Essential fatty acid) ต่อร่างกายมนุษย์ เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 จากปลายด้านเมทธิล กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 6 มีหลายชนิด โดยมีเพียงบางชนิดมีความสำคัญต่อการทำงานร่างกาย ได้แก่ กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic acid, C20:4n6) (Abbey & Nestel, 1994)

กรดไขมันไลโนเลอิก กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม และมีพันธะคู่ 2 คู่ พันธะคู่อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9 และ 12 มีชื่อเคมีว่า 9, 12 octadecadienoic acid จัดเป็น Polyunsaturated fatty โครงสร้างที่พบตามธรรมชาติเป็นแอลฟา-ไลโนเลอิก (Alpha-linoleic acid) กรดไขมันไลโนเลอิกถือเป็นกรดไขมันจำเป็นที่เป็นสารตั้งต้นของกรดไขมันกลุ่มเดียวกันที่มีโซ่คาร์บอนสายยาว (Adler & Holub, 1997) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบมากในน้ำมันพืช เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันงา น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันเมล็ดคำฝอย และน้ำมันปลา

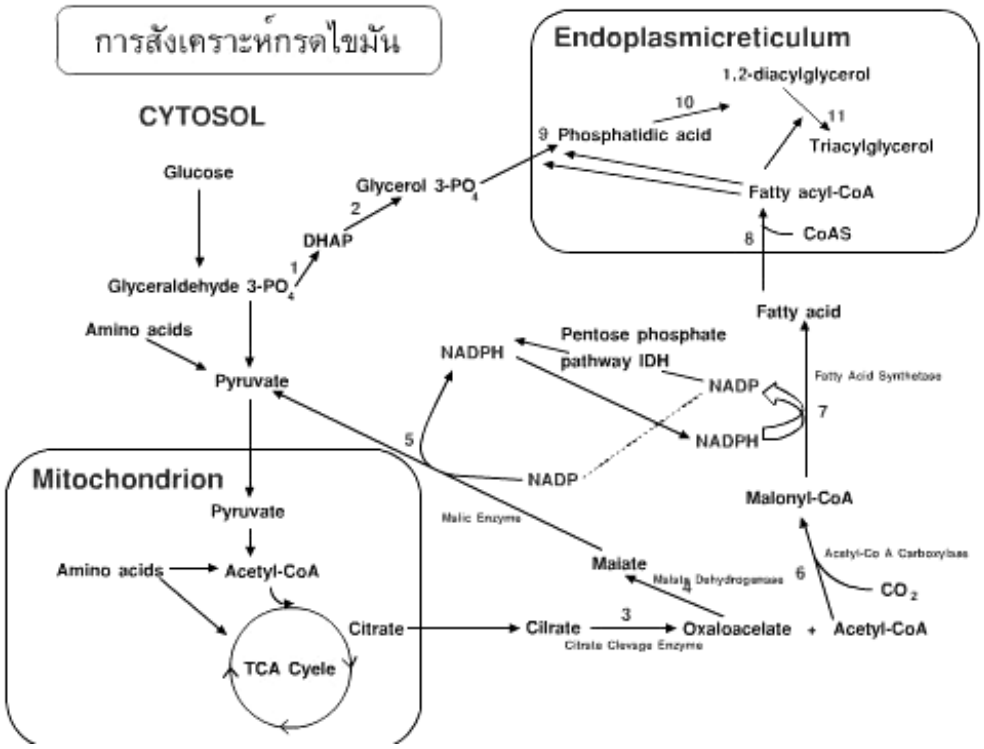
กรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic acid, C20:4n6) เป็นกรดไขมันที่สร้างมาจากกรดไขมันไลโนเลอิกและเป็นสารเริ่มต้นของ Eicosanoids เช่น Thromboxanes A_2 มีคุณสมบัติในการทำให้เม็ดเลือดเกาะกลุ่มกรดไขมันเออาร์เอ มีบทบาทในการสร้างและการเก็บความจำระยะยาวของ

ทารกซึ่งเป็นพื้นฐานของการเรียนรู้ ช่วยเพิ่มความไวของการรับแสงในส่วนเรตินาของลูกตา และความสามารถในการมองเห็น กรดไขมันเออาร์เอเป็นส่วนประกอบหลักของซินแนปซ์หรือจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ประสาท และมีบทบาทเป็นตัวนำข้อมูลตรงรอยต่อของซินแนปซ์และภายในเซลล์ นอกจากนี้กรดไขมันเออาร์เอ ยังช่วยเพิ่มความเร็วในการส่งสัญญาณประสาทระหว่างเซลล์ประสาทของทารกเพื่อนำข้อมูลมาเก็บไว้ในสมอง ซึ่งเป็นการช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของกระบวนการเรียนรู้และความจำในระยะยาว (Albert & Henneks, 1998) แหล่งที่พบ โดยทั่วไปพบมากในน้ำมันตับปลา น้ำมันจากปลาทะเล น้ำมันเมล็ดคำฝอย น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง (ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร, 2558)

การสังเคราะห์กรดไขมัน (Fatty acid synthesis)

การสังเคราะห์กรดไขมัน หมายถึง การนำเอาอะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl-Co A) ที่ได้จากการสลายกรดอะมิโน การสลายกรดไขมันหรือการสลายกลูโคสมาใช้การสร้างหรือสังเคราะห์กรดไขมันเพื่อเป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อเซลล์ การสังเคราะห์ดังกล่าวเกิดในไซโทพลาซึม และจำเป็นต้องใช้พลังงานจำนวนหนึ่งในการนำเอาคาร์บอนมาต่อกันทีละ 2 อะตอม (Elongation) หรือสร้างพันธะคู่ (Desaturation) ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด ฉะนั้นมีผลทำให้องค์ประกอบกรดไขมันที่พบในเนื้อเยื่อ เช่น ตับ กล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อไขมันจึงมีความแตกต่างกัน

กระบวนการเหล่านี้ เริ่มจากอะซิติลโคเอนไซม์เอจะรวมกับออกซาโลอะซิเตท (Oxaloacetate) ได้เป็นซิเตรท (Citrate) ซึ่งจะถูกนำออกมาจากไมโทคอนเดรียมาอยู่ในไซโทพลาซึม แล้วถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซิเตรทคลีเวจ (Citrate clevage enzyme หรือ Citrate lyase) ได้เป็นออกซาโลอะซิเตทและอะซิติลโคเอนไซม์เอ ต่อมาออกซาโลอะซิเตทจะถูกรีดิวซ์เป็นมาเลท (Malate) โดยเอนไซม์มาเลทดีไฮโดรจิเนส (Malate dehydrogenase) แล้วมาเลทก็จะถูกออกซิไดส์ด้วยเอนไซม์มาลิค (Malic enzyme) ได้เป็นไพรูเวท (Pyruvate) ซึ่งจะกลับเข้าไปในไมโทคอนเดรียอีกครั้ง ส่วนอะซิติลโคเอนไซม์เอจะทำปฏิกิริยากับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยอาศัย เอนไซม์อะซิติลโคเอนไซม์เอคาร์บอกซิเลส (Acetyl-Co A carboxylase) ได้เป็นมาโลนิลโคเอนไซม์เอ (Malonyl-Co A) ซึ่งต่อมาจะถูกนำมาสังเคราะห์ให้เป็นกรดไขมันโดยการใช้เอนไซม์ แฟตตีเอซิดซินทีเทส (Fatty acid synthetase) และพลังงาน (NADPH) (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การสังเคราะห์กรดไขมัน (ดาวัลย์ ฉิมภู่, 2550)

การศึกษาการสังเคราะห์กรดไขมันดังกล่าว โดยการใช้อะซิเตท (Acetate) ที่ผ่าน (Labeled) สารกัมมันตภาพรังสีฉีดเข้าไปในปลาแล้ววิเคราะห์เนื้อเยื่อปลา พบว่าปลามีความสามารถนำเอาอะซิเตทไปสังเคราะห์เป็นกรดไขมันที่อิ่มตัว (Saturated fatty acid) หรือกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) ซึ่งมี 1 พันธะคู่ (Monoenoic acid) เท่านั้น ปลาจะสามารถสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) สูงได้ก็ต่อเมื่อต้องได้รับสารตั้งต้นจากอาหาร ซึ่งได้แก่ กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) เท่านั้น (ดาวัลย์ ฉิมภู่, 2550)

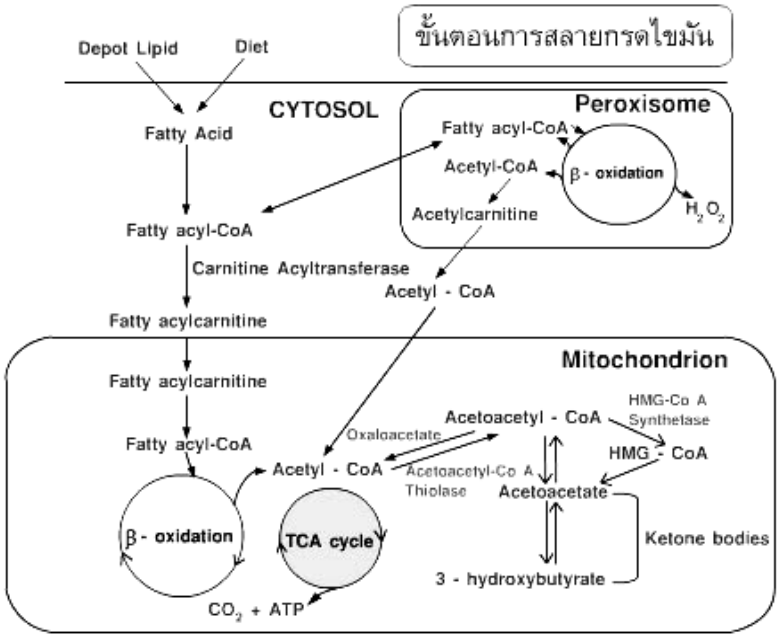
การสลายกรดไขมัน

การสลายกรดไขมันหรือการเผาผลาญกรดไขมัน หมายถึง การนำกรดไขมันมาออกซิไดส์เพื่อให้ได้พลังงานออกมา โดยอาจเกิดขึ้นได้ทั้งในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) และในเพอร์ออกซิโซม (Peroxisome)

กระบวนการเหล่านี้เริ่มจากกรดไขมันที่ได้จากการย่อยและดูดซึมอาหาร จะอยู่ในไซโทพลาสซึม แต่จะถูกนำเข้าไปในไมโทคอนเดรียเพื่อการสลายกรดไขมัน โดยกรดไขมันจะรวมกับโคเอนไซม์เอ (Coenzyme A) ได้เป็นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอ (Fatty Acyl-Co A) จากนั้นแฟตตีเอซิลโคเนไซม์เอจะเปลี่ยนเป็นแฟตตีเอซิลคาร์นิทีน (Fatty acylcarnitine) โดยอาศัยเอนไซม์คาร์นิทีนเอซิลทรานเฟอเรส (Carnitine acyltransferase) เป็นตัวนำกรดไขมันเข้าผนังไมโทคอนเดรีย แล้วจึงเปลี่ยนกลับมาเป็นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เออีกครั้งหนึ่ง ต่อมาแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์จะถูกนำไปสลายในไมโทคอนเดรียโดยกระบวนการที่เรียกว่า “เบตา-ออกซิเดชั่น (β-oxidation)” ได้

เป็นอะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl-Co A) ซึ่งจะถูกนำเข้าวัฏจักรไทรคาร์บอกซิลิค เพื่อให้ได้พลังงานออกมา อย่างไรก็ตามพบว่า ในบางครั้งอะซิติลโคเอนไซม์เอไม่ได้ถูกสลายให้เกิดพลังงานเพราะขาดออกซาโลอะซิเตท (Oxaloacetate) ทำให้อะซิติลโคเอนไซม์เอ 2 ตัวรวมกันเป็นอะซิโตอะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetoacetyl-Co A) โดยอาศัยเอนไซม์อะซิโตอะซิติลโคเอนไซม์เอไทโอเลส (Acetoacetyl-Co A thiolase) จากนั้นอะซิโตอะซิติลโคเอนไซม์เอจะถูกเร่งโดยเอนไซม์ เอชเอ็มจีโคเอนไซม์เอ ซินทีเทส (HMG-Co A synthetase) ได้เป็น เอชเอ็มจี โคเอนไซม์เอ (HMG-Co A) และพร้อมที่จะเปลี่ยนเป็นอะซิโตอะซิเตท (Acetoacetate) และ 3-ไฮดรอกซีบิวไทเรท (3-Hydroxybutyrate) ซึ่งจัดเป็นสารจำพวกคีโตนบอดี (Ketone body) โดยคีโตนบอดี้จะถูกส่งผ่านไปยังกระแสเลือดและเข้าสู่เซลล์เพื่อการออกซิเดชั่นอย่างสมบูรณ์ในวัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิค (ภาพที่ 3)

สำหรับการสลายกรดไขมันในเพอร์ออกซิโซมมีความแตกต่างกับการสลายกรดไขมันในไมโทคอนเดรียหลายประการ เช่น คาร์นิทีนไม่ได้ช่วยนำกรดไขมันเข้าไปในเพอร์ออกซิโซม และแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะซิติลโคเอนไซม์เอออกซิเดส (Acyl-Co A oxidase) ได้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) อีกทั้งจะไม่มีวัฏจักรไทรคาร์บอกซิลิคมาเกี่ยวข้อง ฉะนั้นอะซิติลโคเอนไซม์เอนี้ จึงอาจถูกลำเลียงไปยังไมโทคอนเดรีย เพื่อการสลายกรดไขมันภายในไมโทคอนเดรียได้อีกทางหนึ่ง (พัชรี บุญศิริ และคณะ, 2551)



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการสลายกรดไขมัน (พัชรี บุญศิริ และคณะ, 2551)

แหล่งของกรดไขมัน

แหล่งกรดไขมันจากพืช

กรดไขมันที่พบในพืชโดยทั่วไปเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว และพบในปริมาณสูงในน้ำมันพืช เช่น น้ำมันปาล์ม น้ำมันมะพร้าว น้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันถั่วลิสง

เป็นต้น ในอุณหภูมิห้องมีลักษณะเป็นน้ำมัน (ของเหลว) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากว่าการหักงอของสายไฮโดรคาร์บอนตรงบริเวณที่เกิดพันธะคู่ ทำให้โมเลกุลไม่สามารถเรียงตัวเป็นระเบียบและอัดตัวแน่นเหมือนไขมัน กรดไขมันที่พบได้แก่ กรดไขมันปาล์มิติก (Plamitic acid, C16:0), กรดไขมันสเตียริก (Steric acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมปริมาณกรดไขมันในเมล็ดพืช คือ ปัจจัยทางด้านกายภาพ ได้แก่ สภาพแวดล้อมที่เพาะปลูก ความชื้น อุณหภูมิ แสง ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ ชนิดของเมล็ดพืช และองค์ประกอบของสารอาหาร (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2543)

แหล่งกรดไขมันจากสัตว์

กรดไขมันจากสัตว์ส่วนใหญ่ประกอบขึ้นจากกรดไขมันชนิดอิ่มตัวมากกว่าพืช ซึ่งมีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง พบได้ในสัตว์บก สัตว์น้ำ และในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งกรดไขมันที่พบในไขมันสัตว์ เช่น กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันปาล์มิติก (Plamitic acid, C16:0) เป็นต้น (พิมพร วัชรางค์กุล, ม.ป.ป.) ส่วนในสัตว์น้ำ มักพบมากในปลาทะเลโดยเฉพาะในปลาที่อาศัยเขตที่มีอากาศหนาวเย็นจะมีกรดไขมันอยู่ทุกส่วนของร่างกาย ในปลาทะเลพบกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 20-22 อะตอมสูง (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2543) และกรดไขมันส่วนมากที่พบในปลาทะเลเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวประเภทกรดไขมันจำเป็นกลุ่มโอเมก้า 3 สูงที่สุด รองลงมาคือ กรดไขมันจำเป็นกลุ่มโอเมก้า 6 ในสัตว์น้ำมีปริมาณไขมันต่ำแต่มีปริมาณกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 สูงกว่าสัตว์บกและสัตว์ปีกโดยเฉพาะกรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) และกรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid, C22:6n3) เช่น ปลาซาร์ดีน ปลาแฮร์ริ่ง ปลาแม็คคาเรล ปลาแฮงโชว์วี่ ปลาทูน่า พบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ในสัดส่วน 2.5-8 กรัมต่อเนื้อปลา 200 กรัม นอกจากนี้ยังพบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ในปลาน้ำจืดของไทยหลายชนิด เช่น ปลาสวาย ปลาช่อน ที่มีปริมาณกรดไขมันโอเมก้า 3 เทียบเท่ากับปลาทะเล (Birch & Hoffman, 1992)

แหล่งกรดไขมันจากจุลินทรีย์

กรดไขมันในแบคทีเรียส่วนใหญ่จะเป็นพวก Straight-chain เช่น MUFAs กลุ่มหลักที่พบได้แก่ Oleic series หรือ Vaccenic series และกลุ่มกรดไขมันในแบคทีเรียที่ไม่เหมือนในสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ได้แก่ b-OH, Cyclopropane และ Branchedchain (Lechevalier, 1989) ในแบคทีเรียบางชนิดจะอยู่ในรูป กรดไขมันอิสระ หรือในรูปของ Glycerides แต่ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นโมเลกุลเริ่มจาก Phospholipids glycolipids จนถึง Lipoproteins กรดไขมันจากจุลินทรีย์มีทั้งในจุลินทรีย์กลุ่มโปรคาริโอตและจุลิทรีย์กลุ่มยูคาริโอต ดังเช่น แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรีย อะมีบา โปรโตซัว จุลสาหร่าย ตลอดจนจุลินทรีย์ต่าง ๆ ล้วนแล้วแต่มีกรดไขมันที่มีสายอะตอมคาร์บอนยาว มีความไม่อิ่มตัวสูงมีพันธะคู่หลายตำแหน่ง เป็นองค์ประกอบของเซลล์ทั้งสิ้น โดยมีปริมาณมากหรือน้อยแตกต่างกันไปตามชนิดและแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์นั้น ๆ (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549) ยีสต์และรามีองค์ประกอบของกรดไขมันที่คล้ายคลึงกับพืช ถือเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดไขมันสูง ในจุลินทรีย์กลุ่มยูคาริโอตนี้ ยีสต์มีประสิทธิภาพการผลิตกรดไขมันสูงกว่ารา ซึ่งยีสต์แต่ละชนิดสามารถสะสมลิปิดได้สูงสุดถึง 40-70 ของชีวมวล โดยปริมาณลิปิดที่สร้างขึ้นจะแตกต่างกันตามสายพันธุ์และสภาวะการเลี้ยง (ปาริชาติ สักกะทำนุ, 2544) ยีสต์ผลิตกรดไขมันตั้งแต่คาร์บอน 8

อะตอม จนถึงคาร์บอน 24 อะตอม ซึ่งกรดไขมันส่วนใหญ่ที่พบในยีสต์จะพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่พบจะเป็นกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) ตัวอย่างเช่น *Canida* sp., *Crytococcus* sp., *Hansenula* sp., *Lipomyces* sp. และ *Rhodotorula* sp. (Zelles, 1997) นอกจากนี้ยังพบกรดไขมันที่จำเป็นกลุ่มโอเมก้า 3 ที่ผลิตได้จากยีสต์ คือ กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) และกรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid, C22:6n3) (สมศักดิ์ วรคามิน, 2552)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ปริมาณลิปิด และกรดไขมันในเซลล์ยีสต์

ปริมาณลิปิดที่เป็นองค์ประกอบในยีสต์จะเปลี่ยนตามปัจจัยต่าง ๆ ของการเจริญเติบโตด้วย ซึ่งเพียงแค่องค์ประกอบทางเคมีของอาหารเปลี่ยนแปลงไปก็จะเห็นเยื่อหุ้มต่าง ๆ เปลี่ยนแปลงไปด้วย กลไกสำคัญที่ทำให้ปัจจัยสิ่งแวดล้อมเหล่านี้มีผลต่อองค์ประกอบของลิปิดในเซลล์ก็ยังไม่มีใครทราบแน่ชัด และคงจะต้องเป็นงานวิจัยที่สำคัญที่ต้องค้นหากันต่อไปในอนาคต

1. อัตราการเจริญเติบโต นักวิจัยส่วนใหญ่มักจะศึกษาที่ปริมาณการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของลิปิดของยีสต์ ในช่วงระยะต่าง ๆ ของการเจริญใน Batch culture ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะมีผลปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัว รวมทั้งสัดส่วนของ Phospholipid ด้วย นอกจากนี้ยังพบด้วยว่า ในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มที่จะสร้างกรด ไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) สูงกว่า กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) และมีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว ถ้าการเจริญมีอัตราช้าลง

2. อุณหภูมิในการเจริญ อุณหภูมิในการเจริญของจุลินทรีย์มีผลต่อองค์ประกอบของลิปิดของเซลล์ เมื่ออุณหภูมิในการเจริญลดลงจากอุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimum) การสร้างไขมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้มักจะเพิ่มมากขึ้นไปด้วย ซึ่งอิทธิพลนี้ได้มีการรายงานไว้ในการเลี้ยงแบบ Batch – culture ของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และยีสต์ *C. utilis* รวมทั้งยีสต์ *C. lipollytica* ซึ่งพบว่าเมื่อเลี้ยงโดยควบคุมให้มีปริมาณออกซิเจนคงที่ ปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกสร้างมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการเจริญลดลง ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NCYC366 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่ามี Phospholipid เพิ่มขึ้นอย่างมากโดยเฉพาะอย่างยิ่ง Phosphatidylcholine และ Phosphatidic acid

3. ปริมาณออกซิเจน *Saccharomyces cerevisiae* ที่เจริญภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศในการเลี้ยงแบบ Batch culture สามารถสร้างลิปิดชนิดที่มีกรดไขมันอิ่มตัวได้ในปริมาณมากกว่าที่เลี้ยงแบบมีออกซิเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไขมันที่มีคาร์บอน 10 ถึง 14 อะตอม

4. ค่าพีเอชและปริมาณ CO_2 พีเอชและความเข้มข้นของ CO_2 มีอิทธิพลต่อปริมาณลิปิดในเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่พีเอชของอาหาร 5.5 และให้ Bicarbonate และ CO_2 พบว่าปริมาณลิปิดจะเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 2.7 แต่ปริมาณลิปิดในเซลล์ยีสต์ไม่เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.0 และเพิ่มความเข้มข้นของ Bicarbonate แต่ปริมาณความเข้มข้นของ CO_2 คงที่

5. ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าความเข้มข้นของโซดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น จากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณลิปิดของ *Candida*

albicans เพิ่มสูงขึ้น จากร้อยละ 0.32 เป็นร้อยละ 6.29 แต่อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของยีสต์จะถูกยับยั้งได้ถ้ามีปริมาณเกลือเข้มข้นสูงเกินไป

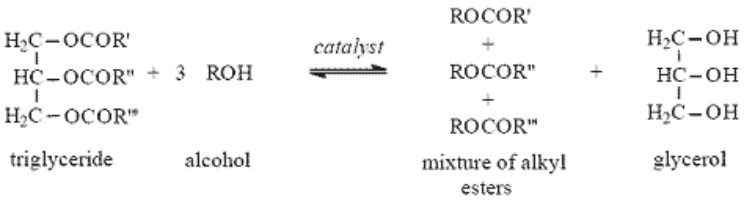
6. วิตามิน การขาดวิตามินมีผลต่อปริมาณลิปิดในยีสต์ ในยีสต์ *Hanseniaspora valbyensis* ที่เลี้ยงในอาหารที่ขาดวิตามิน Pyridoxine มีปริมาณลิปิดน้อยลงถึงร้อยละ 40 เปรียบเทียบกับเซลล์ยีสต์ชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในอาหารที่มีวิตามินอย่างเพียงพอ และยังพบว่ายีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เลี้ยงในอาหารที่ขาด Panthothenate ก็มีการสร้างลิปิดที่น้อยกว่ายีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่ขาดวิตามินอี นอกจากนี้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี Inositol ก็จะมีการสร้าง Phosphatidy-inositol ลดลงด้วย (สมถวิล จริตควร และคณะ, 2551)

การสร้างกรดไขมันในยีสต์

ในการสร้างกรดไขมันทั้งเอนไซม์ *Fatty acid synthase* และ *Acetyl-CoA carboxylase* เป็นเอนไซม์หลักที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง ถ้าเป็นในยีสต์ Fatty acid synthase เป็นโมเลกุลที่ซับซ้อนประกอบด้วย α-subunits และ β-subunits ชนิดละ 6 Units ซึ่งถูกสร้างขึ้นจาก Gene *FAS2* และ *FAS1* ตามลำดับ ส่วน *Acetyl-CoA carboxylase* ซึ่งเป็นโมเลกุลแบบ Homotetramer ถูกสร้างขึ้นจาก Gene FAS3 ในเชื้อราที่มีเส้นใย วิธีการสร้าง Fatty acid มีการ Desaturation และ Elcongation จากกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) เพื่อให้ได้กรดไขมันที่มีความยาวมากขึ้น และเป็น Polyunsaturated fatty acid (PUFAs) และสารที่ใช้เป็น Substrate ในการสร้างกรดไขมันโอเลอิก (Oleic, C18:1) จากการ Δ9-desaturation ของกรดไขมันสเตียริก คือ Stearoyl-CoA (Mackenzie et al., 2002)

ทรานเอสเทอริฟิเคชั่นด้วยกรด (Acid-catalysed transesterification)

การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟ (Chromatogragh) อาศัยหลักการที่ว่าสารตัวอย่างที่ใช้แยกต้องเป็นสารที่ระเหยกลายเป็นไอง่าย กรดไขมันในโครงสร้างเซลล์ส่วนมากอยู่ในรูปเอสเทอร์กับไขมันชนิดอื่น ๆ ดังนั้นในการวิเคราะห์จึงต้องแทนที่เอสเทอร์ของกรดไขมันในโครงสร้างเซลล์ด้วยแอลกอฮอล์ (ส่วนมากเป็นเมทานอล) ให้เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ ให้ได้ผลผลิต Fatty acid methyl ester ที่มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวต่ำกว่า และระเหยกลายเป็นไอง่าย



ภาพที่ 4 กระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชั่น
ที่มา : Bara Sciencetific (2015a)

กระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชั่น

สามารถทำได้หลายวิธีดังต่อไปนี้ การใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการทรานเอสเทอร์ ฟิเคชั่น อาทิเช่น Sulfuric, Phosphoric, Hydrochloric organic, Sulfonic acid ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดนี้ได้รับการพัฒนาขึ้นเพื่อแก้ไขข้อจำกัดของตัวเร่งด่าง โดยข้อดีของการใช้ตัวเร่งประเภทกรด คือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณผลได้สูงและยังสามารถใช้กับสารตั้งต้นที่มีคุณภาพด้อยกว่าน้ำมันบริสุทธิ์ได้ (เช่น มีกรดไขมันอิสระปนอยู่) อย่างไรก็ตาม ตัวเร่งดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดการกัดกร่อนของอุปกรณ์ที่ใช้ อีกทั้งกระบวนการใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าการใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งเหมาะสำหรับกลีเซอไรด์ที่มีปริมาณ Free fatty acid สูงและมีน้ำมาก โดยอาศัยปฏิกิริยาทางเคมีที่เรียกว่า “ทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชั่น (แอลกอฮอล์ไลซิส) และ เอสเทอร์ริฟิเคชั่น” โดยมีสารตั้งต้นเป็นน้ำมัน (ไตรกลีเซอร์ไรด์) หรือกรดไขมันซึ่งทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ (ทั้งเมทานอล หรือเอทานอล แต่ส่วนใหญ่ใช้เมทานอลเนื่องจากให้ประสิทธิภาพการผลิตที่สูงกว่า) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแอลคิลเอสเทอร์หรือไบโอดีเซล

ที่มา : Bara Sciencetific (2015b)

กากชานอ้อย

กากชานอ้อย ประกอบด้วยเซลลูโลส และไซโลส ซึ่งจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลจากกากชานอ้อยเป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ลำต้นของอ้อยประกอบด้วยน้ำร้อยละ 84 โปรตีนร้อยละ 0.2 ไขมันร้อยละ 0.5 เถ้าที่ละลายน้ำได้ร้อยละ 12 แคลเซียม 8 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ และเหล็ก 1.3 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ส่วนของลำต้นที่หีบเอาน้ำออกมีส่วนประกอบคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักของชานอ้อยเปียก ประกอบด้วย ความชื้นร้อยละ 46-52 เส้นใยร้อยละ 13-52 ของแข็งที่ละลายน้ำได้ (ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล) ร้อยละ 2.6 กรดอะมิโน ได้แก่ Aspartic acid 13.25 ร้อยละมิลลิกรัม, Threonine 5.58 ร้อยละมิลลิกรัม, Methionine 7.84 ร้อยละมิลลิกรัม, Valine 3.33 ร้อยละมิลลิกรัม, Leucine 5.75 ร้อยละมิลลิกรัม, Tyrosine 1.51 ร้อยละมิลลิกรัม และ Alanine 3.56 ร้อยละมิลลิกรัม นอกจากนี้ยังมีสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเนื้องอก (Antitumor Substance) ร้อยละ 0.1 อาจเป็นพวกสารโพลีแซกคาไรด์ ซึ่งเป็นสารประกอบน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม เช่น น้ำตาลกลูโคส (Glucose) และน้ำตาลฟรุกโตส (Fructose) น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม เช่น ไซโลส (Xylose) เป็นน้ำตาลไม่พบอิสระ แต่พบน้ำตาลในโครงสร้างโพลีแซกคาไรด์ อีกทั้งน้ำตาลในกากชานอ้อยเหล่านี้มักมีองค์ประกอบหลักเป็นพวกสารลิกโนเซลลูโลส ซึ่งจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายในสภาพธรรมชาติ (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2543)

แอคติโนมัยซีท (Actinomycetes)

แอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถสร้างเส้นใย (*Hyphae*) เป็นสายยาวซึ่งส่วนใหญ่สามารถสร้างได้ทั้งเส้นใยใต้ผิวอาหาร (Substrate mycelium) และเส้นใยเหนือผิวอาหาร (Aerial mycelium) หรืออาจพบเฉพาะเส้นใยใต้ผิวอาหารเป็นแบคทีเรียที่มีปริมาณ Mol %G+C ที่สูงกว่าแบคทีเรียแกรมบวกทั่วไป คือประมาณ 55-78 % โคโลนีของแอคติโนมัยซีทมีลักษณะที่แตกต่างจากโคโลนีของแบคทีเรียอื่น ๆ คือมีลักษณะทึบแสงเส้นใยเหนือผิวอาหารแห้งและมีลักษณะ

เป็นผงเมื่อมองด้วยตาเปล่า และสามารถสังเกตได้ชัดเจน หรือผิวโคโลนีอาจเรียบคล้ายหนังสัตว์ หรือเป็นรอยย่นเป็นเส้นใยสั้น ๆ สังเกตด้วยตาเปล่าคล้ายกำมะหยี่สามารถสร้างรงควัตถุสีต่าง ๆ เช่น สีขาว เทา เขียว เหลืองส้ม แดง น้ำตาล ชมพู ม่วง และสีดำ เป็นต้น และที่สำคัญแบคทีเรียหลายชนิดในกลุ่ม แอคติโนมัยซีท มีความสามารถในการสร้างสารแอนติไบโอติกที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย รา ไวรัส โปรโตซัว รวมทั้งสารที่สามารถต้านเซลล์มะเร็ง หรือเซลล์เนื้องอก (Williams et al., 1989) นับว่าเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีความสำคัญทางการแพทย์และทางเภสัชกรรมเป็นอย่างมาก (รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์, 2541)

ประโยชน์ของแอคติโนแบคทีเรีย

แอคติโนมัยซีทสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ สารสี หรือสารอื่น ๆ ได้ จากข้อมูลล่าสุดพบว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่สร้างมาจากแอคติโนมัยซีท (45%) เชื้อรา (38%) และแบคทีเรียชนิดอื่น (17%) โดยจุลินทรีย์กลุ่มแอคติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดเป็นเชื้อในสกุล Streptomyces ซึ่งผลิตสารปฏิชีวนะได้ 70% (ประมาณ 8,000 ชนิด) ของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากแอคติโนมัยซีททั้งหมด (McCarthy & Williams, 1990) เอนไซม์ที่แอคติโนแบคทีเรียสามารถผลิตได้มีหลายชนิดได้แก่ Xylanase, Cellulose, Amylase และ Chitinase เป็นต้น เอนไซม์ Amylase ที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีหลายจีนัสที่สามารถผลิต Amylase ได้ ได้แก่ *Micromonospora, Nocardia* และ *Streptomyces* (Das, 1996) เอนไซม์ Amylase สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมด้านต่าง ๆ เช่น การลดความหนืดของแป้งในอุตสาหกรรมทอผ้า การเพิ่มหรือการผลิตสารให้ความหวานในอุตสาหกรรมเบียร์ หรือเครื่องดื่ม เป็นต้น ส่วนเอนไซม์ Chitinase ที่มีคุณสมบัติในการย่อยไคติน ซึ่งเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของรา หรือเป็นองค์ประกอบของ Exoskeleton ของพวก Arthropod จีนัสที่สามารถผลิต Chitinase ได้แก่ *Streptomyces* (Dahiya, 2006) เอนไซม์ Chitinase สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ ได้เช่น นำมาทำ Protoplast ของราเพื่อศึกษาองค์ประกอบของผนังเซลล์ของรา การสังเคราะห์สารต่าง ๆ การนำมาเป็นสารควบคุมทางชีวภาพ เช่น ใช้ควบคุมราที่ก่อโรคพืช และ การนำมาย่อยสลายของเสียทางอุตสาหกรรมการแช่แข็งอาหารทะเลเป็นการเพิ่มมูลค่าของของเสียในอุตสาหกรรม เป็นต้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ผลิตโดยแอคติโนแบคทีเรียที่มีรายงานในช่วงปี ค.ศ. 2003-2005 แสดงดังตารางที่ 3 และจากการศึกษาของ N. Gopi Reddy และคณะในปี ค.ศ. 2011 ที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Streptomyces rochei* (MTCC 10109) และศึกษาฤทธิ์ Antifungal และ Antibacterial ที่ก่อให้เกิดโรคกลุ่ม *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* พบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงคือ pH 7.5 และอุณหภูมิ 32°C โดยมี 2% Glycerol และ 1% Peptone เป็นแหล่ง Carbon และ Nitrogen และจากรายงานการศึกษาของ Chaudhary และคณะในปี ค.ศ. 2013 เกี่ยวกับแอคติโนมัยซีทและความสามารถในการผลิตสาร Secondary metabolites พบว่ามีความสำร็จในการนำไปใช้ประโยชน์ทางยา และสารอินทรีย์เคมี และในปัจจุบันพบปัญหาเชื้อดื้อยาพิ่มมากขึ้น ทำให้มีความต้องการสาร Antibiotics ตัวใหม่ ๆ ซึ่งสารที่ได้จากแอคติโนมัยซีทจะเป็นแหล่งที่สามารถผลิตสาร Antibiotics ตัวใหม่ได้ (New bioactive) จากการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อแอคติโนมัยซีทในดินจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ Forest, Pasture,

Rain-fed และ Irrigated cultivated land ประเทศ Iran และผลของแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจน ที่มีต่อ Extracellular phosphatase activity แหล่งไนโตรเจนที่ผู้ศึกษานำมาทดลองได้แก่ Malt extract, Meat extract, Soybean meal, Arginine, NH_4NO_3, $(NH_4)_2SO_4$, $NaNO_3$ แหล่งคาร์บอนได้แก่ Glucose, Maltose, Lactose, Fructose, Sucrose, Pea flour, Glycerol, Maltodextrine และมีการใช้ Medium SPG, MGA, ISP2, LB+rice bran, Corn starch (Ghorbani-Nasrabadi, 2013) และจากการศึกษาของ Sakthi Velayudham, Kasi Murugan ในปี ค.ศ. 2012 ที่ศึกษาความหลากหลายและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจาก Diverse environments อินเดีย พบว่าสารสกัดจากแอคติโนมัยซีทจะมีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* (MTCC 739), *Bacillus cereus* (MTCC 1272), *Staphylococcus aureus* (MTCC 1144), *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC 1688), *Proteus mirabilis* (MTCC 1425) และ *Klebsiella pneumonia* (MTCC 109) และจากการศึกษาของ (Arbat & Zodpe, 2014) พบว่า *Streptomyces* sp. มีฤทธิ์ยับยั้ง Gram +ve bacteria และ *Nocardia* sp., มีฤทธิ์ยับยั้งกลุ่ม Gm – ve bacteria ซึ่งเชื้อทั้งสองสายพันธุ์คัดแยกจาก Saline soil และรายงานกล่าวว่าแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินมีศักยภาพที่จะเป็นแหล่ง Novel antibiotics

ตารางที่ 3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ผลิตโดยแอคติโนแบคทีเรีย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	แอคติโนแบคทีเรีย	กิจกรรมการยับยั้ง
Abyssomicins	*Verrucosispora sp.*	Antibacterial
Aureoverticillactam	*Streptomyces aureoverticillatus*	Anticancer
Bonactin	*Streptomyces* sp.	Antibacterial; antifungal
Caprolactones	*Streptomyces* sp.	Anticancer
Chandrananimycins	*Actinomadura* sp.	Antialgal; antibacterial; anticancer; antifungal
Chinikomycins	*Streptomyces* sp.	Anticancer
Chloro-dihydroquinones	Novel actinobacteria	Antibacterial; anticancer
Diazepinomicin	*Micromonospora sp.*	Antibacterial; anticancer; antiflammatory
3, 6-disubstituted indoles	*Streptomyces* sp.	Anticancer
Frigocyclinone	*Streptomyces griseus*	Antibacterial
Gutingimycin	*Streptomyces* sp.	Antibacterial
Helquinoline	*Janibacter limosus*	Antibacterial
Himalomycins	*Streptomyces* sp.	Antibacterial

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	แอคติโนแบคทีเรีย	กิจกรรมการยับยั้ง
Komodoquinone A	*Streptomyces* sp.	Neuritogenic activity
Lajollamycin	*Streptomyces nodosus*	Antibacterial
Marinomycins	*Marinispora*	Antibacterial; anticancer
Mechercharmycins	*Thermoactinomyces sp.*	Anticancer
Salinosporamide A	*Salinispora tropica*	Anticancer
Sporalides	*Salinispora tropica*	Unknown biological activity
Trioxacarcins	*Streptomyces* sp.	Antibacterial; anticancer; antimalarial

แบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำ

โรคติดเชื้อแบคทีเรียนับเป็นโรคติดเชื้อที่สำคัญและพบได้มากในการเลี้ยงปลา และกุ้ง ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ ทำให้เกิดโรคระบาด และอัตราการตายที่สูง ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจในอุตสากรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Cipriano, 2001; Cavallo et al., 2013*).* แบคทีเรียก่อโรคในปลาทะเลส่วนใหญ่ จะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ กลุ่ม *Vibrio* spp. เช่น *Vibrio anguillarum, V. ordalii, V. damsela, V. alginolyticus, V. salmonicida, V. vulnificus*และ Vibrio อื่น ๆ ลักษณะอาการเฉียบพลันมักเกิดกับปลาที่มีความไวรับสูงหรือมีภูมิคุ้มกันต่ำ มักจะมีอาการเกร็งกระตุกและเลือดออกบริเวณครีบหรือส่วนอื่นของร่างกาย พบอวัยวะภายในและช่องท้องมีเลือดออก และยังสามารถพบภาวะโลหิตจางอย่างรุนแรง จากเม็ดเลือดแดงถูกทำลาย กรณีที่ปลามีการติดเชื้ออย่างรุนแรงปลาจะตายโดยไม่แสดงอาการ แต่สามารถเพาะแยกเชื้อได้จากทุกอวัยวะของร่างกาย ส่วนอาการเรื้อรังมักเกิดกับปลาที่มีความไวรับต่ำหรือมีภูมิคุ้มกันสูง มักมีการติดเชื้อเฉพาะแห่ง คือ ครีบและหางกร่อนขาดเกล็ดพอง ตาโปน ตาขุ่น มีบาดแผลตามลำตัว ครีบ แผ่นปิดเหงือก ท้องบวมเนื่องจากมีน้ำในช่องท้อง ปื้นเลือดออก และติดเชื้อในกระแสโลหิต สามารถแยกเชื้อได้จากบาดแผล ตับ และไต (ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา และวนัดดา คมเวช, 2530) เชื้อ Vibrio สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิที่ค่อนข้างกว้าง 5-37 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ในที่ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0.25-10% ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งและแบบเหลวภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (นันทริกา ซันซื่อ, 2553)

ปัจจุบันการศึกษาในเรื่องธรรมชาติของพยาธิวิทยา การติดเชื้อ *Vibrio* ในปลายังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด โดยการติดเชื้อ Vibrio สามารถติดต่อได้จากทางการกินและทางการสัมผัสผิวหนัง ซึ่งมีปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรค คือ อุณหภูมิ คุณภาพน้ำ และความเครียด ทำให้โรคมีความรุนแรงเพิ่มขึ้นได้ สาเหตุโน้มนำที่ทำให้โรค Vibriosis เกิดการแพร่ระบาด คือ ความเป็นพิษของแอมโมเนียในน้ำทะเลที่เกิดจากของเสียสะสมภายในน้ำ และเหตุการณ์ที่ปลาเพิ่มความไวรับต่อเชื้อ เช่น ปลาที่ว่ายจากน้ำทะเลเข้ามาสู่เขตน้ำกร่อยเพื่อวางไข่ ทำให้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อเพิ่มขึ้น เนื่องจากความเครียด

จากการเสียสมดุลของการผ่านเข้าออกสารต่างๆ (Osmoregulatory) หรือสภาวะการเลี้ยงปลาที่หนาแน่นจนเกินไป

การควบคุมโรค Vibriosis ในแหล่งน้ำธรรมชาตินั้นสามารถทำได้ยาก แต่ในระบบเลี้ยงสามารถแยกปลาที่ติดเชื้อออกมารักษาได้ ลดความหนาแน่นในการเลี้ยงและขนส่ง ซึ่งสามารถควบคุมการติดเชื้อ Vibrio ได้ดีที่สุด การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะสามารถทำได้ง่าย แต่ถ้าโรคอยู่ในระยะที่ปลาไม่กินอาหาร การใช้ยาอาจจะไม่ได้ผลที่ดีนัก การรักษาโรค Vibriosis พบว่าการให้ Oxytetracycline ผสมลงไปในอาหาร ร่วมกับการจัดการคุณภาพน้ำให้สะอาดและเหมาะสมกับการเลี้ยงปลา จะช่วยให้เกิดผลการรักษาและป้องกันโรคที่ดีขึ้น (นันทริกา ซันชื่อ, 2553) ยาปฏิชีวนะมีบทบาท สำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะ ได้ก่อให้เกิดผลข้างเคียง และความต้านทานของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ดังนั้นนักวิจัย จึงมีการค้นคว้าหาตัวยาใหม่ๆ จากแหล่งธรรมชาติ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่มีสาร Secondary metabolite เพื่อต้านเชื้อแบคทีเรีย และปัจจุบันเกษตรกรผู้เลี้ยงปลามีการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันและรักษาโรคที่เกิดขึ้น มากเกินความจำเป็น ซึ่งอาจส่งผลทำให้แบคทีเรียต้านทานยาปฏิชีวนะมากขึ้น การศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติจึงเป็นที่สนใจ เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการเลือกใช้ และแก้ไขปัญหาดังกล่าว

จากรายงานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ เรื่องโรคตายด่วนในกุ้ง (Shrimp Early Mortality Syndrome: EMS) หรือเรียกอีกชื่อว่ากลุ่มอาการตับ และตับอ่อนเสื่อมสภาพอย่างฉับพลัน (Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome: AHPNS) เป็นสาเหตุของการตายเป็นจำนวนมากของกุ้งในระยะเวลาสองปี ที่ผ่านมา ซึ่งได้สร้างความเสียหายเป็นวงกว้างต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งในหลายประเทศในแถบเอเชีย ซึ่งประชาชนประมาณ 1 ล้านคน มีอาชีพหลักในการเลี้ยงกุ้ง ในปี พ.ศ. 2554 ประเทศในภูมิภาคเอเชีย ผลิตกุ้งได้ประมาณ 3 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 13.3 พันล้านดอลล่าร์สหรัฐ บ่อเลี้ยงกุ้งที่มีการติดโรค ได้ประสบกับปัญหาการตายของกุ้งเป็นปริมาณสูงมากในช่วง ระยะแรกของการเจริญเติบโตของกุ้ง ซึ่งอัตราการตายของกุ้งในบางฟาร์มอาจสูงถึง 100% ที่ผ่านมา สาเหตุของการเกิดโรคนี้ได้สร้างความสับสนแก่นักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ด้านสุขภาพสัตว์ และเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้ง ซึ่งทำให้การป้องกันและรักษาโรคนี้ เป็นไปด้วยความยากลำบาก โดยพบว่าโรคนี้เกิดจากสายพันธุ์หนึ่งของเชื้อแบคทีเรียชนิดที่พบได้ทั่วไปในน้ำกร่อยบริเวณชายฝั่งทะเลทั่วโลก ซึ่งก็คือ *Vibrio parahaemolyticus* จะเห็นได้ว่าเมื่อเกิดการระบาดของเชื้อ Vibrio จะส่งผลกระทบอย่างมากมาย การได้มาของสารสกัดจากแอคติโนมัยซีทที่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลา กุ้ง จะได้นำมาพัฒนาเพื่อเป็นยาต้านจุลินทรีย์จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อลดปัญหาการตกค้างของสารเคมี และทดแทนยาที่เกิดการดื้อยาต่อไป

กรดไขมันกับฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

มีการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของกรดไขมันจากพืชและสัตว์ทะเล โดยเฉพาะใน Algae และ Diatoms และมีรายงานเกี่ยวกับประสิทธิภาพกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) โดยเฉพะ EPA ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และกล่าวว่าประสิทธิภาพการยับยั้งจะสูงขึ้นเมื่อมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในปริมาณที่มาก โดยเฉพาะ DHA ที่กล่าวว่าถ้ามีมากประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจะมากขึ้นด้วย (Desbois & Smith, 2010) และมีรายงานเกี่ยวกับประสิทธิภาพ

ของ Eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5*n*-3) (Desbois *et al*., 2009; Desbois,2013), Docosahexaenoic acid (DHA; C22:6*n*-3) (Coonrod, 1987; Huang & Ebersole, 2010), γ-linolenic acid (GLA; C18:3*n*-6) (Feldlaufer *et al*.,1993; Asthana, *et al*, 2006; Huang, *et al*., 2010; Zhang, et al., 2012) และ Dihomo-γ-linolenic acid (DGLA; C20:3*n*-6) (Feldlaufer *et al*., 1993) ต่อแบคทีเรียแกรมบวก มีรายงานเกี่ยวกับกรดไขมันกับการต้านเชื้อต่างๆ ทางผิวหนัง เช่น Lauric acid ในการต้านเชื้อ *P. acnes* ที่เกิดจากหูติดเชื้อของหนู Murine (Nakatsuji *et al*., 2009) และกรดไขมัน Sapienic acid ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* จากโรคผิวหนังหนู Murine (Clarke, *et al*., 2007) และประสิทธิภาพของ Oleic acid (C18:1*n*-9) ต่อโรคติดเชื้อ Topical staphylococcal ในหนู Mice (Chen, *et al*, 2011; Huang, *et al*., 2011) และมีการใช้กรดไขมัน 10-undecylenic acid (C11:1n-1) ในการรักษาโรคติดเชื้อรา (Hart, et al., 1999) นอกจากนี้กรดไขมันยังเป็นส่วนประกอบในการต้านจุลชีพ ของระบบภูมิคุ้มกันโดยธรรมชาติที่พบในผิวหนังสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมด้วย

กรดลอริกเป็นกรดไขมัน (Fatty acid) ชนิดอิ่มตัว (Saturated fatty acid) ซึ่งมีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 12 อะตอม (C12:0) มีสูตรโมเลกุล C_{12} H_{24} O_2 จัดเป็นกรดไขมันความยาวสายโซ่ปานกลาง (Medium chain fatty acid, MCFA) สามารถเปลี่ยนเป็นพลังงานที่ ตับได้อย่างรวดเร็ว และเป็นกรดไขมันอิ่มตัวที่มีคุณสมบัติทางด้านสุขภาพเด่นกว่าน้ำมันชนิดอื่นๆ พบในน้ำมัน มะพร้าว (Coconut oil) และน้ำ มัน จากเนื้อปาล์ม (Palm kernel oil) ประมาณ 50% ของไขมัน ทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบในน้ำนมมารดา น้ำนมแพะและน้ำนมวัว 6.2, 3.1 และ 2.9% ของไขมัน ทั้งหมด ตามลำดับ กรดลอริกมีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Antimicrobial) Enig (1999) รายงานว่ากรดลอริกในน้ำมันมะพร้าวสามารถสร้างภูมิคุ้มกัน ให้แก่ร่างกาย เมื่อบริโภคน้ำมันมะพร้าวเข้าไป กรดลอริกจะเปลี่ยนเป็นโมโนกลีเซอไรด์ (Monoglyceride) ที่มีชื่อว่า โมโนลอริน (Monolaurin) ซึ่งเป็นสารตัวเดียวกันกับที่อยู่ในนมน้ำเหลือง (Colostrum) ของน้ำนมแม่ที่ ช่วยสร้าง ภูมิคุ้มกันให้กับทารกในระยะ 6 เดือนแรกหลังคลอดก่อนที่ ร่างกายจะสร้างระบบภูมิคุ้มกัน โรคได้ (Enig, 1996) นอกจากนี้โมโนลอรินยังสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์โปรโตซัว และไวรัส บางชนิดที่ ยาปฏิชีวนะทั่วไปทำลายไม่ได้เนื่องจากมีเกราะที่เป็นไขมันห่อหุ้ม (Enig, 1999) จากการศึกษา Young *et al*., (2009) เกี่ยวกับผลของกรดไขมัน 3 ชนิด คือ กรดลอริก กรดปาล์มิติก และ กรดโอเลอิกต่อการทำลายเชื้อ *Propionibacterium acnes* พบว่ากรดไขมัน ที่ความเข้มข้น 0-50 µg/mL จะมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อความเข้มข้นของกรดไขมันเพิ่มขึ้นจนถึง 80 µg/mL พบว่ากรดลอริกสามารถทำลายเชื้อได้หมด ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ ที่ Skrivanova *et al*. (2005) และ Bergsson *et al*. (2001) ซึ่งได้รายงานว่า กรดลอริกสามารถทำลายเชื้อ แบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) ได้จากการศึกษาการเลี้ยงลูกกุ้งโพสลาร์วา ของนิศารัตน์ เอี๊ยะมณี และคณะในปี 2557 โดยใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน คือ 0 , 0.5 และ 1 กรัม ต่ออาหารสำเร็จรูป 1 กิโลกรัม หลังจากเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 60 วัน พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริมกรดไขมันในอัตรา 0.5 และ 1 กรัม พบอัตราการรอดตายหลังจากได้รับเชื้อ *Vibrio harveyi* สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเท่ากับ 78.33+-2.89 เปอร์เซ็นต์ และ 81.67±2.89 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับกุ้งในกลุ่มควบคุม (71.67±5.77 เปอร์เซ็นต์)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีการศึกษาวิจัยในเรื่องกรดไขมันในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น สิ่งมีชีวิตที่นำมาศึกษามีทั้งพืช สัตว์และจุลินทรีย์ โดยพบองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างที่ศึกษาโดยส่วนมากมีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ C16-18 ตัว กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ Palmitic acid (C16:0), Stearic acid (C18:0), และ Linolenic acid (C18:3) เป็นต้น (วิเชษฐ์ ลีลามานิตย์, 2540) ในการศึกษาปริมาณกรดไขมันที่พบในจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นั้นจะพบกรดไขมันต่างชนิดมากน้อยแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ โดยมีรายงานว่าจุลินทรีย์พวกโปรคารีโอต ได้แก่ แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรีย และพวกยูคารีโอต ได้แก่ รา โปรโตซัว และสาหร่าย จะมีองค์ประกอบของกรดไขมันต่างกัน โดยแบคทีเรียต่าง ๆ นั้นจะพบว่ามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว Oleic acid (C18:1) อยู่เป็นจำนวนมาก และในแบคทีเรียบางชนิดจะพบ EPA ประกอบอยู่ด้วย (Dennis, 1993) กรดไขมันนอกจากมีประโยชน์ด้านการแพทย์แล้ว ยังมีประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานด้านการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย โดยใช้องค์ประกอบกรดไขมันเป็นตัวจำแนก (พนิดา พงศ์ภาณุมาพร, 2543) การใช้องค์ประกอบกรดไขมันในการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์นั้น มีใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งในเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา และยังมีประโยชน์ในการแยกความแตกต่างของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) ที่คล้ายกันมากออกจากกันได้ และ จากรายงาน Zaky AS และคณะ (2014) กล่าวว่า Marine yeasts มีความเฉพาะที่หลากหลายมากกว่า Terrestrial yeasts เช่น Osmosis tolerance, Special chemical productivity และ Production of industrial enzymes และ Marine yeasts มีศักยภาพที่ดีมากเหมาะแก่การนำไปพัฒนาในหลากหลายอุตสาหกรรม เช่น Bioethanol, Pharmaceutical และ Enzyme production

จากความสัมพันธ์ระหว่างฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำซึ่งเป็นความสัมพันธ์ที่ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์งานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดนี้ เช่น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เป็นต้น จากประสิทธิภาพของฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำทางด้านเภสัชภัณฑ์ ทำให้เกิดสิ่งที่น่าสนใจในด้านการนำมาใช้ประโยชน์ทางการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์เพื่อลดต้นทุนการเพาะเลี้ยง กล่าวคือเมื่อสกัดสารจากฟองน้ำธรรมชาติ และจากแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำแล้วทราบถึงชนิดและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน และแบคทีเรียใดที่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ดี โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่ม PUFA เช่น 20:5 n-3 และ 22:6 n-3 เป็นต้น ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปเป็นประโยชน์ด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดอื่น เช่น โรติเฟอร์ หรือลูกหอยวัยอ่อน ซึ่งการนำไปใช้อาจเป็นการเลี้ยงด้วยแบคทีเรียชนิดเดียวหรือเลี้ยงเสริมกับอาหารชนิดอื่น มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษากรดไขมันในแบคทีเรียและการนำแบคทีเรียไปใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยง ซึ่งผลการศึกษามีความหลากหลายแตกต่างกันดังนี้

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 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 โดยเปรียบเทียบผลกับยีสต์ 2 ชนิดที่ใช้กันทั่วไปคือ *Candida utilis* ACM 4774 *Saccharomyces cerevisiae* ACM 4775 ผลการศึกษาพบว่าทั้งยีสต์และแบคทีเรียมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก (25-49 % น้ำหนักแห้ง) มีไขมันเป็นองค์ประกอบ 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) Intriago and Jone (1993) รายงานถึงการใช้แบคทีเรียเป็นอาหารสัตว์น้ำว่าแบคทีเรียบางชนิดเมื่อใส่ร่วมกับแพลงก์ตอนพืชที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน (อาร์ทีเมีย) ทำให้สัตว์น้ำวัยอ่อนมีการเจริญเติบโตดีขึ้นมากกว่าเลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืชอย่างเดียว นอกจากนี้ Douillet and Langdon (1993, 1996) ได้ทดลองเลี้ยงลูกหอย *Crassostrea gigas* พบว่าแบคทีเรียชนิด Axenic ที่มีในระบบเลี้ยงลูกหอยทำให้ลูกหอยมีการเจริญเติบโตดีขึ้น อ้างโดย Leonardos and Lucas (2000)

Intriago and Jone (1993) ทดลองเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยอาหารที่มีแบคทีเรีย Flexibacter 18 mg/l เป็นส่วนผสมร่วมกับครอเลสเตอรอล 100mg/l และ 500mg/l และเลี้ยงร่วมกับ 5 cells/ml of Rhodomonas (0.25, 0.5, 2.5mg/l) เปรียบเทียบกับเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีแบคทีเรีย Flexibacter เป็นส่วนผสม ได้แก่ 10 cells/ml แพลงก์ตอนพืช (0.50mg/l), 20 cells/ml แพลงก์ตอนพืช (1.0mg/l), 50 cells/ml แพลงก์ตอนพืช (2.50 mg/l), 100 cells/ml แพลงก์ตอนพืช (5.00mg/l) และเปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยแบคทีเรีย Flexibacter strain Inp3 18 mg/l อย่างเดียว พบว่าสามารถเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยแบคทีเรีย Flexibacter strain Inp3 อย่างเดียวได้โดยที่ได้อัตราการรอดตายมีความแตกต่างกันเล็กน้อย แต่น้ำหนักแห้งและความยาวแตกต่างกัน อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรีย Flexibacter ร่วมกับแพลงก์ตอนพืช 50 cells/ml มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรีย Flexibacter ร่วมกับแพลงก์ตอนพืช 100 cells/ml มีกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน PUFA มากที่สุด และสรุปว่าแบคทีเรียไม่ใช่เป็นอาหารเพียงอย่างเดียว แต่ยังช่วยในการย่อยแพลงก์ตอนพืชด้วย

Nichols and McMeekin (2002) ศึกษาแบคทีเรียที่สามารถผลิต Polyunsaturated fatty acids เพื่อใช้เป็นดัชนีชี้วัดทางชีววิทยา พบว่าแบคทีเรียกลุ่ม Shewanella และ Colwellia สามารถผลิต EPA ได้ เช่น 20:4 n-3 และ 22:6 n-3 แต่แบคทีเรียไม่ทุกชนิดที่สามารถผลิตกรดไขมันได้

Nichols (2003) ทบทวนรายงานการวิจัยในช่วง 16 ปีที่ผ่านมาถึงการกระจายและความอุดมสมบูรณ์ของแบคทีเรียที่ผลิต PUFA ได้ ในสภาวะแวดล้อมทางทะเล พบว่าแบคทีเรียที่สามารถผลิต PUFA อยู่ในสกุล Shewanella, Colwellia, Moritella, Pseudomonas, Psychoroflexus และ Photobacterium ซึ่งพบในลำไส้ปลิงทะเล ทะเลน้ำแข็งแอนตาร์ติก ตะกอนดิน หอย ต่อมหมึกของปลาหมึก ในทะเลลึกและในน้ำทะเลประเทศญี่ปุ่น นอกจากนี้ได้สรุปถึงบทบาทของแบคทีเรียในสภาวะแวดล้อมทางทะเล พบว่ามี 2 อย่าง ได้แก่ เป็นแหล่งของอาหารขั้นต้นของสัตว์กินเนื้อ สัตว์หน้าดิน สัตว์ที่กินอาหารโดยวิธีการกรอง และ เป็นส่วนประกอบของชุมชนสัตว์ทะเล นอกจากนี้ยัง

รายงานเพิ่มเติมว่าสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ ในทะเลหลายชนิดไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมัน n-3 Polyunsaturated (PUFA) ได้ ต้องอาศัยจากอาหารที่กินเท่านั้น

Shirasakawa, et al (1995) ศึกษาเชื้อ *Shewanella putrefaciens*, *Marinomonas comunis, Enterobacter agglomerans, Pseudomonas fluorescens*, ในลำไส้ปลาทะเลพบว่าเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตกรดไขมันชนิด Furan-ring และจากการศึกษาของ Srivibool and Jaritkhuan ในปี 2007 กล่าวว่ายีตส์ทะเลเป็นแหล่งทางเลือกใหม่สำหรับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว โดยพบกรดไขมัน DHA 1.19 mg/g dry wt. จากตัวอย่างยีสต์ที่คัดแยกจากน้ำทะเลจากเกาะเต่า จังหวัดระยอง

Doumenq, et al. (1999) ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ได้แก่ ชนิดแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ ระยะการเจริญเติบโตและการให้และไม่ให้ออกซิเจนต่อองค์ประกอบกรดไขมันของเชื้อแบคทีเรีย 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 ระยะการเจริญเติบโต 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 C18:1/ 16:1 เพิ่มขึ้น ส่วนผลของระยะการเจริญเติบโตและการให้ออกซิเจนไม่มีความแตกต่างกันต่อการผลิตกรดไขมัน

Mei, et al., (2010) ศึกษากรดไขมันในยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a ที่แยกจากผิวของปลาทะเลที่มีปริมาณไขมันมาก จากการย่อยของแป้งมันสำปะหลังของยีสต์ *R. mucilaginosa* ในอาหารเลี้ยงยีสต์แบบหมักไม่ต่อเนื่อง (Batch fermentation) พบว่า มีการให้ผลผลิตของกรดไขมันร้อยละ 47.9 โดยมวล ในขณะที่การย่อยของแป้งมันสำปะหลังของยีสต์ *R. mucilaginosa* ในอาหารเลี้ยงยีสต์แบบหมักกะ (Fed-batch fermentation) พบกรดไขมันร้อยละ 52.9 โดยมวล และผู้วิจัยสรุปว่า ยีสต์ที่มาจากทะเล *R. mucilaginosa* TJY15a ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Palmitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linolenic acid, C18:2n6)

Gutierrez and Da Silva (1993) ศึกษาไขมัน และองค์ประกอบของกรดไขมันของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M-300A และ *Saccharomyces uvarum* IZ-1904 ที่เจริญในสภาวะไร้ออกซิเจน โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีกรดไขมันชนิดกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงสุด ประมาณร้อยละ 42 ของกรดไขมันทั้งหมด กรดไขมันที่พบรองลงมาคือ กรดไขมันปาล์มิติก (Pamitic acid, C16:0) กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และพบกรดไขมันแอลฟาไลโนเลนิก (**α**-Linolenic acid, C18:3n3) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า

สารสกัดลิปิดที่ได้นั้นมีปริมาณ 1.02-3.13 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง ขึ้นอยู่กับชนิดของกากน้ำตาลและสายพันธุ์ของยีสต์

Evans and Ratledge (1992) ศึกษาอาหารที่ใช้เลี้ยงยีสต์ และองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Candida curvata* โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการศึกษา คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส น้ำตาลซูโครส น้ำตาลแลคโตส และเอทานอล พบว่ายีสต์ *C. curvate* สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์มากที่สุดในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลแลคโตส รองลงมาคือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส และเอทานอล ตามลำดับ พบว่ากรดไขมันจากยีสต์ *C. curvata* ที่เลี้ยงในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลไซโลส ผลิตกรดไขมันอิ่มตัวชนิดกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) และกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) สูงที่สุด แต่กลับให้กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวน้อยที่สุด ตรงกันข้ามกับยีสต์ที่เลี้ยงในแหล่งคาร์บอนที่เป็นเอทานอล ที่ผลิตกรดไขมันอิ่มตัวชนิดกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) น้อยที่สุด และผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงที่สุด

Anamnart et al., (2004) การศึกษาถึงองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Hansenulo polymorpha* CBS 1976 ที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 20, 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่ายีสต์ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิสูงมีปริมาณของกรดไขมันอิ่มตัวเพิ่มขึ้นสูงกว่ายีสต์ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ ส่วนยีสต์ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกว่ายีสต์ที่เลี้ยงในอุณหภูมิสูง ยีสต์ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผลิตกรดไขมันปาล์มิติก (Pamitic acid, C16:0) และกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) สูงที่สุด ส่วนยีสต์ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันแอลฟาไลโนเลนิก (**α** – Linolenic acid, C18:3n3) สูงที่สุดเนื่องจากเซลล์ของยีสต์ต้องรักษาความยืดหยุ่นของเยื่อหุ้มเซลล์ให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตในแต่ละอุณหภูมิ

Montet et al., (1985) ทำการเลี้ยงยีสต์ *Candida lipolytica* YB 423-12 ในอาหารเลี้ยงเชื้อวายเอนบี (Yeast nitrogen base, YNB) ปริมาตร 6.7 กรัมต่อลิตร และใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นกรดไขมันในรูปสบู่แอมโมเนียของน้ำมันเรพลีต และน้ำมันปาล์มในปริมาณร้อยละ 0.5 น้ำหนักต่อปริมาตร โดยพบว่าปริมาณไขมันที่ได้สูงกว่าการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน 4-8 เท่า อีกทั้งองค์ประกอบกรดไขมันในเซลล์ยีสต์เป็นชนิดเดียวกับชนิดกรดไขมันจากแหล่งคาร์บอนที่เติมลงไป กล่าวคือ ยีสต์ *C. lipolytica* สามารถเจริญในอาหารที่มีไขมัน และนำไขมันไปสะสมไว้ภายในเซลล์ได้มากกว่าเชื้อที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว

มนูเทพ กนกศิลป์ (2550) ศึกษาปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตไขมันของยีสต์ *Rhodotorula gracilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM พบว่า พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์คือ 6.0 โดยให้น้ำหนักแห้ง 1.44 กรัมต่อลิตร (ของอาหารเลี้ยงเชื้อ) ในที่ 72 ชั่วโมง แต่มีการสะสมไขมันต่ำคือ เพียงร้อยละ 9.3 (ของน้ำหนักแห้ง) ขณะที่พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 5.5 เป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตไขมันโดยให้น้ำหนักแห้ง 0.83 กรัมต่อลิตร (ของอาหารเลี้ยงเชื้อ) และมีการสะสมไขมันสูงถึงร้อยละ 16.7 อย่างไรก็ตาม ยีสต์ที่เจริญในอาหาร YM ที่มีพีเอช 5.5 และ 6.0 และเลี้ยงในสภาวะขาดแหล่งไนโตรเจน ต่างก็สามารถเพิ่มการสะสมไขมัน

สูงขึ้นเป็นร้อยละ 23 และการสะสมไขมันนี้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 7 ชั่วโมงแรกของการเกิดสภาวะขาดแหล่งไนโตรเจน สำหรับยีสต์ที่เลี้ยงการเจริญในอาหารที่จำกัดปริมาณไนโตรเจน เซลล์ยีสต์จะเริ่มสะสมไขมันเพิ่มขึ้นขณะที่การเจริญเข้าสู่ Stationary phase การเติมแหล่งไนโตรเจน หลังจากเลี้ยงเซลล์ที่ 32 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่เซลล์เริ่มเข้าสู่ Stationary phase ไม่สามารถเพิ่มการเจริญหรือเพิ่มการสะสมไขมันได้ เมื่อเลี้ยงเซลล์ต่อไปที่ 72 ชั่วโมง เซลล์ที่ได้มีน้ำหนักแห้ง 1.10 กรัมต่อลิตร และมีการสะสมไขมันร้อยละ 16.1

Christophe et al., (2012) การเปรียบเทียบองค์ประกอบกรดไขมันของพืชผลิตน้ำมัน เช่น น้ำมันจากเมล็ดคาโนล่า (Rapeseed Oil), ปาล์มน้ำมัน (Oil palm), น้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน (Sunflower) และจุลินทรีย์ในยีสต์ *Rhodoturula* sp., *Rhodosporidium* sp., *Yarrowia* sp., *Lipomyces* sp., *Trichosporon* sp. และ *Cryptococcus* sp. เป็นต้น โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคส พบว่ายีสต์ดังกล่าวสามารถผลิตกรดไขมันได้ทั้งกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวคล้ายคลึงกับพืชผลิตน้ำมัน กรดไขมันอิ่มตัวที่พบคือ กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), และกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) เป็นต้น และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบคือ กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) จุลินทรีย์กลุ่มยีสต์มีองค์ประกอบกรดไขมันไม่แตกต่างจากพืชน้ำมันแต่ปริมาณกรดไขมันที่พบขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์นั้น ๆ ซึ่งยีสต์ *Trichosporon* sp. ผลิตกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ร้อยละ 57 ของกรดไขมันทั้งหมด ไม่แตกต่างจากน้ำมันจากเมล็ดคาโน่ล่า ผลิตกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ร้อยละ 56-64 ของกรดไขมันทั้งหมด เป็นต้น

อิงสุรัจจ์ สังข์เงิน และชนิดาภา ยิ่งประยูร (2554) ศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในยีสต์ BS 1-2 และเชื้อยีสต์ BS 6-2 ที่ทำการคัดแยกได้จากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยในน้ำกลั่น อาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที อาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที ที่กรองกากชานอ้อยก่อนนำเข้าเครื่องหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ และอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที ที่กรองก่อนกากชานอ้อยหลังนำออกจากเครื่องหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ ผลการศึกษาพบว่าจำนวนเซลล์ของยีสต์ BS 1-2 และยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยทั้ง 4 ชนิด มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นสูงที่สุดที่ 72 ชั่วโมง และวิธีการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที ที่กรองกากชานอ้อยก่อนนำเข้าเครื่องหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติให้จำนวนเซลล์สูงสุด ยีสต์ BS 6-2 มีจำนวนเซลล์เท่ากับ 2.4×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และยีสต์ทั้งสองชนิดที่เลี้ยงเป็นระยะเวลาที่ 72 ชั่วโมง ซึ่งมีกรดไขมันชนิดกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวเป็นองค์ประกอบสูงสุด ร้อยละ 43.78 ± 0.15 และร้อยละ 40.66 ± 0.35 ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ชนิดของกรดไขมันที่พบมาก คือ กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) สูงที่สุด รองลงมาคือ กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ตามลำดับ

Andreishcheva et al., (1999) ศึกษายีสต์ *Yarrowia lipolytica* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.01, 1.5, 3, 4, 5, 6 และ 9 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Basel

medium ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาด รูปร่าง และระดับกลีเซอรอลภายในเซลล์ยีสต์ ความเข้มข้นของเกลือที่ระดับร้อยละ 6 และ 9 มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7) และกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และการลดลงของกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6)

Martina et al., (2004) ทำการเลี้ยงยีสต์ชนิดชอบความเค็ม (Halophilic) กลุ่ม *Hortaea werneckii* และ *Phaeotheca triangularis* และชนิดทนความเค็ม (Halotolerant) *Aureobasidium pullulans* ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 0.5, 10, 17, 25 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ YNB ที่มียีสต์สกัด 1.7 กรัม ไนโตรเจน 0.8 กรัม $(NH_4)_2SO_4$ 5 กรัม และกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และพีเอชอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 การบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่ายีสต์กลุ่ม *H. werneckii* และ *P. triangularis* มีการเจริญที่ดี และมีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และ กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) โดยพบกรดไขมันสเตรียริก (Stearic acid, C18:0) และกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) สูงสุด ร้อยละ 24 และ 25 ของกรดไขมันทั้งหมด ในยีสต์ *H. werneckii* และ *P. triangularis* ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 25 ส่วนยีสต์กลุ่ม *A. pullulans* มีการเจริญที่ดี และมีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) โดยพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงสุด ร้อยละ 50 ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 10

จากการศึกษาผลของความค็มและความเป็นกรดด่างต่อผลผลิต ของ ยีสต์ *Debaryomyces hansenii* (S8) *Debaryomyces hansenii* (S100), *Candida sake* (S165) และ *Candida tropicalis* (S186) โดยใช้ Molasses เป็นแหล่งคาร์บอน เปรียบเทียบกับ Glucose, Sucrose และ Rice water พบ สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญที่ pH 6 ความเค็ม 30 ppt เหมาะกับยีสต์ S8 & S186 ความเค็ม 25 ppt เหมาะกับยีสต์ S100 20 ppt เหมาะกับยีสต์ S165 ยีสต์ทั้งสี่สายพันธ์เจริญได้ดีที่สุด โดยใช้ Molasses (ปริมาณน้ำตาล 9mg/ml) เป็นอาหารเสริมกับ Peptone (0.75%), Yeast extract (0.5%) และ $MgSO_4$ (0.25%) (Sarlin & Phillp, 2013)

จากรายงานของ Wasu Pathom-aree และคณะ (2014) ที่ทำการศึกษาอนุกรมวิธานของแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินบริเวณ Mariana Trench พบ *Williamsia muralis*. เป็นแอคติโนมัยซีทชนิดใหม่ พบ Oleic, Palmitic และ Tuber culostearic acids และ Hexadecenoic acid เป็นกรดไขมันหลักใน Cellular fatty acids (Wasu Pathom-aree et al., 2014) และจากรายงานของ HWang และคณะ (2015) ที่ทำการศึกษาพบแอคติโนมัยซีท *Rhodococcus rhodnii, Rhodococcus aetherivorans* และ*Rhodococcus ruber* ที่แยกจากน้ำฝน Bering Sea พบว่าเซลล์เจริญดีที่สุดที่ 25 °C และที่ pH 6.5–7.0 ในสภาวะ เกลือทะเล (Sea salts) 0–2% (w/v) พบ iso-$C_{16:0}$, $C_{17:1}\omega 8c$ and 10-methyl $C_{17:0}$ เป็นกรดไขมันหลักใน Cellular fatty acids (Hwang et al, 2015) และจากการศึกษาของ Zhi Huang และคณะพบแอคติโนมัยซีท *Arthrobacter*

woluwensis (98.4% sequence similarity), *Arthrobacter humicola* (97.5%), *Arthrobacter globiformis* (97.4%), *Arthrobacter oryzae* (97.3%) and *Arthrobacter cupressi* (97.0%). ที่คัดแยกจากดินในป่า Nanjing, Jiangsu ประเทศจีน พบ Anteiso-$C_{15:0}$, anteiso-$C_{17:0}$ และ iso-$C_{15:0}$ เป็นกรดไขมันหลักใน Cellular fatty acids โดยมีสภาวะการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ℃, pH 7.0 และ 3% NaCl (w/v). (Zhi Huang et al, 2015). จากรายงานของ Gaiyun Zhang และคณะ (2015) พบแอคติโนมัยซีทตัวใหม่ *Nesterenkonia alkaliphila* sp. ที่แยกจากดินตะกอนในทะเลสึกของมหาสมุทรแปซิฟิคฝั่งตะวันตก พบสภาวะที่เหมาะสมการเลี้ยงอยู่ที่อุณหภูมิ 40 ℃, pH 9.0 และ 1% (w/v) NaCl พบ anteiso-$C_{17:0}$ (50.9%) and anteiso-$C_{15:0}$ (29.8%) เป็นกรดไขมันหลัก โดยพบไขมันในสายพันธุ์ เป็นชนิด F10^{T}เป็น Diphosphatidylglycerol, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol, Unknown glycolipids 2 ชนิด และ Unknown lipids 2 ชนิด (Gaiyun Zhang et al., 2015) มีรายงานการวิจัยที่ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงแอคติโนมัยและแบคทีเรีย/ยีสต์ อย่างแพร่หลาย ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสาร Secondary metabolites เหล่านี้ ในการวิจัยนี้มุ่งเน้นที่ศึกษาชนิดของไขมัน และองค์ประกอบของอาหารที่อยู่ในยีสต์ หรือแบคทีเรียทะเล/ แอคติโนมัยซีท ซึ่งรูปแบบของไขมันและกรดไขมัน ที่ได้จะเป็นข้อมูลเพื่อนำไปพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมาก และใช้ประกอบในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์ ตลอดจนพัฒนาเป็นสารกระตุ้นภูมิสำหรับสัตว์น้ำ อันจะเป็นทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรม ยา อาหาร และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

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 Supelco 37-Component FAME Mix	Supelco, USA
Paper Dish 6 mm.	

แก๊สฮีเลียม
แก๊สไฮโดรเจน
แก๊สไนโตรเจน
Air zreo

เครื่องมือและอุปกรณ์

Gas Chromatograph Agilent Technologies 7820A GC system, ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง Sartorius laboratory balance, ประเทศเยอรมัน

Hot air oven Yamato, Japan

คอลัมน์กรดไขมัน HP-INNOWAX เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร เคลือบด้วย Polyethylene glycol หนา 0.25 ไมโครเมตร ความยาว 30 เมตร: ประเทศสหรัฐอเมริกา

กรวยแยกขนาด 2000 ml, 100 ml

ขวดลดปริมาตร/ หลอดลดปริมาตร

ออโตเมติกปิเปต (Automatic pipette): Boeco, ประเทศเยอรมัน

เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigrated centrifuge): TOMY SEIKO, ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องวิเคราะห์โปรตีน KJELTC SYSTEM ยี่ห้อ Foss TECATOR, ประเทศสวีเดน

เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน: ยี่ห้อ Foss Soxtec 2043, ประเทศสวีเดน

เตาเผาอุณหภูมิสูง Furnace Valcan A550

วิธีการทดลอง

การเตรียมหัวเชื้อยีสต์

เตรียมหัวเชื้อยีสต์ *Pichia* sp. (BS 6-2) ที่แยกได้จากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน จังหวัด ชลบุรี ได้รับการจำแนกชนิดโดย คุณรัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรีโดยการเขี่ยหัวเชื้อยีสต์จากอาหารเลี้ยงเชื้อ YM medium แบบเหลว จากนั้นปิเปตหัวเชื้อ 1, 000 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM medium ที่มีปริมาตร 20 มิลลิลิตรจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ ค่าการดูดกลืนแสงของหัวเชื้อที่เตรียมมีค่าเท่ากับ 0.2

การเตรียมวัตถุดิบ

กากชานอ้อยจากตลาดแหลมแท่น อำเภอแสนสุข จังหวัดชลบุรี ตัดกากชานอ้อยให้เป็นชิ้นลูกเต๋า ขนาดใกล้เคียงกัน โดยใช้อัตราส่วนของ กากชานอ้อย 1 กรัม ต่อน้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water) 10 มิลลิลิตร ที่ระดับความเค็ม 25 พีพีที น้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water) องค์ประกอบและวิธีการเตรียมน้ำทะเลเทียม (แสดงในภาคผนวก ก)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจากกากชานอ้อยในน้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water) 25 พีพีที

ทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำการกรองกากชานอ้อยออก 3 ครั้ง (กรองด้วยบุชเนอร์ ตามด้วยผ้าขาวบาง และสุดท้ายกรองด้วยเมมเบรนขนาด 0.2 ไมครอน ก่อนนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ องค์ประกอบและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (แสดงในภาคผนวก ก)

การเลี้ยงยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อย ที่ระดับความเค็ม 25 พีพีที

นำหัวเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดฝาเกลียว ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยปริมาตร 500 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เก็บตัวอย่างที่ 72 ชั่วโมง

การเตรียมตัวอย่างยีสต์

นำตัวอย่างเซลล์ยีสต์ ที่ได้จากการเลี้ยงมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 20 นาที เทส่วนใสทิ้ง หลังจากนั้นทำการล้างเซลล์ยีสต์ จำนวน 2 ครั้ง ด้วยสารละลาย 0.85 เปอร์เซ็นต์ Normal saline (NaCl) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยง จากนั้นเทส่วนใสทิ้งก่อนนำเซลล์ยีสต์ไปสกัดไขมันและกรดไขมัน

การเตรียมตัวอย่างแอคติโนมัยซีท

ทำการเก็บตัวอย่างดินตะกอนบริเวณชายฝั่งจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี ชุมพร และนครศรีธรรมราช ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2556- 2558 โดยเก็บเฉพาะส่วนผิวหน้าดินใส่ในถุงพลาสติกที่ปลอดเชื้อ ส่วนตัวอย่างฟองน้ำทะเล เก็บจากเกาะวังนอก หมู่เกาะทะเลใต้ จังหวัดนครศรีธรรมราช และ หมู่เกาะในจังหวัดชุมพรโดยวิธี Scuba diving ความลึก 5-12 เมตร จากนั้นแช่เย็นและนำกลับมาที่ห้องปฏิบัติการสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา เพื่อทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีท การพิสูจน์เอกลักษณ์แอคติโนมัยซีทโดยคุณรัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ และฟองน้ำทะเลทำการพิสูจน์เอกลักษณ์โดย ดร.สุเมตต์ ปุจฉาการ นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษจากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

การคัดแยกแอคติโนมัยซีท

นำตัวอย่างดินมาปรับสภาพ (Pretreated) โดยอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำการเจือจางตัวอย่างลำดับส่วนแบบ 10 เท่า ด้วยน้ำทะเลธรรมชาติแบบปลอดเชื้อจนถึงระดับความเจือจางที่ 10^{-1} และ 10^{-2} ส่วนตัวอย่างฟองน้ำทะเลนำมาล้างด้วยน้ำทะเล ทำการคัดแยกสิ่งปนเปื้อนออก จากนั้นหั่นตัวอย่างเป็นชิ้นเล็ก ๆ ประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร (Esin & Atac, 2012) นำมาบดด้วยน้ำทะเลปลอดเชื้อ 1 มิลลิลิตร ปิเปตตัวอย่างมาเกลี่ยลงบนอาหารแข็ง 3 ชนิด ได้แก่ Actinomycete isolation agar (AIA), Starch-Casein Agar (SCA) และ Malt extract-yeast extract medium (ISP2) เติม 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร Novobiocin และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร Nystatin เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและเชื้อรา นำตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จนกระทั่งปรากฏโคโลนีเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำโคโลนีดังกล่าวมาทำให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงให้เจริญบนจานเพาะเชื้อ ในอาหารเหลว ISP2 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 110 รอบ/นาที เป็นเวลา 7-14 วัน (Williams *et al*.,1989) จากนั้นเก็บเซลล์แอคติโนมัยซีทด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 7,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์ รวบรวมเซลล์ที่ได้เพื่อรอการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมัน

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟ

ขั้นตอนการวิเคราะห์กรดไขมันแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนการสกัดไขมันในตัวอย่าง (Folch et al., 1957) และขั้นตอนการทำทรานเอสเทอริฟิเคชั่นด้วยกรด (Acid-catalysed transesterification) หลังจากนั้นนำไปวัดปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (ดัดแปลงวิธีของ Christie, 2003)

การสกัดไขมันในตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างเซลล์เปียก ในบีกเกอร์ 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2: 1) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่ผสม BHT 0.01 เปอร์เซ็นต์ นำไปสกัด ด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคเป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายส่วนบนใส่กรวยแยก และทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้นำมารวมกันในกรวยแยก ในส่วนของน้ำเลี้ยงสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม

2. เติมสารละลาย 0.88 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมคลอไรด์ ปริมาณ 1 ใน 4 ของปริมาตรสารละลายที่แยกได้จากการสกัด (12.5 มิลลิลิตร) ปิดฝากรวยแยก เขย่าประมาณ 1 นาที ปล่อยไว้ให้แยกชั้น

3. ชั่งน้ำหนักฟลาสก์ก้นกลม เทสารละลายชั้นล่างลงในฟลาสก์ก้นกลมผ่านกรวยแก้วที่บรรจุโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส เพื่อดูดความชื้น

4. นำสารละลายในฟลาสก์ก้นกลมไประเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบสูญญากาศ

5. นำฟลาสก์ก้นกลมที่มีไขมันทำให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

6. ชั่งน้ำหนักฟลาสก์และไขมันด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง เพื่อหาน้ำหนัก

7. ละลายไขมันด้วยสารละลายผสมคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2 : 1) ที่ผสม BHT 0.01 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้น 1,000 ppm เพื่อนำไปทรานเอสเทอริฟิเคชั่นต่อไป

การทรานเอสเทอริฟิเคชั่น

1. ปิเปตไขมันปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ชนิดฝาเกลียว จากนั้นเติมสารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริกในเมทานอล 10 มิลลิลิตร นำไปใส่ในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง

2. นำสารละลายออกจากตู้อบทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายสารละลายใส่กรวยแยก ชะสารที่ตกค้างในหลอดทดลองด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเก็บรวมกันในกรวยแยก

3. เติมเฮกเซน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในกรวยแยก และเขย่า 1 นาที ปล่อยไว้ให้แยกชั้น เก็บสารละลายชั้นบนไว้ (เฮกเซน) และถ่ายสารละลายชั้นล่างลงในหลอดทดลองเดิม เพื่อนำมาสกัดด้วยเฮกเซนปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเขย่า 1 นาที ปล่อยไว้ให้แยกชั้น ใช้หลอดดูดสารดูดสารละลายชั้นบน ใส่รวมกับสารละลายในกรวยแยกอันเดิม

4. เติมสารละลายโพแทสเซียมไบคาร์บอเนต 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ลงในกรวยแยก และเขย่าเล็กน้อย 1 นาที ปล่อยไว้ให้แยกชั้น เก็บสารละลายชั้นบน

6. เทสารละลายที่เก็บไว้ในกรวยแยกลงในฟลาสก์ก้นกลมผ่านกรวยแก้วที่บรรจุโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส

7. นำฟลาสก์ก้นกลมไประเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบสูญญากาศและเป่าแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน หลังจากนั้นละลายด้วยเฮกเซน (n-hexane) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ก่อนถ่ายลงในขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ-20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปฉีดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

8. นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ และชนิดของอุปกรณ์ตรวจวัดเป็น Flame Ionizertion Detecter (FID) คอลัมน์ที่ใช้เป็นคอลัมน์ชนิด HP-INNOWax ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร และเคลือบด้วย Polyethylene glycol หนา 0.25 ไมโครเมตร ปริมาตรที่ฉีด 1 ไมโครลิตร สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์มีดังนี้ ฉีดด้วยระบบ split ในอัตราการ spit เท่ากับ 10: 1 อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม

(แก๊สพา) 1.1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ ณ จุดฉีดสารเท่ากับ 240 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่อุปกรณ์ตรวจวัด (ดีเทคเตอร์) เท่ากับ 260 องศาเซลเซียส โปรแกรมอุณหภูมิวิเคราะห์เริ่มต้นที่ 120 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 0.50 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 170 องศาเซลเซียส ในอัตราการเพิ่ม 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีและคงอุณหภูมิไว้ 10 นาที หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 190 องศาเซลเซียส ในอัตราการเพิ่ม 3 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงอุณหภูมิไว้ 15 นาที หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 210 องศาเซลเซียส ในอัตราการเพิ่ม 2 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงอุณหภูมิไว้ 15 นาที รวมระยะเวลาทั้งหมดในการวิเคราะห์ 54 นาที

การแยกและการตรวจวัด

การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันในเชื้อยีสต์ ในเซลล์ยีสต์ตรึงด้วยแคลเซียมอัลจิเนตและในตัวอย่างเชื้อแอคติโนมัยซีท เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน 37 ชนิด (Supelco 37-Component FAME MixSupelco, USA) การวิเคราะห์หาชนิดของกรดไขมันในตัวอย่าง ใช้การเปรียบเทียบเวลาที่พีคของสารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์เทียบกับเวลาของสารมาตรฐานซึ่งทราบแล้วว่าแต่ละพีคเป็นสารมาตรฐานชนิดใด ส่วนการหาปริมาณของกรดไขมัน เทียบกับปริมาณกรดไขมันทั้งหมด (%TFA) ทำโดยใช้การเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างกับพื้นที่ทั้งหมดการ

สารมาตรฐาน Supelco 37-Component FAME Mix Supelco, USA

1. Butyric Acid (C4:0)
2. Caproic Acid (C6:0)
3. Caprylic Acid (C8:0)
4. Capric Acid (C10:0)
5. Undecanoic Acid (C11:0)
6. Lauric Acid (C12:0)
7. Tridecanoic Acid (C13:0)
8. Myristic Acid (C14:0)
9. Myristoleic Acid (C14:1)
10. Pentadecanoic Acid (C15:0)
11. cis-10-Pentadecenoic Acid (C15:1)
12. Palmitic Acid (C16:0)
13. Palmitoleic Acid (C16:1)
14. Heptadecanoic Acid (C17:0)
15. cis-10-Heptadecenoic Acid (C17:1)
16. Stearic Acid (C18:0)
17. Oleic Acid (C18:1n9c)
18. Elaidic Acid (C18:1n9t)
19. Linoleic Acid (C18:2n6c)
20. Linolelaidic Acid (C18:2n6t)
21. γ-Linolenic Acid (C18:3n6)
22. α-Linolenic Acid (C18:3n3)
23. Arachidic Acid (C20:0)
24. cis-11-Eicosenoic Acid (C20:1n9)
25. cis-11, 14-Eicosadienoic Acid (C20:2)
26.cis-8,11,14-EicosatrienoicAcid (C20:3n6)
27. cis-11, 14, 17-Eicosatrienoic Acid (C20:3n3)
28. Arachidonic Acid (C20:4n6)
29. cis-5, 8, 11, 14, 17-Eicosapentaenoic Acid (C20:5n3)
30. Heneicosanoic Acid (C21:0)
31. Behenic Acid (C22:0)
32. Erucic Acid (C22:1n9)
33. cis-13, 16-Docosadienoic Acid (C22:2)
34. cis-4,7,10, 13, 16, 19-Docosahexaenoic (C22:6n3)
35. Tricosanoic Acid (C23:0)
36. Lignoceric Acid (C24:0)

37. Nervonic Acid (C24:1n9)

คำนวณ % กรดไขมัน

%กรดไขมัน = 100 x พื้นที่ใต้พีคของกรดไขมัน / A

A = พื้นที่ใต้พีคกรดไขมันทั้งหมด – (พื้นที่ใต้พีคเฮกเซน + พื้นที่ใต้พีค BHT)

การวิเคราะห์โปรตีนรวม (Kjeldahl method, AOAC, 2000)

การวิเคราะห์หาโปรตีนรวมทำโดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน โดยชั่งตัวอย่างใส่ลงในหลอดแก้ว นำไปย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นในสภาพที่มีความร้อนและสารเร่งปฏิกิริยา จนกระทั่งได้สารละลายใส ส่วนของอินทรียวัตถุจะสลายตัวไป สารประกอบไนโตรเจนทั้งที่เป็นส่วนของโปรตีนแท้และไม่ใช่โปรตีน (ยกเว้นที่อยู่ในรูปของไนเทรตและไนไทรต์) จะถูกเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต หลังจากทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ลงไปแล้วทำการกลั่น แอมโมเนียจะถูกไล่ออกมา ทำการจับไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ด้วยกรดบอริกที่มีความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปไตเตรทกับกรดเกลือมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล คำนวณหาความเข้มข้นของไนโตรเจน เนื่องจากโปรตีนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบโดยเฉลี่ย 16 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงคำนวณหาค่าโปรตีนรวมได้โดย

% โปรตีนรวม (CP) = % ไนโตรเจน x 6.25

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

โดยใช้เครื่อง KJELTEC system โดยจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

ขั้นตอนการย่อย

1. เปิดเครื่อง Digestor ปรับความร้อนจนได้อุณหภูมิ 430 องศาเซลเซียส
2. ชั่งตัวอย่าง 0.2-0.3 กรัม ผสมกับ 3.5 กรัม K_2SO_4 + 0.4 กรัม $CuSO_45H_2O$ เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นจำนวน 15 มิลลิกรัม ลงในหลอดย่อย
3. ทิ้งไว้ให้เครื่องทำงาน (ประมาณ 45 นาที หรือจนตัวอย่างใส)
4. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

ขั้นตอนการกลั่น

1. เตรียม 4 เปอร์เซ็นต์ Boric Acid ปริมาณ 25 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ จะได้สารสีส้มแดง
2. นำตัวอย่างที่รอให้เย็นจากการย่อยมาเติมน้ำกลั่นหลอดละ 50 มิลลิลิตร
3. ต่อหลอดย่อย เข้ากับเครื่องกลั่นแล้วเปิดเครื่อง

4. เติม NaOH 40 เปอร์เซ็นต์ ตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นสีดำ

5. เปิด Stream on

6. ใช้เวลาในการกลั่นประมาณ 4 นาที สารละลายที่กลั่นเก็บได้จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว (ประมาณ 150 มิลลิลิตร)

7. ปิด Stream on

8. นำตัวอย่างที่ได้ไปไตเตรทกับ HCl 0.1 N จนได้จุดยุติ จดปริมาณ HCl

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีนจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน} = \frac{(VA - VB) \times N \times 0.014 \times DF \times 100 \times CF}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

VA = ปริมาณของ HCl ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่างอาหาร (มิลลิลิตร)

VB = ปริมาณของ HCl ที่ใช้ในการไตเตรท Blank (มิลลิลิตร)

N = นอร์มัลของ HCl

DF = Dillution Factor

CF = Conversion Factor

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (ด้วยเทคนิค Soxhlet extraction) (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์หาไขมันในตัวอย่างทำได้โดยใช้ตัวทำละลาย Petroleum ether ที่เป็นสารอินทรีย์เป็นตัวสกัด ด้วยเครื่องมือที่เรียกว่าซอกเทค (Soxtech) Foss Soxtoc 2043 สารที่ถูกสกัดได้แบ่งเป็น 2 พวกคือ สารพวกไขมัน คือกลีเซอไรด์ของกรดไขมัน กรดไขมันอิสระ สเตอรอล เลคซิติน และไขมันที่ระเหยได้ และสารพวกที่ไม่ใช่ไขมัน แต่ตัวทำละลายสามารถสกัดออกมาได้ด้วย คือ เม็ดสีต่าง ๆ เรซิน สารประกอบพวกอัลคาไล และพวกวิตามินที่ละลายในไขมัน ได้แก่ A D E และ K เนื่องจากสารที่ไม่ใช่ไขมันนี้มีปริมาณน้อยมาก เมื่อเทียบกับสารพวกไขมัน ดังนั้น สารพวกที่ไม่ใช่ไขมัน จึงไม่มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน จากการที่สารที่ถูกสกัดมีทั้งพวกที่เป็นไขมันและไม่ใช่ไขมัน จึงเรียกสารทั้งสองพวกนี้ว่า Crude fat ไขมันและสารที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน ฮอร์โมนจำพวกสเตอรอยด์และสารสี เช่น คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ ตลอดจนลิพิดประเภทอื่น ๆ จะถูกชะออกมา เมื่อกลั่นแยกเอาตัวทำละลายนี้ออกไปแล้ว ส่วนที่เหลืออยู่ถือว่าเป็นไขมัน

การสกัดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ *Pichia sp.*

1. ชั่งตัวอย่างที่หาความชื้นแล้ว ประมาณ 1 กรัม ใส่บนกระดาษกรอง

2. นำตัวอย่างที่ห่ออยู่ในกระดาษกรอง ใส่ลงในทิมเบิล

3. นำทิมเบิลใส่ใน Extraction Unit it of Soxhlet ซึ่งเชื่อมต่อกับ 1046 Service Unit โดยใช้เครื่อง Adapter แล้วนำ Extraction cup ไปอบแล้วชั่งนำหนักที่แน่นอน

4. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงใน Extraction cup ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 50 มิลลิลิตรประกอบเครื่อง Soxhlet เข้าด้วยกัน

5. ให้ความร้อนทำการสกัดไขมันจากตัวอย่างนานประมาณ 1-2 ชั่งโมง

6. กลั่นเอาปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากไขมัน นำ Extraction cup และไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 103 นาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก

น้ำหนักไขมัน = (น้ำหนักไขมัน + น้ำหนัก Cups)-น้ำหนัก Cups เปล่า

ปริมาณไขมันทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = น้ำหนักไขมัน x 100/น้ำหนักตัวอย่าง (แห้ง)

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1. อบถ้วย Crucible ในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ทำให้เย็นใน Desiccator นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างใส่ลงในถ้วย Crucible ที่อบแห้ง และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (A)

3. นำถ้วย Crucible ที่บรรจุตัวอย่างเข้าอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 16-18 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นใน Desiccator (B)

4. นำไปชั่งน้ำหนัก จนได้น้ำหนักคงที่

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นจากสูตร

เปอร์เซ็นต์ความชื้น = น้ำหนักที่หายไป (A-B) (กรัม) x 100/น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

เถ้า (Ash) หมายถึง ปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร หลังจากที่เผาสารอินทรีย์หมดแล้ว ในการหามักจะใช้ความร้อนเผาสารอินทรีย์ ดังนั้นค่าเถ้าที่ได้จึงไม่จำเป็นต้องเท่ากับปริมาณสารเกลือแร่ทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารตอนแรก สารอนินทรีย์หรือเกลือแร่บางส่วน จะสูญเสียไปโดยการระเหยเพราะความร้อนที่ใช้ในการเผานั่นเอง ค่าเถ้าที่ได้จึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของอาหารนั้น ๆ

วิธีวิเคราะห์

1. อบถ้วย Crucible ในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ทำให้เย็นใน Desiccator นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (A)

2. นำตัวอย่าง 0.5-1 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้อง (Crucible)

3. นำไปเผาในเตาเผา (Muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จนตัวอย่างกลายเป็นเถ้าแล้วทิ้งไว้ให้เย็น Desiccator ชั่งน้ำหนักตัวอย่างซ้ำอีกครั้ง (B)

4. สารที่เหลืออยู่ในถ้วย คือ ส่วนของสารอนินทรีย์ หรือเถ้า ที่ประกอบด้วยแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบ นำมาคำนวณหาค่าจากสูตร

% เถ้า = (B-A) x 100/นน. ตัวอย่าง (กรัม)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ

การเตรียมตัวอย่าง

แอคติโนมัยซีทที่ถูกเลี้ยงให้เจริญบนจานเพาะเชื้อ ในอาหารเหลว ISP*2* บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 110 รอบ/นาที เป็นเวลา 7-14 วัน จากนั้นเก็บเซลล์แอคติโนมัยซีทด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 7000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วย 0.85**%** โซเดียมคลอไรด์ รวบรวมเซลล์ที่ได้มาสกัดด้วย เป็น Crude extraction (Folch *et al*., 1957)

การสกัดตัวอย่าง

1.ชั่งตัวอย่างเซลล์เปียก ในบีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2*:* 1) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่ผสม BHT 0.01 เปอร์เซ็นต์ นำไปสกัด ด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคเป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายส่วนบนใส่กรวยแยก และทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้นำมารวมกันในกรวยแยก ในส่วนของน้ำเลี้ยงสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม

2. เติมสารละลาย 0.88 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมคลอไรด์ ปริมาณ 1 ใน 4 ของปริมาตรสารละลายที่แยกได้จากการสกัด (12.5 มิลลิลิตร) ปิดฝากรวยแยก เขย่าประมาณ 1 นาที ปล่อยไว้ให้แยกชั้น

3. ชั่งน้ำหนักฟลาสก์ก้นกลม เทสารละลายชั้นล่างลงในฟลาสก์ก้นกลมผ่านกรวยแก้วที่บรรจุโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส เพื่อดูดความชื้น

4. นำสารละลายในฟลาสก์ก้นกลมไประเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบสูญญากาศ

5. นำฟลาสก์ก้นกลมที่มีไขมันทำให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

6. ชั่งน้ำหนักฟลาสก์และไขมันด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง เพื่อหาน้ำหนัก โดยชั่งสารสกัดหยาบ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 500 ไมโครลิตร ด้วยสารละลายผสมคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2:1) เพื่อทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำด้วย Disc diffusion method

การคัดแยกเชื้อ Vibrio

เชื้อ Vibrio สามชนิดที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ *V. alginolyticus, V. parahemolyticus* และ *V. vulnificus*. เป็นเชื้อ Vibrio ที่ก่อโรคในปลา ทำการแยกจากเลือดและตับของตัวอย่างปลา จากสถานเลี้ยงสัตว์น้ำเค็ม สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา โดยใช้ Sterile loop จากนั้นเลี้ยงใน Tryptic soy broth (TSB, Difco, USA) ที่มีส่วนผสม 2**%**NaCl ที่ 30°C เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ 0.5 McFarland และ noculated onto Nutrient agar. *Vibrio* spp. ถูกตรวจคุณลักษณะ โดย API 20 (BioMerieux, France) และ 16s rRNA sequence.

Antibacterial assay

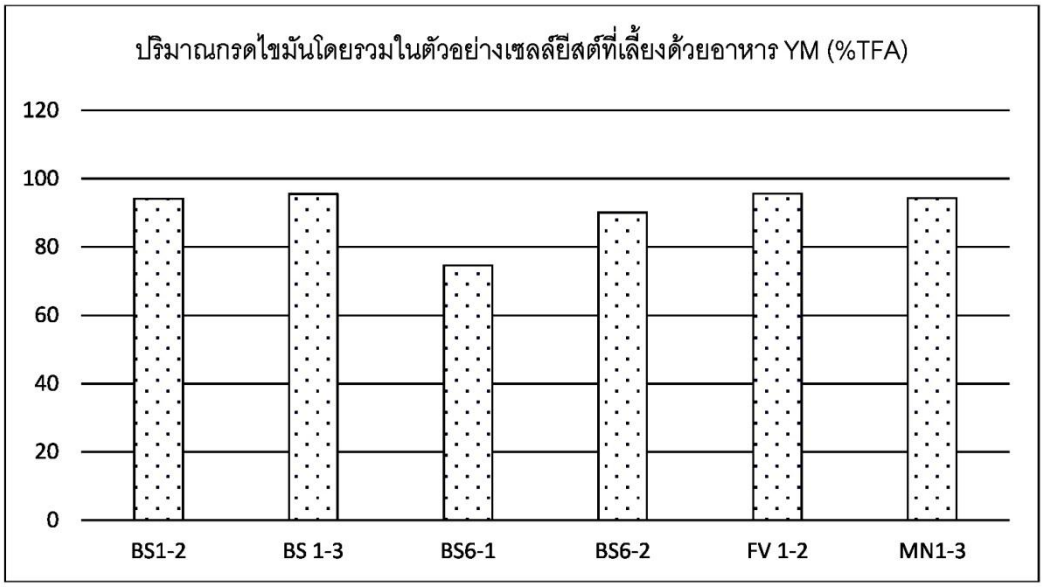
ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาของสารสกัดหยาบโดย Disc-diffusion method (Bauer *et al*., 1966) โดยมีขั้นตอนดังนี้ นำสารสกัดหยาบ (1000 µg/20µL) หยดลงใน Sterile paper discs (6 mm) ทิ้งให้ตัวทำละลายระเหยแห้ง จากนั้นนำไปวางลง Tryptic soy agar plates (TSA) ที่ Inoculated ด้วย *V. alginolyticus, V. parahemolyticus* และ *V. vulnificus*. (10^7 CFU/mL) นำ Plates ไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชม. ทำการดูผลโดยวัด Inhibition zones (mm). และในการศึกษามี Positive controls: Oxytetracycline 30 µg (OT30), Chloramphenicol 30 µg (C30), Gentamicin 120 µg (CN120), Neomycin 30 µg (N30), Enrofloxacin 5 µg (ENR 5) และ Penicllin G 10 unit (P10) ส่วน Negative control เป็น Paper disc ที่หยดตัวทำละลายที่ใช้ 20 µL.

ผลการศึกษา

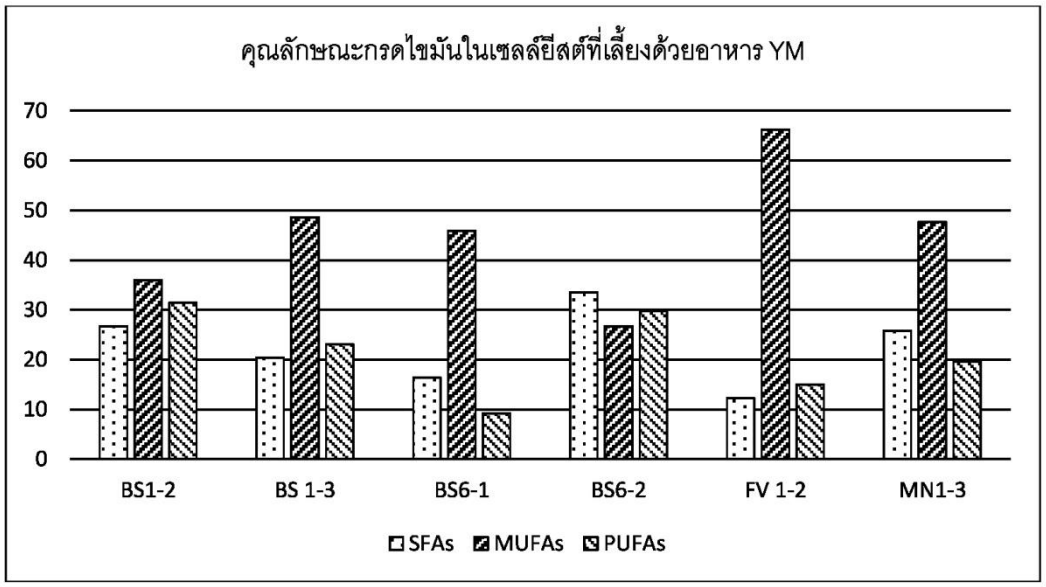
ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำจากยีสต์ 6 ชนิดที่คัดแยกจากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี ได้แก่ BS1-2, BS1-3, BS6-1, BS6-2, FV1-3 และ MN1-3 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ที่ความเค็ม 30 พีพีที เป็นระยะเวลา 120 ชม. พบปริมาณกรดไขมันโดยรวมมีค่า 74.61-95.61 %TFA ผลแสดงในภาพที่ 5 และพบว่ายีสต์ทุกชนิดมีการผลิตกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยคุณลักษณะกรดไขมันส่วนใหญ่จะเป็น ชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) (ภาพที่ 6) ตารางภาคผนวกที่ 2 และ 3 เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในยีสต์ 6 ตัวอย่าง ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM พบยีสต์ BS1-2, BS6-2 มีการผลิตกรดไขมันจำเป็นชนิด Linoleic acid; C18:2n6 และ α-linolenic acid; C18:3n3 สูงกว่าตัวอย่างอื่น (ภาพที่ 7) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในยีสต์ BS1-2 กับ BS6-2 พบว่าตัวอย่างยีสต์ BS6-2 ที่ความเค็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง มีการผลิตกรดไขมันจำเป็น C18:3n3 มีปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 ที่สูงเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อย (ตารางภาคผนวกที่ 4) และมีการเจริญที่ดีกว่า จึงเลือกตัวอย่างยีสต์ BS6-2 มาทำการศึกษาต่อ โดยนำมาเลี้ยงด้วยอาหาร YM เปรียบเทียบกับอาหารกากชานอ้อย ผลการศึกษาพบว่าการเลี้ยงในอาหาร YM จะให้ปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 (19.9 %TFA) ที่สูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อย (15.56%TFA) แต่การเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อยมีปริมาณกรดไขมัน C18:3n3 (9.78%) ในปริมาณที่สูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหาร YM (7.63 %TFA) ผลแสดงในภาพที่ 8 จึงนำยีสต์ BS6-2 มาทำการศึกษาต่อเรื่องสภาวะของความเค็ม โดยเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อย ปรับสภาวะการเลี้ยงที่มีความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ 25, 30 และ 35 พีพีที

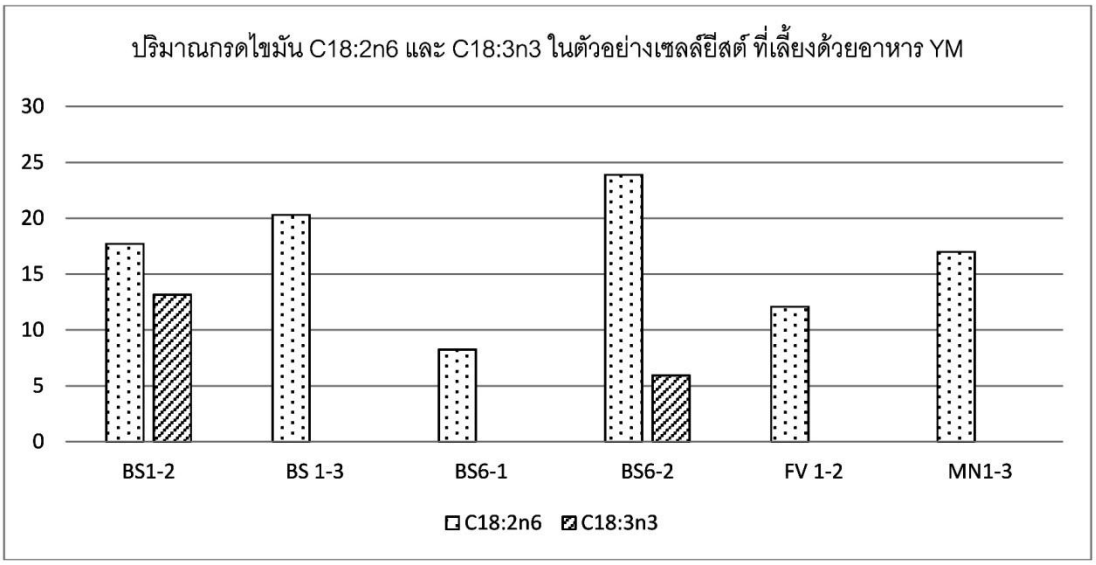
เมื่อทำการเลี้ยงยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ในอาหารกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที เป็นเวลา 216 ชั่วโมงและเก็บตัวอย่างยีสต์วิเคราะห์กรดไขมันทุก 24 ชั่วโมง ในการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมันภายนอกจำนวน 18 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย Myristic acid; (C14:0), Palmitic acid; (C16:0), Plamitoleic acid; (C16:1n7), Hexadecadienoic acid; (C16:2n4), Hexadecatrienoic acid; (C16:3n4), Stearic acid; (C18:0), Oleic acid; (C18:1n9), Vaccenic acid; (C18:1n7), Linoleic acid; (C18:2n6), Octadecatrienoic acid; (C18:3n4), α-Linolenic acid; (C18:3n3), Stearidonic acid; (C18:4n3), Eicosenoic acid; (C20:1n9), Arachidonic acid; (C20:4n6), Eicosatetraenoic acid; (C20:4n3) Eicosapentaenoic acid; (C20:5n3) Docosapentaenoic acid, (C22:5n3), Docosahexaenoic acid; (C22:6n3) พบว่าการเลี้ยงในทุกระดับความเค็มที่ระยะเวลา 72 และ 120 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 สูงสุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยยีสต์ที่เลี้ยงที่ความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:2n6 สูงสุด (22.58±1.24%) ภาพที่ 8 แสดงว่าระดับความเค็มที่ต่ำลงมีผลให้ยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารกากชานอ้อยผลิตกรดไขมันที่จำเป็นชนิด C18:2n6 ได้ดีขึ้น



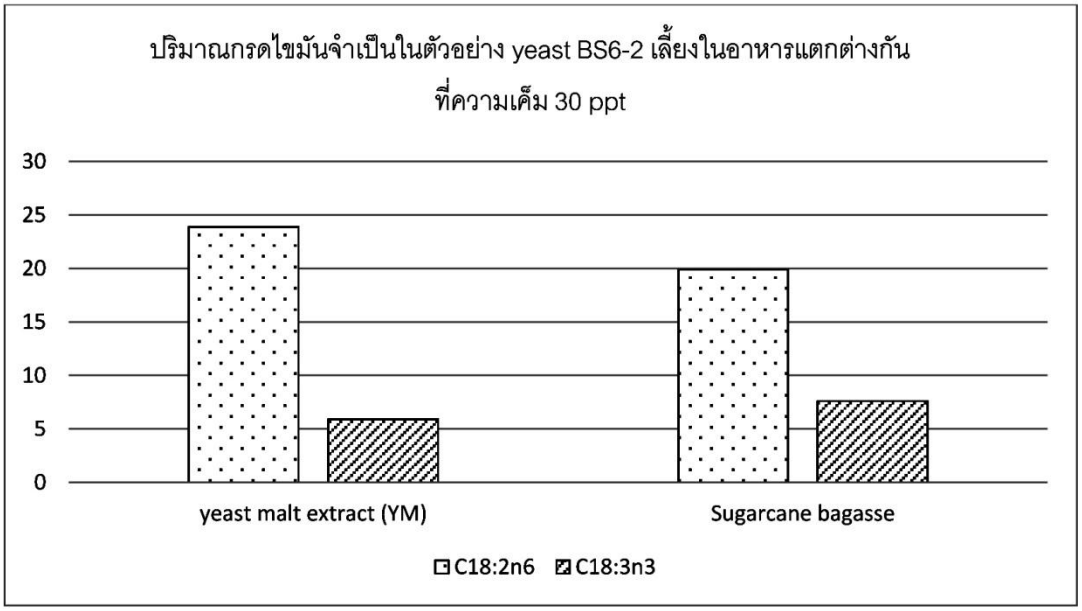
ภาพที่ 5 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Yeast Malt extract (YM)



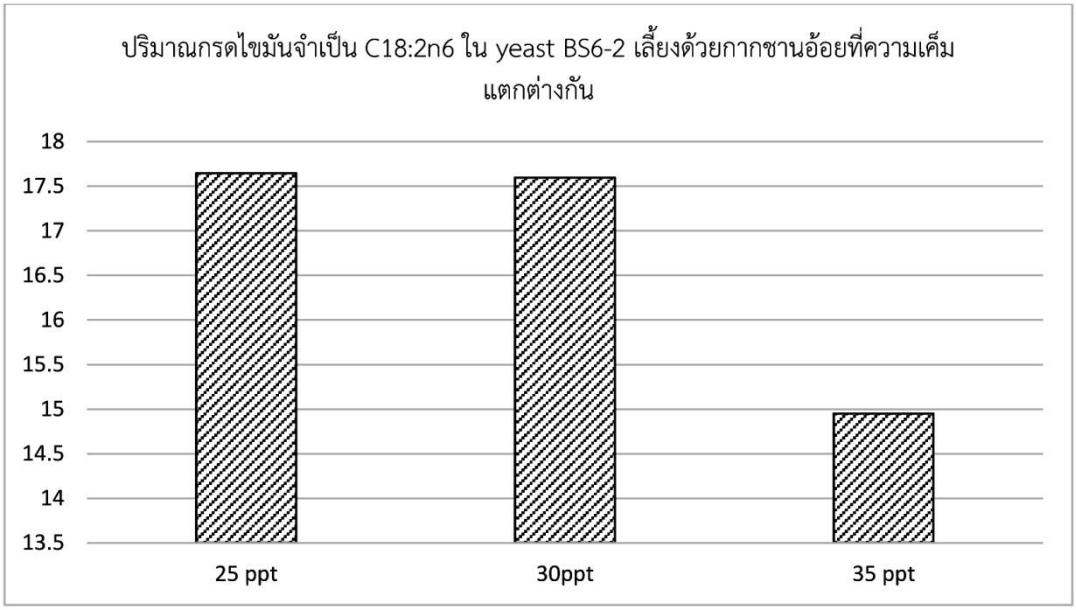
ภาพที่ 6 คุณลักษณะของกรดไขมันในเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Yeast Malt extract (YM)



ภาพที่ 7 ปริมาณของกรดไขมัน Linoleic acid (C18:2n6) และ α-linolenic acid (C18:3n3) ในเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร Yeast Malt extract (YM)



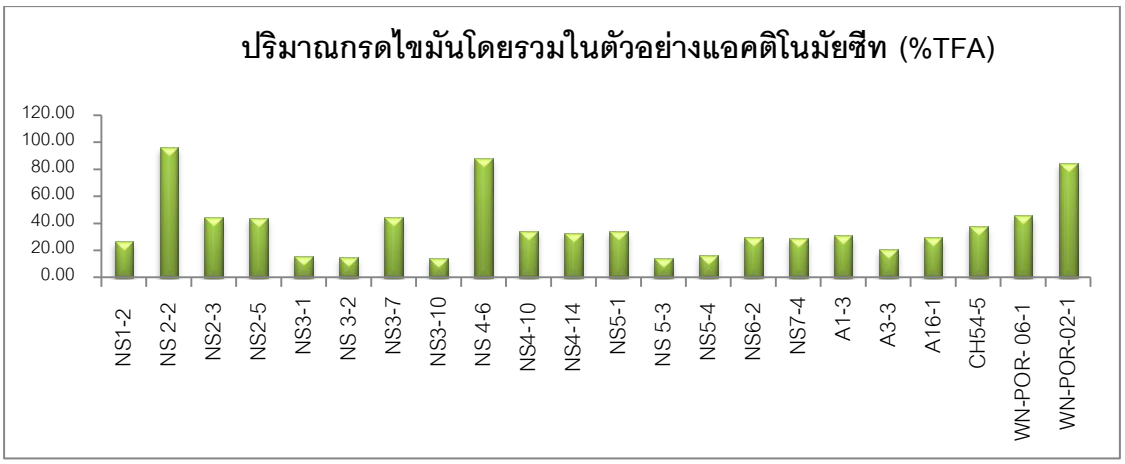
ภาพที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันชนิด Linoleic acid (C18:2n6) และ α-linolenic acid (C18:3n3) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS6-2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM (Yeast malt extract) และอาหารกากชานอ้อย (Sugarcane bagasse) ความเค็ม 30 ppt



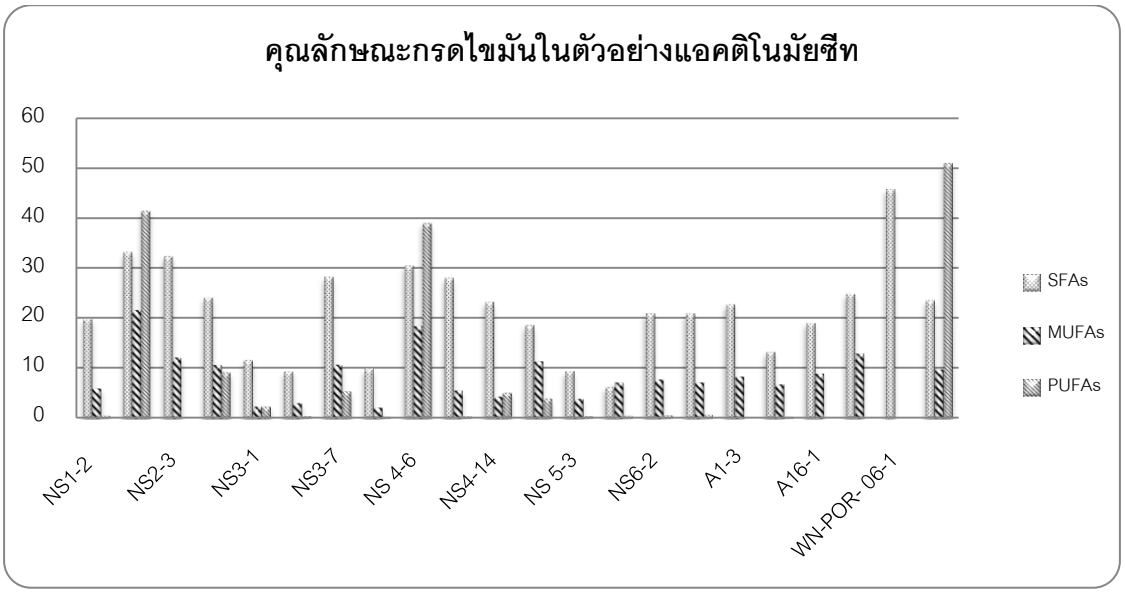
ภาพที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันชนิด Linoleic acid (C18:2n6) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS6-2 ที่เลี้ยง อาหารกากชานอ้อย (Sugarcane bagasse) ที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 ppt

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีท

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในแอคติโนมัยซีทจำนวน 22 ไอโซเลต ที่คัดแยกจากดินและฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งจังหวัดชลบุรี จันทบุรี และนครศรีธรรมราช ในปี 2556 เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP 2 ระยะเวลา 3-14 วัน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 20 ppt. เขย่า 100 rpm. ผลการศึกษาพบกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว โดยพบ Palmitic acid (C16:0) ในปริมาณสูงสุด 22.92% ของกรดไขมันทั้งหมด ยกเว้น ไอโซเลต NS 2-2, NS 4-6 และ WN-POR-02-1 เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) โดยตัวอย่าง NS 2-2 พบ Linoleic acid (C18:2n6) และ **α**-Linolenic acid (C18:3n3) ในปริมาณสูงสุด 37.38±0.27% และ 4.07±0.09% ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งกรดไขมันทั้งสองเป็นกรดไขมันจำเป็น เป็นสารเริ่มต้นของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 และโอเมก้า-6 ที่สัตว์บกและสัตว์น้ำ ไม่สามารถสังเคราะห์ได้เองต้องได้รับจากอาหารที่กินเท่านั้น ดังนั้นแอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS 2-2, NS 4-6 และ WN-POR- 02-1 ควรนำไปพัฒนาเพื่อเป็นแหล่งกรดไขมันชนิดจำเป็น (ผลแสดงในภาพที่ 10 ถึง 11 และตารางภาคผนวกที่ 5 ถึง 14)



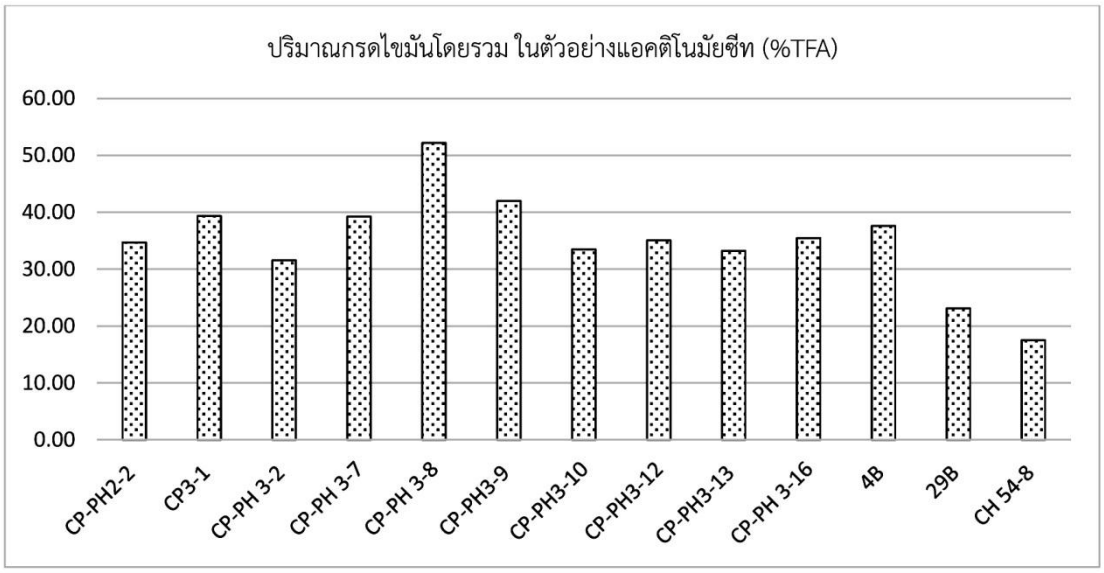
ภาพที่ 10 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดจันทบุรี ชลบุรี และนครศรีธรรมราช เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน 2556 (%TFA)

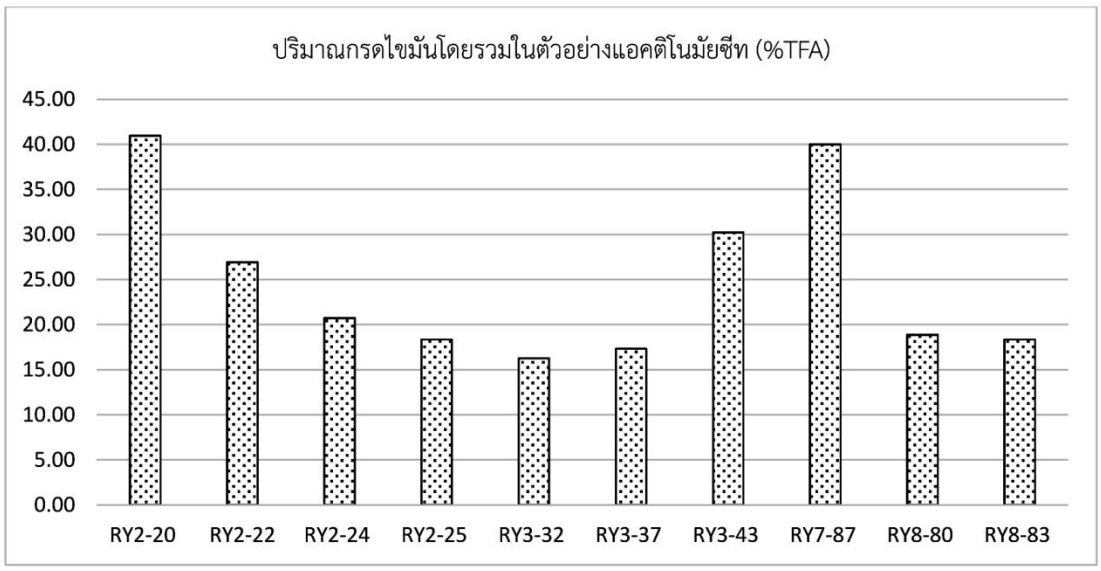


ภาพที่ 11 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี และนครศรีธรรมราช เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2556

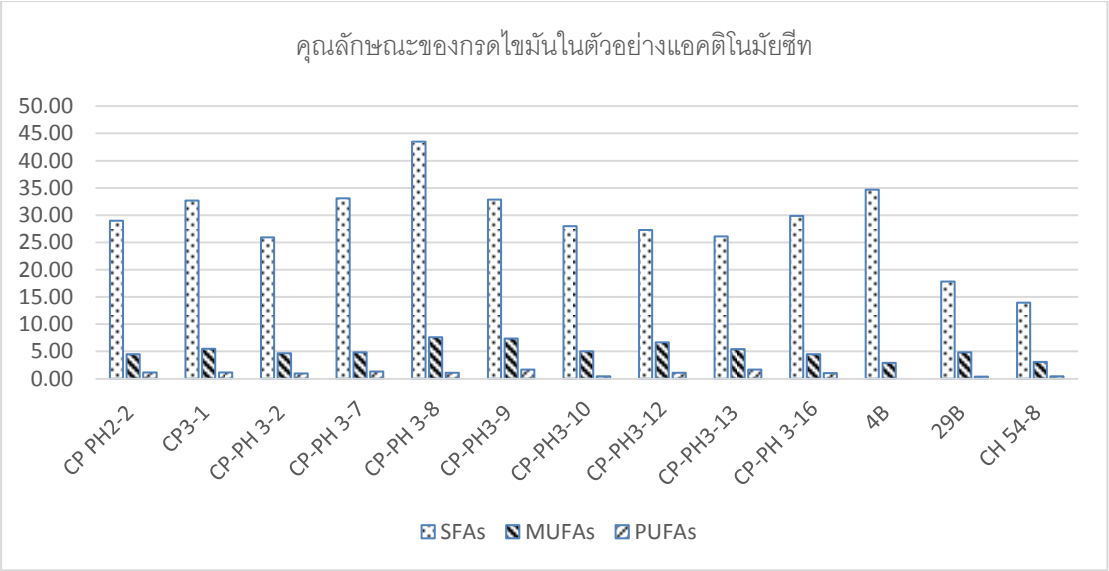
ในปี พ.ศ. 2557 ทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 23 ตัวอย่าง จากดินป่าชายเลนจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และ จังหวัดชุมพร เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP 2 ระยะเวลา 3-14 วัน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 20 ppt. เขย่า 100 rpm. ผลการศึกษาพบปริมาณรวมกรดไขมันสูงสุดในตัวอย่าง CP-PH 3-8 ที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดชุมพร ในปริมาณร้อยละ 52.16 รองลงมาเป็นตัวอย่าง CP PH 3-9 RY2-20 และ RY 7-87 ในปริมาณ 41.96, 40.97 และ 40.00%TFA คุณลักษณะของกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs: 37.63 %TFA) ชนิดกรดไขมันหลักที่

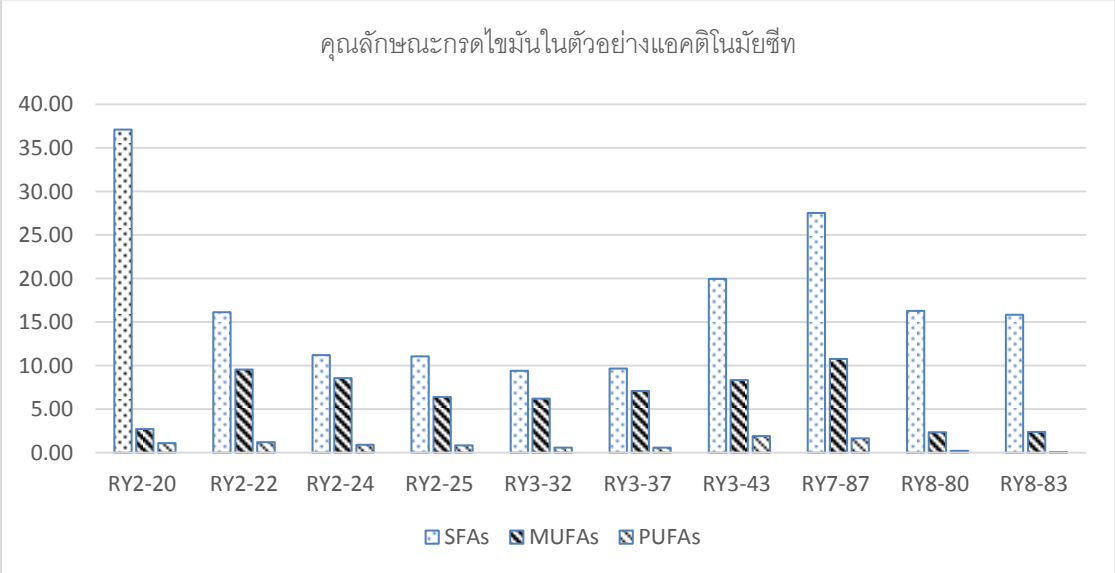
พบได้แก่ Palmitic acid (C16:0) และ Stearic acid (C18:0) ส่วนกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) พบในปริมาณที่ต่ำ โดยกรดไขมันชนิดจำเป็น Linoleic acid (C18:2n6) พบในตัวอย่าง CP-PH 8-8 ปริมาณ (0.86±0.03%TFA) และ **α**-Linolenic Acid (C18:3n3) พบในตัวอย่าง CP-PH 3-9 ในปริมาณ 0.29±0.02%TFA (ผลแสดงในภาพที่ 12 ถึง 13 และตารางภาคผนวก 15 ถึง 22)





ภาพที่ 12 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดจันทบุรี ระยอง และชุมพร เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2557 (%TFA)



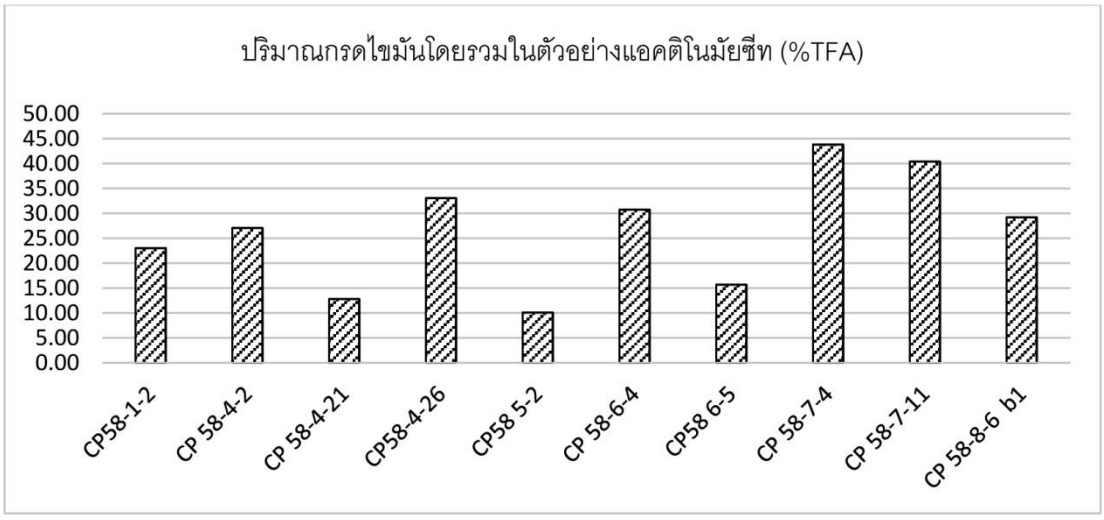


ภาพที่ 13 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดจันทบุรี ระยองและชุมพร เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2557

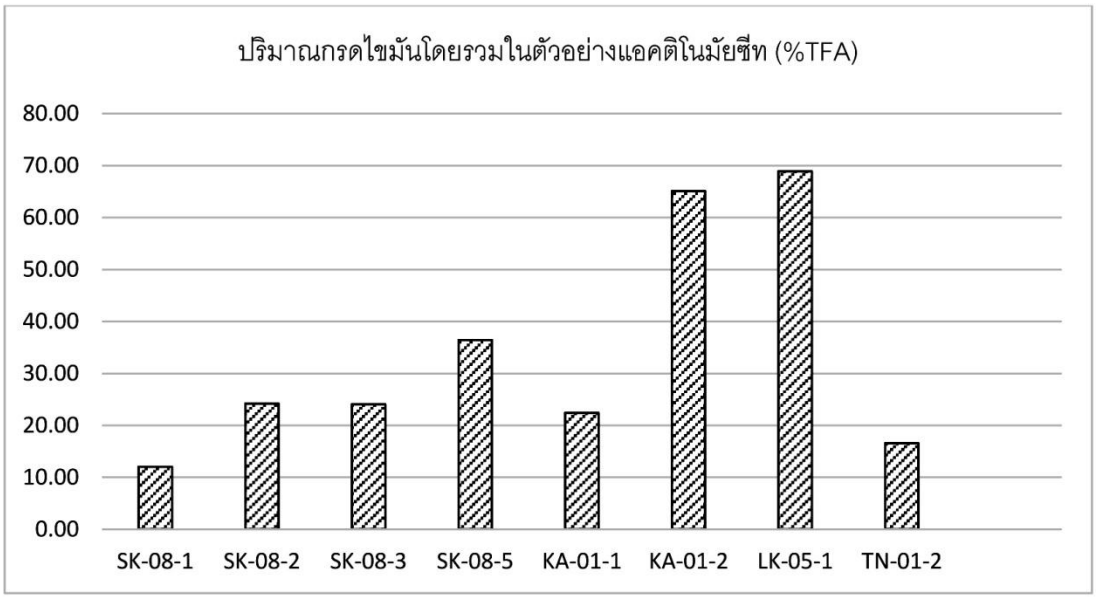
จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทจำนวน 18 ตัวอย่างที่คัดแยกจากดินและฟองน้ำทะเล โดยเก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน พ.ศ. 2558 บริเวณหมู่เกาะชุมพร จังหวัดชุมพร จากตัวอย่างดิน ได้แยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 10 ตัวอย่าง เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP 2 ระยะเวลา 3-14 วันอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 20 ppt. เขย่า 100 rpm. ได้แก่ CP 58 1-2, CP 58 4-2, CP 58 4-21, CP 58 4-26, CP 58 6-4, CP 58 6-5, CP 58 7-4, CP 58 7-11, CP 58 8-6, CP 58 8-8 และฟองน้ำทะเลจำนวน 8 ตัวอย่างได้แก่ KA-01-2, LK-05-1, SK-03-1, SK-08-1, SK-08-2, SK-08-3, SK-08-5 และ TN-01-2 ผลการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดิน จะมีปริมาณกรดไขมันโดยรวมในปริมาณที่ต่ำ มีค่าอยู่ในช่วง 10.06-

43.59%TFA ตัวอย่าง โดยตัวอย่าง CP 58 7-4 พบปริมาณกรดไขมันโดยรวมสูงสุด และจากการศึกษาครั้งนี้พบคุณลักษณะกรดไขมันในตัวอย่างจะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) กรดไขมันจำเป็นพบในบางตัวอย่าง แต่พบปริมาณน้อย เช่น CP 58 7-4 พบกรดไขมัน C18:2n6, C18:3n6 และ C20:4n6 ในปริมาณ 0.68, 0.46 0.16%TFA และในตัวอย่าง CP 58 4-26 (ผลแสดงในภาพที่ 14 ถึง 15 และตารางภาคผนวกที่ 23 ถึง 27)

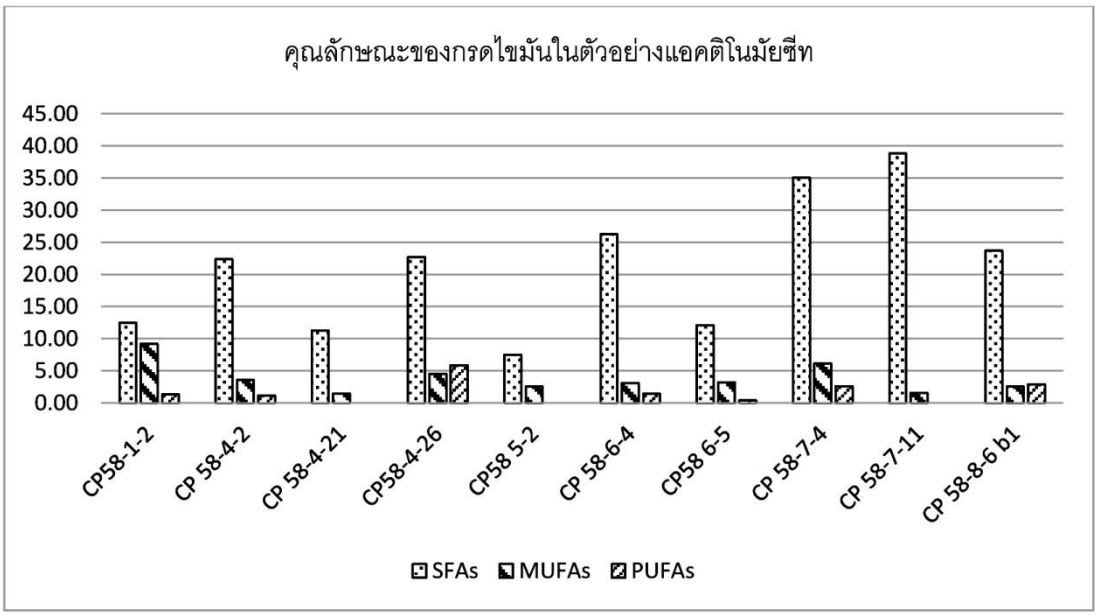
ในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล พบปริมาณกรดไขมันโดยรวมมีค่าอยู่ในช่วง 12.06-68.90%TFA ปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่าง LK-05-1 โดยคุณลักษณะของกรดไขมันส่วนใหญ่เป็นชนิดอิ่มตัว ยกเว้นในตัวอย่าง LK-05-1 เป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) และในตัวอย่าง LK-05-1 มีการผลิตกรดไขมันจำเป็น C18:2n6 และ C18:3n3 ในปริมาณ 24.21, 2.71%TFA และ SK-08-5 พบในปริมาณ 2.19 และ 0.12 %TFA (ผลแสดงในภาพที่ 14 ถึง 15 และตารางภาคผนวกที่ 23 ถึง 27)



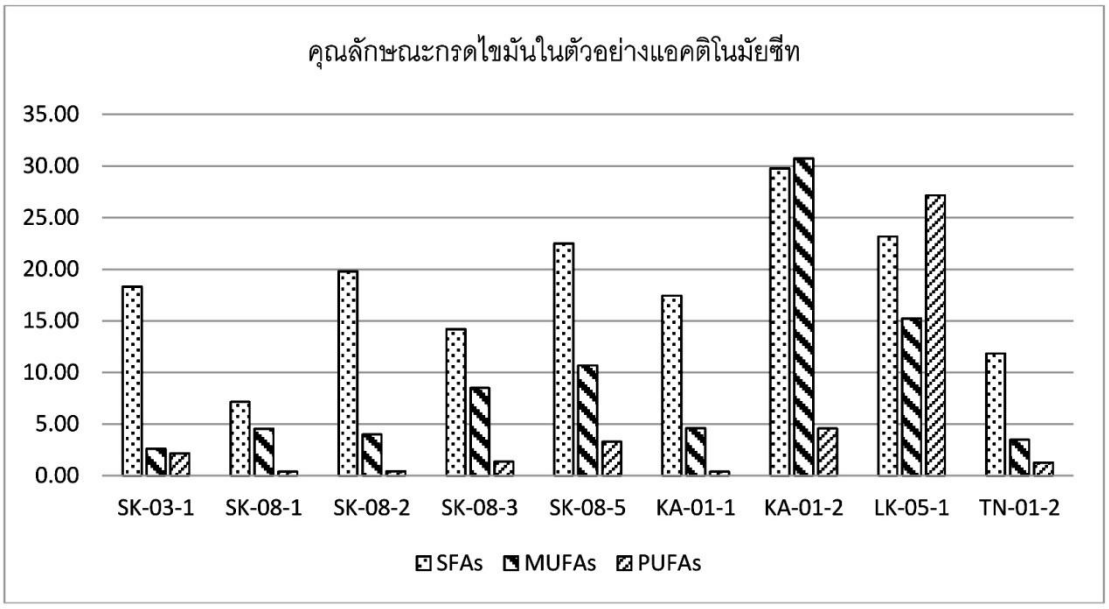
ภาพที่ 14 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนและฟองน้ำ จังหวัดชุมพร เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน 2558 (%TFA)



ภาพที่ 14 (ต่อ)



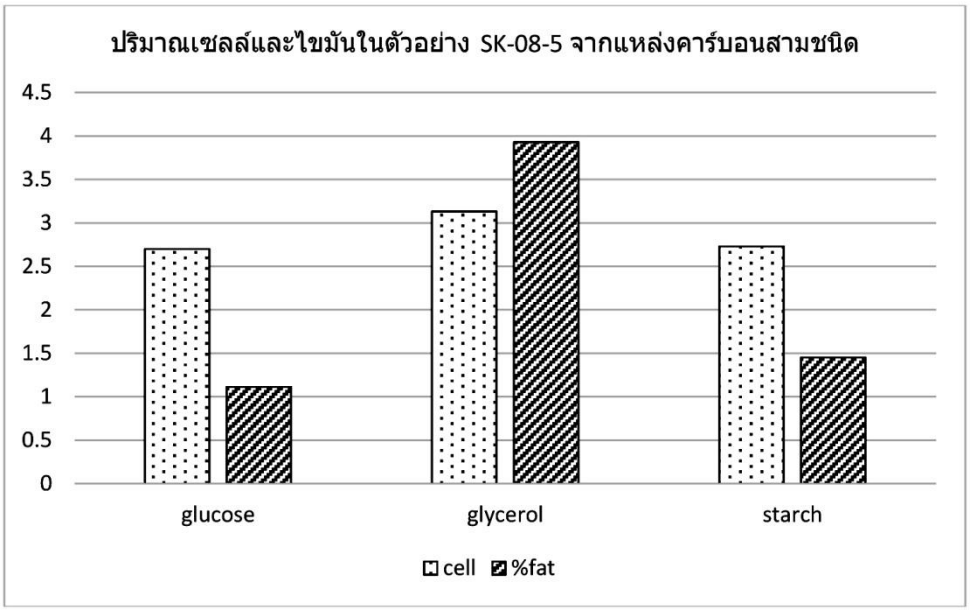
ภาพที่ 15 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนและฟองน้ำ จังหวัดชุมพร เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2558



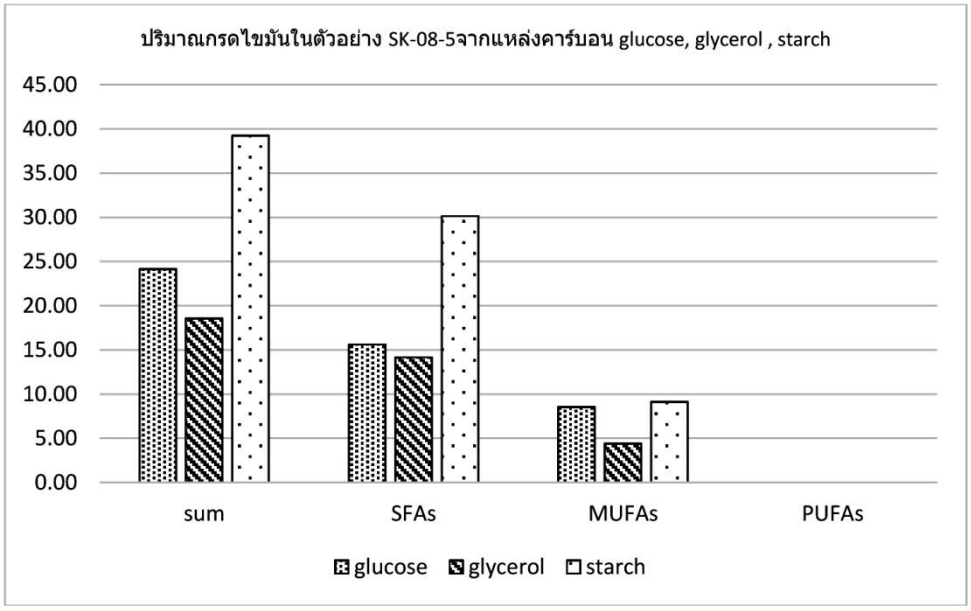
ภาพที่ 15 (ต่อ)

การหาสภาวะการเลี้ยงแอคติโนมัยซีท

จากการหาสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมของตัวอย่างแอคติโนมัยซีท เพื่อการผลิตกรดไขมันที่จำเป็นของไอโซเลท SK-08-5 ด้วยอาหาร ISP2 โดยมีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ Glucose, Glycerol และ Starch เลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 20 ppt. เขย่า 100 rpm. ผลการศึกษาพบปริมาณเซลล์ เท่ากับ 2.70, 3.12 และ 2.73 กรัมตามลำดับ ตัวอย่างที่ใช้ Glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนได้ปริมาณเซลล์และไขมันมากที่สุด แต่ปริมาณกรดไขมันโดยรวมพบสูงสุดในตัวอย่างที่เลี้ยงด้วย Starch เป็นแหล่งคาร์บอน ดังนั้นถ้าต้องการปริมาณเซลล์และไขมันควรใช้ Glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงแอคติโนมัยซีท แต่ถ้าต้องการปริมาณกรดไขมันควรใช้ Starch เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งชนิดกรดไขมันที่ตรวจพบจากการศึกษาครั้งนี้ เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนยังคงไม่พบในการเลี้ยงในสภาวะนี้ ดังนี้นการหาสภาวะที่เหมาะสมด้านอื่น ๆ เช่น ความเค็ม ความเป็นกรด ด่าง อุณหภูมิ เป็นต้น ควรมีการศึกษาต่อไป ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 16 ถึง 17



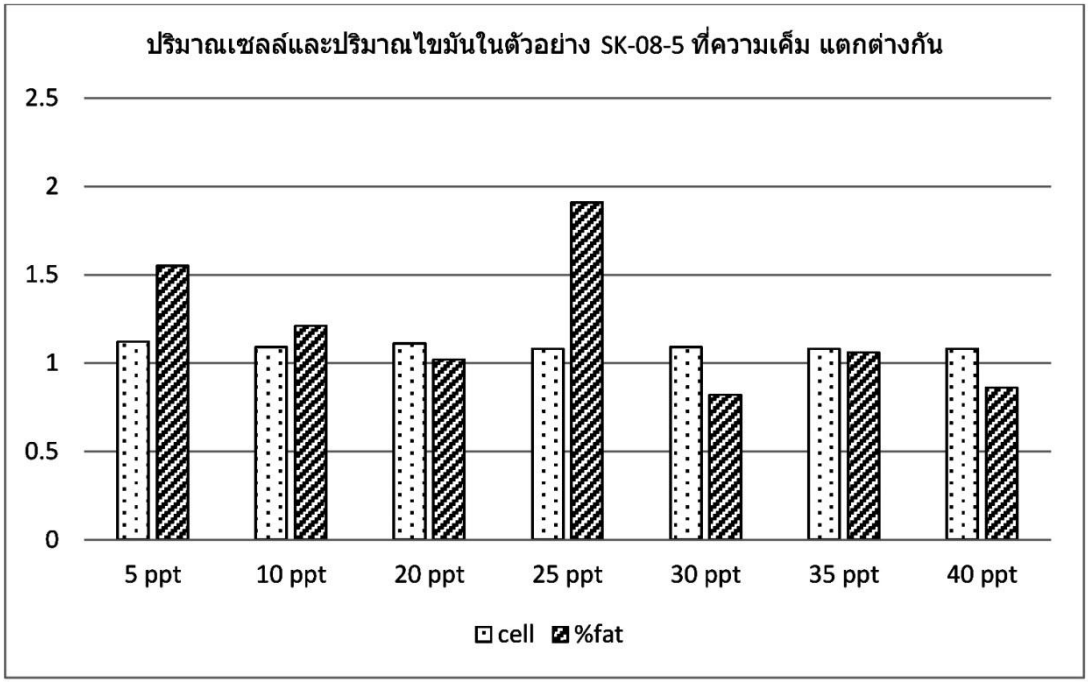
ภาพที่ 16 ปริมาณเซลล์และปริมาณไขมันในตัวอย่าง SK-08-5 ที่เลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน



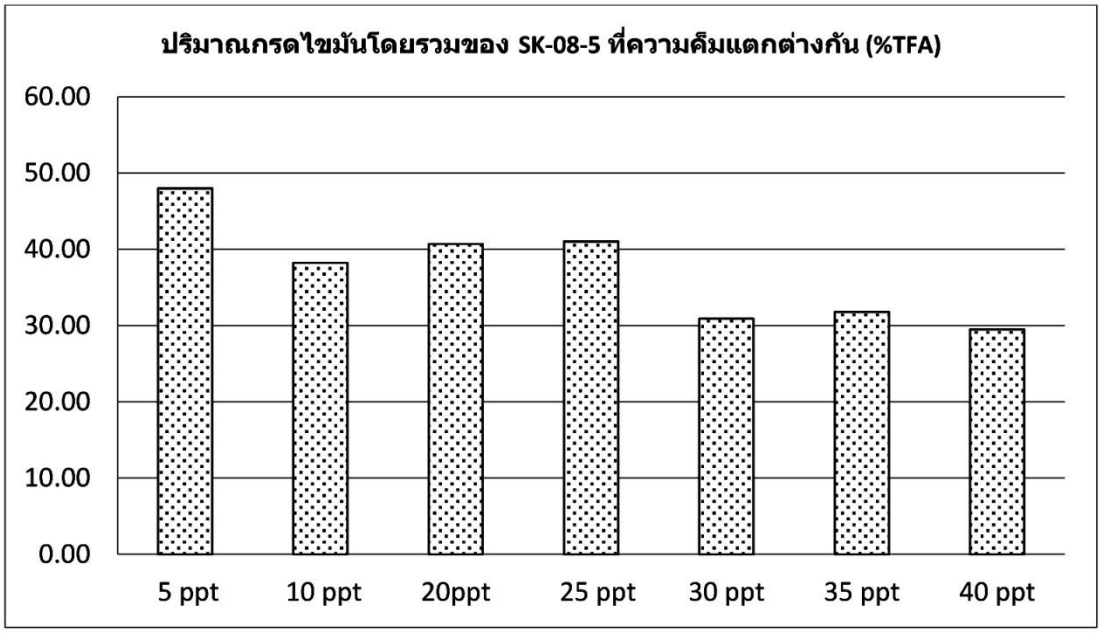
ภาพที่ 17 ปริมาณกรดไขมันในตัวอย่าง SK-08-5 ที่เลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน

จากการศึกษาผลของความเค็มที่ 5, 10, 20, 25, 30, 35 และ 40 ppt ต่อปริมาณเซลล์ ปริมาณไขมันและกรดไขมัน ในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทไอโซเลต SK-08-5 ผลการศึกษาพบปริมาณเซลล์ไม่แตกต่างกัน และการเลี้ยงที่ความเค็ม 25 ppt ได้ปริมาณไขมัน และกรดไขมันโดยรวมสูงสุด เมื่อดูคุณลักษณะของกรดไขมันพบว่า ส่วนใหญ่จะป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ยกเว้นที่ความเค็ม 5 ppt เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนพบปริมาณสูงสุดที่ความเค็ม 5 ppt

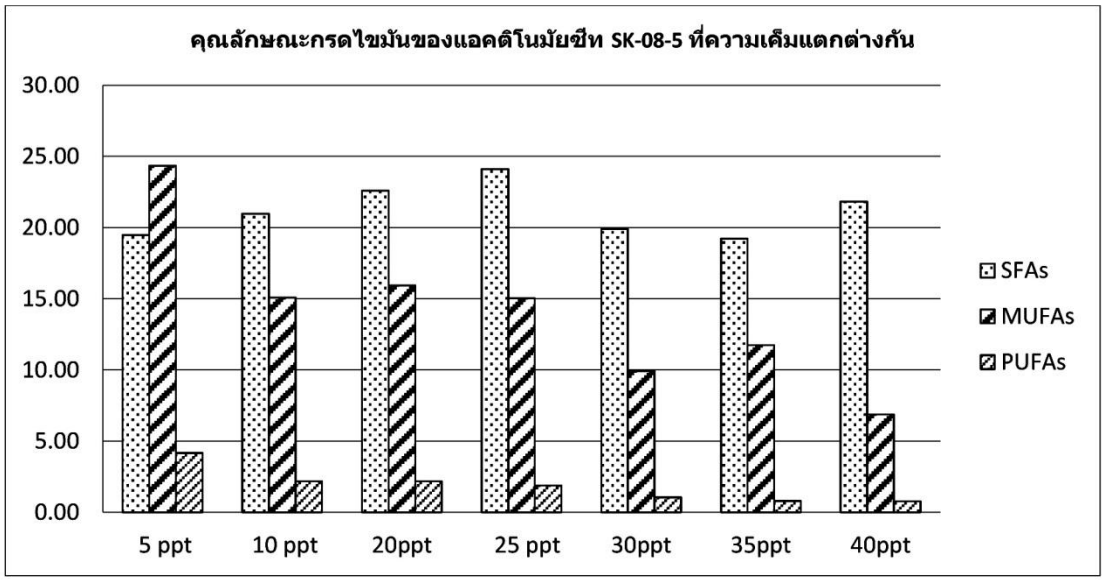
เช่นกัน และจากการศึกษาหาชนิดและปริมาณกรดไขมันที่ความเค็มแต่ละระดับ พบว่าที่ความเค็มทุกระดับมีการผลิตกรดไขมันชนิดจำเป็น C18:2n6 แต่ที่ความเค็ม 5 ppt พบในปริมาณสูงสุด ส่วนกรดไขมันจำเป็น C18:3n3 พบเฉพาะที่ความเค็ม 5 ppt และ 10 ppt ผลจากการศึกษาครั้งนี้ สรุปได้ว่าการเลี้ยงแอคติโนมัยซีทสามารถเลี้ยงที่ความเค็ม 5 ppt หรือที่ความเค็ม 20-25 ppt สามารถผลิตกรดไขมันชนิดจำเป็นได้ ซึ่งกรดไขมันทั้งสองเป็นตัวเริ่มต้นของกรดไขมันโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6 แต่ปริมาณที่พบไม่สูงมาก ดังนั้นควรมีการหาสภาวะอื่น ๆ ด้วย รายละเดียดแสดงดังภาพที่ 18 ถึง 21



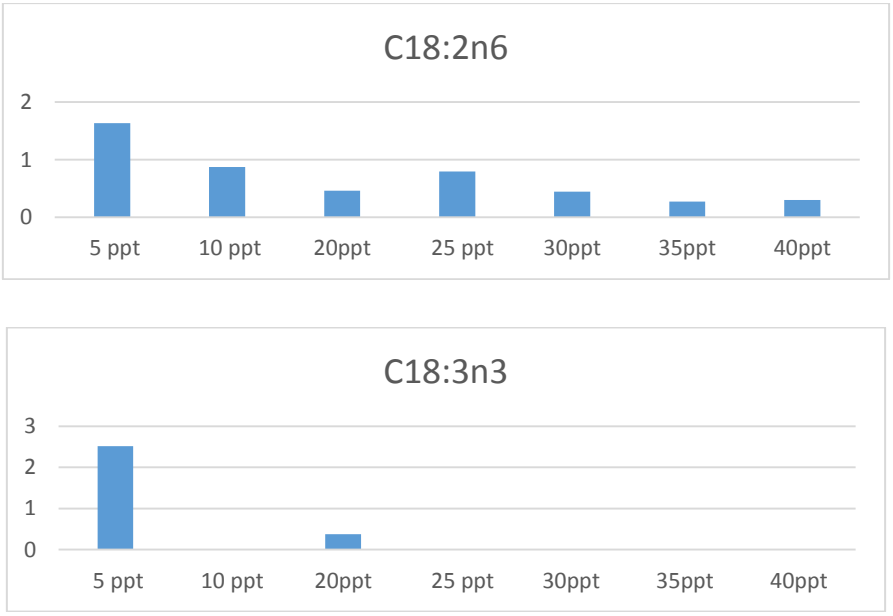
ภาพที่ 18 ปริมาณเซลล์และปริมาณไขมันในตัวอย่าง SK-08-5 ที่เลี้ยงด้วยความเค็มแตกต่างกัน



ภาพที่ 19 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคติโนมัยซีท SK-08-5 ที่ความเค็มที่แตกต่างกัน (%TFA)

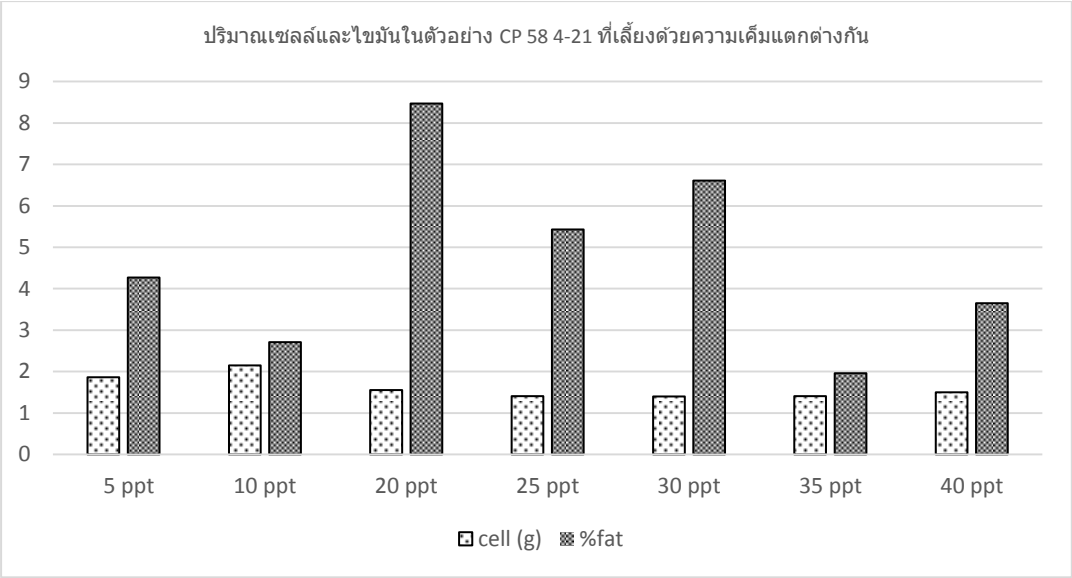


ภาพที่ 20 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีท **SK-08-5** ที่ความเค็มที่แตกต่างกัน (%TFA)

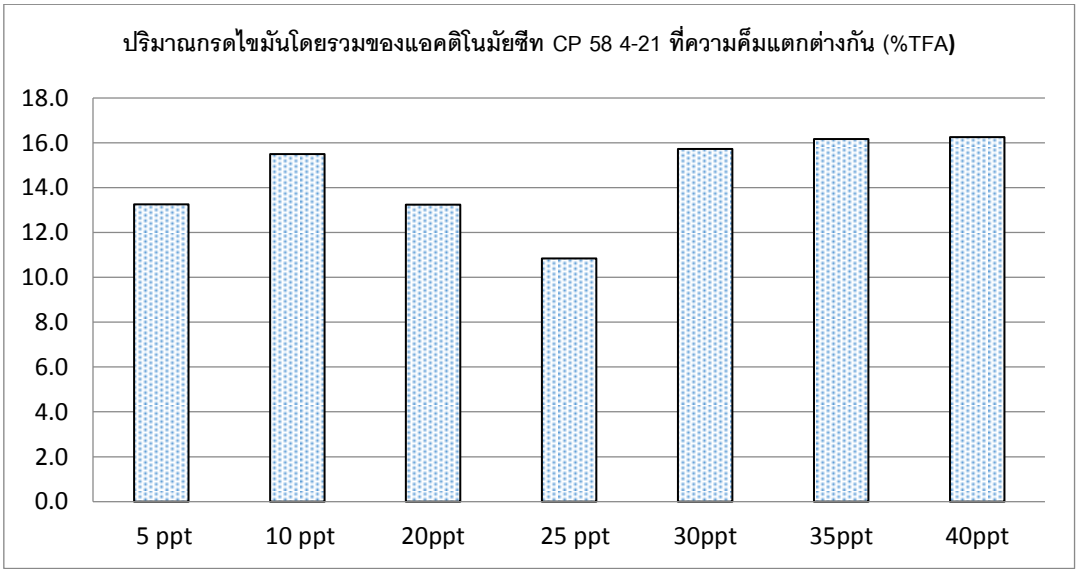


ภาพที่ 21 ชนิดและปริมาณกรดไขมัน C18:2n6, C18:3n3 ในตัวอย่าง SK-05-8 ที่เลี้ยงด้วยความเค็มที่แตกต่างกัน

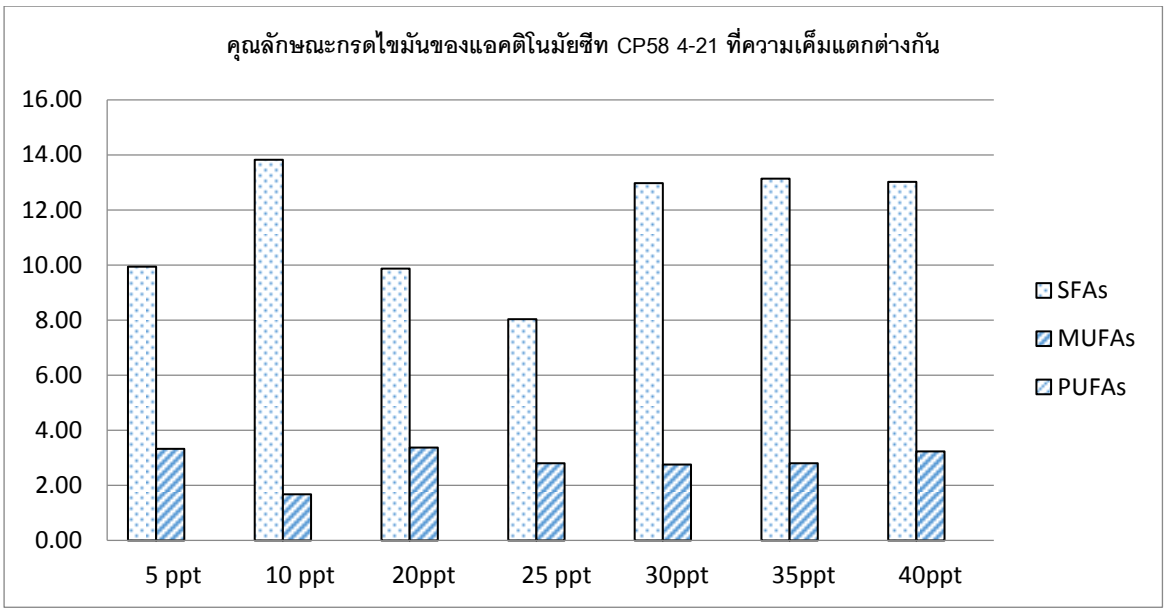
จากการหาความเค็มที่เหมาะสมในการเลี้ยงแอคติโนมัยซีท CP 58 4-21 ด้วยอาหาร ISP2 ที่ความเค็ม 5, 10, 20, 25, 30, 35 และ 40 ppt เป็นเวลา 7วัน ผลการศึกษาพบปริมาณเซลล์สูงสุดในความเค็มที่ 10 ppt แต่ปริมาณไขมัน (Crude fat) สูงสุดในการเลี้ยงที่ความเค็ม 20 ppt ผลแสดงดังภาพที่ 22 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมพบสูงสุดในการเลี้ยงที่ความเค็ม 35-40 ppt ภาพที่ 23 ส่วนคุณลักษณะชนิดกรดไขมันเป็นแบบอิ่มตัว (SFAs) และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ภาพที่ 24 จากการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบกรดไขมันแบบไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน PUFAs จากการศึกษาผลของความเค็มต่อปริมาณเซลล์ ไขมันและกรดไขมัน ในตัวอย่างสองไอโซเลต SK -8-5 กับ CP 58 4-21 พบว่าผลที่ได้มีความแตกต่างกัน โดยไอโซเลต SK-08-5 ความเค็มต่ำจะมีการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมากขึ้น



ภาพที่ 22 ปริมาณเซลล์และปริมาณไขมันในตัวอย่างแอคนิโนมัยซีทไอโซเลต CP 58 4-21 ที่เลี้ยงด้วยความเค็มแตกต่างกัน



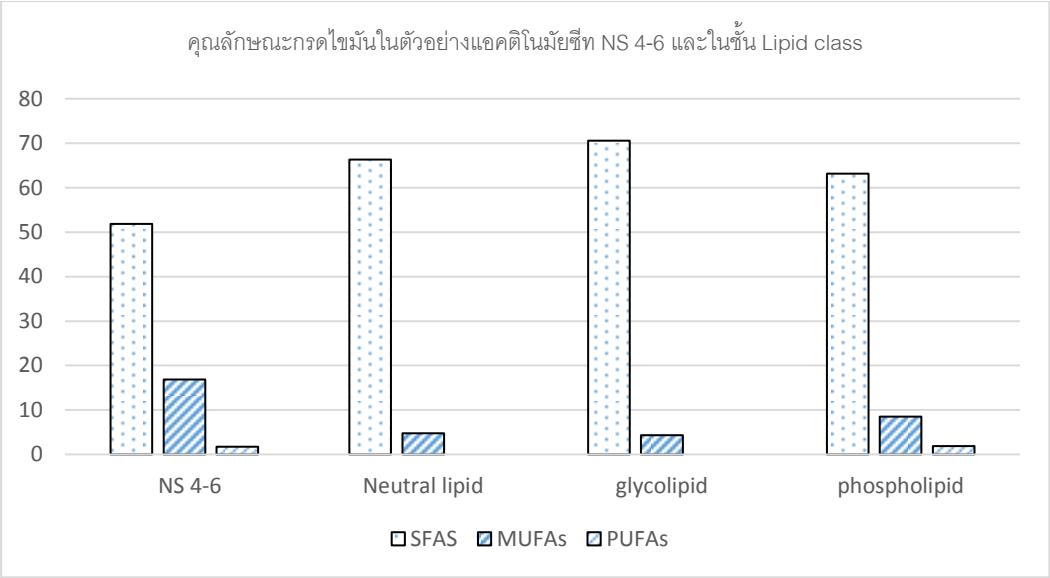
ภาพที่ 23 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมในเซลล์แอคทีโนมัยซีทไอโซเลต **CP** 58 4-21 ที่ความเค็มที่แตกต่างกัน (%TFA)



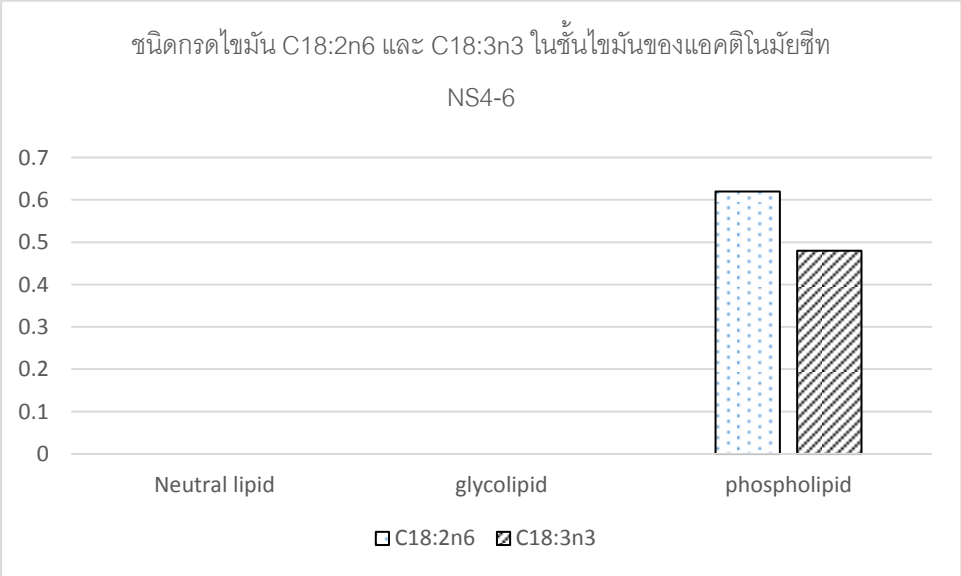
ภาพที่ 24 คุณลักษณะกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทไอโซเลต CP 58 4-21 ที่ความเค็มที่แตกต่างกัน (%TFA)

การศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในชั้นไขมัน (Lipid class) ของตัวอย่างแอคติโนมัยซีท

จากการแยกชนิดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS4-6 ด้วยเทคนิค Solid phase extraction ออกเป็น Neutral lipid, Glycolipid และ Phospholipid จากการหาชนิดและปริมาณกรดไขมัน พบคุณลักษณะกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) พบในชั้น Phospholipid เท่านั้น โดยเป็นกรดไขมันจำเป็น C18:2n6, C18:3n3 ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 25 ถึง 26 และในตารางที่ 4



ภาพที่ 25 คุณลักษณะกรดไขมันในแอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS 4-6 และใน Lipid class (%TFA)



ภาพที่ 26 ชนิดกรดไขมัน C18:2n6, C18:3n3 ใน Lipid class แอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS 4-6 (%TFA)

ตารางที่ 4 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในแอคติโนมัยซีท NS 4-6 และในชั้นไขมัน

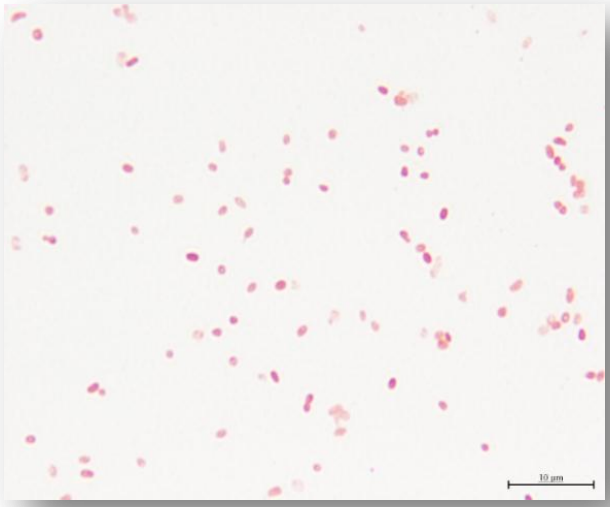
Fatty acid	NS 4-6	Neutral lipid	Glycolipid	Phospholipid
C10:0	0.23±0.01	0.18±0.00	nd	0.14±0.02
C12:0	0.84±0.02	0.64±0.13	0.66±0.04	0.90±0.05
C13:0	nd	nd	nd	nd
C14:0	2.46±0.03	2.49±0.11	3.15±0.06	3.45±0.01
C14:1	0.44±0.02	1.57±0.12	2.44±0.45	1.04±0.08
C15:0	0.58±0.04	1.47±0.01	0.39±0.06	0.48±0.02
C15:1	nd	nd	nd	nd
C16:0	20.32±0.19	23.13±0.28	17.13±0.16	26.11±0.09
C16:1n7	1.11±0.02	0.55±0.00	0.94±0.13	0.76±0.03
C17:0	5.59±0.06	11.52±0.06	35.80±0.08	12.99±0.03
C17:1	0.23±0.01	nd	nd	nd
C18:0	21.87±0.23	26.91±0.18	13.43±0.03	19.07±0.08
C18:1n9	15.06±0.18	2.67±0.11	0.94±0.13	6.67±0.54
C18:2n6 c+t	2.35±0.03	nd	nd	0.62±0.01
C18:3n6	nd		nd	0.76±0.03
C18:3n3	0.37±0.01	nd	nd	0.48±0.02
sum	70.46	71.15	74.89	73.49
SFAS	51.89	66.36	70.56	63.14
MUFAs	16.85	4.79	4.33	8.48
PUFAs	2.72	0.00	0.00	1.87

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลา

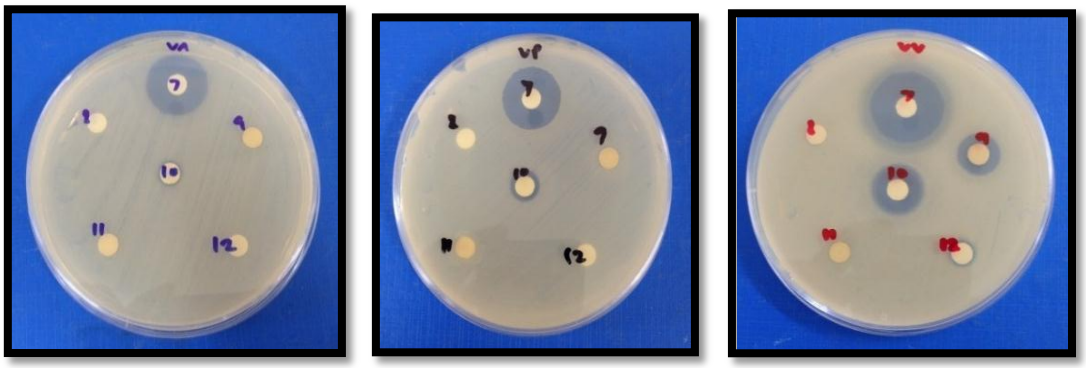
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่ก่อโรคในปลา 3 ชนิด *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus* และ *V. vulnificus* (ภาพที่ 27) ของสารสกัดจากเซลล์ และในส่วนของน้ำเลี้ยงแอคติโนมัยซีทจำนวน 24 ไอโซเลต ด้วยเทคนิค Disc diffusion ในปี 2556-2557 ซึ่งจำแนกเป็น *Streptomyces* 11 isolates, *Streptoalloteichus* 2 isolates, *Nocardiopsis* 1 isolate และยังไม่ได้จำแนกสายพันธุ์ 10 isolates (Srivibool & Watanadilok, 2015) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจำนวน 8 ไอโซเลต แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus และ V. vulnificus* และใน 8 ไอโซเลต เป็น *Streptomyces sp.* โดยแอคติโนมัยซีท 5 isolates ได้แก่ NS3-2, NS3-6, NS3-10, NS4-6 และ NS5-1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวิบริโอที่ก่อโรคในปลาทั้ง 3 ชนิด โดยที่ไอโซเลต NS3-10 แสดงฤทธิ์ยับยั้งสูงสุดโดยมีขอบเขตการยับยั้งอยู่ระหว่าง 19-22 mm, ขณะที่แอคติโนมัยซีทไอโซเลท NS4-6 แสดงฤทธิ์ยับยั้ง 14-19 mm และ NS 5-1 แสดงฤทธิ์ยับยั้ง 15-19 mm ขณะที่ไอโซเลต NS 5-4 และ NS 4-14 มีฤทธิ์ปานกลางในการยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* 15 mm. และ 12 mm. ตามลำดับ ยกเว้นไอโซเลต NS 4-

4, A3-3, A1-3 ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะ *V. vulnificus* (12 mm) ผลแสดงในตารางที่ 5 และภาพที่ 28

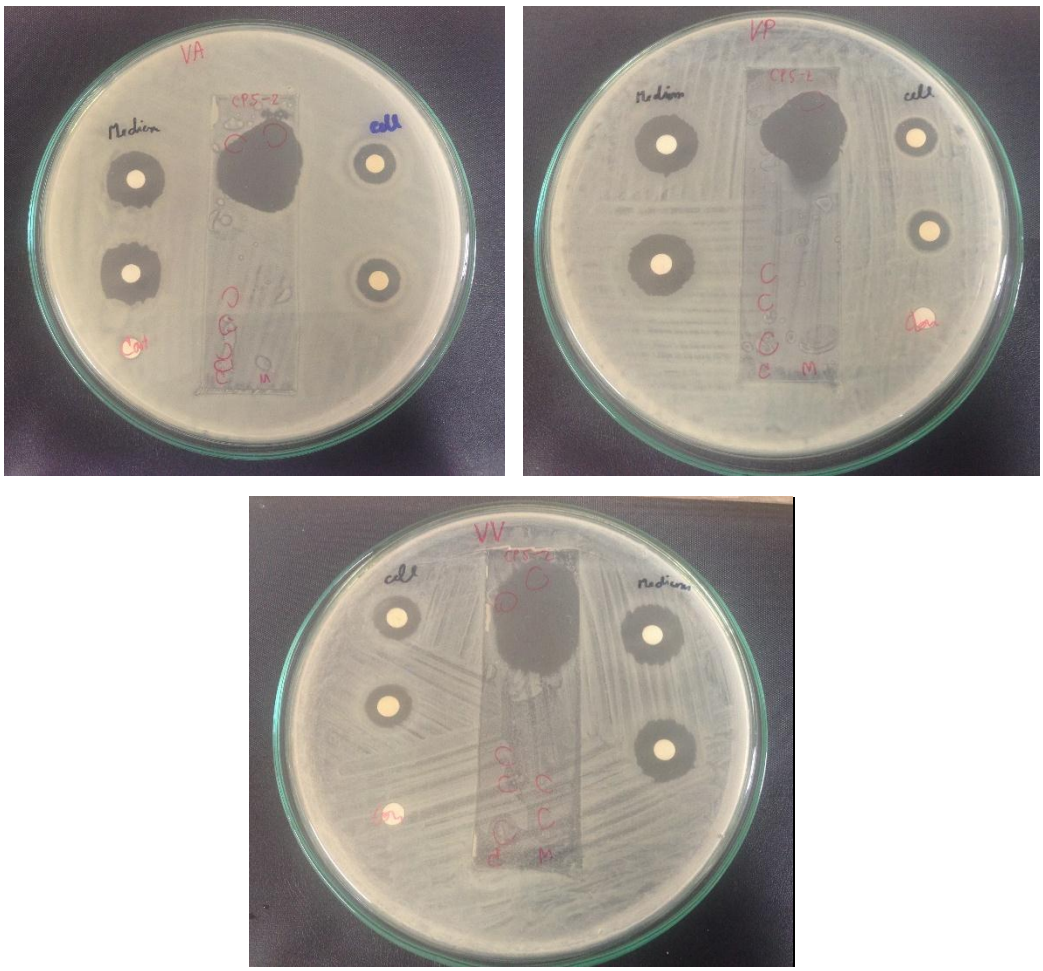
จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่ก่อโรคในปลา 3 ชนิด *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus* และ *V. vulnificus* ของสารสกัดจากเซลล์ และในส่วนของน้ำเลี้ยงแอคติโนมัยซีทจำนวน 15 ไอโซเลต ด้วยเทคนิค Disc diffusion ในปี 2558 พบตัวอย่างสี่ไอโซเลตได้แก่ CP 58 4-21, CP 58 5-2, RY 8-83 B1 และ LK-05-1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวิบริโอที่ก่อโรคในปลาทั้ง 3 ชนิด *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus* และ *V. Vulnificus* โดยที่ไอโซเลต CP 58 5-2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งสูงสุดโดยมีขอบเขตการยับยั้งอยู่ระหว่าง 13.5-20 mm. ขณะที่แอคติโนมัยซีทไอโซเลท CP 58 4-21, RY 8-83 B1 และ LK-05-1 แสดงฤทธิ์ยับยั้ง 8-12mm (ตารางที่ 6 และภาพที่ 29)



ภาพที่ 27 เชื้อ *Vibrio vulnificus* ที่ก่อโรคในปลา



ภาพที่ 28 Inhibition zone ของ NS3-10 against *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*



ภาพที่ 29 Inhibition zone ของ Actinomycete CP58 5-2 against *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus*

ตารางที่ 5 Inhibition zone diameter of actinomycetes extracts (2556-2557)

Isolate ID	Inhibition zone diameter (mm)					
	V. alginolyticus		*V. parahaemolyticus*		*V. vulnificus*	
	Cell	Supernatant	Cell	Supernatant	Cell	Supernatant
NS 2-2	-	-	-	-	-	-
NS 2-3	-	-	-	-	-	-
NS 2-5	-	-	-	-	-	-
NS 3-1	-	-	-	-	-	-
NS 3-2	-	10	-	13	9	13
NS 3-6	-	8	9	8	10	11
NS 3-7	-	-	-	-	-	-
NS 3-10	-	19	-	19	9	22
NS 4-2	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 5 (ต่อ)

Isolate ID	Inhibition zone diameter (mm)					
	V. alginolyticus		*V. parahaemolyticus*		*V. vulnificus*	
	Cell	Supernatant	Cell	Supernatant	Cell	Supernatant
NS 4-4	-	-	-	-	12	12
NS 4-6	-	14	-	15	8	19
NS 4-10	-	-	-	-	-	-
NS 4-14	-	-	-	7	-	12
NS 5-1	-	15	-	16	-	19
NS 5-3	-	-	-	-	-	-
NS 5-4	-	-	-	15	-	12
NS 6-2	-	-	-	-	-	-
NS 7-4	-	-	-	-	-	-
OT30		20		20		20
C30		24		23		21
P10		R		R		R
CN120		18		16		16
N30		9		9		9
ENR5		19		16		16
WN-POR02-1	-	-	-	-	-	-
WN-POR06-1	-	-	-	-	-	-
C15-1	-	-	-	-	-	-
A1-3	-	-	-	-	9	7
A3-3	-	-	-	-	9	8
A16-1	-	-	-	-	-	-
OT30		20		20		20
C30		24		23		21
P10		R		R		R
CN120		18		16		16
N30		9		9		9
ENR5		19		16		16

R = resistant,-= no activity, OT30 = oxytetracycline 30 µg, C30 = Chloramphenicol 30 µg, P10 = Penicllin G 10 unit, CN120 = Gentamicin 120 µg, N30 = Neomycin 30 µg, ENR 5 = Enrofloxacin 5 µg

ตารางที่ 6 Inhibition zone diameter of actinomycetes extracts (2558)

Isolate ID	Inhibition zone diameter (mm)					
	V. alginolyticus		*V. parahaemolyticus*		*V. vulnificus*	
	Cell	Supernatant	Cell	Supernatant	Cell	Supernatant
CP 58 1-2	-	-	-	-	-	-
CP584-21	11	10	8	8	8	8
CP584-26	-	-	-	-	-	-
CP 58 5-2	14		13.5	19	14	20
CP58 8-6	-	-	-	-	-	-
RY8-80 B1	-	-	-	8	9	8
RY 8-83 B1	-	12	-	10	-	9
SK-08-1	-	-	-	-	-	-
SK-08-2	-	-	-	-	-	-
SK-08-3	-	-	-	-	-	-
SK-08-5	-	-	-	-	-	-
TN-01-2	-	-	-	-	-	-
KA-01-1	-	-	-	-	-	-
KA-01-2	-	-	-	-	-	-
LK-05-1	-	12	-	10	-	10
OT30		20		20		20
C30		24		23		21
P10		R		R		R
CN120		18		16		16
N30		9		9		9
ENR5		19		16		16

R = resistant,-= no activity, OT30 = oxytetracycline 30 µg, C30 = Chloramphenicol 30 µg, P10 = Penicllin G 10 unit, CN120 = Gentamicin 120 µg, N30 = Neomycin 30 µg, ENR 5 = Enrofloxacin 5 µg

อภิปราย และสรุปผลการทดลอง

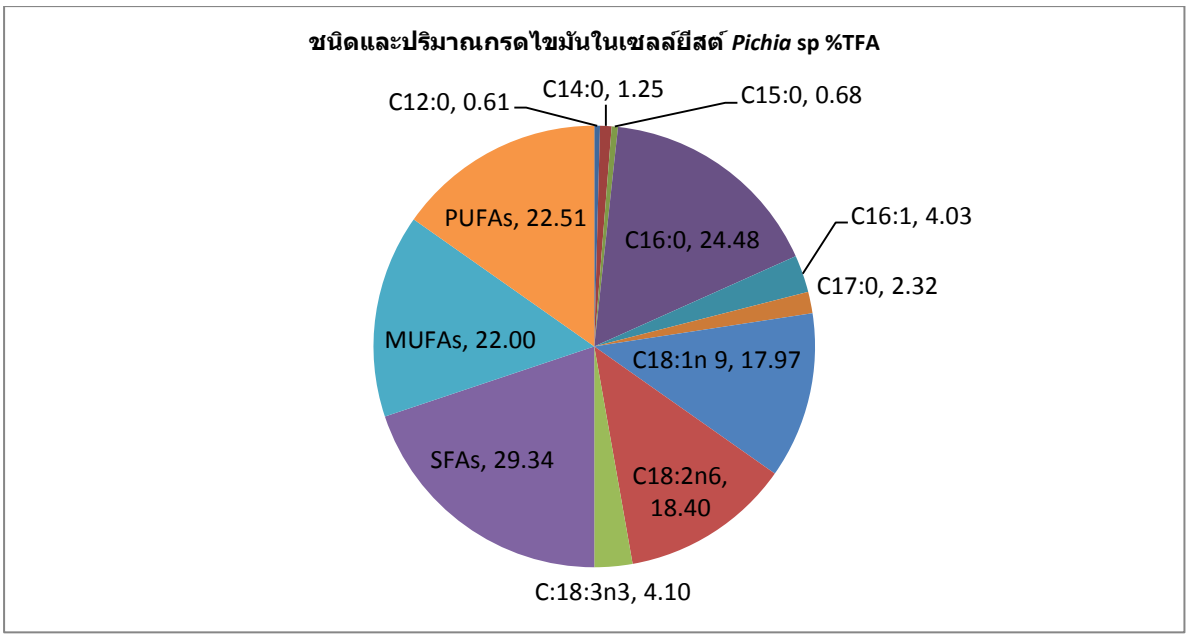
ศักยภาพของยีสต์ทะเล

การผลิตกรดไขมันจำเป็น

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ทะเลที่คัดแยกจากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน จังหวัดชลบุรีในปี พ.ศ. 2556 จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ BS1-2, BS1-3, BS6-1, BS6-2, FV1-3 และ MN1-3 ด้วยอาหารมาตรฐาน (Yeast malt extract) ที่ความเค็ม 30 พีพีที เป็นระยะเวลา 120 ชม. พบปริมาณกรดไขมันโดยรวมมีค่า 74.61-95.61 %TFA และพบว่ายีสต์ทุกชนิดมีการผลิตกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยคุณลักษณะกรดไขมันส่วนใหญ่จะเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ผลการศึกษาพบว่ายีสต์ BS1-2, BS6-2 มีการผลิตกรดไขมันจำเป็น Linoleic acid; C18:2n6 และ **α**-Linolenic acid ; C18:3n3 สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ซึ่ง Linoleic acid และ **α**-Linolenic acid เป็นสารเริ่มต้นของการสร้างกรดไขมันโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6 สายยาว เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันในยีสต์ BS1-2 กับ BS 6-2 พบว่าตัวอย่างยีสต์ BS6-*2* มีการผลิตกรดไขมันจำเป็น C18:3n3 และมีปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 ที่สูง มีการเจริญที่ดีกว่า BS1-2 จึงเลือกตัวอย่างยีสต์ BS6-2 โดยนำมาเลี้ยงด้วยอาหาร YM เปรียบเทียบกับอาหารกากชานอ้อยที่เป็นวัสดุที่เหลือทิ้งทางการเกษตรในภาคตะวันออก ที่ความเค็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าการเลี้ยงในอาหาร YM จะให้ปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 (19.9 %TFA) ที่สูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อย (15.56%TFA) แต่การเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อยมีปริมาณกรดไขมัน C18:3n3 (9.78%) ในปริมาณที่สูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหาร YM (7.63 %TFA) จึงนำยีสต์ BS6-2 มาปรับสภาวะการเลี้ยงที่มีความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ 25, 30 และ 35 พีพีที โดยเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อย โดยยีสต์ที่เลี้ยงที่ความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:2n6 สูงสุด (22.58±1.24%) แสดงว่าระดับความเค็มที่ต่ำมีผลให้ยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารกากชานอ้อย ผลิตกรดไขมันที่จำเป็นชนิด C18:2n6 ได้ดีขึ้น แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าปริมาณกรดไขมัน C18:3n3 พบในปริมาณที่ต่ำ ดังนั้นเพื่อให้ได้ปริมาณ **α**-Linolenic acid (C18:3n3) ที่มากขึ้นควรมีการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงต่อไป

ปริมาณคุณค่าอาหาร

จากการวิเคราะห์คุณค่าอาหาร (Proximate analysis) ในตัวอย่างยีสต์ BS6-2 มีค่าโปรตีนร้อยละ 42 ไขมันร้อยละ 0.22 ความชื้นร้อยละ 66 เถ้าร้อยละ 2



ภาพที่ 30 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์ยีสต์ *Pichia* sp. ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที ที่เวลา 72 ชั่วโมง (%TFA)

องค์ประกอบของกรดไขมันจากยีสต์

สำหรับ Marine yeast เป็นราในกลุ่ม Ascomycetes หรือบางชนิดอยู่ในกลุ่ม Basidiomycetes ซึ่งมีคุณค่าอาหารภายในเซลล์ และองค์ประกอบของเซลล์สูง มีทั้งโปรตีน กรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามินบีหลายชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ยีสต์ยังประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรท กรดนิวคลิอิค รวมทั้งไขมันอื่น ๆ ดังนั้นจึงเหมาะสมที่จะใช้สำหรับเป็นอาหารเสริม และในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์นั้นใช้เวลาสั้น และสามารถเลี้ยงได้โดยใช้วัตถุดิบที่อาจหาได้ง่าย เช่น กากน้ำตาล มันสำปะหลัง หางนม (Whey) Marine yeast หลายชนิดมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนสูง เช่น (Polyunsaturated fatty acids, PUFAs) ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้ เป็นกรดไขมันที่มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริม และใช้ในทางการแพทย์ โดยเฉพาะกลุ่มไขมันโอเมกา 3 (รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ และจันทร์จรัส วัฒนโชติ, 2558) การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันจากตัวอย่างเซลล์ยีสต์ *Pichia* sp. พบองค์ประกอบกรดไขมันส่วนใหญ่ เป็นชนิดไม่อิ่มตัว ได้แก่ Lauric acid (C12:0), Myristic acid (C14:0), Penta- decanoic acid (C15:0), Palmitic acid (C16:0), Palmitoleic acid (C16:1), Hepatodecaenoic acid (C17:0), Oleic acid (C18:1n9), Linoleic acid (C18:2n6c), Linolenic acid (C18:3n3) ผลแสดงในภาพที่ 30 ซึ่งรายงานของ Sreedevi N. Kutty และ Rosamma Philip ในปี 2008 กล่าวว่ากรดไขมันที่พบในยีสต์จะมีลักษณะเฉพาะ ขึ้นกับสายพันธุ์ของยีสต์ แต่ส่วนใหญ่จะเป็น C16-C18 และจากการหาคุณค่าอาหาร (Proximate analysis) ในตัวอย่าง ยีสต์ *Pichia* sp. เลี้ยงที่ความเค็ม 25 ppt 72 ชั่วโมง ด้วยอาหารกากชานอ้อย พบค่าความชื้นร้อยละ 66 เถ้าร้อยละ 2 ไขมันร้อยละ 0.22 และปริมาณโปรตีนร้อยละ 42 ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่ายีสต์ *Pichia* sp. มีปริมาณโปรตีนที่ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงยีสต์ *Candida* sp. S 27 เพื่อให้ได้ผลิตผลและคุณค่าอาหารที่ดีที่สุด โดยเลี้ยงในอาหารสองชนิด Barnett and Ingram's Modified (BIM) medium และ Molasses-Yeast extract medium พบว่าเลี้ยงด้วย BIM มี Biomass เพิ่มขึ้น ร้อยละ 18.75 และพบว่าปริมาณคุณค่าอาหารไม่แตกต่างกัน โดยพบปริมาณโปรตีนร้อยละ 33.3 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 29.6 ปริมาณไขมันร้อยละ 2.23 และเถ้า ร้อยละ 6.2 และเลี้ยงด้วย Molasses-Yeast extract medium พบปริมาณโปรตีนร้อยละ 34.23 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 30.1 ปริมาณไขมันร้อยละ 2.58 และเถ้า ร้อยละ 7 และมีความชื้นร้อยละ 72 กรดไขมันที่พบใน Marine yeast *Candida* sp. S 27 เป็น Oleic acid (35.91 %) และ Linoleic acid (25.53 %). กรดไขมันส่วนใหญ่เป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) ได้แก่ Palmitic acid, Lauric acid, Myristic acid และ Stearic acid ไม่มีการตรวจพบกรดไขมันพวก HUFAs และพบว่าสภาวะที่ดีในการเลี้ยงยีสต์ *Candida* sp. S 27 ความเค็ม 4.68%, pH 5.97 และอุณหภูมิ 32.72 0C (SIMI JOSEPH P, 2009)

เนื่องจากกากชานอ้อยมีองค์ประกอบหลักของน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ที่ประกอบด้วยน้ำตาล 2 โมเลกุล คือ น้ำตาลกลูโคส (Glucose) และน้ำตาลฟรุกโตส (Fructose) กากชานอ้อยถือเป็นชีวมวลที่เหลือใช้จากทางการเกษตร จึงมีความเป็นไปได้ที่นำกากชานอ้อยมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตของยีสต์ จากคุณสมบัติของยีสต์ที่มีช่วงชีวิตสั้น และมีการใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย สิ่งที่สำคัญคือ ยีสต์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกันกับพืช เช่น กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นกรดไขมันจำเป็นที่ร่างกายมนุษย์เรานั้นไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ (สมถวิล จริตควร และคณะ, 2551) นอกจากนี้มีรายงานว่า ปัจจัยต่าง ๆ ทางสิ่งแวดล้อมยังมีผลต่อปริมาณการผลิตกรดไขมันในยีสต์ เช่น ปัจจัยด้านความเค็ม หากความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ของน้ำหนักต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้ปริมาณกรดไขมันของยีสต์ *Candida albicans* เพิ่มขึ้น จากร้อยละ 0.32 เป็นร้อยละ 6.29 ของน้ำหนักต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ปริมาณความเข้มข้นของเกลือสูงมากเกินไปอาจจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ (Hunter and Rose, 1971) Martina et al., 2004 รายงานว่า ระดับความเค็มมีผลต่อการผลิตกรดไขมันของยีสต์ *Hortaea werneckii* และ *Phaeotheca triangularis* และ *Aureobasidium pullulans* เช่นกัน โดยพบกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมัน สเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) องค์ประกอบหลักของยีสต์ทั้งสามชนิด นอกจากนี้ กรดไขมันที่พบสูงสุดในยีสต์ *H. werneckii* และ *P. triangularis* ซึ่งเป็นยีสต์ชอบความเค็ม (Halophilic) คือ กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) ซึ่งพบสูงสุดถึงร้อยละ 24-25 ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อเลี้ยงในที่มีความเค็มร้อยละ 25 พีพีที แต่ยีสต์ *A. pullulans* ซึ่งเป็นยีสต์ทนความเค็ม (Halotolerant) มีพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงสุดร้อยละ 50 ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเค็มร้อยละ 10 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 ส่วนกรดไขมันอื่น ๆ ในเส้นใยได้แก่ Palmitic acid, Stearic acid, Oleic acic, LA (Linoleic C18:2n6), ALA [α-linolenic acid (18:3n3] และ GLA (C18:3n6) Anamnart และคณะ (2004) 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 ของกรดไขมันทั้งหมด กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ถึง 3 พันธะ ได้แก่ Oleic acid, LA, ALA และ ETA ซึ่งมีอยู่ประมาณ 35-50 เปอร์เซนต์ 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) ร้อยละ14.1, 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

แบคทีเรียและยีสต์พบได้ทั่วไปในธรรมชาติรวมทั้งในทะเล แต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ปัจจุบันพบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์ และยีสต์ก็เป็นจุลินทรีย์อีกชนิดที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากยีสต์บางชนิดมีคุณสมบัติของการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Immunostimulatory properties) และบางชนิดเป็นแหล่งสารอาหารโปรตีน ไขมัน และวิตามิน (Kutty และ Phillip, 2008) การนำยีสต์มาเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ โดยใช้เป็นแหล่งโปรตีนที่เราเรียกว่า โปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein) หรือใช้เป็นโปรไบโอติค (Probiotic) ช่วยเสริมสุขภาพให้กับสัตว์เลี้ยง ทำให้สัตว์แข็งแรง และมีภูมิต้านทานโรคสูงขึ้น (Landecker, 1996) ยีสต์สามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ในปริมาณมากโดยใช้แหล่งคาร์บอนได้หลากหลายชนิดอย่างรวดเร็ว ทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ วัสดุที่เหลือทิ้งจากการเกษตร เช่น กากชานอ้อยนับว่าเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญและการสร้างพลังงานที่ดี ทั้งยังลดต้นทุนและเป็นการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่า ด้วยคุณสมบัติที่ดีของยีสต์ *Pichia* sp. ด้านคุณค่าอาหาร และองค์ประกอบกรดไขมัน จึงนำเซลล์ยีสต์ดังกล่าวมาตรึงด้วยแคลเซียมอัลจิเนต โดยนำมาผสมในสูตรอาหาร เพื่อให้สารอาหาร

คงสภาพเมื่ออยู่ในน้ำในระยะเวลานานขึ้น พบว่าในเม็ดเจลตรึงด้วยเซลล์ยีสต์มีองค์ประกอบกรดไขมันที่ดีเช่นเดียวกับเซลล์ยีสต์ เพื่อการใช้ประโยชน์จากเซลล์ยีสต์ *Pichia* sp. ต่อระบบภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ

การศึกษาสภาวะอื่น ๆ ต่อการเจริญ การผลิตไขมัน การผลิตกรดไขมัน ของยีสต์ ดังเช่น การศึกษาผลของความเค็ม จากศึกษาของ Kamlangdee, N. and Fan, K.W. ในปี 2003 ที่ทำการศึกษา การผลิตกรดไขมันชนิด PUFAs ในตัวอย่าง *Schizochytrium* sp. strains (N-1, N-2, N-5, N-6, and N-9) ที่คัดแยกจากใบไม้ *Kandelia candel* ป่าชายเลน ประเทศฮ่องกง ที่เลี้ยงด้วยอาหาร 60 กรัมกลูโคส และ 10 กรัม ของ Yeast extract ใน 15 % น้ำทะเลเทียม pH เริ่มต้น 6.0 เลี้ยงแบบเขย่าที่ 25°C เป็นเวลา 52 ชม. พบชนิดกรดไขมัน 15:0 = 28.7%; 16:0 = 21.3%; 18:0 = 0.9%; 18:3 = 0.2%; 20:4 = 0.3%; 20:5 = 0.9%; 22:4 = 6.7%; 22:6 = 36.1%; และ กรดไขมันตัวอื่น ๆ 9.3% และพบว่าความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 20-30% และจากการศึกษาของ Lee และคณะในปี 1989 ที่ทำการศึกษาผลของความเค็มต่อองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่าง *Porphyridium cruentum* (Rhodophyceae) พบว่าเชื้อเจริญได้ดีที่สุดที่ 0.45 M และ 0.8 M NaCl และพบว่าปริมาณ Palmitic acid จะลดลงเมื่อปริมาณ NaCl ใน Medium เพิ่มขึ้น และเมื่อปริมาณ NaCl ลดจาก 0.8 M NaCl มาเป็น 0.2 M ปริมาณ Palmitic acid จะเพิ่มขึ้น และปริมาณ PUFAs (Linolenic และ Arachidonic acids) จะลดลงในช่วงแรกและเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณ NaCl เพิ่มเป็น 0.8 M และที่ 1.5 M NaCl พบปริมาณ PUFAs ถึงร้อยละ 78.2%TFA และจากการศึกษาของ Kai-Chuang Chaung และคณะในปี 2012 พบว่าการเจริญ การผลิตไขมัน (Biomass) และปริมาณกรดไขมัน DHA ของยีสต์ *Aurantiochytrium mangrovei* strain BL10 มีผลมาจากปริมาณเกลือ กลูโคส Yeast extract และปริมาณออกซิเจน และ Stages ของ BL10 ผลการศึกษาพบว่าผลผลิต (Biomass) ของ BL10 จะมากขึ้นเมื่อความเค็มอยู่ระหว่าง 0.2-3.0% เมื่อความเค็มลดลงเป็น 0.1 % Biomass, Lipid content, DHA และสัดส่วน DHA/ Palmitic acid ก็จะลดลงด้วย และมีการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อรูปแบบกรดไขมันของยีสต์จากการศึกษาของ Bárbara Rodríguez และคณะในปี 2012 ที่ทำการศึกษารูปแบบกรดไขมันของยีสต์ Torula yeast (*Candida utilis*) โดยใช้ส่าเหล้า (Distiller's vinasse) เป็นแหล่งคาร์บอนได้ปริมาณกรดไขมันโดยรวม 23.66 g/kg โดยพบกรดไขมัน Linoleic acid (C18:2n6) ในปริมาณสูงสุด (729 mg/100 g) และกรดไขมันชนิดอิ่มตัวพบ Palmitic acid (C16:0) ในปริมาณสูงสุด (21 %), และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวพบ Oleic acid (C18:1n9) ปริมาณสูงสุด (22 %) และตรวจพบกรดไขมัน Linolenic acid (C18:3n3) ด้วย และผลการศึกษาของ Bárbara Rodríguez และคณะมีความสอดคล้องกับ Gutiérrez and da Silva (1993) ที่ทำการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในยีสต์สองชนิดที่เลี้ยงด้วย Sugarcane molasses โดยสรุปว่าองค์ประกอบกรดไขมันขึ้นอยู่กับชนิดของ Molasses และชนิดของยีสต์ โดยพบ Linoleic (C18:2n6) และ Palmitic acids (C16:0) ในปริมาณสูงสุด (837 และ 801 mg/ 100 kg, ตามลำดับ) และจากการศึกษาของ Guang-Yuan Wang และคณะในปี 2012 การผลิตกรดไขมันในยีสต์ *Pichia guilliermondii* Pcla22. พบปริมาณกรดไขมันจากยีสต์ Strain Pcla22 ที่เลี้ยงใน Oil production medium ที่มี Inulin มากกว่า 79.8% โดยกรดไขมันที่พบได้แก่ C (16:0) และ C (18:1), โดยพบ C (18:1) ในปริมาณ 57.9% จากการศึกษาของ Ines Schulze และคณะในปี 2014 ทำการศึกษาปริมาณไขมันและองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ *Cryptococcus podzolicus*, *Trichos*

poronporosum และ *Pichia segobiensis* ที่คัดแยกจากดินและมีคุณลักษณะเป็น Oleaginous yeast strains โดยมี Bioreactors ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบ *C. podzolicus* ผลิตไขมัน 31.8% lipid/ นน. แห้ง และเลี้ยงที่ 20°C, ขณะที่ *T. porosum* ได้ผลผลิต 34.1% ที่ 25°C และ *P. segobiensis* ได้ผลผลิต 24.6% ที่ 25°C. โดยชนิดกรดไขมันที่พบ คือ Oleic acid; C18:1n9 ในปริมาณ 39.6–59.4% ในตัวอย่างเชื้อทั้งสามสายพันธุ์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าชนิดกรดไขมันที่พบจะสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ แต่ปริมาณที่ตรวจพบมีปริมาณค่อนข้างต่ำกว่าการศึกษาของงานอื่น ๆ ดังนั้นการที่จะได้มาซึ่งปริมาณที่เพิ่มขึ้น การศึกษาสภาวะการเลี้ยงด้านอื่น เช่น แหล่งคาร์บอน ความเค็ม ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ ตลอดจนระยะเวลาในการเลี้ยง เป็นต้น ควรต้องมีการศึกษาต่อไป

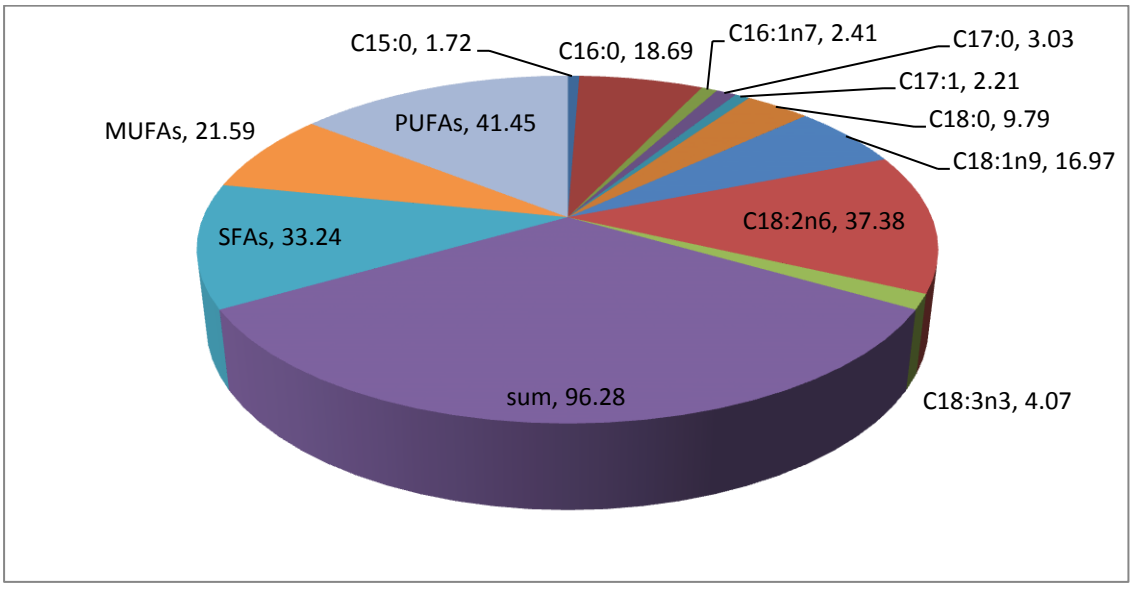
ยีสต์ที่ควรนำมาพัฒนาได้แก่ยีสต์ BS6-2 ซึ่งได้จำแนกสายพันธุ์เป็น *Pichia* sp. ในการศึกษาครั้งนี้สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงยีสต์เพื่อให้มีการผลิตกรดไขมัน C18:2n6 ในปริมาณที่สูงสุดคือ ความเค็ม 25 ppt ที่เวลา 72 ชม. ด้วยอาหารกากชานอ้อย แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าปริมาณกรดไขมัน C18:3n3 พบในปริมาณที่ต่ำ ดังนั้นเพื่อให้ได้ปริมาณ **α**-Linolenic acid (C18:3n3) ที่มากขึ้น การพัฒนาการเลี้ยงยีสต์เพื่อให้ผลผลิตและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นจึงควรมีการศึกษาต่อไป

ศักยภาพของแอคติโนมัยซีท

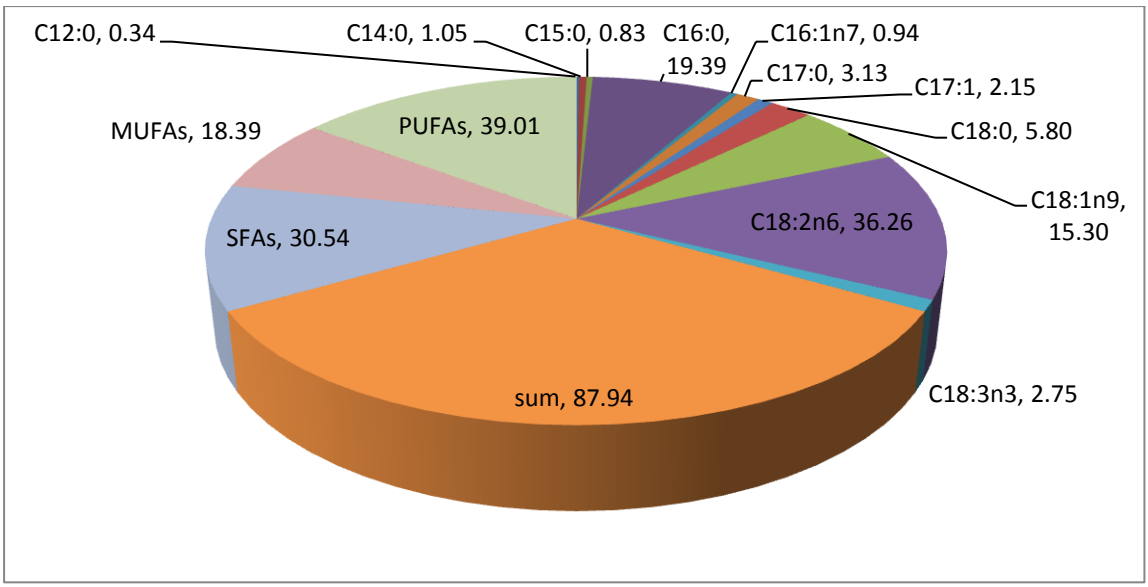
การผลิตกรดไขมันจำเป็น

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทคัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี ชุมพร และ นครศรีธรรมราช ทำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP 2 เป็นระยะเวลา 3-14 วัน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 20 ppt. เขย่า 100 rpm. จำนวน 63 ตัวอย่าง ประกอบด้วย CH54-5, A 1-3, A 3-3, A 16-1, NS 1-2, NS 2-2, NS 2-3, NS 2-5, NS 3-1, NS 3-2, NS 3-10, NS 3-7, NS 4-6, NS4-10, NS 4-14, NS 5-1, NS 5-3, NS 5-4, NS 6-2, NS 7-4, BP2-29B, RY2-20, RY2-22, RY2-24, RY2-25, RY3-32, RY3-37, RY3-43, RY7-8, RY 8-3, RY 8-8, CH 54-8, CP-PH2-2, CP3-1, CP-PH3-2, CP-PH3-8, CP-PH 3-9, CP-PH 3-10, CP-PH 3-12, CP-PH 3-13, CP-PH 3-16, CP8-4B, CP 58 1-2, CP 58 4-2, CP 58 4-21, CP 58 4-26, CP 58 6-4, CP 58 6-5, CP 58 7-4, CP 58 7-11, CP 58 8-6, CP 58 8-8 และจากฟองน้ำทะเลในจังหวัดนครศรีธรรมราช และชุมพร 10 ชนิดประกอบด้วย WN-POR-06-1, WN-POR-02-1, KA-01-2, LK-05-1, SK-03-1, SK-08-1, SK-08-2, SK-08-3, SK-08-5 และ TN-01-2 ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดไขมันแตกต่างกัน ตัวอย่างแอคทีโนมัยซีท NS 2-2 ที่คัดแยกจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราช พบปริมาณของกรดไขมันสูงสุดคิดเป็นปริมาณร้อยละ 96.28 ของกรดไขมันโดยรวม (%TFA) โดยพบ C18:2n6 ประมาณ 38% (37.38 ±0.27 %) และพบกรดไขมัน C18:3n3 (4.07±0.09) (ภาพที่ 31) รองลงมาเป็นตัวอย่าง NS 4-6 พบกรดไขมันปริมาณร้อยละ 87.94 โดยพบกรดไขมัน C18:2n6 ปริมาณ 36.26±0.88 % และพบ C18:3n3 ปริมาณ2.75±0.14 % (ภาพที่ 32) และแอคทีโนมัยซีท WN POR 02-1 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเลพบกรดไขมันปริมาณร้อยละ 84.33 โดยพบ C18:2n6 ปริมาณ 28.61±0.17 % และพบ C18:3n3 ปริมาณ 2.02±0.32 % และพบชนิด

กรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) โดยชนิดที่ตรวจพบปริมาณสูงสุดเป็น Plamitic acid (C16:0) ยกเว้นตัวอย่าง NS 2-2, NS 4-6 และ WN- POR-02-1 ที่พบชนิดกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) โดยชนิดที่พบปริมาณสูงสุดเป็นกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6: 37.38, 36.26, 28.61%TFA ตามลำดับ) ส่วนชนิดและปริมาณกรดไขมันของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนบริเวณจังหวัดชุมพร พบปริมาณกรดไขมันโดยรวมต่ำกว่า โดยปริมาณรวมกรดไขมันสูงสุดพบในตัวอย่าง CP-PH 3-9 ในปริมาณร้อยละ 41.96 เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs: 37.63 %TFA) ชนิดกรดไขมันหลักที่พบ ได้แก่ Palmitic acid (C16:0) และ Stearic acid(C18:0) ส่วนกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) พบในปริมาณที่ต่ำ โดยกรดไขมันชนิดจำเป็น Linoleicacid (C18:2n6) พบในตัวอย่าง CP-PH 8-8 ปริมาณ (0.86±0.03%TFA) และ α-Linolenic Acid (C18:3n3) พบในตัวอย่าง CP-PH 3-9 ในปริมาณ 0.29±0.02%TFA



ภาพที่ 31 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคติโนมัยซีท NS2-2 (%TFA)



ภาพที่ 32 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคติโนมัยซีท NS 4-6 (%TFA)

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีท

ในการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี ระยอง ชุมพร และนครศรีธรรมราช ในปี พ.ศ. 2556-2558 จำนวน 64 ไอโซเลต เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 20 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 เป็นเวลา 7-14 วัน พบกรดไขมัน 7-12 ชนิด มีปริมาณแตกต่างกันไป กรดไขมันที่ตรวจพบได้แก่ C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C16:1n7, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1n9, C18:3n3, C18:3n6 และ C18:2n6 ปริมาณกรดไขมันโดยรวมพบสูงสุดในไอโซเลต NS2-2 ที่คัดแยกจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราช รองลงมาเป็น ไอโซเลต NS 4-6 และไอโซเลต WN-POR- 02-1 ชนิดกรดไขมันที่ตรวจพบเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) โดยพบ Palmitic acid (C16:0) ปริมาณสูงสุด ยกเว้น ไอโซเลต NS 2-2, NS 4-6 และ WN- POR-02-1 เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) โดยพบ Linoleic acid (C18:2n6) ปริมาณสูงสุด และพบ α-Linolenic acid (C18:3n3) สูงสุด ใน ไอโซเลต NS 2-2, NS4-6 และ WN-POR 02- 1 เช่นกัน ซึ่งกรดไขมันทั้งสองเป็นกรดไขมันจำเป็น เป็นสารเริ่มต้นของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 และ โอเมก้า-6 และพบว่า ในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล พบปริมาณกรดไขมันโดยรวมมี ปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่าง LK-05-1 โดยคุณลักษณะของกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) และในตัวอย่าง LK-05-1 มีการผลิตกรดไขมันจำเป็น C18:2n6 และ C18:3n3 เช่นกัน และจากการหา สภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอน และความเค็มต่อปริมาณเซลล์ ไขมันและกรดไขมัน ในตัวอย่างสองไอโซเลต SK -08-5 กับ CP 58 4-21 พบว่าผลที่ได้มีความแตกต่างกัน โดยไอโซเลต SK-08-5 ความเค็มต่ำจะมีการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมากขึ้น และตัวอย่าง SK-08-5 ที่มี Glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนได้ปริมาณเซลล์และไขมันมากที่สุด แต่ปริมาณกรดไขมันโดยรวมพบสูงสุดในตัวอย่างที่เลี้ยงด้วย Starch เป็นแหล่งคาร์บอน ดังนั้นถ้าต้องการปริมาณเซลล์และไขมันควรใช้

Glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง แต่ถ้าต้องการปริมาณกรดไขมันควรใช้ Starch เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งผลจากการศึกษาในครั้งนี้ยังคงได้ปริมาณกรดไขมันจำเป็นในปริมาณที่ต่ำ การศึกษาสภาวะอื่น ๆ เช่น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และแหล่งคาร์บอน อื่น ๆ ควรมีการศึกษาต่อไป เพื่อปริมาณที่มากขึ้นของกรดไขมันชนิดจำเป็น และจากการศึกษาแยกชนิดของไขมันจะพบว่าในชั้น Phospholipid เป็นชั้นไขมันที่มีองค์ประกอบกรดไขมันชนิดจำเป็น C18:2n6, C18:3n3 ดังนั้นเพื่อประโยชน์การนำไปใช้งานให้ได้กรดไขมันชนิดจำเป็น ควรใช้ในส่วน Phospholipid

ชนิดกรดไขมันที่ตรวจพบในการศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ SM Pimentel-Elardo และคณะ (2009) ทำการแยก Actinomycete จากฟองน้ำทะเล *Axinella polypoides* ที่เก็บจาก Banyuls-sur-Mer ประเทศฝรั่งเศส และทำการหาชนิดและปริมาณกรดไขมันพบ Actinomycete Strain Pol001T มีองค์ประกอบกรดไขมันเป็น Iso-C16:0 (30.78%), Anteiso-C15:0 (17.77%), iso-C15:0 (12.03%), Anteiso-C17:0 (9.80%), Iso-C16:1 (6.92%), Iso-C14:0 (5.77%) and iso-C17:1 (4.58%) และจากการศึกษาของ Khomsan, Chanwit, Pattama, Khanit and Chitti (2013) ทำการแยก Actinomycete strain, S3-1T จากฟองน้ำทะเลที่เก็บจาก เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี และทำการแยกชนิดของไขมันพบมี องค์ประกอบเป็น phosphatidylethanolamine, Phosphatidylmethylethanolamine Phosphatidylglycerol, Diphosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol, Phosphatidylinositol mannosides, phosphoglycolipid and unknown polar lipids. (Khom et al, 2013) และจากการศึกษาของ Koval'chuk LP และคณะในปี 1980 พบว่ารูปแบบของกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยซีทขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อโดยพบกรดไขมัน C13-C19 และพบว่าเมื่อเลี้ยงใน Complex media สัดส่วนของกรดไขมัน C14:0, C14:1, C16:0, C17:0, C17:1, C18:1, C18:2 จะเปลี่ยนไป เช่นเดียวกับการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันใน Actinomycete *Streptomonospora halophila* sp. ที่คัดแยกจากดินในจังหวัด Xinjiang Province ประเทศจีน พบองค์ประกอบกรดไขมันจะเป็น i-C16:0, ai-C17:0, 10-methyl C17:0 and 10-methyl C18:0 และจากการศึกษาของ Sobolevskaya, et al. (2012) ทำการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระในตัวอย่าง *Streptomyces* sp. KMM 7210 and *Nocardiopsis umidischolae* KMM 7036 จาก Okhotsk Sea โดยเลี้ยงด้วย Potato starch และ Millet broth พบว่ามีการผลิตกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว และแบบ Branched fatty acids และพบแอคติโนมัยซีท 7 สายพันธุ์ Genus Streptomyces ที่คัดแยกจากทะเลสาบ Baikal มีการผลิตกรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัว ไม่อิ่มตัว และแบบ Branched fatty acids เช่นเดียวกับการศึกษาของ Eun Jung Lee และคณะในปี 2011 พบแอคติโนมัยซีท *Streptomyces* sp. A1022 ที่คัดแยกจากดิน บริเวณฟาร์ม Wonju City, Gangwon ประเทศเกาหลี มีองค์ประกอบกรดไขมันแบบ Branched-chain acids โดยพบ C15:0 iso ปริมาณ 47.4%TFA และพบ C15:0 anteiso ปริมาณ 28.46%TFA และจากการศึกษาของ Michael Goodfellow และคณะในปี 2012 พบกรดไขมัน iso-C16:0 ปริมาณ 37.4 % และ C17:1 w8c ปริมาณ 24.9 % ในตัวอย่างแอคติโนมัยซีท *Verrucosispora fiedleri* sp ที่คัดแยกจากดินตะกอนประเทศนอร์เวย์ และจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงแอคติโนมัยซีท *Nocardiopsis* sp. (S-1). ที่คัดแยกจากสาหร่ายทะเล และสัตว์ทะเลชายฝั่ง Jeju Island ประเทศเกาหลี พบว่าแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการ

เจริญของเชื้อคือ Galactose และ Yeast extracts ค่า pH 7.6 อุณหภูมิ 25°C ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 2.5% และเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน จากการศึกษาพบองค์ประกอบกรดไขมัน (Cellular fatty acid profile) 14:0 ISO = 0.48, 15:0 ISO = 0.57, 15:0 ANTEISO = 3.56, 16:0 ISO = 26.82, 16:1 CIS 9 = 1.81, 16:0 = 1.14, 17:0 ISO = 2.07, 17:0 ANTEISO = 23.42, 17:1 CIS9 = 5.26, 17:0 = 2.00, 17:0 10METHYL = 1.29, 18:0 ISO = 2.35, 18:1 CIS9 = 21.01, 18:0 = 6.69, TBSA 18:0 10 METHYL = 1.53 ซึ่งผู้วิจัยกล่าวว่าเชื้อ แอคติโนมัยซีท *Nocardiopsis* sp ดังกล่าวมีประโยชน์ทางอุตสาหกรรมยา และอาหาร (Man-Chul Kim et al 2014) มีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงแอคติโนมัยซีท ทั้งแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน เช่น การศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อแอคติโนมัยซีทในดินจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ Forest, Pasture, Rain-fed และ Irrigated cultivated land ประเทศ Iran โดยศึกษาผลของแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจน ที่มีต่อ Extracellular phosphatase activity แหล่งไนโตรเจนที่ผู้ศึกษานำมาทดลอง ได้แก่ Mmalt extract, Meat extract, Soybean meal, Arginine, NH_4NO_3, $(NH4)_2SO_4$ และ $NaNO_3$ แหล่งคาร์บอนได้แก่ Glucose, Maltose, Lactose, Fructose, Sucrose, Pea flour, Glycerol, Maltodextrine และมีการใช้ Medium SPG, MGA, ISP2, LB+rice bran, Corn starch (Ghorbani-Nasrabadi, 2013) ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะสอดคล้องกับการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในแอคติโนมัยซีท *Streptomonospora halophila* sp. ที่คัดแยกจากดินในจังหวัด Xinjiang ประเทศจีน พบองค์ประกอบกรดไขมันเป็น C16:0, C17:0, C18:0 (Cai *et al.,*2008) และจากการศึกษาของ Sobolevskaya และคณะ ในปี 2012 ทำการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระในตัวอย่าง *Streptomyces* sp. KMM 7210 และ *Nocardiopsis umidischolae* KMM 7036 จาก Okhotsk Sea โดยเลี้ยงด้วย Potato starch และ Millet broth พบว่ามีการผลิตกรดไขมันชนิดอิ่มตัว และชนิดไม่อิ่มตัว และแบบ Branched fatty acids และพบ *Streptomyces 7* สายพันธุ์ จีนีส *Streptomyces* ที่คัดแยกจากทะเลสาบ Baikal มีการผลิตกรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัว ชนิดไม่อิ่มตัว และแบบ branched fatty acids และจากการศึกษาของ Goodfellow และคณะในปี 2012 พบกรดไขมัน C16:0 ปริมาณ 37.4% และ C17:1 ปริมาณ 24.9% ในตัวอย่างแอคติโนมัยซีท *Verrucosispora fiedleri* sp ที่คัดแยกจากดินตะกอนประเทศนอร์เวย์ จากรายงานของ Koval และคณะในปี 1980 กล่าวว่ารูปแบบของกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยซีทจะเป็นกรดไขมัน C13-C19 และขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการจำแนกแอคติโนมัยซีทที่แยกได้ พบว่าไอโซเลต NS 2-2 อยู่ในจีนัส *Nocardiopsis* ไอโซเลต NS 4-6 อยู่ในจีนัส *Streptomyces* และไอโซเลต WN-POR-02-1 อยู่ในจีนัส *Micromonospora* (Srivibool & Watanadilok, 2015) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่คัดแยกจากป่าชายเลนและฟองน้ำในจังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งเป็นพื้นที่เป็นป่าชายเลนที่อยู่ห่างจากฝั่งทะเลประมาณ 1 กิโลเมตร และยังได้รับอิทธิพลจากกระแสน้ำขึ้นและกระน้ำลงในแต่ละวัน พื้นดินจะมีระยะเวลาที่น้ำทะเลท่วมขัง และเวลาที่แห้งสลับกันไป พบแอคติโนมัยซีทที่ค่อนข้างหลากหลายชนิดมากกว่า และพบว่ามีการสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ 27 ไอโซเลต ที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ได้ต่อจุลินทรีย์แกรมบวก และ *C. albicans* (รัตนาภรณ์ และจันทร์จรัส, 2558) จากรายงานการศึกษาชนิดกรดไขมันในผนังเซลล์ของแอคติโนมัยซีทจีนัส *Streptomyces* จะพบกรดไขมัน C12-C17 กรดไขมันหลัก

จะเป็นกลุ่ม C15:0 และ C16:0 (Mellouli *et al*., 2011) ส่วนกรดไขมันในแอคติโนมัยซีทจีนัส *Micromonospora* ส่วนใหญ่จะเป็น Saturated unbranched, Monomethyl และ Dimethyl branched กลุ่ม C15:0, C16:0, iso-C16:1 และ iso-17:0 (Jeroen *et al*., 2011; Trujillo *et al*., 2007) และจากรายงานของ Park และคณะในปี 1999 พบชนิดกรดไขมันหลักในแอคติโนมัยซีท *Nocardiopsis* จะเป็น Branched fatty acids iso-C16:0 จากรายงานของ Dalsgaard และคณะในปี 2003 กล่าวว่ากรดไขมันในเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) และชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ส่วนกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) จะพบน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ De Rosa และคณะ ในปี 2000 ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำ *Dysidea fragilis* บริเวณทะเลดำ พบองค์ประกอบกรดไขมันเป็น C14:1 (40.3%) และ C16:0 (18.4%) ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด และจากการศึกษาของ Zheng และคณะในปี 2005 ที่ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียทะเลจากฟองน้ำ *Hymeniacidon perleve* จากเกาะ Nanji ชายฝั่งทะเลประเทศจีน เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวร้อยละ 53.90 และชนิดไม่อิ่มตัวร้อยละ 44.60 โดยมีองค์ประกอบหลักคือ C16:1(36.64%), C16:0 (27.36%) โดยผู้วิจัยกล่าวว่าองค์ประกอบกรดไขมันในแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนแปลงได้เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ได้แก่ แหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ ระยะการเจริญเติบโต และการให้และไม่ให้ออกซิเจนต่อองค์ประกอบกรดไขมันของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas nautica* strain IP 617 ผลการศึกษาสามารถแบ่งตามลำดับความสำคัญต่อการผลิตกรดไขมันดังนี้แหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ ระยะการเจริญเติบโต ออกซิเจน (Doumenq *et al.,* 1999) และการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโต และการผลิตกรดไขมันของ De Rosa และคณะในปี 2003 ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำทะเล *Ircinia variabilis* ประเทศอิตาลี ความลึก 20 เมตร จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดลองได้แก่ Microfeast extract, Fish extract, Yeast extract และ Marine broth 2216 พบกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว โดยกรดไขมัน C18:2n6 พบในปริมาณสูงสุดในทุกอาหารที่ทำการศึกษา และพบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อเจริญเติบโตได้ดีกว่า 18.5 องศาเซลเซียส อาหารเลี้ยงเชื้อที่ดีที่สุดคือ Microfeast extract ผสม Fish extract ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.6 เป็นเวลา 5 วัน

เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันกับตัวอย่างแหล่งอื่น ๆ พบว่าปริมาณ Linoleic acid (C18:2n6) ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้พบในปริมาณที่สูง แต่ **α**-Linolenic acid (C18:3n3) พบในปริมาณที่น้อยกว่า ดังเช่น จากรายงานชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กสีเขียว *Prasinophyceae* พบปริมาณกรดไขมัน **α**-Linolenic acid 16.17-16.67%, Linoleic acid 9.66-19.97% และในสาหร่าย *Chlorophyceae* พบกรดไขมัน **α**-Linolenic acid 20.02-30.63%, Linoleic acid 4.67- 20.61% ของกรดไขมันโดยรวม (Pratoomyot et al., 2005) และจากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างปลาทะเลจำนวน 34 ชนิดจากทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ของ Ozogul และคณะ ในปี 2009 พบ Linoleic acid 0.06-3.48% และจากรายงานการศึกษาของ Kocatepe และ Turan ในปี 2012 ที่พบปริมาณของ Linoleic acid ในปลาเศรษฐกิจจากทะเลดำ 6 ชนิด ในปริมาณ 1.38-3.49% ของกรดไขมันโดยรวม ซึ่ง Linoleic acid เป็นกรดไขมันจำเป็นที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ แต่มีความจำเป็นต่อ

ร่างกาย หากขาดจะทำให้ร่างกายขาดความสมดุล ความแข็งแรง รวมทั้งมีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่าง ๆ มีรายงานกล่าวว่าปลาที่ขาดกรดไขมัน Linoleic acid และ α-Linolenic acid ทำให้เจริญเติบโตช้า เซลล์ครีบหางตาย ตับชีด มีไขมันมาก ผิวขาวบรอนซ์ ท้องบวม เม็ดเลือดแดงแตกหายใจเร็วขึ้นกว่าปกติ (Lovell, 1998) Linoleic acid (C18:2n6) เป็นสารตั้งต้นของโอเมก้า-6 สายยาว อันได้แก่ Arachidonic acid, ARA;20:4n6 และ Docosapentaenoic acid, DPA; 22:5n6 ส่วน α-linolenic acid, ALA; 18:3n3 เป็นสารตั้งต้นของ Eicosapentaenoic acid, EPA; 20:5n3 และ Docosahexaenoic acid, DHA; 22:6n3 (Gill & Valivety, 1997) จัดเป็นสารตั้งต้น (Precursors) ของ Eicosanoids (Prostaglandins, Leukotrienes, Thromboxanes) ในร่างกาย ซึ่งมีผลต่อระบบการทำงานต่าง ๆ ภายในร่างกาย เช่น ระบบหลอดเลือดและ หัวใจ ระบบการขนส่งสารผ่านเส้นเลือด กลไกการแข็งตัวของเลือด การส่งผ่านของสารสื่อประสาท กระบวนการเมทาบอลิซึมของไขมัน กลไกการอักเสบ และระบบภูมิคุ้มกัน (Sayanova & Napier, 2004; Horrobin, 1992; Funk, 2001; Jump, 2002) จากการศึกษาเมื่อนำเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Streptomyces* เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงปลาสวยงาม *Xiphophorus helleri*, *Poecilia reticulate* พบว่าปลามีอัตราการเจริญที่ดี และมีอัตราการรอดตายสูงขึ้น (Dharmaraj & Dhevendaran, 2010; Ghosh *et al*., 2008) และจากการศึกษาอัตราการรอดของปลาบู่ Marble goby (*xyeleotris marmorata* ระยะวัยอ่อน ซึ่งเป็นปลาที่เลี้ยงแพร่หลายในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่ามีการเจริญเติบโตและมีอัตราการรอดสูงขึ้น เมื่อกินอาร์ทีเมีย และโรติเฟอร์ ที่เลี้ยงด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Rhodovulum sulfidophilum* ซึ่งเป็น Phototrophic bacteria แทนการเลี้ยงด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก เพราะใน Phototrophic bacteria จะมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน PUFAs โดยจะมี DHA สูงกว่าในสาหร่าย (Loo et al., 2013)

การศึกษาบทบาทของไขมันและกรดไขมันต่อภูมิคุ้มกันของมนุษย์ (Calder, 2007) และสัตว์น้ำ (Balfry & Higgs, 2001) รายงานกล่าวว่ากลไกการทำงานของกรดไขมันมีผลในการต้านทานโรคและมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำคล้ายคลึงกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และองค์ประกอบไขมันในอาหารมีผลต่อการต้านทานโรคโดยการผลิต Eicosanoids จาก Arachidonic acid (C20:4n6), Eicosapentaenoic acid (C20:5n3), Docosahexaenoic acid (C22:6n3) (Balfry & Higgs, 2001) มีการศึกษาพบว่าไขมันในอาหารมีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลาและมีผลต่อการหมุนเวียนของแอนติบอดี้ในปลา (Blazer *et al*., 1989) ในการศึกษาประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว Macrophage ของปลาเรนโบว์เทร้าในห้องปฏิบัติการ พบว่าประสิทธิภาพการทำลายเชื้อโรคลดลงเมื่อปลาเรนโบว์เทร้ากินอาหารที่ไม่มีกรดไขมัน แต่ปลาเรนโบว์เทร้าที่กินอาหารที่มี Linoleic acid (C18:2n6) และ n-3 HUFA มีผลให้ Macrophage มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อโรคได้ดีขึ้น (Kiron *et al*., 1995) จากรายงานดังกล่าวจะพบว่ากรดไขมันจำเป็นมีความสำคัญ ดังนั้นเพื่อให้ได้ปริมาณ α-Linolenic acid (C18:3n3) ที่มากขึ้นควรมีการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทซึ่งในปัจจุบันรายงานวิจัยของประเทศไทยเกี่ยวกับสภาวะการเลี้ยงแอคติโนมัยซีทยังไม่แพร่หลาย การได้มาของข้อมูลเหล่านี้มีความจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ากรดไขมันในแอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS 2-2, NS4-6 และ WN-POR-02-1, LK 05-1 ที่คัดแยกจากดินและฟองน้ำทะเล จากชายฝั่งทะเลของประเทศไทย มีการผลิตกรดไขมัน α-Linolenic acid และ Linoleic acid ที่เป็นสารเริ่มต้นของกรดไขมันโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6 สายยาว แต่ปริมาณ α-Linolenic acid ที่ตรวจพบมีปริมาณน้อย ซึ่งกรดไขมันทั้งสองนี้มีความสำคัญต่อคนและสัตว์ที่ไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง ต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น ดังนั้นควรมีการหาสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณกรดไขมันจำเป็น α-Linolenic acid เพิ่มมากขึ้น เพื่อประโยชน์ทางด้านผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร สารกระตุ้นภูมิสำหรับสัตว์น้ำ ซึ่งจะเป็นทางเลือกหนึ่งของอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อุตสาหกรรมยาและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

ศักยภาพของแอคติโนมัยซีท

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่ก่อโรคในปลา

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่ก่อโรคในปลา 3 ชนิด *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus* และ *V. vulnificus* ของสารสกัดจากเซลล์และในส่วนของน้ำเลี้ยงแอคติโนมัยซีทจำนวน 39 ไอโซเลต ด้วยเทคนิด Disc diffusion ในปี พ.ศ. 2556-2558 ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจำนวน 14 ไอโซเลต แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus* และ *V. vulnificus* โดยแอคติโนมัยซีท 9 isolates ได้แก่ NS3-2, NS3-6, NS3-10, NS4-6, NS5-1 CP 58 4-21, CP 58 5-2, RY 8-83 B1 และ LK-05-1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวิบริโอที่ก่อโรคในปลาทั้ง 3 ชนิด โดยที่ไอโซเลต NS3-10, CP 58 5-2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งสูงสุดโดยมีขอบเขตการยับยั้งอยู่ระหว่าง 19-22 mm, ขณะที่แอคติโนมัยซีทไอโซเลท NS4-6 แสดงฤทธิ์ยับยั้ง 14-19 mm และ NS 5-1 แสดงฤทธิ์ยับยั้ง 15-19 mm ขณะที่ไอโซเลต NS 5-4 และ NS 4-14 มีฤทธิ์ปานกลางในการยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* 15 mm. และ 12 mm. ตามลำดับ ยกเว้นไอโซเลต NS 4-4, A3-3, A1-3 ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะ *V. vulnificus* (12 mm) ซึ่งจากการจำแนกสายพันธุ์ ส่วนใหญ่จะเป็น *Streptomyces* ซึ่ง *Streptomyces* มีคุณสมบัติที่ดีในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ Secondary metabolites เช่น เป็น Antifungals, Antivirals, Antitumorals, Anti-hypertensives, Immune suppressants, โดยเฉพาะ Antibiotics (Procópio et al., 2012) มีรายงานจำนวนมาก ชี้ให้เห็นว่า *Streptomyces* มีศักยภาพที่ดีในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคในปลา You *et al.* (2005) ได้รายงานว่า 51% ของ 94 สายพันธุ์ *Actinomycete* จาก ตะกอน ทะเลใน เกาะไหหลำ ประเทศจีนตอนใต้ พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Vibrio* spp ที่ทำให้เกิดโรคได้ ในขณะที่ Sahu et al., (2007), Patil et al., (2001) และ Zheng et al. (2000) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพเบื้องต้น ของ *Actinomycetes* ที่แยกได้จากตัวอย่างทางทะเลพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง เชื้อ *Vibrio* ที่ก่อโรคปลาจำพวก แอคติโนมัยซีทกลุ่ม *Streptomyces* มีความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น *Antifungals,* ไวรัส, *Antitumorals, Immune suppressants* โดยเฉพาะยาปฏิชีวนะที่มีศักยภาพ (Procópio et al., 2012) มีการนำสารทุติยภูมิจาก *Streptomycete* ไปเป็นสารเริ่มต้นในการผลิตยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมยา (Ramesh et al., 2009; Jensen et al., 2007) มีรายงานของ Mohanraj & Sekar (2013) พบ *Streptomyces* sp. LCJ94, ที่คัดแยกจาก Bay of Bengal, แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ

V. harveyi, V. alginolyticus และ *V. vulnificus* ที่เกิดในกุ้ง ปัญหาการดื้อยาเริ่มเข้าสู่วิกฤต การพัฒนาเพื่อให้ได้สารยั้บยั้งจุลินทรีย์จึงมีความต้องการ เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยซีทมีการสร้างสารไบโอแอคทีฟเมตาโบไลท์ที่มีความหลากหลาย ที่ยังคงมีความสำคัญต่อการค้นหาสารแอนติไบโอติก หรือสารตัวยาชนิดใหม่ ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อทางการแพทย์และเภสัชวิทยาอย่างต่อเนื่อง ตราบใดที่ยังพบว่ามีเชื้อก่อโรคที่ดื้อยา ที่นับวันมีจำนวนมากขึ้น มีรายงานพบว่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ดื้อยาแอนติไบโอติกนั้นมีเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่อัตราการค้นพบหรือการพัฒนาสารแอนติไบโอติกที่มีประสิทธิภาพนั้นกลับลดลง (Nathan, 2004; Nussbaum, et al., 2006)

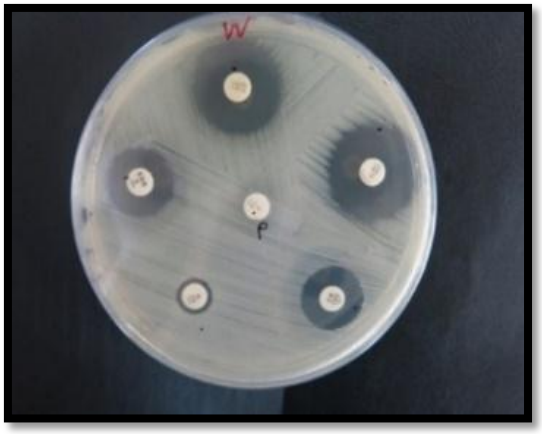
ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงถึงศักยภาพของสารสกัดจากธรรมชาติของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ และควรถูกพัฒนาต่อไปให้เป็นยาปฏิชีวนะ มีรายงานวิจัยกล่าวว่า *Streptomyces* เป็นแอคติโนมัยซีทที่มีศักยภาพที่ดีในการยั้บยั้งเชื้อ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคในปลา จากรายงานของ You และคณะในปี 2005 กล่าวว่า 51% ของ 94 actinomycete strains ที่คัดแยกจาก Marine sediments ที่ Hainan Island, South China แสดงฤทธิ์ยั้บยั้ง เชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* spp. เช่นเดียวกับอีกหลายรายงานที่ได้ทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจาก Marine samples พบว่ามีฤทธิ์ยั้บยั้งเชื้อ *Vibrio* ที่ก่อโรคในปลาเช่นกัน (Sahu et al., 2007; Patil et al., 2001; Zheng et al., 2000) จากการศึกษาของ Khouloud Mohamed Barakat and Ehab Aly Beltagy ในปี 2015 ที่ทำการคัดแยก Marine *Streptomyces ruber* EKH2 จากดินตะกอนของ Bardawil Lake ประเทศ Egypt พบว่าสารสกัดหยาบของ Ethyl acetate จาก Cell สามารถต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila Edwardsiella tarda, Pseudomonas aeruginosa, Vibrio ordalii* ที่ก่อโรคในปลาได้ มีค่า MIC 4, 16, 16, 32 ug/ml ตามลำดับ โดยมีสภาวะที่ดีที่สุดที่ pH 7 อุณหภูมิ 28 °c

เพื่อเป็นการหาสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่นำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกิดในปลา เนื่องจากในปัจจุบันเกิดปัญหาการดื้อยา การตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อม แบคทีเรียจากทะเลเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่มีการนำมาศึกษา ถึงศักยภาพสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การศึกษาของ PREM ANAND และคณะ (2011) ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับแหล่งต่าง ๆ ในทะเล ได้แก่ สาหร่าย ดินตะกอน ฟองน้ำ ปลิงทะเล แมงกระพรุน, ปู Gut microflora of gastropods, ascidian เป็นต้น จากนั้นนำสารสกัดหยาบจากแบคทีเรียด้วย Ethyl acetate มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *V. harveyi, V. parahaemolyticus, Aeromonas hydrophila* ที่ก่อโรคในปลา ด้วยเทคนิค Disc diffusion assay ผลการศึกษาพบว่าจาก 633 Marine bacterial strains แบคทีเรียที่คัดแยกจำนวน 101 strains มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาทั้งสามชนิด เมื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่าแบคทีเรียที่มีศักยภาพที่ดีได้แก่ Genus *Alteromonas* ตามด้วย *Streptomyces sp., Vibrio sp., Bacillus sp., Flavobacterium sp*. และ *Pseudomonas sp*.

จากการศึกษาของ Md. Nazmul Hossain และ Md. Mahbubur Rahman (2014) ที่ทำการแยก *Streptomyces* sp. จากดินสองแหล่งที่แตกต่างกันที่ Bangladesh และศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลา (*Genus Aeromonas, Pseudomonas* และ *Edwardsiella*) และในมนุษย์ (Genus *Klebsiella, Salmonella* และ *Streptococcus*) โดยเทคนิค Cross streak จากการจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่า 10 isolates เป็น *Streptomyces* sp. พบว่า

7 Streptomyces sp. isolates มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาและในคน และจากการทดสอบกับยามาตรฐานจะพบว่าในยาบางชนิดเริ่มจะมีการดื้อยา เช่น *Penicllin G 10* ดังเช่นการศึกษาในครั้งนี้พบว่า *V. vulnificus resistance* กับ *penicillin* (ภาพที่ 33) การศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดจาก NS3-10, NS4-6 และ NS5-1 แสดงฤทธิ์ยับยั้ง *V. vulnificus* มากกว่ายา *Penicillin*

การได้มาซึ่งสารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ จะได้เป็นอีกหนึ่งทางเลือก เพื่อทดแทนยาที่เริ่มมีปัญหาแต่ต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์ขึ้น เพื่อศักยภาพในการยับยั้งเชื้อที่ดีขึ้น ทางคณะผู้วิจัยคาดหวังว่าสารสกัดจากธรรมชาติจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกแทนการใช้สารเคมีในการรักษาโรคปลาและสัตว์น้ำอันเนื่องมาจาก เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Vibrio ตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่ควรนำมาพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่ม Vibrio ที่ก่อโรคในปลา ได้แก่ Isolate NS 3-10, NS4-6, NS 5-1 และ CP 58 5-2



ภาพที่ 33 Inhibition zone of drug sensitivity against *V. vulnificus*

กรดไขมันกับฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

มีรายงานเกี่ยวกับประสิทธิภาพกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) โดยเฉพาะ EPA ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และกล่าวว่าประสิทธิภาพการยับยั้งจะสูงขึ้นเมื่อมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในปริมาณที่มาก โดยเฉพาะ DHA ที่กล่าวว่าถ้ามีมากประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจะมากขึ้นด้วย (Desbois & Smith, 2010) และมีรายงานเกี่ยวกับประสิทธิภาพของ Eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5n-3) (Desbois et al., 2009; Desbois, 2013), Docosahexaenoic acid (DHA; C22:6n-3) (Coonrod, 1987; Huang, & Ebersole, 2010), **γ**-linolenic acid (GLA; C18:3n-6) (Feldlaufer et al., 1993; Asthana, et al, 2006; Huang, et al., 2010; Zhang, et al., 2012) และ Dihomo-**γ**-linolenic acid (DGLA; C20:3n-6) (Feldlaufer et al., 1993) ต่อแบคทีเรียแกรมบวก จากการศึกษา Young et al., (2009) เกี่ยวกับผลของกรดไขมัน 3 ชนิด คือ กรดลอริก กรดปาล์มิติก และ กรดโอเลอิกต่อการทำลายเชื้อ *Propionibacterium acnes* พบว่ากรดไขมัน ที่ความเข้มข้น 0-50 µg/mL จะมีฤทธิ์ในการทำลาย

เชื้อไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อความเข้มข้นของกรดไขมัน เพิ่มขึ้นจนถึง 80 µg/mL พบว่ากรดลอริกสามารถทำลายเชื้อได้หมด ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ ที่ Skrivanova et al. (2005) และ Bergsson et al. (2001) ซึ่งได้รายงานว่ากรดลอริกสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) ได้ จากการศึกษาในครั้งนี้ชนิดกรดไขมันที่พบส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว โดยชนิดกรดไขมันหลักที่ตรวจพบได้แก่ กรดปาล์มิติก (C16:0) และกรดไขมันสเตียริค (C18:0) ซึ่งผลไม่สอดคล้องกับรายงานดังกล่าว และมีรายงานพบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเช่นกัน โดยพบว่า ประสิทธิภาพของกรดไขมันในการยับยั้งเชื้อของกรดไขมัน Arachidonic acid (20:4) > linolenic acid (18:3) > linoleic acid (18:2). (Kodicek, 1956) จากรายงานประสิทธิภาพของกรดไขมันของ Desbois and Smith (2010) ได้รวบรวมงานวิจัย ที่กล่าวถึงบทบาทของกรดไขมันกับฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านต่าง ๆ เช่น ถ้าต้องการกรดไขมันที่มีฤทธิ์ Antibacterial (Gram-negative) ต้องใช้กรดไขมัน C20:4n-6 (Knapp and Melly, 1986) หรือ C10:0, C12:0 (Bergsson *et al*., 1998), C10:0, C12:0, C14:0, C16:1 (Bergsson et al., 1999) และ C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:4, C20:4, C20:5, C22:0, C22:4, C22:5 (Benkendorff et al., 2005) จากรายงานดังกล่าวจะพบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ มาจากกรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัว และชนิดไม่อิ่มตัว ส่วนฤทธิ์ด้านอื่น ๆ ของกรดไขมันแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 Selected bioactivites of various saturated and unsaturated FFAs

(Bond positions, where reported, are all in *cis* orientation unless marked *t* for *trans*)

Activity	Fatty acid(s)	Reference
Antimicrobial		
Anti-algal	C8:0, C10:0, C12:0	McGrattan *et al*. (1976)
	C18:4n-3	Kakisawa *et al*. (1988)
	C18:1, C18:2, C18:4, C18:5, C20:4, C20:5, C22:6	Arzul *et al*. (1995)
	C18:2n-6, C18:3n-3	Ikawa *et al*. (1997)
	C16:0, C18:0, C18:1n-9, C18:2, C18:3n-3, C20:5n-3, C22:6n-3	Wu *et al*. (2006)
	C16:0, C16:1n-7, C16:1n-7*t*, C16:4n-3, C18:0, C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3, C18:4n-3, C20:0, C20:1n-9, C20:4n-6, C20:5n-3, C22:0, C22:1n-9, C22:6n-3	Alamsjah et al. (2008)
Antibacterial (Gram-negative)	C20:4n-6	Knapp and Melly (1986)
	C10:0, C12:0	Bergsson *et al*. (1998)
	C10:0, C12:0, C14:0, C16:1	Bergsson *et al*. (1999)
	C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:4, C20:4, C20:5, C22:0, C22:4, C22:5	Benkendorff *et al*. (2005)
Antibacterial (Gram-positive)	C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3	Galbraith *et al*. (1971)
	C10:0, C12:0, C14:0, C14:1, C16:0, C16:1, C18:1, C18:2, C18:3	Kabara *et al*. (1972)
	C8:0, C9:0, C10:0, C11:0, C12:0, C13:0, C14:0, C14:1n-5, C16:1n-7, C16:1n-7*t*, C18:2n-6, C18:3n-3, C18:3n-6, C20:1n-9, C20:3n-6, C20:3n-3, C20:4n-6, C22:2n-6, C22:3n-3, C20:4n-6, C22:6n-3	Feldlaufer *et al*. (1993)
	C16:1n-10	Wille and Kydonieus (2003)
	C15:0, C18:1, C18:4, C20:4, C20:5, C22:0, C22:4, C22:5	Benkendorff *et al*. (2005)

Activity	Fatty acid(s)	Reference
Anti-fungal	C10:0, C12:0	Bergsson *et al*. (2001)
	C10:0, C12:0, C14:0, C14:1, C16:1, C18:2	Kabara *et al*. (1972)
Anti-protozoan	C18:0, C18:1, C18:2, C18:3	Rohrer *et al*. (1986)
	C8:0, C10:0, C12:0	Dohme *et al*. (2001)
Antiviral	C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:1, C18:1, C18:2, C18:3, C20:4	Thormar *et al*. (1987)
	C10:0, C12:0, C14:0, C16:1, C18:1	Hilmarsson *et al*. (2006)
Cytotoxic		
Haemolytic (sheep erythrocytes)	C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C18:4, C18:5, C20:4, C20:5, C22:6	Arzul *et al*. (1995)
Haemolytic (human erythrocytes)	C20:4n-6, C20:5n-3	Fu *et al*. (2004)
Inhibits cell division (mammalian leukemic HL-60 cells)	C20:4n-6, C20:5n-3, C22:6n-3	Finstad *et al*. (1994)
Inhibits cell division (sea urchin eggs)	C18:4, C18:5, C20:5, C22:6	Sellem *et al.* (2000)
Inhibits development of fertilized echinoderm eggs	C16:4n-3	Murakami *et al*. (1989)
Inhibits photosynthesis	C16:1n-7	Peters and Chin (2003)
Reduces viability of rat Leydig cells	C16:0, C18:0	Lu *et al.* (2003)
Toxic to whole organisms		
Brine shrimp larvae	C8:0, C10:0, C12:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:4	Curtis *et al*. (1974)
Daphnia (Crustacean)	C18:3n-6	Reinikainen *et al*. (2001)
Fairy shrimp (Crustacean)	C20:5n-3	Jüttner (2001)
Fish	C20:5n-3	Marshall *et al*. (2003)
Mosquito larvae	C18:1, C18:2, C18:3n-6	Harada *et al*. (2000)
Tube worm (marine)	C20:4, C20:5	Pawlik (1986)
Signalling		
- Increases expression of bacterial proteins for energy metabolism, cell wall and protein synthesis	C16:1n-6, C18:2n-6	Kenny *et al*. (2009)
- Induces larval settlement and metamorphosis	C16:1, C18:2, C20:4, C20:5	Pawlik (1986); Jensen *et al*. (1990)
- Inhibits bacterial attachment	C18:1n-9	Stenz *et al*. (2008)
- Reduces expression of bacterial virulence factors: β-lactamase and Toxic Shock Syndrome Toxin (TSST)	C12:0	Ruzin and Novick (2000)
- Reduces expression of bacterial virulence factors: β-lactamase and haemolysin	C16:1n-6	Clarke *et al.* (2007)
Reduces expression of bacterial virulence factors: haemolysin	C12:0, C14:0, C16:0, C18:0	Liaw *et al*. (2004)
Regulates bacterial swarming	C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1	Liaw *et al*. (2004)
Regulates protein kinase C activation	C20:4n-6	Khan *et al*. (1995)

ที่มา: Desbois AP & Smith VJ (2010)

สรุปผลการศึกษา

1. ในการศึกษาครั้งนี้ยีสต์ที่ควรนำมาพัฒนาได้แก่ยีสต์ BS6-2 ซึ่งได้จำแนกสายพันธุ์เป็น *Pichia jadinii* สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเพื่อให้มีการผลิตกรดไขมัน C18:2n6 ในปริมาณที่สูงสุด คือ ความเค็ม 25 พีพีที ที่เวลา 72 ชม. ด้วยอาหารกากชานอ้อย ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของภาคตะวันออก แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าปริมาณกรดไขมัน C18:3n3 พบในปริมาณที่ต่ำ ดังนั้นเพื่อให้ได้ปริมาณ **α**-Linolenic acid (C18:3n3) ที่มากขึ้นควรมีการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงต่อไป และควรมีการพัฒนาศักยภาพของยีสต์ BS 6-2 ในการเป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์น้ำจากคุณสมบัติของยีสต์ที่มีช่วงชีวิตสั้น และมีการใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย สิ่งที่สำคัญคือ ยีสต์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกันกับพืช เช่น กรดไขมันโอเลอิก (*Oleic acid, C18:1n9*) และกรดไขมันไลโนเลอิก (*Linoleic acid, C18:2n6*) ซึ่งเป็นกรดไขมันจำเป็นที่ร่างกายมนุษย์เรานั้นไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้

2. จากการหาคุณค่าอาหาร (Proximate analysis) ในเซลล์ยีสต์ *Pichia jadinii* เลี้ยงที่ความเค็ม 25 ppt 72 ชั่วโมง พบปริมาณโปรตีนร้อยละ 42 ไขมันร้อยละ 0.22 ค่าความชื้นร้อยละ 66 และเถ้าร้อยละ 2

3. จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีท ที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนและฟองน้ำทะเล จังหวัดจันทบุรี ชลบุรี ระยอง ชุมพร และ นครศรีธรรมราช จำนวน 63 ตัวอย่าง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP 2 เป็นระยะเวลา 3-14 วัน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 20 ppt. เขย่า 100 rpm. พบปริมาณกรดไขมันแตกต่างกัน โดยตัวอย่างแอคทีโนมัยซีท NS 2-2 ที่คัดแยกจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราช พบปริมาณของกรดไขมันโดยรวมสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 96.28 ของกรดไขมันโดยรวม โดยพบกรดไขมันจำเป็น C18:2n6 ปริมาณ 37.38 ±0.27 %TFA และพบกรดไขมัน C18:3n3 ปริมาณ 4.07±0.09%TFA รองลงมาเป็นตัวอย่าง NS 4-6 พบกรดไขมันปริมาณร้อยละ 87.94 โดยพบกรดไขมัน C18:2n6 ปริมาณ 36.26±0.88 % และพบกรดไขมัน C18:3n3 ปริมาณ 2.75±0.14 %TFA และแอคทีโนมัยซีท WN POR 02-1 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเลพบกรดไขมันโดยรวมปริมาณร้อยละ 84.33 โดยพบกรดไขมันจำเป็น C18:2n6 ปริมาณ 28.61±0.17 % และพบ C18:3n3 ปริมาณ 2.02±0.32 % ดังนั้นตัวอย่างแอคติโนมัยซีท NS 2-2 และ NS 4-6 ที่คัดแยกจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราช และแอคติโนมัยซีท WN-POR-02-1 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล ควรนำมาพัฒนาเพื่อให้ได้กรดไขมันจำเป็น เนื่องจากมีการผลิตกรดไขมัน C18:3n3 แล C18:2n6 ที่เป็น Precursor ของโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6 สายยาว

4. จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus* และ *V. vulnificus* ที่ก่อโรคในปลา ของสารสกัดจากเซลล์และในส่วนของน้ำเลี้ยงแอคติโนมัยซีทจำนวน 39 ไอโซเลต ด้วยเทคนิค Disc diffusion ในปี พ.ศ. 2556-2558 ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจำนวน 14 ไอโซเลต แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ โดยตัวอย่างจำนวน 9 ไอโซเลตได้แก่ NS3-2, NS3-6, NS3-10, NS4-6,NS5-1, CP 58 4-21, CP 58 5-2, RY 8-83 B1 และ LK-05-1 แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวิบริโอที่ก่อโรคในปลาทั้ง 3 ชนิด โดยที่ไอโซเลต NS3-10, CP 58 5-2 แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อสูงสุดโดยมีขอบเขตการยับยั้งอยู่ระหว่าง 19-22 mm. ขณะที่แอคติโนมัยซีทไอโซเลท NS4-6 มี

ขอบเขตการยับยั้ง 14-19 mm และ NS 5-1 มีขอบเขตการยับยั้ง 15-19 mm ขณะที่ไอโซเลต NS 5-4 และ NS 4-14 มีฤทธิ์ปานกลางในการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* มีขอบเขตการยับยั้ง15 mm. และ 12 mm. ตามลำดับ ยกเว้นไอโซเลต NS 4-4, A3-3, A1-3 ที่แสดงฤทธิ์ต้าน เฉพาะ *V. vulnificus* (12 mm) ตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่ควรนำมาพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Vibrio ที่ก่อโรคในปลา ได้แก่ Isolate NS 3-10, NS4-6, NS 5-1 และ CP 58 5-2 ที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราช และชุมพร และ Isolate LK-05-1 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล เกาะหลก จังหวัดชุมพร

เอกสารอ้างอิง

กระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชั่น. (2556). วันที่ค้นข้อมูล 20 มกราคม 2556, เข้าถึงได้จาก http://www.barascientific.com/article/Biodiesel2/biodiesel_2.php

กอบกุล เหล่าเท้ง. (2001). *โครงการวิจัยการปรับแต่งองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในยีสต์ Hansenulapolymorpha CBS1976 โดยใช้ยีน 6-desaturase ของ Mucorrouxii ATCC24905*. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ ศูนย์สารสนเทศสิ่งแวดล้อม กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. เข้าถึงได้จาก http://www.environNet.in.th

ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา และวนัดดา คมเวช. (2530). โรคและพาราสิตของปลาทะเลที่ตรวจพบในสถานเลี้ยงสัตว์น้ำเค็ม. ใน *เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2530. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี*.

ชาญณรงค์ รอดคำ. (2550). โรคที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย. ใน *ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 33 ณ โรงแรมโซฟิเทล เซ็นทาราแกรนด์, กรุงเทพฯ. 31 ตุลาคม-2 พฤศจิกายน: 319-326.*

ดาวัลย์ ฉิมภู่. (2550). *ชีวเคมี* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นนทวิทย์ อารีย์ชน, สุภาวดี โกยดุล และนิลุบล กิจอันเจริญ. (2546). ผลของความเค็มและอุณหภูมิต่อความอยู่รอดของ Vibrio harveyi. *วิทย์เกษตรศาสตร์, 27*, 67-73.

นันทริกา ซันซื่อ. (2553). *โรคปลา: อายุรศาสตร์และคลินิกปฏิบัติ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: โฮลิสติก พับลิชชิ่ง.

นิศารัตน์ เอี๊ยะมณี, ชลอ ลิ้มสุวรรณ และนิติ ชูเชิด. (2557). เปอร์เซ็นต์ ผลของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ต่อการเจริญเติบโต การรอดตายและความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย Vibrio harveyi ในกุ้งขาวแวนนาไม (Litopenaeus vannamei) ในห้องปฏิบัติการ. ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52, สาขาประมง, สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์.*

บัญญัติ สุขศรีงาม. (2534). *จุลชีววิทยาทั่วไป*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ประดิษฐ์ มีสุข. (2547). *ชีวเคมีเบื้องต้น (เคมีชีวิต)* (พิมพ์ครั้งที่ 4). สงขลา: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยทักษิณ.

ปาริชาติ สักกะทำนุ. (2544). *สุขภาพลำไส้ใหญ่ และ FOS - โอลิโกฟรุกโตส*. กรุงเทพฯ: รวมทรรศน์.

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

พัชรี บุญศิริ, เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์ และอุบล ชาอ่อน. (2551). *ชีวเคมี* (พิมพ์ครั้งที่ 5). ขอนแก่น: คลังนานาวิทยา.

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. (2539). *หลักอาหารสัตว์ เล่ม 2: หลักโภชนาศาสตร์และการประยุกต์*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

พิทักษ์ สูตอนันต์. (2552). *ชีวเคมีทั่วไป.* ชลบุรี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยบูรพา.

พิมพร วัชรางค์กุล. (ม.ป.ป.). *กรดไขมันโอเมก้า 3 ในสัตว์น้ำ*. วันที่ค้นข้อมูล 25 พฤษจิกายน 2555, เข้าถึงได้จาก http://advisor.anamai.moph.go.th/211/21102.html

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. (2543). *อ้อยในฐานะเป็นพืชสมุนไพร*. วันที่ค้นข้อมูล 25 พฤศจิการยน 2555, เข้าถึงได้จาก http://www.e-busitrade.com/Noble_Sugar_Cane_2_index.htm

มนูเทพ กนกศิลป์. (2550). *ผลของสภาวะแวดล้อมต่อการผลิตไขมันของยีสต์ Rhodoto rulal-gracilis*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์. (2541). การเก็บรวบรวมและการตรวจหา Actinomycetes จากดินป่าชายเลนที่สามารถสร้างสารยับยั้งจุลชีพ. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 6*, 23-33.

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ และจันทร์จรัส วัฒนโชติ. (2558). *การพัฒนาการผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากแอคติโนมัยซีทและการผลิตเซลล์ปริมาณมาก*. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา.

วิเชษฐ์ ลีลามานิตย์. (2539). *เภสัชกรกับอาหารเพื่อสุขภาพและอาหารทางการแพทย์.* กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.

ศุภศิษฐ์ อรุณรุ่งสวัสดิ์. (2541). *ชีวเคมีพื้นฐาน*. กรุงเทพฯ: พิมพ์ท๊อป.

ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร. (2558). *กรดอะราคิโดนิก.* เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1650/arachidonic-acid-กรดอะราคิโดนิก

สมถวิล จริตควร, สุดารัตน์ สวนจิตร และเศรษฐวัชร ฉ่ำศาสตร์. (2551). *ความหลากหลายทางชีวภาพและการประยุกต์ใช้ทรอสโทโคตรริดส์จากป่าชายเลนเป็นแหล่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ*. ดุษฎีนิพนธ์, สาขาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สมศักดิ์ วรคามิน. (2552). *โอเมก้า 3 น้ำมันปลา*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สาวิตรี ลิ่มทอง. (2549). *ยีสต์ : ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ.* กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุกัญญา สุนทรส และวิเชียร ริมพณิชยกิจ. (2553). *ชีวโมเลกุล* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

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

อัญชัญ ธนบุญรุ่งเรือง และอมรรัตน์ อุตรไชย. (2555). *การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันใน ยีสต์ BS 6-2 ที่แยกได้จากน้ำทะเลในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ.* บัณฑิตวิทยาลัย, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

อาภัสสรา ชมิดท์. (2543). *ชีวเคมี* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: รั้วเขียว.

อิงสุรัจจ์ สังข์เงิน และชนิดาภา ยิ่งประยูร. (2554). *การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ (BS1-2 และ BS6-2) ที่แยกได้จากน้ำทะเลในอาหารเลี้ยงเชื้อจากกากชานอ้อย*. บัณฑิตวิทยาลัย, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

Abbey, M., & Nestel, P. J. (1994). Reduction of blood pressure and plasma triglycerides by omega 3 fatty acids. *J Hypertens*, 1041–1045

Adler, A. J., & Holub, B. J. (1997). Effect of garlic and fish - oil supplementation on serum lipid and lipoprotein concentrations. *Am J, Clin Nutr.*

Albert, C. M., & Hennekens, C. H. (1998). Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *JAMA*, *279* (1), 23 - 28.

Anamnart, S., Wanida, W., Laoteng, K., & Petsom, A. (2004). Elongation of C16:0 to C18:0 fatty acid in methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* CBS 1976 and fatty acid auxotrophic mutants. *Jounal FEMS Microbiology Letters*, *237*, 213-218.

Anand, P. T., Chellaram, C., Kumaran, S., & Fellcia, C. S. (2011). Screening for Antibiotic Producting Marine Bacteria against Fish Pathogens. International *Journal of Pharma and Bio Sciences*, *2*(1) p.314-325.

Anderson, G. J. (1994). Developmental sensitivity of the brain to dietary n - 3 fatty acid. *J Lipid Res*, *35*, 105-110.

Andreishcheva, E. N., Isakova, E. P., & Sidorow, N. N. (1999). Adaptation to Salt Stress in a Salt-Tolerant Strain of the Yeast *Yarrowia lipolytica*. *Biochemistry (Moscow), 64* (9), 1259-1266.

Andrew P. Desbois, & Keelan C. Lawlor. (2013). Antibacterial Activity of Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus*. *Mar. Drugs, 11*, 4544-4557.

Arachidonic acid. วันที่ค้นข้อมูล 22 มกราคม (2556), เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetwork solution.com/wiki/word/1650/arachidonic-acid-อะราคิโดนิก

Arbat, A. B., & Zodpe, S. N. (2014). Biodiversity of Actinomycetes Species Isolated from Saline Belt of Akola District. *Research Paper Microbiology, 4* (7), 450-452.

Aslan, A., & Triadafilopoulos, G. (1992). Fish oil fatty acid supplementation in active ulcerative colitis Am. *J Gastroenterol*, *87*(4), 432 - 437.

AOAC 2000. American Society of Analytical Chemistry and Preparation Method. 999.10.

Asthana, R. K., Srivastava, A., Kayastha, A. M., Nath, G., & Singh, S. P. (2006). Antibacterial potential of γ-linolenic acid from Fischerella sp. colonising Neem tree bark. *World J. Microbiol. Biotechnol., 22*, 443-448.

Balfry, S. K., & Higgs, D. A. (2001). Influence of dietary lipid composition on the immune system and disease resistance of finfish. *In* Lim, C. and Webster, C. D. (eds.) Nutrition and fish health. The Haworth Press, Inc. Binghamton, NY. pp. 213-234.

Barakat, K. M., & Beltagy, E. A. (2015). Bioactive phthalate from marine *Streptomyces ruber* EKH2 against virulent fish pathogens. National Institute of Oceanography and Fisheries Egyptian. *Journal of Aquatic Research*, *41*(1), p.49–56.

Bara Sciencetific. (2015). *กระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชัน.* เข้าถึงได้จาก http://www.barascientific.com/article/Biodiesel2/biodiesel_2.php

Benkendorff, K, Davis, A. R., Rogers, C. N., Bremner, J. B. (2005). Free fatty acids and sterols in the benthic spawn of aquatic molluscs, and their associated antimicrobial properties. *J Exp Mar Biol Ecol, 316*, 29-44.

Bergsson G, Arnfinnsson J, Karlsson SM, Steingrímsson Ó, Thormar H. (1998). In vitro inactivation of *Chlamydia trachomatis* by fatty acids and monoglycerides.
Antimicrob Agents Chemother, 42, p. 2290-2294.

Bhaskar, N., Kinami, T., Miyashita, K., Park, S. B., Endo, Y., Fujimoto, K. (2004). Occurence of conjugated polyenoic fatty acids in seaweeds from the Indian Ocean. *Z Naturforsch C, 59*, p.310-314.

Bhatnagar, I, & Kim, S. K. (2010). Immense essence of excellence: marine microbial bioactive compounds. *Mar Drugs*., *15:8*(10), 673-701.

Birch, D. G., & Hoffman, D. R. (1992). Retinal development in very - low - birth - weight infants fed diets differing in omega 3 fatty acid. *Ophthalmol Sci*, *33* (8), p.2365-2376.

Brown, M. R., Barrett, S .M. Volkman, J. K., Nearhos, S. P., Nell, J. A., & Allan, G. L. (1996). Biochemical composition of new yeasts and bacteria evaluated ad food for bivalve aquaculture. *Aquaculture*, *143*, p.341-360.

Butcher, G. W., King, G., & Dyke, K. G. H. (1976). Sensitivity of *Staphylococcus aureus* to unsaturated fatty acids. *J. Gen. Microbiol*., *94*, p.290–296.

Cai, M., Zhi, X. Y., Tang, S. K., Zhang, Y. Q., Xu, L. H., & Li, W. J. (2008). Streptomonospora halophila sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a hypersaline soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM), 8*(7) p.1556-1560.

Calder, P. C. (2007). Immunomodulation by omega-3 fatty acids. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids 77*, 327-335.

Calinescu, I., Chipurici, P., Trifan, A., & Badoiu, C. (2012). Immobilisation of Saccharomyces Cerevisiase for the Prodution of Biotehanol *U.P.B. Sci. Bull., Series B,74(*1) p.33-40.

Cavallo, R. A., Acquaviva, M. I., Stabili, L., Cecere, E., Petrocelli, A., & Narracci, M. (2013). Antibacterial activity of marine macroalgae against fish pathogenic *Vibrio species. Central European Journal of Biology, 8*(7),p.646-653.

Chaudhary, H. S., Soni, B., Shrivastava, A. R., & Shrivastava, S. (2013). Diversity and Versatility of Actinomycetes and its Role in Antibiotic Production. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *3*(8), S83-S94.

Chaung, K., Chu, C. Y., Su, Y. M., & Chen, Y. M. (2012). Effect of culture conditions on growth, lipid content, and fatty acid composition of *Aurantiochytrium mangrovei* strain BL10. AMB Express., *2*, p.42.

Chen, C.-H., Wang, Y., Nakatsuji, T., Liu, Y.-T., Zouboulis, C.C., Gallo, R.L., Zhang, L., Hsieh, M.F., & Huang, C.M. (2011). An innate bactericidal oleic acid affective against skin infection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A therapy concordant with evolutionary medicine. *J. Microbiol. Biotechnol*., *21*, p.391–399.

Christie, W. W. (2003). *Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids* (3rd ed.). Bridgewater, UK.: The Oily Press.

Christophe, G., Kumar, R., & Gaudet, G. (2012). Recent developments in microbial oils production: a possible alternative to vegetable oils for biodiesel without competition with human food. *Brazilian archives of biology and technology, 55*, p.29 - 46.

Cipriano, R. C. (2001). *Aeromonas hydrophila* and motile Aeromonad Septicemias of fish. In *Revision of fish disease leaflet 68. (*pp. 1-25*).* United States Department of the Interior, Washington DC*:* Fish and Wildlife Service Division of Fishery Research.

Clarke, S. R., Mohamed, R., Bian, L., Routh, A.F., Kokai-Kun, J. F., Mond, J. J., Tarkowski, A., & Foster, S. J. (2007). The Staphylococcus aureus surface protein isdA mediates resistance to innate defences of human skin. *Cell Host Microb*., *1*, p.1-14.

Coonrod, J.D. (1987). Rôle of surfactant free fatty acids in antimicrobial defences. *Eur. J. Respir. Dis.*, *153*, p.209–214.

Dahiya, J. P., Wilkie, D. C., Van Kessel, A. G., & Drew, M. D. (2006). Potential strategies for controlling necrotic enteritis in broiler chickens in post-antibiotic era. Animal Feed Science and Technology, *129*, p.60-88.

Das, U. N. (2006). Essential fatty acids: Biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnology Journal, 1*(4),p. 420–439.

Desbois, A. P., Mearns-Spragg, A., & Smith, V. J. (2009). A fatty acid from the diatom Phaeodactylum tricornutum is antibacterial against diverse bacteria including multi-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *Mar. Biotechnol, 11*, 45–52.

Desbois, A. P., Smith, V. J. (2010). Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol*.,*85*, p.1629–1642.

Desbois, A. P. (2013). Antimicrobial properties of eicosapentaenoic acid (C20: 5*n*-3). In *Marine Microbiology: Bioactive Compounds and Biotechnological Applications*; Kim, S.-K., Ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, pp. 351–367.

Docosahexaenoic acid. วันที่ค้นข้อมูล 22 มกราคม (2556), เข้าถึงได้จาก http:/www.foodnet worksolution.com/wiki/word/1904/docosahexaenoic-acid-dha

Douillet, P., & Langdon, C. J. (1993). Effects of marine bacteria on the culture of axenic oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) larvae. *Biological Bulletin 184*, 36-51.

Doumenq, P., Acquaviva, M., Asia, L., Durbec, J. P., Dréau, Y. Le., Mille, G., & Bertrand, J. C. (1999). The fatty acid 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 Ecology*. *28*(2), p.151–161.

El Shoubaky, G. A., & Salem, E. R. (2014). Active ingredients fatty acids as antibacterial agent from the brown algae *Padina pavonica and Hormophysa triquetra. Journal of Coastal Life Medicine; 2*(7), p. 535-542.

Ergas, D., Eilat, E., Mendlovic, S., & Sthoeger, Z. M. (2002). n-3 Fatty acid and the immune system in autoimmunity. *Isr Med Assoc. J. 4*(1), p.34-38.

Evans, C. T., & Ratledge, C. (1992). A Comparison of Oleaginous Yeast, *Condida curvata*, Grown on Different Carbon Sources in Continuous and Batch Culture. *Lipids, 18*(9), 623-629.

Feldlaufer, M. F., Knox, D. A., Lusby, W. R., Shimanuki, H. (1993). Antimicrobial activity of fatty acids against Bacillus larvae, the causative agent of American foulbrood disease. *Apidologie, 24,* p.95–99.

Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, *226,* p.497-509.

Galbbraith, H., & Millter, T. B. (1973b). Physiochemical effects of long chain fatty acids on bacterial cell and their protoplasts. *Journal of Applied Bacteriology, 36*, p.647-675

Galbbraith, H., & Millter, T. B. (1973c). Physiochemical effects of long chain fatty acids on bacterial respiration and amino acid uptake. *Journal of Applied Bacteriology, 36*, p.659-675.a.

Ghorbani-Nasrabadi, R, Greiner, R., Alikhani, H. A., Hamedi, J., & Yakhchali, B. (2013). Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. *J. Soil Sci. Plant Nutr*. *13*(1) *(versión On-line* ISSN 0718-9516)

Goodfellow, M., Brown, R., Ahmed, L., Pathom-aree, W., Bull, A. T., Jones, A. L., Stach, J. E. M., Zucchi, T. D., Zhang, L., & Wang, J. (2012). *Verrucosispora fiedleri* sp. nov., an actinomycete isolated from a fjord sediment which synthesizes proximicins Antonie van Leeuwenhoek published online: 31 October 2012

Gurr, M. I. (1983). The role of lipids in the regulation of the immune system. *Progr. Lipid Res, 22*, 257-287.

Gutiérrez, L. E., & Da Silva, R. C. M. (1993). Fatty acid composition of cane molasses and yeasts. *Sci.agric, 50*(3), p.473-477.

Harbige, L. S. (1998). Dietary n-6 and n-3 fatty acid in immunity and autoimmune diseases In *Proceeding of the Nutrition Society*. *57*, p.555-562.

Harley, J. (2004). Microbiology. วันที่ค้นข้อมูล 25 พฤศจิกายน 2555, เข้าถึงได้จาก http://highered.mcgrawhill.com/sites/0072556781/information_center

Hart, R., Bell-Syer, S. E. M., Crawford, F., Torgerson, D. J., Young, P., & Russell, I. (1999). Systematic review of topical treatments for fungal infections of the skin and nails of the feet. *BMJ*, *319*, p.79–82.

Harwood, & Russel, N. J. (1984). Lipids in plants and microbes. London.: George Allen & Unwin,

Hossain, N., & Rahman, M. M. (2014). Antagonistic Activity of Antibiotic Producing *Streptomyces* sp. against Fish and Human Pathogenic Bacteria. *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal*, *57*(2), 233-237,

Huang, C.-M., Chen, C.-H., Pornpattananangkul, D., Zhang, L., Chan, M., Hsieh, M.-F., & Zhang, L. (2011). Eradication of drug resistant *Staphylococcus aureus* by liposomal oleic acids. *Biomaterials*, *32*, p.214–221.

Huang, C. B., & Ebersole, J. L. (2010). A novel bioactivity of omega-3 polyunsaturated fatty acids and their ester derivatives. *Mol. Oral Microbiol*., *25*,p.75–80.

Huang, C.B., George, B., & Ebersole, J. L. (2010). Antimicrobial activity of *n*-6, *n*-7 and *n*-9 fatty acids and their esters for oral microorganisms. *Arch. Oral Biol*., *55*, p.555–560.

Huang, Z., Bao, Y. Y., Yuan, T. Y., Wang, G. X., He, L. Y., & Sheng, X. F. (2015). Arthrobacter *nanjingensis sp. nov.,* a mineral-weathering bacterium isolated from forest soil. *Int J Syst Evol Microbiol, 65*, p. 365-369.

Hunter, k., & Rose, A. H. (1971). Yeast lipids and membrane. *In The Yeast, 2*, p.211-270.

Hwang, C. Y., Lee, I., Cho, Y., Lee, Y. M., Baek, K., Jung, Y.-J., Yang, Y. Y., Lee, T., Rhee, T. S., & Lee, H. K. (2015). *Rhodococcus aerolatus* sp. nov., isolated from subarctic rainwater. *Int Syst Evol Microbiol., 65,* p.465-471.

Jensen, P. R., Williams, P.G., Oh, D. C., Zeigler, L., & Fenical, W. (2007). Species-specific secondary metabolite production in marine actinomycetes of the genus *Salinispora. Applied and Environmental Microbiology*, *73*(4), p.1146-1152.

Johnston, P. V. (1988). Lipids modulation of immune responses. In: Chandra, R.K. (ed.) Nutrition and immunology, Alan R. Liss, Inc., New York, NY, pp. 37-86.

Kamlangdee, N., & Fan, K. W. (2003). Polyunsaturated fatty acids production by Schizochytrium sp.isolated from mangrove Songklanakarin, *J. Sci. Technol*., *25*(5), p.643-650.

Kayalvizhi, K., Vasuki, S., Anantharaman, P., & Kathiresan, K. (2012). Antimicrobial activity of seaweeds from Gulf of Mannar. *Int J Pharm Appl, 3*(2), p. 306-314.

Khomsan, S., Chanwit, S., Pattama, P., Khanit, S., & Chitti, T. (2013). Micromonospora spongicola sp. nov., an actinomycete isolated from a marine sponge in the Gulf of Thailand. *The Journal of Antibiotics*, *66*, p.505–509.

Kim, M. C., Lee, J., Kim, D. H., Son, H. J., & Heo, H. S. (2014). Isolation and Identification of Antioxidant Producing Marine-Source Actinomycetes and Optimal Medium Conditions. *Food Sci. Biotechnol, 23*(5), 1629-1635.

Knapp, H. R., & Melly, M. A. (1986). Bactericidal effects of polyunsaturated fatty acids. *J Infect Dis*, *154*, p.84-94.

Koval'chuk, L. P., Donets, A. T., Burtseva, S. A., Iadovina, V. N., & Perepeli'tsa, E. D. (1980). Fatty acids of actinomycete phospholipids. *Microbiologiia*, *49*(5), p.746-50.

Kutty, S. N., & Philip, R. (2008). *Marine yeasts - a review. Yeast*, *25*, p. 465-483.

Landecker, E. M. (1996). *Fundamentals of the Fungi*. New Jersey: prentice-hall.

Lec hevalier. (1989). Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. Biol Fertil Soils, *29*, p.111–129.

Lee, E. J., Hwang, K. Y., Lee, H. S., & Chung, N. (2011). Characterization of a New *Streptomyces* sp. A1022 as a Potential Biocontrol Agent. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 54*(3), p. 488-493.

Lee, S. A. , H. J. Kim, K. C. Chang, J. C. Baek, J. K. Park, J. K. Shin, et al. (2009). DHA and EPA downregulate COX2 expression through suppression of NF-kappa B activity in LPS treated human umbilical vein endothelial cells. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology 13*, p.301-307.

Leonardos, N., & Lucas, A. N. I. (2000). The use of larval fatty acids as an index of growth in *mytilus edulis L.* Larvae. *Aquaculture*, *184*, p.155-166.

Li., M., Liu, G. L., Chi, Z., & Chi, Z. M. (2010). Single cell oil production from hydrolysate of cassava starch by marine - derived yeast *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a. *Biomass and bioenergy*, *34*, p.101-107.

Linoleic acid. วันที่ค้นข้อมูล 22 มกราคม (2556), เข้าถึงได้จาก http://www.thepaleodiet.com/nutritional_tools/fats.shtml

Mackenzie, D. A., Carter, A. T., Wongwathanarat, P., Eagles, J., Salt, J., & Archer, D. B. (2002). A third fatty acidΔ9 - desaturases from Mortierella alpine with a different substrate specificity to ole 1 p and ole 2 p. *Microbiology, 148*, p.1725-1735.

Martina, T., Laurence, M., & Marjeta, S. (2004). Salt - induced changes in lipid composition and membrane fluidity of halophilic yeast - like melanized fungi. *Extremophiles*, 53-61.

Montet, D., Ratomahenina, R., Galzy, P., Pina, M., & Graille, J. (1985). A study of the influence of the Growth Media on Fatty Acid Composition in *Condida Lipotytica*. *Biotechnology Letters*, 7*(10)*, p.733-736.

Nakatsuji, T., Kao, M.C., Fang, J.-Y., Zouboulis, C.C., Zhang, L., Gallo, R.L., & Huang, C.M. (2009). Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. *J. Invest. Dermatol*., *129*, p.2480–2488.

Newman, D.J., & Cragg, G.M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J.Nat. Prod., 70,* p.461–477.

Niall, G. V., Winston, D. L., & Horstkaiser. (2006). Probiotics in marine larviculture. *FEMS Microbiology Reviews, 30*(3), p.404-427.

Nichol, D., & McMeekin, T. A. (2002). Biomarker techniques to screen for bacteria that produce polyunsaturated fatty acids. *Journal of Microbiological Methpds, 48,* 161-170

Nichol, D. S. (2003). Prokaryotes and the input of polyunsaturated fatty acids to the marine food web. *FEMS Microbiology Letters 219*, p.1-7.

Nussbaum, F.V., Brands, M., Hinzen, B., Weigand, S., & Habich, D. (2006). ‚Antibacterial natural products in medicinal chemistry – exodus or revival. *Angew. Chem. Int. Ed., 45*, p.5072–5129.

Oliver, E., McGillicuddy, F., Phillips, C., Toomey, S., & Roche, H. M. (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*, p.232-243.

Pablo, I., & Jones, D. A. (1993). Bacteria as food for artemia. *Aquaculture, 113*, 115-127.

Pathissery, S. J., & Philip, R. (2013). A Molasses Based Fermentation Medium for Marine Yeast Biomass Production *International Journal of Research in Marine Sciences, 2*(2), p.39-44.

Pathom-aree, W., Nogi, Y., Sutcliffe, I. C., Ward, A. C., Horikoshi, K., Bull, A. T., & Goodfellow, M. (2014). *Williamsia marianensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the Mariana Trench. (Announcing a February 2014 special issue) in *The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.*

Pimentel-Elardo, S. M., Scheuermayer, M., Kozytska, S., & Hentschel, U. (2009). *Streptomyces axinellae* sp. nov., isolated from the Mediterranean sponge *Axinella polypoides* (Porifera). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM). p1433-1437.

Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., García-Blairsy, R. G., Herrero, M., & Señoráns, F.J. (2010). Screening for bioactive compounds from algae. *J Pharm Biomed Anal,* 51, p.450-455.

Procópio, R.E., Silva, I.R., Martins, M.K., Azevedo, J.L., & Araújo, J.M. (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces. The Brazilian Journal of Infectious Diseases, 16*(5), p.466-471.

Ramesh, S., Rajesh, M., & Mathivanan, N. (2009). Characterization of a thermostable alkaline protease produced by marine *Streptomyces fungicidicus* MML1614. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *32*(6), 791-800.

Reddy, N. G., Ramakrishna, D.P.N., & Rajagopal, S.V. (2011). Optimization of culture conditions of *Streptomyces rochei* (MTCC 10109) for the production of antimicrobial metabolites Egyptian. *Journal of Biology, 13*, p. 21-29.

Rodríguez, B., Iben, C., Valdivié, M., & Cuban, M. M. (2012). Profile of fatty acids from torula yeast (*Candida utilis*) grown on distiller's vinasse. *Journal of Agricultural Science, 46*(2), 199-201.

Russell, N.J., & Nichols, D. S. (1999). Polyunsaturated fatty acids in marine bacteria – a dogma rewritten. *Microbiology, 145*, p.767–779.

Salem, W.M., Galal, H., Nasr, El-deen F. (2011). Screening for antibacterial activities in some marine algae from the Red Sea (Hurghada,Egypt). *Afr J Microbiol,* Res, *5*(15), 2160-2167.

Schulze, I., Hansen, S., Großhans, S., Rudszuck, T., Ochsenreither, K., Syldatk, C., & Neumann, A. (2014). Characterization of newly isolated oleaginous yeasts *Cryptococcus podzolicus*, *Trichos poronporosum* and *Pichia segobiensis*. *AMB Express*, *4*, p.24.

Selvameenal, L., Radhakrishnan, M., & Balagurunathan, R. (2009). Antibiotic pigment from desert soil actinomycetes; biological activity, purification and chemical screening. *Indian Journal of Pharmaceutical, 71*(5), 499-504.

Shrirasakawa, N., Nishi, K., & Shimizu, S. (1995). Occurrence of a furan fatty acid in marine bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta, 12*(58), p. 225-227

SinéadLordan, R. Ross, P., & Stanton, C. (2011). Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. *Mar Drugs*, *9*(6), 1056-1100.

Simi Joseph P. (2009). *Process Optimization for Mass Production of Marine Yeast Candida sp. S 27 and its Nutritional Characterization*. Thesis submitted to the Cochin University of Science and Technology Department of Marine Biology Microbiology and Biochemistry School of Marine Sciences, Kochi

Simupoulos, A. P. (2002). Omega-3 fatty acids in inflammation and Autoimmune diseases. *J.Am. Coll. Nutr. 21*(6), p. 495-505.

Sobolevskaya, M., Shevchenko, L., Moiseenko, O., Afiyatullov, Sh.PUB. DATEMay. (2012). Fatty-acid compositions of marine isolates of the actinobacteria *Nocardiopsis umidischolae* KMM 7036 and *Streptomyces* sp. KMM 7210. *Chemistry of Natural Compounds*; *48*(2), p. 299.

Sobolevskaya, M., Lipko (Terkina), I., Moiseenko, O., Parfenova, V., & Afiyatullov, Sh.PUB. DATE January (2012). Fatty-acid composition of several Lake Baikal *streptomycetes*. *Chemistry of Natural Compounds*, *47*(6), p.880.

Srivibool, R., & Jaritkhuan, S. (2007). Marine yeast: a new alternative source for highly unsaturated fatty acids. In *The 2nd International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. Khon Kaen, Thailand, (Poster No P 4-3).*

Stredansky, M., Conti, E., Stredanska, S., & Zanetti, F. (2000). γ-Linolenic acid production with Thamnidium elegans by solid-state fermentation on apple pomace *Bioresour. Technol*., *73*(1), p. 41–45.

Velayudham, S., & Murugan, K. (2012). Diversity and Antibacterial Screening of Actinomycetes from Javadi Hill Forest Soil, Tamilnadu. *India Journal of Microbiology Research, 2*(2), p.41-46.

Wang, G., Chi, Z., Song, B., Wang, Z., & Chi, Z. (2012). High level lipid production by a novel inulinase-producing yeast *Pichia guilliermondii* Pcla22. *BioresourTechnol*, *14*(124), 77-82.

Zaky, A. S., Tucker, G. A., Daw, Z.Y., & Du, C. (2014). Marine yeast isolation and industrial application. *FEMS Yeast Res*., *14*(6), p. 813-25.

Zhang, G., Zhang, Y., Yin, X., & Wang, S. (2015) *Nesterenkonia alkaliphila* sp. nov., an alkaliphilic, halotolerant actinobacteria isolated from the western Pacific Ocean. *Int J Syst Evol Microbiol, 65*, 516-521.

Zhang, H., Zhang, L., Peng, L., Dong, X., Wu, D., Wu, V.C., & Feng, F. (2012). Quantitative structure-activity relationships of antimicrobial fatty acids and derivatives against *Staphylococcus aureus*. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, *13*, p. 83–93.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar)

ชั่ง PDA 9.75 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนเดือดนาน 1 นาที ทิ้งให้พออุ่น ปิเปตใส่ภาชนะเลี้ยงเชื้อ (Plate) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในตู้ปลอดเชื้อ ทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัว

1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ YM medium

ชั่ง Yeast extract 0.39 กรัม
ชั่ง Malt extract 0.39 กรัม
ชั่ง Peptone 0.65 กรัม
ชั่ง Glucose 1.30 กรัม
ชั่ง Agar 1.95 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยการเติมน้ำกลั่น 130 มิลลิลิตร ปิดปากฟลาสก์รูปชมพู นำเข้าเครื่องหม้อนึ่ง ความดันอัตโนมัติ ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อย

อาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อย กรองกากชานอ้อยก่อนเข้าเครื่องความดันอัตโนมัติ (สูตรกากชานอ้อยต่อน้ำทะเลเทียมที่มีความเค็ม 25 พีพีที ในอัตราส่วน 1:10)

ชั่งกากชานอ้อย 100 กรัม ลงในบีกเกอร์ 3,000 มิลลิลิตร เติมน้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water) ที่มีความเค็ม 25 พีพีที กวนและบีบกากชานอ้อยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองกากชานอ้อยออก เทเฉพาะส่วนน้ำใส่ขวดฝาเกลียวขนาด 1,500 มิลลิลิตร ตวงอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อย 125 มิลลิลิตร ใส่ฟลาสก์รูปชมพู 250 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด ปิดปากฟลาสก์รูปชมพู่ จากนั้นนำเข้าเครื่องหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (ทำซ้ำที่น้ำทะเลเทียม (Artificial sea water) ที่มีความเค็ม 30 และ 35 พีพีที ตามลำดับ)

2. การเตรียมน้ำทะเลเทียม (Artificial sea water) ที่มีความเค็ม 25 พีพีที

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียมน้ำทะเลเทียม

สารเคมี	25 พีพีที (กรัม)
NaCl	20.24
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	4.04
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.91
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	0.98
KCl	0.64
$NaHCO_3$	0.32
$Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	0.06
KH_2PO_4	0.04

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร และปรับ pH ที่ 7.4

การเตรียมตัวอย่างและการตรึงเซลล์ยีสต์ *Pichia sp.*

นำตัวอย่างเซลล์ยีสต์ *Pichia sp.* ที่ได้จากการเลี้ยง ปริมาตร 30 มิลลิลิตรมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง หลังจากนั้นทำการล้างเซลล์ยีสต์จำนวน 2 ครั้ง โดยการเติมสารละลาย 0.85 เปอร์เซ็นต์ Normal saline (NaCl) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร และน้าไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้งก่อนนำเซลล์ยีสต์ไปทำเซลล์ตรึงและวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

การตรึงเซลล์ยีสต์ *Pichia sp.*

ชั่งเซลล์ยีสต์ *Pichia sp.* ให้ได้เซลล์ประมาณ 2.5 x 10^5 เซลล์ เติม 0.85 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ 100 มิลลิลิตร ผสมกับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมอัลจิเนต 40 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันได้เป็น 1.2 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมอัลจิเนต เตรียมเม็ดเจลตามข้อการตรึง

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่าง

ตารางภาคผนวกที่ 2 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM

กรดไขมัน	BS1-2	BS1-3	BS6-1	BS6-2
C14:0	1.97 ± 0.46	0.39 ± 0.00	2.79 ± 0.34	3.17 ± 0.11
C16:0	21.56 ± 1.53	12.87 ± 0.07	11.41 ± 1.39	24.05 ± 0.65
C16:1n7	10.96 ± 0.64	10.94 ± 0.05	6.87 ± 0.63	4.67±0.15
C16:2n4	0.22 ± 0.03	0.27 ± 0.00	0.42 ± 0.04	
C16:3n4	0.34 ± 0.00	2.51 ± 0.10	0.52 ± 0.08	
C18:0	3.19 ± 0.40	7.16 ± 0.04	2.12 ± 0.24	6.34 ± 0.13
C18:1n9	24.40 ± 1.40	35.71 ± 0.18	37.66 ± 0.74	22.02 ± 1.32
C18:1n7	0.60 ± 0.10	1.94 ± 0.01	1.39 ± 0.18	
C18:2n6	17.71 ± 0.62	20.29 ± 0.12	8.25 ± 0.19	23.90 ± 0.94
C18:3n4		nd	nd	
C18:3n3	13.15 ± 0.42	0.00	0.00	5.92 ± 0.05
C18:4n3		nd	nd	
C20:1n9		3.47 ± 0.02	1.83± 0.30	
C20:4n6		nd	0.76± 0.09	
C20:4n3		nd	0.59± 0.04	
C20:5n3		nd	nd	
C22:5n3		nd	nd	
C22:6n3		nd	nd	
sum	**94.10**	**95.55**	**74.61**	**90.06**
other	**5.90**	**4.45**	**25.39**	**9.94**
SFAs	**26.73**	**20.42**	**16.32**	**33.56**
MUFAs	**35.95**	**48.59**	**45.92**	**26.69**
PUFAs	**31.42**	**23.07**	**9.19**	**29.82**

ตารางภาคผนวกที่ 3 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM

กรดไขมัน	FV1-2	MN1-3
C14:0		
C16:0	9.75 ± 0.06	17.42 ± 0.27
C16:1n7	5.86 ± 0.00	5.62 ± 0.06
C16:2n4		
C16:3n4	2.91 ± 0.02	2.60 ± 0.07
C18:0	2.49 ± 0.02	8.40 ± 0.21
C18:1n9	59.12 ± 0.21	40.47 ± 0.76
C18:1n7	1.19 ± 0.03	1.55 ± 0.13
C18:2n6	12.07 ± 0.04	16.99 ± 0.34
C18:3n4	nd	nd
C18:3n3	0.00	0.00
C18:4n3	nd	nd
C20:1n9	2.22 ± 0.01	nd
C20:4n6	nd	1.30 ± 0.05
C20:4n3	nd	nd
C20:5n3	nd	nd
C22:5n3	nd	nd
C22:6n3	nd	nd
Sum	95.61	94.34
other	**4.39**	**5.66**
SFAs	**12.24**	**25.82**
MUFAs	**66.17**	**47.63**
PUFAs	**14.98**	**19.59**

ตารางภาคผนวกที่ 4 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อย ที่ความเค็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

สาร	BS1-2	BS6-2
C14:0	0.84 ± 0.05	1.13 ± 0.00
C16:0	20.88 ± 0.27	20.63 ± 0.18
C16:1n7	9.02 ± 0.05	5.69 ± 0.10
C16:2n4		
C16:3n4		0.73 ± 0.01
C18:0	3.21 ± 0.38	4.12 ± 0.04
C18:1n9	34.28 ± 0.09	34.97 ± 0.25
C18:1n7	0.48 ± 0.01	
C18:2n6	15.56 ± 0.06	19.91 ± 0.21
C18:3n4		
C18:3n3	9.78 ± 0.12	7.63 ± 0.05
C18:4n3		
C20:1n9		
C20:4n6		
C20:4n3		
C20:5n3		
C22:5n3		
C22:6n3		
Sum	**94.06**	**94.81**
other	**5.94**	**5.19**
SFAs	**24.93**	**25.89**
MUFAs	**43.78**	**40.66**
PUFAs	**25.34**	**28.27**

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคทีโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี และนครศรีธรรมราช เก็บตัวอย่างเดือนเมษายน 2556 จำนวน 22 ไอโซเลต

ตารางภาคผนวกที่ 5 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสีทที่คัดแยกจากดิน ป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)

กรดไขมัน	PL1-2
C10:0	nd
C12:0	nd
C13:0	nd
C14:0	0.79 ± 0.03
C14:1	nd
C15:0	3.17 ± 0.00
C15:1	nd
C16:0	10.90 ± 0.20
C16:1n7	3.63 ± 0.02
C17:0	3.72 ± 0.10
C17:1	0.65 ± 0.03
C18:0	1.30 ± 0.08
C18:1n9	1.72 ± 0.12
C18:2n6c	0.61 ± 0.09
C18:2n6 t	nd
C18:3n6	nd
C18:3n3	nd
C20:0	nd
C20:1n9	nd
C20:2	nd
C20:3n6	nd
C20:4n6	nd
C20:5n3	nd
C22:0	nd
C22:1n9	nd
C22:2	nd
C23:0	nd
C24:0	nd
C22:6n3	nd
C24:1n9	nd
sum	26.50
other	73.50
SFAs	19.89
MUFAs	6.01
PUFAs	0.61

ตารางภาคผนวกที่ 6 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดิน ป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)

กรดไขมัน	PL 2-2	PL2-3	PL2-5
C10:0	nd	nd	nd
C12:0	nd	nd	nd
C13:0	nd	nd	nd
C14:0	nd	2.25 ± 0.35	nd
C14:1	nd	nd	nd
C15:0	1.72 ± 0.48	1.75 ± 0.35	nd
C15:1	nd	nd	1.92 ± 0.22
C16:0	18.69 ± 0.13	14.83 ± 0.24	11.92 ± 0.22
C16:1n7	2.41 ± 0.49	1.88 ± 0.18	nd
C17:0	3.03 ± 0.20	3.71 ± 0.06	5.75 ± 0.65
C17:1	2.21 ± 0.20	nd	nd
C18:0	9.79 ± 0.76	9.83 ± 0.24	6.51 ± 0.06
C18:1n9	16.97 ± 0.62	10.25 ± 0.35	8.72 ± 0.14
C18:2n6	37.38 ± 0.27	nd	nd
C18:3n6	nd	nd	4.47 ± 0.50
C18:3n3	4.07 ± 0.09	nd	nd
C20:0	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	4.79 ± 0.54
C20:5n3	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd
sum	96.28	44.5	44.08
other	3.72	55.5	55.92
SFAs	33.24	32.375	24.18
MUFAs	21.59	12.125	10.64
PUFAs	41.45	0	9.26

ตารางภาคผนวกที่ 7 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)

กรดไขมัน	PL 3-1	PL 3-2	PL 3-10	PL 3-7
C10:0	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.02	nd	
C12:0	0.13 ± 0.01	0.16 ± 0.00	nd	
C13:0	nd	nd	nd	
C14:0	0.60 ± 0.02	0.56 ± 0.02	0.50 ± 0.02	1.47 ± 0.27
C14:1	0.17 ± 0.01	0.19 ± 0.00	nd	nd
C15:0	0.47 ± 0.01	0.47 ± 0.00	0.55 ± 0.09	2.06 ± 0.02
C15:1	nd	nd	nd	nd
C16:0	7.80 ± 0.04	5.31 ± 0.13	6.29 ± 0.19	12.21 ± 0.63
C16:1n7	0.25 ± 0.00	0.34 ± 0.02	0.36 ± 0.00	1.60 ± 0.09
C17:0	1.54 ± 0.02	1.70 ± 0.01	1.78 ± 0.00	4.69 ± 0.12
C17:1	1.34 ± 0.01	1.73 ± 0.01	1.55 ± 0.04	nd
C18:0	0.93 ± 0.00	1.03 ± 0.14	0.88 ± 0.04	7.88 ± 0.30
C18:1n9	1.95 ± 0.04	2.54 ± 0.15	1.81 ± 0.04	9.12 ± 0.60
C18:2n6	0.40 ± 0.00	0.51 ± 0.02	0.40 ± 0.02	1.26 ± 0.02
C18:3n6	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	2.83 ± 0.39
C20:0	nd	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	1.37 ± 0.12
C24:1n9	nd	nd	nd	nd
sum	15.81	14.76	14.12	44.49
other	84.19	85.24	85.88	55.51
SFAs	11.68	9.45	10.00	28.31
MUFAs	2.38	3.08	2.17	10.72
PUFAs	0.40	0.51	0.40	5.46

ตารางภาคผนวกที่ 8 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)

กรดไขมัน	PL 4-6	PL 4-10	PL 4-14
C10:0	nd	nd	nd
C12:0	0.34 ± 0.02	nd	nd
C13:0	nd	nd	1.44 ± 0.02
C14:0	1.05 ± 0.02	1.70 ± 0.04	nd
C14:1	nd	0.15 ± 0.00	1.80 ± 0.49
C15:0	0.83 ± 0.07	2.64 ± 0.01	nd
C15:1	nd	nd	14.60 ± 0.96
C16:0	19.39 ± 0.07	18.60 ± 0.05	2.18 ± 0.26
C16:1n7	0.94 ± 0.08	2.07 ± 0.05	3.53 ± 0.87
C17:0	3.13 ± 0.06	2.82 ± 0.08	0.32 ± 0.45
C17:1	2.15 ± 0.01	1.34 ± 0.05	1.91 ± 0.13
C18:0	5.80 ± 0.08	2.35 ± 0.17	1.90 ± 0.66
C18:1n9	15.30 ± 0.23	2.06 ± 0.15	nd
C18:2n6	36.26 ± 0.88	0.34 ± 0.01	2.57 ± 0.41
C18:3n6	nd	nd	nd
C18:3n3	2.75± 0.14	0.15 ± 0.00	nd
C20:0	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	2.66 ± 0.28
C20:2	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd
sum	87.94	34.22	32.90
other	12.06	65.78	67.10
SFAs	30.54	28.10	23.28
MUFAs	18.39	5.62	4.40
PUFAs	39.01	0.49	5.22

ตารางภาคผนวกที่ 9 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)

กรดไขมัน	PL5-1	PL 5-3	PL5-4
C12:0	nd	nd	nd
C13:0	nd	0.92 ± 0.01	
C14:0	1.42 ± 0.03	nd	0.53 ± 0.02
C14:1	nd	0.92 ± 0.01	nd
C15:0	1.09 ± 0.18	nd	0.44 ± 0.01
C15:1	nd	nd	nd
C16:0	12.06 ± 0.07	5.03 ± 0.07	5.52 ± 0.02
C16:1n7	1.49 ± 0.38	0.58 ± 0.12	0.50 ± 0.02
C17:0	1.63 ± 0.20	1.16 ± 0.12	2.10 ± 0.01
C17:1	1.49 ± 0.25	1.25 ± 0.47	2.12 ± 0.07
C18:0	2.43 ± 0.96	1.48 ± 0.73	1.25 ± 0.13
C18:1n9	8.39 ± 0.08	2.12 ± 0.06	3.14 ± 0.09
C18:2n6c	1.21 ± 0.14	0.54 ± 0.06	0.61 ± 0.01
C18:2n6t	1.64 ± 0.28	nd	nd
C18:3n6	nd	nd	nd
C18:3n3	1.22 ± 0.48	nd	nd
C20:0	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd
sum	34.09	13.99	16.21
other	65.91	86.01	83.79
SFAs	18.65	9.50	6.29
MUFAs	11.37	3.94	7.21
PUFAs	4.07	0.54	0.61

ตารางภาคผนวกที่ 10 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)

กรดไขมัน	PL 6-2	PL 7-4
C12:0	0.38 ± 0.10	0.30 ± 0.00
C13:0	nd	nd
C14:0	0.87 ± 0.05	0.85 ± 0.01
C14:1	nd	nd
C15:0	4.63 ± 0.14	4.73 ± 0.02
C15:1	nd	nd
C16:0	9.4 ± 0.47	9.73 ± 0.02
C16:1n7	1.91 ± 0.14	2.00 ± 0.00
C17:0	4.46 ± 0.11	4.36 ± 0.01
C17:1	2.25 ± 0.02	2.23 ± 0.00
C18:0	1.23 ± 0.19	1.11 ± 0.01
C18:1n9	3.63 ± 0.01	2.96 ± 0.00
C18:2n6c	0.64 ± 0.14	0.77 ± 0.01
C18:2n6t	nd	nd
C18:3n6	nd	nd
C18:3n3	nd	nd
C20:0	nd	nd
C20:1n9	nd	nd
C20:2	nd	nd
C20:3n6	nd	nd
C20:4n6	nd	nd
C20:5n3	nd	nd
C22:0	nd	nd
C22:1n9	nd	nd
C22:2	nd	nd
C23:0	nd	nd
C24:0	nd	nd
C22:6n3	nd	nd
C24:1n9	nd	nd
sum	29.40	29.03
other	70.60	70.97
SFAs	20.97	21.07
MUFAs	7.79	7.19
PUFAs	0.64	0.77

ตารางภาคผนวกที่ 11 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)

กรดไขมัน	WN- POR 06-1	WN-POR-02-1
C10:0	nd	nd
C12:0	nd	nd
C13:0	nd	nd
C14:0	nd	1.03 ± 0.19
C14:1	nd	0.60 ± 0.09
C15:0	nd	0.86 ± 0.07
C15:1	nd	nd
C16:0	22.92 ± 0.59	12.11 ± 0.62
C16:1n7	nd	1.03 ± 0.19
C17:0	22.92 ± 0.59	5.60 ± 0.30
C17:1	nd	nd
C18:0	nd	4.04 ± 0.63
C18:1n9	nd	8.15 ± 0.22
C18:2n6c	nd	28.61 ± 0.17
C18:2n6t	nd	nd
C18:3n6	nd	20.29 ± 0.50
C18:3n3	nd	2.02 ± 0.32
C20:0	nd	nd
C20:1n9	nd	nd
C20:2	nd	nd
C20:3n6	nd	nd
C20:4n6	nd	nd
C20:5n3	nd	nd
C22:0	nd	nd
C22:1n9	nd	nd
C22:2	nd	nd
C23:0	nd	nd
C24:0	nd	nd
C22:6n3	nd	nd
C24:1n9	nd	nd
sum	45.83	84.33
other	54.17	15.67
SFAs	45.83	23.63
MUFAs	0	9.78
PUFAs	0	50.92

ตารางภาคผนวกที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง จังหวัดจันทบุรี (%TFA)

กรดไขมัน	CH 54-5
C10:0	nd
C12:0	nd
C13:0	nd
C14:0	1.34 ± 0.06
C14:1	nd
C15:0	2.09 ± 0.11
C15:1	nd
C16:0	16.61 ± 0.73
C16:1n7	7.84 ± 0.32
C17:0	3.42 ± 0.17
C17:1	1.85 ± 0.17
C18:0	1.41 ± 0.04
C18:1n9	3.2 ± 0.35
C18:2n6c	nd
C18:2n6t	nd
C18:3n6	nd
C18:3n3	nd
C20:0	nd
C20:1n9	nd
C20:2	nd
C20:3n6	nd
C20:4n6	nd
C20:5n3	nd
C22:0	nd
C22:1n9	nd
C22:2	nd
C23:0	nd
C24:0	nd
C22:6n3	0.85 ± 0.19
C24:1n9	nd
sum	38.61
other	61.39
SFAs	24.87
MUFAs	12.89
PUFAs	0.85

ตารางภาคผนวกที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคทีโนมัยสิทที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี (%TFA)

กรดไขมัน	A1-3	A3-3	A16-1
C10:0	nd	nd	nd
C12:0	nd	nd	nd
C13:0	nd	nd	nd
C14:0	1.06 ± 0.04	0.93 ± 0.01	0.72 ± 0.00
C14:1	nd	nd	
C15:0	2.47 ± 0.01	1.26 ± 0.02	0.82 ± 0.05
C15:1	nd	nd	nd
C16:0	12.52 ± 0.26	7.05 ± 0.25	14.55 ± 0.15
C16:1n7	6.30 ± 0.09	2.15 ± 0.01	7.01 ± 0.06
C17:0	2.76 ± 0.14	2.92 ± 0.32	2.15 ± 0.01
C17:1	0.85 ± 0.00	2.52 ± 0.06	1.36 ± 0.01
C18:0	3.99 ± 0.69	1.19 ± 0.30	0.86 ± 0.01
C18:1n9	1.19 ± 0.03	2.12 ± 0.06	1.93 ± 0.09
C18:2n6	nd	0.40 ± 0.01	nd
C18:3n6	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd
C20:0	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd
sum	31.13	20.54	29.39
other	68.87	79.46	70.61
SFAs	22.80	13.35	19.09
MUFAs	8.33	6.79	10.3
PUFAs	-	0.40	-

ตารางภาคผนวกที่ 14 องค์ประกอบกรดไขมันในแอคติโนมัยซีทไอโซเลต NS2-2, NS4-6 และ WN-POR-02-1

Fatty acid	NS 2-2	NS 4-6	WN-OR-02-1
C10:0	nd	nd	nd
C12:0	nd	0.34 ± 0.02	nd
C13:0	nd	nd	nd
C14:0	nd	1.05 ± 0.02	1.03 ± 0.19
C14:1	nd	nd	0.60 ± 0.09
C15:0	1.72 ± 0.48	0.83 ± 0.07	0.86 ± 0.07
C15:1	nd	nd	nd
C16:0	18.69 ± 0.13	19.39 ± 0.07	12.11 ± 0.62
C16:1n7	2.41 ± 0.49	0.94 ± 0.08	1.03 ± 0.19
C17:0	3.03 ± 0.20	3.13 ± 0.06	5.60 ± 0.30
C17:1	2.21 ± 0.20	2.15 ± 0.01	nd
C18:0	9.79 ± 0.76	5.80 ± 0.08	4.04 ± 0.63
C18:1n9	16.97 ± 0.62	15.30 ± 0.23	8.15 ± 0.22
C18:2n6	37.38 ± 0.27	36.26 ± 0.88	28.61 ± 0.17
C18:3n6	nd	nd	20.29 ± 0.50
C18:3n3	4.07 ± 0.09	2.75± 0.14	2.02 ± 0.32
C20:0	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd
sum	96.28	87.94	84.33
SFAs	33.24	30.54	15.67
MUFAs	21.59	18.39	23.63
PUFAs	41.45	39.01	9.78

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 22 ตัวอย่างจากดิน ป่าชายเลนจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และ จังหวัดชุมพร ในเดือนมีนาคม 2557

ตารางภาคผนวกที่ 15 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทคัดแยกจากดินชายฝั่งจังหวัดชลบุรีและจันทบุรี (%TFA)

fatty acid	CH 54-8	BP2-29B
C6:0	nd	nd
C12:0	0.14±0.01	nd
C13:0	nd	nd
C14:0	1.19±0.01	1.50±0.03
C14:1	nd	nd
C15:0	0.58±0.01	6.30±0.06
C15:1	nd	nd
C16:0	7.96±0.03	19.50±0.07
C16:1n7	0.39±0.00	0.80±0.06
C17:0	0.70±0.00	2.20±0.12
C17:1	0.98±0.01	0.40±0.03
C18:0	3.40±0.02	4.70±0.07
C18:1n9	1.72±0.01	1.81±0.14
C18:2n6	0.20±0.02	0.40±0.03
C18:3n6	0.14±0.00	nd
C18:3n3	nd	nd
C20:0	nd	nd
C20:1n9	nd	nd
C20:2	nd	nd
C20:3n6	nd	nd
C20:4n6	0.07±0.00	nd
C20:5n3	0.04±0.05	nd
C22:0	nd	nd
C22:1n9	nd	nd
C22:2	nd	nd
C23:0	nd	nd
C24:0	nd	nd
C22:6n3	nd	nd
C24:1n9	nd	nd
sum	**17.52**	**37.60**
other	**82.48**	**62.40**
SFAs	**13.98**	**34.19**
MUFAs	**3.09**	**3.01**
PUFAs	**0.46**	**0.40**

ตารางภาคผนวกที่ 16 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดชุมพร (%TFA)

fatty acid	CP-PH 2-2	
	intracellular	extracellular
C6:0	0.23±0.13	0.15±0.04
C12:0	0.34±0.03	0.68±0.01
C13:0	0.14±0.00	0.18±0.01
C14:0	1.12±0.02	2.26±0.01
C14:1	0.18±0.00	0.33±0.03
C15:0	2.27±0.05	2.95±0.00
C15:1	0.28±0.00	nd
C16:0	10.08±0.19	18.49±0.07
C16:1n7	0.87±0.01	0.48±0.02
C17:0	10.51±0.42	1.70±0.03
C17:1	1.31±0.04	0.48±0.02
C18:0	4.27±0.04	6.46±0.02
C18:1n9	1.88±0.02	0.62±0.02
C18:2n6	0.41±0.00	0.48±0.02
C18:3n6	0.76±0.04	0.18±0.01
C18:3n3	nd	nd
C20:0	nd	nd
C20:1n9	nd	nd
C20:2	nd	nd
C20:3n6	nd	nd
C20:4n6	nd	nd
C20:5n3	nd	nd
C22:0	nd	nd
C22:1n9	nd	nd
C22:2	nd	nd
C23:0	nd	nd
C24:0	nd	nd
C22:6n3	nd	nd
C24:1n9	nd	nd
sum	**34.66**	**35.43**
SFAs	**28.97**	**32.87**
MUFAs	**4.52**	**1.91**
PUFAs	**1.17**	**0.66**

ตารางภาคผนวกที่ 17 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซิทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดชุมพร (%TFA)

fatty acid	CP3-1	CP-PH 3-2	CP-PH 3-8	CP-PH3-9
C6:0	0.10±0.04	0.25±0.08	nd	nd
C12:0	0.09±0.01	0.30±0.02	0.41±0.01	0.42±0.03
C13:0	0.13±0.00	nd	nd	nd
C14:0	0.27±0.02	1.13±0.01	3.03±0.14	1.66±0.04
C14:1	0.07±0.01	0.20±0.01	nd	nd
C15:0	3.58±0.07	1.41±0.04	2.35±0.07	1.10±0.04
C15:1	0.25±0.02	nd	nd	nd
C16:0	2.59±0.04	10.53±0.09	22.09±0.47	15.75±0.46
C16:1n7	0.32±0.01	0.66±0.14	0.93±0.04	0.62±0.04
C17:0	10.54±0.10	7.52±0.04	4.03±0.18	6.12±0.17
C17:1	9.88±0.04	1.87±0.04	nd	2.82±0.11
C18:0	1.46±0.04	4.78±0.16	9.49±0.40	5.00±0.16
C18:1n9	0.76±0.07	1.94±0.21	6.65±0.33	3.69±0.11
C18:2n6	0.19±0.01	0.35±0.02	0.86±0.03	0.68±0.01
C18:3n6	1.04±0.01	0.64±0.03	nd	0.60±0.01
C18:3n3	nd	nd	nd	0.29±0.02
C20:0	nd	nd	0.52±0.05	0.42±0.20
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	0.22±0.02	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	0.97±0.09	1.29±0.02
C22:1n9	nd	nd	nd	0.25±0.02
C22:2	nd	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd	0.29±0.02
C24:0	nd	nd	0.60±0.06	0.81±0.02
C22:6n3	nd	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd	nd
sum	**31.27**	**31.58**	**31.90**	**41.96**
SFAs	**18.76**	**25.92**	**30.05**	**32.86**
MUFAs	**11.28**	**4.68**	**1.85**	**7.39**
PUFAs	**1.23**	**0.99**	**nd**	**1.70**

ตารางภาคผนวกที่ 18 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัดชุมพร (%TFA)

fatty acid	**CP-PH3-10**	CP-PH3-12
C6:0	**nd**	0.19±0.27
C12:0	**0.20±0.01**	0.23±0.05
C13:0	**nd**	nd
C14:0	**0.76±0.01**	1.05±0.01
C14:1	**nd**	nd
C15:0	**3.88±0.01**	0.55±0.03
C15:1	**0.44±0.02**	0.51±0.47
C16:0	**9.28±0.02**	12.69±0.03
C16:1n7	**0.44±0.02**	0.68±0.03
C17:0	**9.53±0.04**	6.01±0.03
C17:1	**3.61±0.02**	4.01±0.06
C18:0	**2.75±0.01**	4.50±0.02
C18:1n9	**0.39±0.02**	1.47±0.71
C18:2n6	**0.20±0.01**	0.36±0.02
C18:3n6	**0.25±0.01**	0.73±0.03
C18:3n3	**nd**	nd
C20:0	**0.30±0.02**	0.36±0.02
C20:1n9	**nd**	nd
C20:2	**nd**	nd
C20:3n6	**nd**	nd
C20:4n6	**nd**	nd
C20:5n3	**nd**	nd
C22:0	**0.81±0.01**	1.23±0.01
C22:1n9	**0.12±0.04**	nd
C22:2	**nd**	nd
C23:0	0.15±0.01	nd
C24:0	0.34±0.02	0.50±0.04
C22:6n3	nd	nd
C24:1n9	nd	nd
sum	**33.46**	**35.07**
SFAs	**28.00**	**27.30**
MUFAs	**5.01**	**6.67**
PUFAs	**0.44**	**1.09**

ตารางภาคผนวกที่ 19 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดิน ป่าชายเลน จังหวัดชุมพร (%TFA)

fatty acid	CP-PH3-13	CP-PH 3-16	CP 8-4B
C6:0	nd	nd	nd
C12:0	0.37±0.00		0.26±0.02
C13:0	0.11±0.00	nd	0.16±0.01
C14:0	1.36±0.00	1.22±0.03	3.48±0.41
C14:1	0.12±0.01	nd	nd
C15:0	1.20±0.01	0.64±0.05	5.88±0.68
C15:1	nd	nd	nd
C16:0	12.61±0.06	14.28±0.03	22.61±0.40
C16:1n7	0.44±0.01	0.58±0.02	1.73±0.19
C17:0	3.28±0.01	6.30±0.10	1.51±0.15
C17:1	0.98±0.00	2.97±0.04	0.91±0.10
C18:0	4.98±0.02	5.25±0.06	0.77±0.09
C18:1n9	3.74±0.01	0.93±0.04	0.25±0.04
C18:2n6	0.71±0.01	0.35±0.01	nd
C18:3n6	0.45±0.00	0.70±0.03	nd
C18:3n3	0.23±0.01	nd	nd
C20:0	0.41±0.00	0.47±0.02	nd
C20:1n9	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd
C20:4n6	0.07±0.00	nd	nd
C20:5n3	0.23±0.07	nd	nd
C22:0	1.01±0.01	1.28±0.05	nd
C22:1n9	0.16±0.00	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd
C23:0	0.23±0.01	nd	nd
C24:0	0.52±0.00	0.47±0.02	nd
C22:6n3	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd
sum	33.22	35.44	37.57
SFAs	26.09	29.90	34.68
MUFAs	5.44	4.49	2.89
PUFAs	1.70	1.05	nd

ตารางภาคผนวกที่ 20 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินชายฝั่งจังหวัดระยอง (%TFA)

fatty acid	RY2-20	RY2-22	RY2-24	RY2-25
C6:0	nd	0.07±0.001	0.29±0.02	0.15±0.04
C12:0	nd	0.12±0.03	0.22±0.01	0.19±0.02
C13:0	nd	nd	nd	nd
C14:0	1.46±0.02	0.40±0.18	0.69±0.01	0.46±0.07
C14:1	nd	0.13±0.01	0.29±0.02	0.25±0.02
C15:0	2.27±0.01	1.33±0.16	0.26±0.04	0.44±0.01
C15:1	nd	0.19±0.01	nd	nd
C16:0	14.69±0.13	4.34±0.19	5.52±0.04	4.70±0.33
C16:1n7	0.52±0.06	0.54±0.14	0.44±0.02	0.49±0.24
C17:0	12.01±0.18	5.67±0.97	1.75±0.01	2.77±0.07
C17:1	1.63±0.07	6.14±0.30	2.23±0.04	4.44±0.20
C18:0	6.70±0.04	4.22±0.16	2.49±0.03	2.39±0.35
C18:1n9	0.58±0.02	2.58±0.51	5.63±0.01	1.24±0.47
C18:2n6	0.41±0.06	0.25±0.07	0.59±0.24	0.29±0.04
C18:3n6	0.70±0.03	0.95±0.18	0.33±0.03	0.57±0.03
C18:3n3	nd	nd	nd	nd
C20:0	nd	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd	nd
sum	**40.97**	**26.91**	**20.73**	**18.36**
SFAs	**37.13**	**16.14**	**11.22**	**11.09**
MUFAs	**2.74**	**9.57**	**8.59**	**6.42**
PUFAs	**1.11**	**1.20**	**0.92**	**0.86**

ตารางภาคผนวกที่ 21 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินชายฝั่งจังหวัดระยอง (%TFA)

fatty acid	RY3-32	RY3-37	RY3-43	RY7-87
C6:0	0.14±0.06	0.39±0.15	0.14±0.05	0.21±0.02
C12:0	0.14±0.01	nd	0.12±0.02	0.23±0.01
C13:0	nd	nd	0.10±0.01	0.13±0.02
C14:0	0.33±0.04	0.35±0.02	0.43±0.02	1.08±0.18
C14:1	0.14±0.01	0.20±0.07	0.12±0.02	0.23±0.01
C15:0	0.31±0.07	0.43±0.02	1.49±0.19	2.05±0.27
C15:1	nd	nd	nd	nd
C16:0	3.60±0.28	3.73±0.34	3.47±0.12	9.76±0.29
C16:1n7	0.43±0.04	0.43±0.09	0.47±0.03	0.27±0.02
C17:0	0.95±0.05	1.01±0.09	10.07±0.04	7.33±0.92
C17:1	0.71±0.003	0.86±0.19	5.48±0.02	1.40±0.18
C18:0	3.95±0.35	3.77±0.29	4.16±0.11	6.79±0.01
C18:1n9	4.95±0.40	5.60±0.62	2.28±0.09	8.88±0.01
C18:2n6	0.33±0.04	0.27±0.08	0.15±0.03	0.45±0.09
C18:3n6	0.26±0.01	0.31±0.03	1.74±0.02	1.22±0.17
C18:3n3	nd	nd	nd	nd
C20:0	nd	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd	nd
sum	**16.24**	**17.34**	**30.22**	**40.00**
SFAs	**9.42**	**9.67**	**19.98**	**27.56**
MUFAs	**6.23**	**7.08**	**8.35**	**10.78**
PUFAs	**0.59**	**0.59**	**1.90**	**1.66**

ตารางภาคผนวกที่ 22 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินชายฝั่งจังหวัดระยอง (%TFA)

Fatty acid	RY8-80	RY8-83
C6:0	0.15±0.06	0.12±0.02
C12:0	0.13±0.01	0.16±0.02
C13:0	nd	nd
C14:0	0.64±0.18	0.69±0.02
C14:1	0.12±0.01	0.16±0.03
C15:0	2.96±0.07	2.83±0.09
C15:1	nd	nd
C16:0	8.30±0.79	9.48±0.11
C16:1n7	1.39±0.07	1.43±0.02
C17:0	1.43±0.06	1.17±0.01
C17:1	0.53±0.06	0.45±0.02
C18:0	2.70±0.02	1.42±0.04
C18:1n9	0.31±0.03	0.36±0.01
C18:2n6	0.22±0.04	0.09±0.03
C18:3n6	nd	nd
C18:3n3	nd	nd
C20:0	nd	nd
C20:1n9	nd	nd
C20:2	nd	nd
C20:3n6	nd	nd
C20:4n6	nd	nd
C20:5n3	nd	nd
C22:0	nd	nd
C22:1n9	nd	nd
C22:2	nd	nd
C23:0	nd	nd
C24:0	nd	nd
C22:6n3	nd	nd
C24:1n9	nd	nd
sum	**18.87**	**18.35**
SFAs	**16.31**	**15.86**
MUFAs	**2.35**	**2.40**
PUFAs	**0.22**	**0.09**

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทจำนวน 18 ตัวอย่างที่คัดแยกจากดินและฟองน้ำทะเล โดยเก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน 2558 บริเวณหมู่เกาะชุมพร จังหวัดชุมพร

ตารางภาคผนวกที่ 23 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดิน ป่าชายเลนหมู่เกาะ จ.ชุมพร

Fatty acid	CP 58-4-2	CP 58-4-21	CP58-4-26	CP58-1-2
C6:0	0.23±0.10	ND	0.29±0.41	0.22±0.17
C10:0	ND	ND	ND	ND
C11:0	nd	ND	ND	ND
C12:0	ND	0.06±0.08	ND	ND
C13:0	ND	ND	0.42±0.04	0.14±0.20
C14:0	0.38±0.09	0.63±0.01	1.26±0.02	0.24±0.01
C14:1	ND	ND	ND	ND
C15:0	0.64±0.57	0.54±0.18	1.06±0.39	0.56±0.10
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	4.26±0.49	8.35±0.08	8.37±0.09	2.84±0.03
C16:1n7	ND	0.73±0.14	0.28±0.02	0.37±0.03
C17:0	5.85±0.13	1.04±0.03	6.74±0.14	1.71±0.01
C17:1	1.85±0.10	0.24±0.34	0.74±0.08	0.74±0.01
C18:0	4.72±0.46	0.70±0.32	4.55±0.09	6.80±0.01
C18:1n9	1.81±0.04	0.52±0.52	3.52±3.59	8.11±1.28
C18:2n6 c	0.57±0.24	ND	0.55±0.36	0.52±0.01
C18:2n6 t	ND	ND	0.13±0.19	0.09±0.12
C18:3n6	ND	ND	4.94±5.74	0.58±0.01
C18:3n3	ND	ND	0.09±0.13	0.06±0.08
C20:0	ND	ND	ND	ND
C20:1n9	ND	ND	ND	ND
C20:2	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	0.15±0.21	0.07±0.10
C20:4n6	ND	ND	ND	ND
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	ND	ND	ND	ND
C22:1n9	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	ND	ND	ND	ND
C24:0	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND
C24:1n9	ND	ND	ND	ND
SUM	21.32	12.80	33.07	23.02
SFAs	16.09	11.31	22.68	12.49
MUFAs	3.66	1.49	4.54	9.21
PUFAs	1.57	0.00	5.86	1.32

ตารางภาคผนวกที่ 24 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดิน ป่าชายเลนหมู่เกาะ จ.ชุมพร

Fatty acid	CP 58-6-4	CP58 6-5	**CP 58-7-4**	**CP 58-7-11**
C6:0	0.23±0.00	ND	0.83±0.15	0.39±0.04
C10:0	ND	ND	ND	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	0.23±0.02	ND
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	1.28±0.05	0.63±0.02	1.85±0.26	0.18±0.03
C14:1	ND	ND	0.12±0.17	0.10±0.03
C15:0	1.55±0.00	2.13±0.06	2.41±1.19	0.61±0.05
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	9.32±0.93	7.56±0.12	16.42±1.11	2.19±0.05
C16:1n7	0.35±0.05	1.48±0.09	0.19±0.03	0.25±0.00
C17:0	5.38±0.60	1.20±0.04	2.96±0.39	2.43±0.01
C17:1	1.62±0.22	1.35±0.03	0.65±0.11	5.66±0.01
C18:0	8.51±0.77	0.58±0.09	10.35±2.24	1.04±0.01
C18:1n9	1.12±0.16	0.38±0.00	5.19±5.28	0.70±0.01
C18:2n6 c	0.23±0.00	0.40±0.04	1.09±0.07	0.33±0.01
C18:2n6 t	ND	ND	0.68±0.51	0.20±0.00
C18:3n6	1.20±0.16	ND	0.46±0.08	0.33±0.01
C18:3n3	ND	ND	ND	ND
C20:0	ND	ND	ND	ND
C20:1n9	ND	ND	ND	ND
C20:2	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	ND	ND	0.16±0.23	ND
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	ND	ND	ND	ND
C22:1n9	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	ND	ND	ND	ND
C24:0	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND
C24:1n9	ND	ND	ND	ND
SUM	30.78	15.72	43.59	14.42
SFAs	26.26	12.10	35.04	6.85
MUFAs	3.09	3.21	6.15	6.71
PUFAs	1.43	0.40	2.40	0.86

ตารางภาคผนวกที่ 25 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดิน หมู่เกาะ จ.ชุมพร

Fatty acid	CP 58-8-6 b1	CP58 5-2
C6:0	0.07±0.01	ND
C10:0	ND	ND
C11:0	ND	ND
C12:0	0.03±0.05	ND
C13:0	ND	ND
C14:0	0.34±0.00	0.36±0.02
C14:1	ND	ND
C15:0	0.30±0.10	1.80±0.07
C15:1	ND	ND
C16:0	3.40±0.12	3.89±0.19
C16:1n7	0.23±0.00	0.41±0.02
C17:0	1.38±0.00	0.61±0.00
C17:1	1.03±0.01	1.48±0.05
C18:0	3.99±0.10	0.84±0.08
C18:1n9	3.40±0.02	0.66±0.07
C18:2n6 c	0.50±0.01	ND
C18:2n6 t	ND	ND
C18:3n6	0.63±0.03	ND
C18:3n3	ND	ND
C20:0	ND	ND
C20:1n9	ND	ND
C20:2	ND	ND
C20:3n6	ND	ND
C20:4n6	ND	ND
C20:5n3	ND	ND
C22:0	ND	ND
C22:1n9	ND	ND
C22:2	ND	ND
C23:0	ND	ND
C24:0	ND	ND
C22:6n3	ND	ND
C24:1n9	ND	ND
SUM	15.32	10.06
SFAs	9.53	7.51
MUFAs	4.66	2.55
PUFAs	1.13	ND

ตารางภาคผนวกที่ 26 ชนิดและปริมาณกรดไขมันจากแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากฟองน้ำทะเล หมู่เกาะ จ.ชุมพร

Fatty acid	KA-01-1	KA-01-2	LK-05-1	TN-01-2
C6:0	0.17±0.24	ND	0.04±0.06	0.23±0.33
C10:0	ND	ND	ND	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	0.57±0.81	ND	ND
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.70±0.09	1.78±0.11	0.86±0.02	0.59±0.02
C14:1	ND	ND	0.14±0.20	ND
C15:0	0.59±0.24	0.26±0.14	0.18±0.03	0.42±0.11
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	7.80±0.22	18.88±0.66	19.49±0.04	6.48±0.49
C16:1n7	0.19±0.03	3.00±0.13	4.30±0.00	0.42±0.11
C17:0	1.42±0.09	0.34±0.02	1.33±0.02	1.45±0.08
C17:1	1.28±0.13	0.18±0.25	0.58±0.02	0.12±0.16
C18:0	6.28±0.12	6.80±0.25	0.50±0.02	2.68±0.19
C18:1n9	3.14±0.24	27.55±1.27	10.20±0.14	2.93±0.60
C18:2n6 c	0.38±0.06	4.05±0.14	24.21±0.05	1.02±0.13
C18:2n6 t	ND	0.51±0.03	0.14±0.03	0.15±0.21
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	ND	ND	2.71±0.01	0.10±0.14
C20:0	0.21±0.30	ND	ND	ND
C20:1n9	ND	ND	ND	ND
C20:2	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	0.10±0.14	ND
C20:4n6	ND	ND	ND	ND
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	0.27±0.37	0.84±1.19	0.32±0.46	ND
C22:1n9	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	ND	ND	ND	ND
C24:0	ND	0.31±0.44	0.45±0.63	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND
C24:1n9	ND	ND	ND	ND
SUM	**22.43**	**65.07**	**68.90**	**16.59**
SFAs	17.44	29.78	23.18	11.85
MUFAs	4.61	30.73	15.22	3.47
PUFAs	0.38	4.56	27.16	1.27

ตารางภาคผนวกที่ 27 ชนิดและปริมาณกรดไขมันจากแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากฟองน้ำทะเล หมู่เกาะ จ.ชุมพร

Fatty acid	SK-08-1	SK-08-2	SK-08-3	SK-08-5
C6:0	0.48±0.38	0.25±0.06	0.13±0.19	0.06±0.08
C10:0	nd	nd	nd	nd
C11:0	nd	nd	nd	nd
C12:0	nd	0.13±0.18	nd	nd
C13:0	nd	nd	nd	nd
C14:0	0.40±0.03	0.60±0.03	0.20±0.28	0.44±0.15
C14:1	nd	nd	nd	nd
C15:0	1.23±0.39	0.50±0.12	1.00±0.44	1.89±0.10
C15:1	nd	nd	nd	nd
C16:0	2.86±0.16	5.98±0.07	3.40±0.56	4.15±0.80
C16:1n7	0.52±0.02	1.23±0.02	0.40±0.01	0.47±0.03
C17:0	0.35±0.04	7.48±0.00	6.67±1.31	11.52±0.56
C17:1	1.44±0.09	1.83±0.02	4.69±0.73	6.07±0.13
C18:0	1.82±0.28	4.85±0.12	2.80±0.48	4.47±0.78
C18:1n9	2.58±0.11	0.63±0.07	3.41±0.01	4.15±1.25
C18:2n6 c+t	0.40±0.03	0.05±0.07	nd	2.19±0.20
C18:3n6	nd	0.38±0.02	1.34±0.04	0.87±1.23
C18:3n3	nd	nd	nd	0.12±0.01
C20:0	nd	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:2	nd	nd	nd	nd
C20:3n6	nd	nd	nd	0.11±0.16
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd	nd
C22:1n9	nd	nd	nd	nd
C22:2	nd	nd	nd	nd
C23:0	nd	nd	nd	nd
C24:0	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	nd
C24:1n9	nd	nd	nd	nd
sum	12.06	24.22	24.04	36.48
SFAs	7.13	19.79	14.20	22.51
MUFAs	4.53	3.99	8.50	10.69
PUFAs	0.40	0.43	1.34	3.28

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางณิษา สิรนนท์ธนา
(ภาษาอังกฤษ) Mrs.NISA SIRANONTHANA
ชื่อเดิม นางปิยะวรรณ ศรีวิลาศ (Mrs. Piyawan Srivilas)
2. บัตรประจำตัวประชาชน 320 060 0438 689
3. ตำแหน่งปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ
4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131 โทร. 038 391671-3 โทรสาร 038 391674 E-mail:**nisas**@.buu.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
ปริญญาตรี (วท.บ. เคมี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน พ.ศ. 2528
ปริญญาโท (วท.ม. วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยบูรพา พ.ศ. 2545
6. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) สาขาวิชาเคมีวิเคราะห์

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่

จันทร์จรัส วัฒนะโชติ และ**ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ.** 2542. สารเคมีปราบศัตรูพืชและสัตว์กลุ่มออร์กาโนคลอรีนตกค้างในแม่น้ำระยองและแม่น้ำประแส การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 25 วันที่ 20-22 ตุลาคม 2542 โรงแรมอมรินทร์ลากูน พิษณุโลก

จันทร์จรัส วัฒนะโชติ และ**ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ**. 2542. สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในหอยทะเลที่มีคุณค่าทาง เศรษฐกิจบางชนิดบริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก งานสัปดาห์วิจัย มหาวิทยาลัย บูรพา

จารุนันท์ ประทุมยศ, **ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ** และ ธิดารัตน์ น้อยรักษา. **Fatty acids composition ofphytoplankton 10 strains: 3 Divisions.** The eleventh international symposium on nutration& Feeding in fish, 2-7 May 2004, Phuket Arcadia Hotel Phuket Island. Thailand

ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ และ จันทร์จรัส วัฒนะโชติ. 2540. ปริมาณสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในสัตว์ทะเล จังหวัดชลบุรี การประชุมวิชาการและเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 23 20-22 ตุลาคม 2540 โรงแรมโลตัส ปางสวนแก้ว เชียงใหม่

ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ และ จันทร์จรัส วัฒนะโชติ. สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในสัตว์ทะเลบริเวณชายฝั่งจังหวัดชลบุรี รวมผลงานวิจัยของมหาวิทยาลัยบูรพา พ.ศ. 2533-2442 กองบริการศึกษา มหาวิทยาลัยบูรพา

จารุนันท์ ประทุมยศ, ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ, และธิดารัตน์ น้อยรักษา. **Fatty acids composition of Rotifer *(Brachionusplicatilis*) fed on phytoplankton 10 strains.** The eleventh international symposium on nutration& Feeding in fish, 2-7 May 2004, Phuket Arcadia Hotel Phuket Island. Thailand

ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ และกานดา ใจดี. 2548. สารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในดินตะกอนบริเวณปากแม่น้ำบางประกงถึงศรีราชา วารสารการประมง 58(1) เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ หน้า 66-70

จารุนันท์ ประทุมยศ **ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ.** 2549. ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาว(*Amphiprionocellaris*)วารสารการประมงปีที่ 59 ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์.

Janjarus Watanachote, **Piyawan Srivilas** and Thidarat Noiraksar. 2000. Lectin from Marine MacroalgaeCollected from the Eastern Coast of the Gulf of Thailand. The 12th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology 1-3 November 2000. Felix Hotel, Kanchanaburi Thailand.

Srivilas, **P**. and Jaidee, K. 2006. Organochlorine Pesticides in sediment from the East Coast of Thailand. Burapha Sci. J.11 :26-39.

Piyawan Srivilas, Rawiwan Watanadilok and Kanpitcha Jaidee. Fatty acid Compositions in Thai Marine Sponges (Order Hadromerida).การประชุมวิชาการ Workshop and seminar on chemistry biological activities andbiodiversity of marine organisms**.** 6-8 พฤศจิกายน 2550. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา.

Piyawan Srivilas, Chutiwan Dechsakulwatana and Kanpitcha Jaidee. Screening of Bacterial Associated with marine sponges for essential fatty acids. การประชุมวิชาการ จับกระแสการรักษาและยาใหม่ Natural sources &Active compound discovery 24-25 เมษายน 2551 โรงแรมเอเซีย กรุงเทพฯ.

Piyawan Srivilas, Chutiwan Dechsakulwatana and Kanpitcha Jaidee**.** Fatty acid compositions in bacteria associated with marine sponges from eastern coast of Thailand. การประชุมวิชาการ เพื่อการนำเสนอผลงานวิจัย ม.บูรพา 2551. 7 กรกฎาคม 2551 หอประชุมธำรงบัวศรีมหาวิทยาลัยบูรพา.

Piyawan Srivilas and Rawiwan Watanadilok. Fatty acid Compositions of Thai Marine Sponge *CalthriaReinwardti* from Four Different Locations.การประชุมวิชาการ The 8 thAsia-Pacific Marine Biotechnology Conference. 12-15 พฤศจิกายน 2551 ประเทศเกาหลี.

Piyawan Srivilas, Rawiwan Watanadilok and Kanpitcha Jaidee.2010. Fatty acid profiles of marine sponges from the Eastern of the Gulf of Thailand. การประชุมวิชาการ Ninth International Marine Biotechnology Conference. 8-12 ตุลาคม 2553 ประเทศจีน

Chutiwan Dechsakulwatana*, Preecha Phuwapraisirisarn, Worapot Sunthornsuk, Piyawan Srivilas, Sumaitt Putchakarn and Vichai Reutrakul **BIODIVERSITY, BIOPIGMENTS AND BIOACTIVE SUBSTANCE FROM SPONGE-ASSOCIATED**

BACTERIA.การประชุมวิชาการ The 13 th International Symposium on Marine Natural Products.17-22 ตุลาคม 2553 ภูเก็ต

Rawiwan Watanadilok, **Piyawan Srivilas**, Janjarus Watanachote and Sumaitt Putchakarn. Bioactive **substances and food supplements from marine sponge.** การประชุมวิชาการ The 13 th International Symposium on Marine Natural Products.17-22 ตุลาคม 2553 ภูเก็ต

Chutiwan Dechsakulwatana, Rawiwan Watanadilok, Preecha Phuwapraisirisarn, **Piyawan Srivilas**, Worapot Sunthornsuk, Janjarus Watanachote, Sumaitt Putchakarnand and Vichai Reutrakul. Biotechnological Potential of marine sponges and theirs associated bacteria from the eastern coast of Thailand. การประชุมวิชาการ The 13 th International Symposium on Marine Natural Products.17-22 ตุลาคม 2553 ภูเก็ต

Janjarus Wattanchote, Nisa Siranonthan, Rawiwan Watanadilok and Rattanaporn Srivibol. PUFAs in Marine Yeast Isolated from Coastal Water, Thailand. การประชุมวิชาการ International Conference on Microbial Taxonomy, Basic and Applied Microbiology. ๔-๖ October ๒๐๑๒. Kosa Hotel Khon Kaen, Thailand .

Janjarus Wattanchote, **Nisa Siranonthan**, Rawiwan Watanadilok and Rattanaporn Srivibol. PUFAs in Marine Yeast Isolated from Coastal Water, Thailand. **รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ** International Conference on Microbial Taxonomy, Basic and Applied Microbiology. ๔-๖ October ๒๐๑๒. Kosa Hotel Khon Kaen, Thailand. p.๓๕๐-๓๕๖

Pratoomyot, J., Srivilas, P. And Noiraksar, T. 2005. Fatty acid composition of 10 microalgal species. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 27 (6) Nov-Dec. 1179-1187

P Barnette, S Panutrakul, P Nanthanawat, N Khongeharoenporn, P Mokkongpai, **P Srivilas**,V Cholumpai,C Thanomsit and N Wiwekwin. Determination of PAHs, Mercury and Biomarker of Exposure in Feral Fishes and Cultivated Green Mussel (*Perna Viridis*) from the Industrial coast of Map Ta Phut, Gulf of Thailand. **การประชุมวิชาการ แบบบรรยายในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ** 7th International Conference on Marine Pollution and Ecotoxicology ๑๗-๒๑ JUNE๒๐๑๓. Hong Kong.

อมรรัตน์ กนกรุ่ง, **ณิษา สิรนนท์ธนา** และ จารุนันท์ ประทุมยศ. ผลของไนโตรเจนที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *(Isochrysis galbana)* ต่อองค์ประกอบทางเคมีของโคพีพอดและการเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูนดำแดง (*Amphiprion ephipium*) การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล

ภายใต้สภาวะการเปลี่ยนแปลงของโลก ฯ ๑๗-๑๙ ตุลาคม ๒๕๕๕ โรงแรมตะวันนา กรุงเทพฯ

จารุนันท์ ประทุมยศ, จตุพร บัณฑิต, **ณิษา สิรนนท์ธนา**, ทิฆัมพร นามกร, บัณฑิต ปลั่งดี. ผลของการทดแทนการใช้อาร์ทีเมียแรกฟักด้วยอาหารสำเร็จรูปขนาดเล็กต่อการรอดตายและการเจริญเติบโตของลูกปลาการ์ตูนอานม้า (*Amphiprion polymnus*) ที่อายุต่างกัน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภายใต้สภาวะการเปลี่ยนแปลงของโลก ฯ ๑๗-๑๙ ตุลาคม ๒๕๕๕ โรงแรมตะวันนา กรุงเทพฯ

อมรรัตน์ กนกรุ่ง, **ณิษา สิรนนท์ธนา.** องค์ประกอบทางเคมีของโรติเฟอร์ *Brachionus rotundiformis* ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก 3 ชนิดซึ่งมีอัตราส่วนแตกต่างกัน **การประชุมวิชาการ** The first Asian Marine Biology Symposium. ๑๓-๑๗ ธันวาคม ๒๕๕๕ โรงแรมเคปพันวา ภูเก็ต

Jarunan Pratoomyot, **Nisa Siranonthana**. The nutritive content of sea star: the preferable food items of Harlequin shrimp (*Hymenocera picta* Dana, 1852). การประชุมวิชาการ Pure and applied chemistry international conference 2013 (PACCON 2013) January ๒๓-๒๕, ๒๐๑๓ The Tide Resort Bangsaen Beach Thailand.

Nisa Siranonthana, Rawiwan Watanadilok and Somrat Taweedet. Fatty Acid Profiles and Antibacterial Activity of Thai Marine Sponge*, Dysidea sp.* "White". **การประชุมวิชาการ** Burapha University International Conference 2013 (BUU2013) **๔-๕** *July* ๒๐๑๓ โรงแรมจอมเทียนปาล์มบีช พัทยา ชลบุรี

Jarunan Pratoomyot and **Nisa Siranonthana.** Changes in the fatty acid composition of the wild harlequin shrimp, *Hymenocera picta Dana*, 1852 from eggs and newly hatched zoea through the juvenile stages: a cue for fatty acid requirements ***การ*ประชุมวิชาการ** Burapha University International Conference 2013 (BUU2013) **๔-๕** July ๒๐๑๓ โรงแรมจอมเทียนปาล์มบีช พัทยา ชลบุรี

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ~~นาย นาง~~ นางสาวจารุนันท์ ประทุมยศ
   (ภาษาอังกฤษ) ~~Mr, Mrs,~~ Miss Jarunan Pratoomyo
2. เลขที่บัตรประชาชน 3100900916170
3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์เล็กทรอนิกส์

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา บางแสน ชลบุรี 20131
โทรศัพท์ 0-3839-1671-3 โทรสาร 0-3839-1674
E-mail address: jarunan@bims.buu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

- ว.ทบ.(เทคโนโลยีการผลิตสัตว์) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง 2533
- M.Sc. (aquaculture) Asian Institute of Technology 2541
- Ph.D. (Fish nutrition) University of Stirling, Scotland, 2553

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- การเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเล

ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่

จารุนันท์ ประทุมยศ ธิดารัตน์ น้อยรักษา จิตรา ตีระเมธี และ ประพันธ์ สุวรรณเรือง. 2543. การอนุบาลกุ้งมดแดง (*Rhynchocinestes uritei*) เบื้องต้น. วารสารมหาวิทยาทักษิณ 3 (2) ก.ค – ธ.ค 22-27

จารุนันท์ ประทุมยศ ธิดารัตน์ น้อยรักษา จิตรา ตีระเมธี และ ประพันธ์ สุวรรณเรือง. 2544. การอนุบาลลูกกุ้งมดแดง (*Rhynchocinesstes uritei*) ด้วยโรติเฟอร์ (*Brachionus rotundiformis*) และแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 4 (1-2) ม.ค-ธ.ค 23-29

จิตรา ตีระเมธี พัฒนา ภูลเปี่ยม ธิดารัตน์ น้อยรักษา และ **จารุนันท์ ประทุมยศ.** 2544. ผลการอนุบาม้าน้ำวัยอ่อนสายพันธุ์ *Hippocampus kuda* ด้วยแพลงก์ตอนพืชแตกต่างกัน 3 ชนิด. วารสารการประมง 54 (5) ก.ย-ต.ค 395-399

จารุนันท์ ประทุมยศ และ ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ. 2549. ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*). วารสารการประมง 59(1) มกราคม-กุมภาพันธ์ 67-74

Muthuwan, V., Sawatpeera, S., kuandee, P., Supapanyapong, C., **Pratoomyot, J.,** Pinkaew, K. and Chaladkid, S. 2000. Intensive Culture of Seabass (*Lates calcalifer*) in a Recirculation System Integrated with Extensive Culture of Biofiltration Organisms. Proceedings of the 5th international Symposium, Marine Environmental Study on the East China Sea and Yellow Sea, Cheju National University, Korea. Nov. 89-110.

Pratoomyot, J., Srivilas, P. And Noiraksar, T. 2005. Fatty acid composition of 10 microalgal species. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 27 (6) Nov-Dec. 1179-1187

Pratoomyot, J., Bendiksen, E. Å., Bell, J. G. And Tocher, D. R. 2008. Comparison of effects of vegetable oils blended with southern hemisphere fish oil and decontaminated northern hemisphere fish oil on growth performance, composition and gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 280, 170-178.

Bell, J. G., Sprague, M., Bendiksen, E. Å, Dick, J. R., Strachan, F., **Pratoomyot, J.,** Berntssen, M. H. G. and Tocher, D. R. 2008. Using decontaminanted fish

oil or a vegetable/ fish oil blend to reduce organic contaminant concentrations in diets and flesh of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Organohalogen Compounds*, 70, 894-897.

Sprague, M., Bendiksen, E. Å, Dick, J. R., Strachan, F., **Pratoomyot, J.,** Berntssen, M. H. G. Tocher, D.R. and Bell. J. G. 2010. Effects of decontaminated fish oil or a fish and vegetable oil blend on persistent organic pollutant and fatty acid compositions in diet and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *British Journal of Nutrition,* 103, 1442-1451.

Pratoomyot, J., Bendiksen, E. Å., Bell, J. G. And Tocher, D. R. 2010. Effects of increasing replacement of dietary fishmeal with plant protein sources on growth performance and body lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 305, 124-132

Bell, J. G., **Pratoomyot, J.,** Strachan, F. Henderson, J. R., Fontanillas, R., hebard, A., Guy, D. R., Hunter, D. and Tocher, D. R. 2010. Influence of genotype/phenotype on effects of replacement of dietary fish oil with vegetable oils in Atlantic salmon (*Salmo salar*) families/strains selected on the basis of flesh adiposity: growth, flesh proximate and fatty acid compositions. *Aquaculture*, 306, 225-232

Pratoomyot, J., Bendiksen, E. Å., Bell, J. G. And Tocher, D. R. 2011. Effects of different blends of alternative protein sources as alternatives to dietary fishmeal on growth performance and body lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*. 316, 44-52.

Morais, S., **Pratoomyot, J.,** Torstensen, B., Taggart, J., Guy, D., Bell, J. G. and Tocher, D.R. 2011. Dietx genotype interactions in hepatic cholesterol and lipoprotein metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to rreplacement of dietary fish oil with vegetable oil. *British Journal of Nutrition.* Published on line 03 June 2011.

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ~~นาย นางสาว~~ นางจันทร์จรัส วัฒนะโชติ
   (ภาษาอังกฤษ) ~~Mr, M~~iss Mrs. Janjarus Watanachote
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-1005-02721-23-9
3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา บางแสน ชลบุรี 20131

โทรศัพท์ 0-3839-1671-3 โทรสาร 0-3839-1674
E-mail : janjarus@bims.buu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

Ph.D. (Marine Science) Kasetsart University, February, 2008. Thesis title is antibacterial Activity of Lectins from Hemolymph of Banana Prawn (*Penaeus merguiensis* De Man).

M.S. (Chemistry) Chiang Mai University, October 18, 1993. Thesis title is enzymatic synthesis of oligosaccharides in aqueous two-phase system.

B.Ed. (Science-Chemistry) Srinakharinwirot University, March 3,1990

Training:

- Purification of Lectin from Cyanobacteria and Microalgae from Algal Bloom in Bangpakong Estuarine Area: August, 1 – September, 29, 1999. At Department of Marine Biochemistry School of Fisheries Sciences, Kitasato University, Japan.
- A training workshop of the Ministry of Science and Technology (MOST) : International training workshop for marine biotechnology. September,8-24, 2008. At Institute of Oceanology Chinese Academy of Sciences, Qingdao, China.

6 . สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ ชีวเคมี, เทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล

การจดอนุสิทธิบัตร

ได้รับอนุสิทธิบัตร “กรรมวิธีการเตรียมเลคติน (lectin) จากปะการังอ่อน (*Sinularia erecta*) อนุสิทธิบัตรเลขที่ 5990 เมื่อวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2554

การนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์และ Proceeding

Panayong,J. and Tongkao, D. 1992. Enzymatic Synthesis of Oligosaccharides in Different Types of Aqueous Two-Phase Systems. In Proceeding of the 8th NRCT, NUS, DOST-JSPS Joint Seminar on Biotechnology, Bangkok, Thailand.

Tongkao, D. and **Panayong, J.** 1999. Oligosaccharide Synthesis by Transmannosidation in Aqueous Two-Phase Systems. In Proceeding of the 6th Federation of Asian and Oceanian Biochemists, Shanghai, China.

Panayong, J. and Tongkao, D. 1994. α-Mannosidase from Jack Beans and *Petriellidium* sp. AD-3S as a Catalyst in Oligosaccharide Synthesis. In

Proceeding of the 11th Federation of Asian and Oceanian Biochemists, Bangkok, Thailand.

Watanachote, J. and Tongkao, D. 1995. Prospects of Concanavalin A Binding to Oligosaccharide Synthesis. in Proceeding of the 7th Congress of the Federation of Asian and Oceanian Biochemis and Molecular Biologists, Sydney, Australia.

Srivilas, P. and **Watanachote, J.** 1997. Determination of Organochlorine Pesticide Residues in Marine Animals from Chon Buri Province. In Proceeding of the 23rd Congress on Science and Technology of Thailand, ChiangMai, Thailand.

Leethochavalit, S., Srivibool, R., **Watanachote, J.** and Mamat, P. 1997. A Collection of Pure Living Microorganism Cultures from the East Coast and the Upper Part of the Gulf of Thailand. Full research paper proposed to Burapha University. 72 p.

Srivilas, P. and **Watanachote, J.** 1998. Organochlorine Pesticide Residues in Some Economic Marine Molluses from the East Coast. Full research paper proposed to Burapha University. 49 p.

Watanachote, J. and Kamiya, H. 2000. Partial Purification of Lectin from Symbiotic Dinoflagellates in the Soft Coral *Sinularia lochmodes* by Affinty Chromatography. In Proceeding of the 26th Congress on Science and Technology of Thailand, Bangkok, Thailand.

Watanachote, J., Tunkijjanukij, S. and Dechsakulwatana, C. 2006. Biochemical properties of Lectin from Hemolymph of Banana Prawn (*Penaeus merguiensis*). In Proceeding of the 44th Kasetsart University Annual Conference, Bangkok, Thailand.

Watanachote, J., Dechsakulwatana, C. and Tunkijjanukij, S. 2008. Biological Properties of Lectins in Marine Sponge *Hytrios erecta.* The 8th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, November12-15, 2008, Bexco, Korea.

Watanachote, J., Dechsakulwatana, C. 2010. Agglutinating and Antibacterial Activities from Thai Marine Sponges *Callyspongia (Euplacella) jubini* and Its Associated Bacteria. The 9th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, October 12-15, 2010. Qingdao, China.

Watanachote, J., Leethochawalit, S., Torchaisuwan, P. and Yamsakun, P. 2010. Antibacterial Proteins and Lectin in the Hemolymph of Oyster *(Saccostrea forskali*) which Culture Along the East Coast of Chonburi Rayong and Chanthaburi Provinces. The 22nd Annual Meeting of the Thai Society for

Biotechnology : International Conference on Biotechnology for Healthy Living. October 20-22, 2010. Trang, Thailand.

Leethochawalit, S., **Watanachote, J.,** Rittirut, N. and Kaenjan, W. 2010. Contamination of Parasitic Protozoa*, Cryptosporidium* sp. in oyster along the east coast of Thailand. In Proceeding of the 22nd Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology : International Conference on Biotechnology for Healthy Living. October 20-22 , 2010. Trang, Thailand.

Watanadilok, R., Srivilas, P., **Watanachote, J.** and Putchakarn, S. 2010. Bioactive substances and food supplements from marine sponges. The 13th International Symposium on Marine Natural Products. October, 17-22, 2010. Phuket, Thailand.

งานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการ

Watanachote, J. and Noiraksa, T. (2001). Hemagglutinating Properties of Aqueous Extract from Phytoplakton *Oscillatoria* sp. Thaksin University J. 4: 64-70.

Watanachote, J., Noiraksa, T. and Tunkijjanukij, S. (2004) Characterization of Lectins from Marine Red Algae Genus *Gracilaria*. J.of Sci. Res. Chula. Univ. Section T: 324-331.

Watanachote, J., Ratanapo, S., Dechsakulwatana, C., Poompuang, S. and Tunkijjanukij, S. 2007. Partial purification of lectin from hemolymph of *Penaeus merguiensis* with antibacterial activity and bacterial clearance activity. *Journal of Science Technology and Humanities*. Journal of Science, Technology, and Humanities. 5: 3-16.

Watanachote, J., Tunkijjanukij, S. and Dechsakulwatana, C. 2008 Antibacterial proteins in the serum hemolymph and hemocyte lysate of the banana prawn *Penaeus merguiensis*. *Journal of Science Technology and Humanities*. *Journal of Science, Technology, and Humanities*. 6: 5-17.

Watanachote, J., Maywarin Chaichareon and Tunkijjanukij, S. 2008. Biological properties of lectins in marine sponges from Chonburi province. Thailand. *Journal of Science, Technology, and Humanities*. 6: 99-107.

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายสมรัฐ ทวีเดช

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr.Somrat Taweedet

2. รหัสบัตรประจำตัวประชาชน

1-3099-00380-26-1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน สัตวแพทย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์ อิเล็กทรอนิกส์
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ต. แสนสุข อ. เมืองชลบุรี จ. ชลบุรี 20131
โทรศัพท์: 0-3839-1671-3 โทรสาร: 0-3839-1674 e-mail address : somrat@buu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล ปี พ.ศ.2555

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
โรคสัตว์น้ำ

ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่

Kledmanee, K., Taweedet, S., Thaijongruk, P., Chanapiwat, P. and Kaeoket, K. 2013. Effect of L-cysteine on Chilled Carp (Cyprinus carpio) Semen Qualities. The Thai Journal of Veterinary Medicine, 43(1): 91-97.

Siranonthana, N., Watanadilok, R. and Taweedet, S. Fatty Acid Profiles and Antibacterial Activity of Thai Marine Sponge, *Dysidea* sp. “White”. Burapha University International Conference 2013. 4-5 July 2013. Jomtien Palm Beach Hotel&Resort, Pattaya, Chonburi, Thailand.

Nisa Siranonthana, Rawiwan Watanadilok, Somrat Taweedet. Antimicrobial activity of total lipids extracted from Thai Marine Sponge. 10th International Marine Biotechnology Conferences (IMBC2013) Brisbane from 11-15 November 2013 Australia.

Nisa Siranonthana, Rawiwan Watanadilok, Somrat Taweedet, Rattanaporn Srivibool. Antibacterial Activity Against Fish Pathogens and GC-FID Analysis of Lipid Extracts from *Streptomyces* sp. NS 4-6 Isolated from Mangrove Sediment. การประชุมวิชาการ Burapha University International Conference 2014 (BUU2014) 3-4 July 2014 โรงแรมดุสิตธานี พัทยา ชลบุรี

ภาคผนวก ข

การถ่ายทอดองค์ความรู้และการนำผลงานไปเผยแพร่

การถ่ายทอดองค์ความรู้และการนำผลงานไปเผยแพร่

ทางโครงการได้ถ่ายทอดองค์ความรู้แก่นิสิตนักศึกษาที่สนใจ และได้ใช้องค์ความรู้จากการศึกษา ครั้งนี้ในการทำปัญหาพิเศษ ได้ผลิตบัณฑิตและนักวิจัยรุ่นใหม่ และบุคลากรที่อยู่ในโครงการได้เป็นที่ปรึกษา และที่ปรึกษาร่วม ดังนี้

สาขาวิชา: เทคโนโลยีชีวภาพ; วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ) ปีการศึกษา 2555

52031241 นางสาวอัญชัญ ธนบุญรุ่งเรือง

52031254 นางสาวอมรรัตน์ อุตรไชย

เรื่อง การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ BS 6-2 ที่แยกได้จากน้ำทะเลในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

Study on fatty acid composition of the yeast BS 6-2, isolated from seawater, cultured in sugarcane bagasse mediums containing three different salinity levels.

อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. จารุนันท์ ประทุมยศ;

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: อาจารย์ ดร. กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และดร. จันทร์จรัส วัฒนะโชติ

จำนวน 142 หน้า

บทคัดย่อ

ยีสต์ BS 6-2 เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการแหล่งน้ำตาลความเข้มข้นสูงเพื่อการเจริญเติบโต ยีสต์ BS 6-2 เจริญเติบโตในระยะเวลาอันสั้นและสามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำ ในการศึกษาปัญหาพิเศษครั้งนี้ทำการเลี้ยงยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตกรดไขมันเป็นระยะเวลา 216 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่ายีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25 และ 30 พีพีที มีการเจริญสูงสุดในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 72 ชั่วโมง และมีจำนวนเซลล์เท่ากับ 2.45 x 108 และ 1.95 x 108 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที มีการเจริญสูงสุดในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 120 ชั่วโมง และมีจำนวนเซลล์เท่ากับ 2.20 x 108 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในการศึกษาการผลิตกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2 ในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 72 และ 120 ชั่วโมง ในทุกระดับความเค็ม พบว่ายีสต์ BS 6-2 ผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ที่เป็นกรดไขมันที่จำเป็นกลุ่มโอเมก้า 6 สูงสุด และยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่ำสุด นอกจากนี้ การเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงจาก 72 ชั่วโมง เป็น 120 ชั่วโมง กรดไขมันไม่อิ่มตัวเหล่านี้ไม่เพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารทั้ง 3 ระดับความเค็ม องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็มทั้ง 3 ระดับ ที่ระยะเวลาการเลี้ยงที่ 72 และ 120 ชั่วโมง เป็นไปในทางเดียวกัน คือ กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) มากกว่าร้อยละ 40 ของกรดไขมันทั้งหมด กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) มากกว่าร้อยละ 23 ของกรดไขมันทั้งหมด และพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) มากกว่าร้อยละ 15 ของกรดไขมันทั้งหมด โดยสรุปแล้ว ยีสต์ BS 6-2 มีการเจริญเติบโตที่ระดับความเค็มต่ำดีกว่าที่ระดับความเค็มสูง และมีปริมาณกรดไขมันที่ 72 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวที่ระดับความเค็มสูงจะมีมากกว่าที่ระดับความเค็มต่ำ

และนำผลงานเสนอในรูปแบบการตีพิมพ์ในที่ประชุมแบบต่อเนื่อง ที่การประชุม International Conference on Microbial Taxonomy, Basic and Applied Microbiology
เรื่อง PUFAs in Marine Yeast Isolated from Coastal Water, Thailand.
Kosa Hotel Khon Kaen, Thailand.๓๕๐-๓๕๖

PT-062

PUFAs in Marine Yeasts Isolated from Coastal Water, Thailand

Janjarus Watanachote, Nisa Siranonthana, Rawiwan Watanadilok and Rattanaporn Srivibool

Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131 THAILAND
Corresponding Author : Janjarus Watanachote
E-mail : janjarus@bims.buu.ac.th

Abstract

The fatty acid compositions in marine yeasts BS1-2 and BS 6-2 which isolated from coastal water in Bangsaen, Chonburi province were characterized. A number of saturated and unsaturated fatty acids were found: SFAs (26.73-33.56 % TFA), monounsaturated fatty acids: MUFAs (22.02-35.95 % TFA) and polyunsaturated fatty acids: PUFAs (29.82-31.42 %TFA). The predominant fatty acids were C16:0, C18:1n9, C18:2n6 and C18:3n3. However, the essential fatty acids; EPA, (20:5n3) and DHA (22:6n3) were not detected, but the two major series of PUFAs (n6 and n3); Linoleic Acid (LA; C18:2n6 and Alpha Linolenic Acid (ALA; C18:3n3) were detected in both strains. Molecular identification of the yeast strains by partially gene sequencing at D1/D2 region revealed that yeast BS1-2 was Pichia kudriavzevii and yeast BS 6-2 was closest to Pichia jadinii.

Keywords: fatty acids, marine yeast

นำเสนอผลงานวิชาการแบบ Poster ในการประชุมวิชาการ
The 10th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference
(APMBC 2014)
4-8 May 2014. Academia Sinica, Taipei, Taiwan.

PP107

FATTY ACID COMPOSITIONS OF PICHIA SP. ISOLATED FROM SEAWATER, CULTURED IN SUGARCANE BAGASSE MEDIA AT THREE DIFFERENT SALINITIES

Janjarus Watanachote[1], Nisa Siranonthana[1], Jarunan Pratoomyot[1], Krongchan Ratanapradit[2]

[1]Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand
[2]Department of Biotechnology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand
jpanayong@gmail.com

The marine yeast can grow rapidly in a short period of time, and, can produce essential polyunsaturated fatty acids (PUFAs) that have broad application in aquatic feeds. Sugarcane bagasse, a byproduct from sugarcane juice, represents a good source of carbon for growth. In the present study, Pichia sp. was cultured in sugarcane bagasse media adjusted to salinities of 25, 30 and 35 ppt. to investigate its growth and fatty acid composition over a culture period of 216 hours. The total lipid contents were extracted by the Folch method. Fatty acid compositions were analyzed by GC/FID. The results showed that Pichia sp. cultured in the medium containing 25 and 30 ppt. had the maximum growth at 72 hours when the number of cells in each culture was determined to be 2.45×10^8 and 1.95×10^8 cells/ml respectively. In addition, the fatty acid composition of each yeast culture was determined after 72 and 120 hours growth. The major fatty acid composition of yeast cultures in sugarcane bagasse media at three different salinity levels was similar, with over 40% being represented by oleic acid (C18:1n9), over 23% by palmitic acid (C16:0) and more than 15% being an PUFA, linoleic acid (C18:2n6). In summary, the sugarcane bagasse contains sufficient carbon source for growth of the Pichia sp., however, suitable conditions to obtain higher level of PUFAs need to be further investigations.

Keywords: fatty acid, marine yeast

นำเสนอผลงานวิชาการแบบ Poster ในการประชุมวิชาการ
Burapha University International Conference 2014 (BUU2014)
3-4July 2014 โรงแรมดุสิตธานี พัทยา ชลบุรี

Antibacterial Activity Against Fish Pathogens and GC-FID Analysis of Lipid Extracts from *Streptomyces* sp. NS 4-6 Isolated from Mangrove Sediment

Nisa Siranonthana, Rawiwan Watanadilok, Somrat Taweedet, Rattanaporn Srivibool

Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi, 20131,Thailand
Email: nisas@buu.ac.th

Abstract

The *Streptomyces* sp. NS4-6 was isolated from mangrove sediments collected from Nakhon Si Thammarat. The total lipids of intra- and extracellular fractions were extracted by the Folch method and were classified by solid phase extraction technique (SPE). Fatty acid compositions were analyzed by GC/FID. The lipid extracts were assessed antibacterial activity against three *Vibrio* species using disc diffusion and micro broth dilution techniques. The genus of *Vibrio* is an importance pathogenic bacteria that can infect in marine fish species due to high morbidity and mortality rate. The result showed that the extracellular extract exhibited antibacterial activity against *Vibrio parahaemolyticus, V. alginolyticus and V. vulnificus* with the MIC value of 128, 128 and 16 µg/ml respectively while the intracellular extract showed low activity against *V. vulnificus*. The extracellular lipid extract consisted of saturated fatty acids (SFAs; 51.89%), mono-unsaturated fatty acids (MUFAs; 16.85%) and polyunsaturated fatty acids (PUFAs; 1.72% of total fatty acids) whereas PUFAs (39.01%) were found in higher amounts than SFAs (30.54%) and MUFAs (18.39%TFA) in intracellular lipid extract.

Keywords: antibacterial activity, *Streptomyces* sp., fish pathogen, fatty acids

นำเสนอผลงานวิชาการแบบ Poster ในการประชุมวิชาการ
Burapha University International Conference 2015 (BUU2015)
9-10 July 2015 โรงแรมบางแสนเฮอรริเทต บางแสน ชลบุรี

ST-P-005

Effect of Salinity on the Growth and Fatty Acid Composition of the Marine Yeast *Pichia* sp. Cultured in Sugarcane Bagasse Media

Nisa Siranonthana, Janjarus Watanachote, Rattanaporn Srivibool,
Jarunan Pratoomyot*
Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

Abstract

Yeasts are used as live feeds in the culture of zooplankton which are then fed to the larvae of a broad range of aquatic animals. Gven the importance of yeasts in larviculture, it is imperative that the nutrient composition of each employed yeast is determined to ensure that the nutritional needs of the target aquaculture species are being met. In the present study, the growth and fatty acid composition of the marine yeast *Pichia* sp. cultured in sugarcane bagasse media (SM), adjusted to salinities of between 25-35 ppt, over a period of 192 h was determined. Salinity was found to influence the growth of the *Pichia* sp., with cultures grown in 25 ppt having a significantly ($p \leq 0.05$) higher cell density (cells ml-1) thanอthe cultures grown in salinities of 30 and 35 ppt. The growth of the *Pichia* sp. in the 25 and 30 ppt cultures peaked at 72 h,while those reared in 35 ppt peaked at 120 h post-inoculation. Determination of the fatty acid composition in sub-samples taken from each culture at peak growth found that the profiles were broadly similar and unaffected by salinity. There was, however, a significant difference ($p \leq 0.05$) in the production of palmitic acid, which was higher in the 35 ppt *Pichia* cultures than in those of lower salinity. The essential fatty acid linoleic acid was found in high concentrations whilst linolenic acid was detected in only trace amounts. The study concludes that while salinity does affect the growth of the marine yeast *Pichia* sp., the fatty acid profile remains largely unchanged across the salinity range 25 to 35 ppt. Further work, however, is required to optimize the culture conditions of this yeast if it is to be used as a live feed for zooplankton within commercial scale aquaculture enterprises.

Keywords: live feed; larviculture; monounsaturated fatty acids; polyunsaturated fatty acids; aquaculture

* Corresponding author. Tel.: +66-038-391-671; fax: +66-038-391-674.
E-mail address: jarunan@buu.ac.th.

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ในรายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ
Burapha University International Conference 2015 (BUU2015)

Siranonthana N., Watanachote, J., Srivibool, R., and Pratoomyot, J. 2015. Effect of Salinity on the Growth and Fatty Acid Composition of the Marine Yeast *Pichia* sp. Cultured in Sugarcane Bagasse Media. **In** Proceedings of the Burapha University International Conference 2015, 10-12 July 2015, Bangsaen, Chonburi, Thailand. p.712-718.

นำเสนอผลงานวิชาการแบบ Poster
ในการประชุม International Seminar and Workshop on Marine Natural Products.
15-17 กันยายน 2558
โรงแรมเทาทอง ชลบุรี

Nisa Siranonthana*, Jarunan Pratoomyot, Janjarus Watanachote and Rattanaporn Srivibool.2015. Fatty Acid Profiles of Marine Actinomycetes Isolated from Soils and Marine Sponges collected from the Coasts of Thailand. International Seminar and Workshop on Marine Natural Products.(15-17 กันยายน 2558) โรงแรมเทาทอง ชลบุรี

Phummiphat Phakdee, Nisa Siranonthana, Rawiwan Watanadilok and Somrat Taweedet. 2015. Bioactive potential of Actinomycetes against fish pathogens. International Seminar and Workshop on Marine Natural Products. (15-17 กันยายน 2558) โรงแรมเทาทองชลบุรี

Fatty Acid Profiles of Marine Actinomycetes Isolated from Soils and Marine Sponges collected from the Coasts of Thailand.

Nisa Siranonthana*, Jarunan Pratoomyot, Janjarus Watanachote and Rattanaporn Srivibool
Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi, 20131,Thailand.

Abstract

The essential fatty acid profiles of 20 actinomycete strains isolated from soil samples collected from the coast of Thailand at Chanthaburi, Chonburi and Nakhon Sri Thammarat, and 2strains isolated from two marine sponges collected from Nakhon Sri Thammarat, Thailand were determined. All the actinomycete samples were cultured in ISP-2 media for a period of 7-14 days, after which the fatty acid composition of each was determined by gas chromatography-flame ionization detection. The study found that the saturated fatty acid palmitic acid (C16:0) was the main component (approximately 22.92 %) in all but three of the actinomycete samples. The main component of the three exceptions, samples “NS 2-2”, “NS 4-6” and “WN-POR 02-1”, was the polyunsaturated fatty acid (PUFA) C18:2n-6. The highest levels of linoleic acid (C18:2n-6) and α-linolenic acid (C18:3n-3) were found in sample NS 2-2 (i.e. 37.38 ± 0.27% and 4.07 ± 0.09%, respectively), in sample NS 4-6 (i.e. 36.26 ± 0.88% and 2.75 ± 0.14%, respectively), and in sample WN-POR 02-1 (i.e. 28.61 ± 0.17% and 2.02 ± 0.32%, respectively). These two PUFAs are the precursors of long chain omega-6 and omega-3 families which are essential fatty acids for both aquatic and terrestrial species, as these cannot be synthesized de novo by certain species and thus these must be supplied within the diet. This study demonstrates that there is much that is unknown about the fatty acid profiles of the actinomycete communities in Thai marine waters and that they are worthy of further study including exploring the utility of different culture conditions to either improve or to select for certain fatty acids. The screening of further actinomycete species may also reveal unique fatty acid profiles or components and that may be of value to the pharmaceutical, medical or aqua feeds industries.

Keywords : Actinomycete, Fatty acid *Corresponding author. E-mail : nisas@buu.ac.th

Bioactive potential of Actinomycetes against fish pathogens.

Phummiphat Phakdee, Nisa Siranonthana, Rawiwan Watanadilok and Somrat Taweedet
Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi, 20131,Thailand.

Abstract

In the present study, The 18 isolates of Actinomycetes isolated from coastal soil at Nakornsri thamarat Province, Thailand were extracted with the ethyl acetate. These crude extracts were assessed antibacterial activity against three Vibrio species using disc diffusion and micro broth dilution techniques. Vibrio sp. is an importance pathogenic bacteria that can infect in marine fish species due to high morbidity and mortality rate. The result showed that the extracts of 5 isolate actinomycetes NS3-2, NS3-6, NS3-10, NS4-6 and NS 5-1 exhibited antibacterial activity against *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* and *V. vulnificus.* The ioslate NS3-10, NS-4-6 and NS 5-1 showed strong activities with inhibition zone in range of 15-22 mm) whereas the isolate NS3-2 and NS3-6 showed moderate activities. The crude extract of NS 5-4 and NS 4-14 showed moderate activities against *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* except the isolate NS 4-4 showed specific moderate activity against *V. vulnificus*. In summary, this study demonstrated the potential of actinomycetes as an antibiotic substance to manage common bacterial diseases in aquaculture. Base on these finding, suggesting the potential use of the naturally extracted compound as an alternative to antimicrobial chemicals for the treatment of vibriosis in fish and shrimp culture

Keywords : Actinomycete, Bioactive, fish pathogens
*Corresponding author. E-mail : somrat@buu.ac.th

ได้รับรางวัล Best Paper Award
ในการประชุมวิชาการ Burapha University International Conference 2015 (BUU2015)

Effect of Salinity on the Growth and Fatty Acid Composition of the Marine Yeast *Pichia* sp. Cultured in Sugarcane Bagasse Media

Nisa Siranonthana, Janjarus Watanachote, Rattanaporn Srivibool,
Jarunan Pratoomyot*

Available online at www.buu.ac.th/BUUConference

Burapha University International Conference 2015

"Moving Forward to a Prosperous and Sustainable Community"

ST-P-005

Effect of Salinity on the Growth and Fatty Acid Composition of the Marine Yeast *Pichia* sp. Cultured in Sugarcane Bagasse Media

Nisa Siranonthana, Janjarus Watanachote, Rattanaporn Srivibool,

Jarunan Pratoomyot*

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

Abstract

Yeasts are used as live feeds in the culture of zooplankton which are then fed to the larvae of a broad range of aquatic animals. Given the importance of yeasts in larviculture, it is imperative that the nutrient composition of each employed yeast is determined to ensure that the nutritional needs of the target aquaculture species are being met. In the present study, the growth and fatty acid composition of the marine yeast *Pichia* sp. cultured in sugarcane bagasse media (SM), adjusted to salinities of between 25-35 ppt, over a period of 192 h was determined. Salinity was found to influence the growth of the *Pichia* sp., with cultures grown in 25 ppt having a significantly ($p \leq 0.05$) higher cell density (cells ml^{-1}) than the cultures grown in salinities of 30 and 35 ppt. The growth of the *Pichia* sp. in the 25 and 30 ppt cultures peaked at 72 h, while those reared in 35 ppt peaked at 120 h post-inoculation. Determination of the fatty acid composition in sub-samples taken from each culture at peak growth found that the profiles were broadly similar and unaffected by salinity. There was, however, a significant difference ($p \leq 0.05$) in the production of palmitic acid, which was higher in the 35 ppt *Pichia* cultures than in those of lower salinity. The essential fatty acid linoleic acid was found in high concentrations whilst linolenic acid was detected in only trace amounts. The study concludes that while salinity does affect the growth of the marine yeast *Pichia* sp., the fatty acid profile remains largely unchanged across the salinity range 25 to 35 ppt. Further work, however, is required to optimize the culture conditions of this yeast if it is to be used as a live feed for zooplankton within commercial scale aquaculture enterprises.

© 2015 Published by Burapha University.

Keywords: live feed; larviculture; monounsaturated fatty acids; polyunsaturated fatty acids; aquaculture

* Corresponding author. Tel.: +66-038-391-671; fax: +66-038-391-674.
E-mail address: jarunan@buu.ac.th.

1. Introduction

Yeasts are ubiquitous and commonly occur within marine and estuarine ecosystems (Kandasamy et al., 2012). They have broad spectrum application within, for example, the biomedical, chemical and food industries, in agriculture and, as biofuel (Kurtzman and Fell, 2000; Yanagida et al., 2002; Passoth and Schnürer, 2003; Nisiotou and Gibson, 2005; Hill et al., 2006; Bhadra et al., 2007; Nyanga et al., 2007; Lee et al., 2008; Liu et al., 2008; Matsushika et al., 2008; Rao et al., 2008; Chi et al., 2009; Barnett and Barnett, 2011). Yeasts also have an important application within aquaculture either as probiotics, or in the culture of rotifers which are used in the larval nutrition of many aquaculture species (Patterson and Burkholder, 2003; James et al., 2004; Czerucka et al., 2007). In larval nutrition, the essential fatty acids, i.e., those belonging to the n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid families and notably the n-3 highly unsaturated fatty acids, are considered vital nutrients for the development and growth of marine larvae (Sargent et al., 2002). If yeasts are to be used in the culture of zooplankton, which are subsequently given as a live feed to the larvae of many mariculture species, it is judicious to determine the nutrient content of each yeast species that is used to ascertain whether their nutritive content meets the requirements of the target aquaculture species. The proximate composition of yeasts, as might be expected, is variable across the relative taxa and can be affected by local environmental factors including their culture media (Gutierrez and Da Silva, 1993; Rodríguez et al., 2012; Wang et al., 2012; Watanachote et al., 2012) and by salinity (Hunter and Rose, 1971; Urano et al., 2001).

Sugarcane bagasse is the fibrous residual matter following the mechanical extraction of sucrose from sugar cane; the residue is typically rich in monosaccharides (Du Toit et al., 1984). Yeasts preferentially catabolize sugars, although they can utilize polyols, alcohols, organic acids and amino acids as carbon sources of energy (Spencer and Spencer, 1997). Sugarcane bagasse has also been used as fuel for the boilers operated within the sugar factories, as a raw material for the manufacture of pulp and paper products (Rowell and Keany, 1991; Sun et al., 2004) and, in animal feeds (Molina et al., 1983). Recent emphasis has also been placed on the use of this waste product to reduce environmental pollutants, e.g., as a low-cost adsorbent for the removal of industrial dye from aqueous solutions (Tahir et al., 2012), and as a selective solid phase extractor for the removal of trace amounts of Fe (II) (Soliman et al., 2011). Sugarcane bagasse, as a microbial medium, has been demonstrated elsewhere, e.g. fungi were observed to grow remarkably well on sugarcane bagasse media outcompeting cultures grown on standard media, i.e., potato dextrose agar, Sabouraud dextrose agar and, cornmeal agar (Sidana and Farooq, 2014).

Preliminary investigations by the current authors found that a marine yeast coded BS6-2 isolated from Bangsaen beach, where the annual salinity fluctuates between 23-33 ppt, and subsequently identified as a strain belonging to the genus *Pichia* Hansen, 1904 (Saccharomycetaceae), was able to grow rapidly in yeast malt media using seawater. A further study undertaken by Sungngaun and Yingprayul (2011) with isolate BS6-2 found that the best growth was obtained when it was grown in sugarcane bagasse media adjusted to 30 ppt using seawater and at a pH of between 5 and 6, when compared to other media, including those prepared with freshwater. The current study investigates the growth and fatty acid composition of the BS6-2 isolate of *Pichia* cultured in sugarcane bagasse media adjusted to salinities of 25, 30 and 35 ppt.

2. Materials and methods

2.1 Preparation of the sugarcane bagasse media (SM)

The culture media was prepared by mixing autoclaved sugarcane, *Saccharum officinarum* var. “Suphanburi 50”, bagasse cubes, that were obtained locally, with the relevant salinity (25-35 ppt) of artificial

seawater (Oestmann and Lewis, 1995) in a ratio of 1:10 (w/v); the initial pH was 5. The sugar content of the SM was 6 mg ml^{-1} as determined by quantification of the initial reduced sugar. The sugarcane bagasse preparations were soaked and pressed for 1 h before they were filtered; 125 ml of the filtrate was then transferred a glass flask and autoclaved at 121°C for 15 min.

2.2 Yeast culture and sample preparation

The isolate of *Pichia* was originally recovered from a sample of seawater collected at Bangsaen beach, Chonburi Province, Thailand (13° 16' 56.82" N, 100° 54' 54.42" E), and held within the yeast collection maintained at the Institute of Marine Science, Burapha University, Thailand under the accession code BS 6-2. For the current study, the yeast was cultured in yeast malt (YM) media and cell density of the stock culture, as determined by a spectrophotometer at 600 nm, was adjusted until an optical density (OD) of 0.2 was obtained. To investigate the growth of the *Pichia* sp. at three different salinities, i.e., 25, 30 and 35 ppt, a series of 42 replicate 250 ml flasks were prepared, i.e., 14 flasks per salinity. Each flask contained 125 ml autoclaved sugarcane bagasse media made to the relevant salinity (i.e., SM25, SM30 and SM35) and then, 1 ml of the *Pichia* sp. stock culture was added to each. Thereafter, the flasks were placed on a reciprocal shaker at 100 rpm at room temperature for up to 192 h. Six flasks (two per salinity group) were removed at 24 h intervals to monitor the growth of each culture and to determine the fatty acid composition. Growth was determined by removing a 1 ml sample of culture from each flask and by determining the density of cells. A further 60 ml sample was taken for fatty acid analysis. Following removal, the 60 ml sample was centrifuged at 5000×g rpm 10°C for 20 min. Thereafter the supernatant was discarded and the residual pellet was washed twice with 40 ml of 0.85% NaCl and then subjected to a second round of centrifugation under the same conditions. After decanting the supernatant, the pellet was allowed to dry at 60°C for 18 h.

2.3 Fatty acid analysis

Once dried, 0.1 g from the relevant *Pichia* sp. sample was ultra-sonicated in 20 ml ice-cold chloroform:methanol (2:1, v/v) containing 0.1 % butylated hydroxytoluene for 20 min before the liquid fraction was transferred to a separating funnel. The residual matter was then subjected to a second round of extraction after which the liquid portion was transferred to the separating funnel. To separate the non-lipid phase, 0.88% (w/w) KCl (approx. 25% of the total sample volume) was then added to the separating funnel, agitated to mix the contents, and then left until the solution separated into two layers. Total lipid was obtained by filtering the lower layer through anhydrous sodium sulfate before evaporating the collected fraction. Fatty acid methyl esters (FAME) were prepared from the total lipid by subjecting samples to acid-catalysed transesterification by adding 1% sulphuric acid and then incubating them at 50°C for 16 h (Christie, 2003). Gas-liquid chromatography (Agilent Technologies GC7820A, USA) was then used to determine the FAME, with individual FAMEs being identified by comparison to known standards (PUFA No. 3, menhaden oil, Supelco, USA). The FAMEs were split injected through a wall-coated capillary column (HP-Innowax column, 30 m × 0.25 mm id, 0.25 µm film thickness (Agilent J&W, USA) and detected via a flame ionization detector (FID). Helium gas was used as the carrier at a constant flow rate of 1.2 ml min^{-1}. The temperature program used was an initial 150°C for 0.5 min, increasing to 170°C at a rate of 5°C min^{-1}, hold at 170°C for 10 min, then increasing to 190°C at a rate of 3°C min^{-1}, and, then hold at 190°C for 28 min. Temperatures at the injection and detection ports were 230°C and 250°C respectively.

2.4 Statistical analysis

All data are presented as the mean ± S.D. Differences between samples were determined using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey HSD *post-hoc* tests using SPSS 17 for Windows. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$.

3. Results

Throughout the culture period, the pH of the SM media in all test flasks ranged from pH 5-6. The results revealed that the *Pichia* sp. cultured in SM25, i.e., the media containing the lowest salinity considered in the current trial, had a significantly ($p \leq 0.05$) greater number of cells ml^{-1} at each time point over the 192 h trial with cell numbers peaking at 72 h (Fig. 1). Cell numbers in the SM30 also peaked at 72 h while those in SM35 peaked at 120 h (Figure 1).

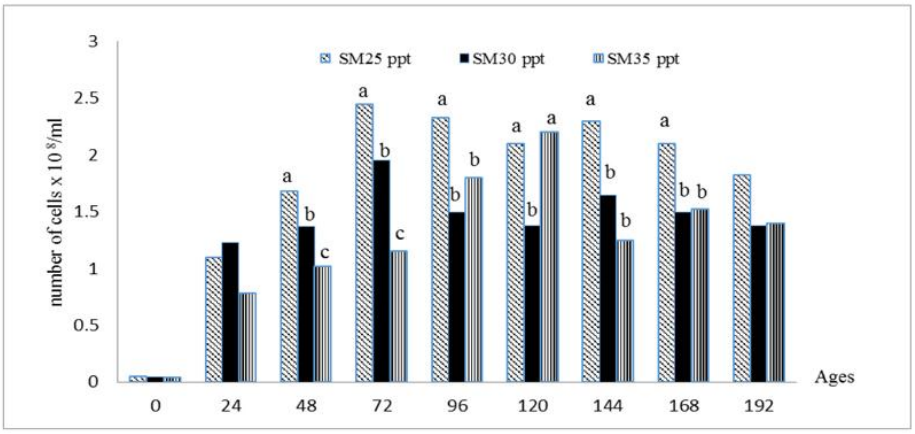


Fig. 1. Growth of the marine yeast *Pichia* sp. cultured in sugarcane bagasse media adjusted to salinities of 25 (SM25), 30 (SM30) and 35 (SM35) ppt.

Given that the density of cells ml^{-1} *versus* time are important considerations in the production of live feeds for aquaculture, only the fatty acid composition of the samples taken at 72 h (i.e., peak of growth in SM25 and SM30) and 120 h (*i.e.* peak growth in SM35) are presented here (Table 1). From the analysis of these, only palmitic acid (C16:0) was significantly affected ($p \leq 0.05$) by salinity where concentrations in SM35 were higher than those in SM25 and SM30. Although the concentration of saturated FA increased with rising salinity and at the same time the amount of monounsaturated fatty acids (MUFAs) decreased with increased salinity, the observed differences between the tests groups were not significant (see Table 1). The concentration of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), however, were consistent across the test samples. More generally, the FA compositions of all the cultures were similar: the MUFAs were dominant representing 47-52% of the total fatty acid fraction (TFA); saturated FAs made up 31-37%; and, the polyunsaturated FAs (PUFAs) contributed about 17%. Within the MUFAs, the predominant FA was oleic acid (C18:1n9) which represented 42-47 % of the TFA; the dominant SFA was palmitic acid (C16:0) at 25-28 % of the TFA, and, linoleic acid (C18:2n-6) was the main PUFA representing approximately 17% of the TFA. The PUFA, linolenic acid (C18:3n-3), however, was only found in trace amounts (Table 1).

Table 1. Fatty acid composition of *Pichia* sp., expressed as percentages, cultured in sugar cane bagasse media adjusted to salinities of 25, 30 or 35 ppt. salt. Yeast cultures were sampled at 72 h and 120 h when the growth of each test culture was at its peak.

Fatty acids composition	SM25 at 72 h	SM30 at 72 h	SM35 at 120 h
Myristic acid C14:0	0.71 ± 1.01 ^{ns}	1.05 ± 0.38 ^{ns}	0.59 ± 0.83 ^{ns}
Palmitic acid C16:0	24.25 ± 0.93^{a}	25.06 ± 0.82^{a}	28.24 ± 0.00^{b}
Stearic acid C18:0	5.48 ± 0.20 ^{ns}	4.67 ± 1.28 ^{ns}	8.24 ± 1.66 ^{ns}
Palmitoleic acid C16:1n7	2.90 ± 0.93 ^{ns}	3.94 ± 2.42 ^{ns}	3.53 ± 1.66 ^{ns}
Oleic acid C18:1n9	47.20 ± 6.35 ^{ns}	44.86 ± 7.51 ^{ns}	42.35 ± 1.66 ^{ns}
Gadoleic acid C20:1n9	1.45 ± 0.46 ^{ns}	2.44 ± 1.88 ^{ns}	0.59 ± 0.83 ^{ns}
Linoleic acid C18:2n6	17.65 ± 2.72 ^{ns}	17.60 ± 4.40 ^{ns}	16.47 ± 1.66 ^{ns}
Linolenic acid C18:3n3	tr	tr	tr
SFA	30.44 ± 1.74 ^{ns}	30.78 ± 1.72 ^{ns}	37.06 ± 2.50 ^{ns}
MUFA	51.91 ± 4.46 ^{ns}	51.61 ± 2.68 ^{ns}	46.47 ± 0.83 ^{ns}
PUFA	17.65 ± 2.72 ^{ns}	17.60 ± 4.40 ^{ns}	16.47 ± 1.66 ^{ns}

Data are the mean ± sd of three replicates. Different superscript letters in the same row highlight statistical differences at $p \leq 0.05$ between test groups. tr = less than 0.05%.

4. Discussion

The fatty acid composition of yeasts vary according to species and their source of nutrition and so alterations to local culture or environmental conditions will not only have an impact on growth but these changes may also effect modifications in their fatty acid composition (Gutierrez and Da Silva, 1993; Srivibool and Jaritkhuan, 2007; Chaung et al., 2012). A study conducted by Urano et al. (2001) working with halotolerant yeasts found that the number of yeast cells decreased with increasing salt concentration but increased with higher levels of total organic carbon. This is supported by the findings from the current study where the maximum cell density of the *Pichia* sp. cultured in either SM25 or SM30 peaked at 72 h, i.e., 48 h faster than that in SM35. Only the cell density of the SM25 culture, however, was significantly ($p \leq 0.05$) higher than that cultured in SM30 and SM35. When the fatty acid compositions of these cultures were compared, only the level of palmitic acid (C16:0) was significantly higher ($p \leq 0.05$); salinity had no other major effect on the FAs, which includes linoleic and linolenic acid, both of which are essential fatty acids for marine aquatic larvae. Essential fatty acids cannot be synthesised by marine aquatic animals and so these must be derived from their diet, e.g., the n-3 PUFAs - linolenic acid, eicosapentaenoic acid (C20:5n-3), docosahexaenoic acid (C22:6n-3), and the n-6 PUFAs - linoleic acid and arachidonic acid (C20:4n-6) (Sargent et al., 2002).

The current trial found that the *Pichia* sp. possessed high percentages of oleic, palmitic and linoleic acids and although linolenic acid was found in only trace amounts, the results suggest that it is possible to culture the marine yeast *Pichia* sp. in sugarcane bagasse as the yeast retains essential fatty acids in their cells. These three fatty acids were also found in *Saccharomyces cerevisiae* M-300-A and in *Saccharomyces uvarum* IZ-1904 cultured in sugarcane molasses (Gutierrez and Da Silva, 1993) and in torula yeasts cultured in vinasse, a by-product of the sugar industry (Rodríguez et al., 2012). The fatty acid profiles manifested by yeasts subjected to increasing salinity are species dependent and can result in either decrements or increments of a particular fatty acid. The salt-tolerant yeast *Debaryomyces hansenii* was reported to exhibit only minor changes in its fatty acid composition when grown at different salinities, while the salt intolerant yeast *S. cerevisiae* when placed under salt stress had markedly lower levels of linolenic acid with a concomitant increase in the production of linoleic acid (Adler and Lijenberg, 1981). Increasing the salt concentration in the

culture media inoculated with the bacterium *Planococcus halophilus* NRCC 14033, resulted in a gradual increase in the amount of saturated, straight chain C16:0 and C18:0 and in the production of the unsaturated FA C16:1n-9. At the same time, there was a decrease in the amount of saturated, branched chain ai-C15:0 and i-C16:0 and also in the unsaturated, straight chain C18:1 (Monteoliva-Sanchez and Ramos-Cormenzana 1987). In the present study, only the production of palmitic acid in the *Pichia* cultures were notably affected by an increased concentration of salt in the growth media. Lipids are an important structural component of cellular membranes and in yeasts, generally, the dominant fatty acids are C16:0 and C18:0 (Rattray et al., 1975). The increased production of C16:0 in the SM35 cultures, however, may be associated with changes to the physiochemical properties of the cell membranes, e.g., in fluidity and permeability, in response to increased levels of environmental salt (Hunter and Rose, 1971).

In conclusion, sugarcane bagasse can be used as a growth media for the culture of *Pichia* and may serve as an appropriate medium for other marine yeasts. The growth of *Pichia* sp. cultured in the sugar cane bagasse based media adjusted to 25 ppt salt (i.e., SM 25) peaked at 72 h. Growth was significantly different ($p \leq 0.05$) from cultures grown in higher levels of salt (i.e., 30 and 35 ppt) but the production levels of the essential fatty acids linoleic and linolenic acid were unchanged. The study concludes that the species of *Pichia* investigated here could be cultured in SM25 and then used as a live feed in the production of marine rotifers in the larval nutrition of many marine species. The mass culture of this marine yeast, however, requires further investigation and should be administered, as a feed, in conjunction with microalgae to meet all the necessary nutritional requirements of the target aquaculture species.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the source of funding provided through an award from the National Research Council of Thailand administered through Burapha University.

References

Adler, L., Liljenberg, C., 1981. Sterol Content, Fatty Acid Composition of Phospholipids, and Permeability of Labelled Ethylene Glycols in Relation to Salt Tolerance of Yeasts. Physiologia Plantarum 53, p 368-374.

Barnett, J.A., Barnett, L., 2011. Yeast Research: a Historical Overview. American Society for Microbiology Press, 392 pp.

Bhadra, B., Sreenivas Rao, R., Naveen Kumar, N., Chaturvedi, P., Sarkar, PK, Shivaji, S., 2007. *Pichia cecembensis* sp. nov. Isolated from a Papaya Fruit (*Carica papaya* L., Caricaceae). FEMS Yeast Research 7, p. 579–584.

Chaung, K.C., Chu, C.Y., Su, Y.M., Chen, Y.M., 2012. Effect of Culture Conditions on Growth, Lipid Content, and Fatty Acid Composition of *Aurantiochytrium mangrovei* strain BL10. AMB Express 2, p. 42-53.

Chi, Z.M., Chi, Z., Zhang, T., Yue, L., Li, J., Wang, X., 2009. Production, Characterization and Gene Cloning of the Extracellular Enzymes from the Marine-derived Yeasts and Their Potential Applications. Biotechnology Advances 27, p. 236–255.

Christie, W. W., 2003. Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural. Analysis of Lipids. The Oily Press, Bridgewater, UK, 416 pp.

Czerucka, D., Piche, T., Rampal, P., 2007. Review Article: Yeast as Probiotics – *Saccharomyces boulardii*. Alimentary Pharmacology Therapeutics 26, p. 767–778.

Du Toit, P.J., Olivier, S. P., Van Biljon, P. L., 1984. Sugar Cane Bagasse as a Possible Source Fermentable Carbohydrates. 1. Characterization of Bagasse with Regard to Monosaccharide, Hemicellulose, and Amino Acid Composition. Biotechnology and Bioengineering 26, p. 1071-1078.

Gutierrez, L. E., Da Silva, R. C. M., 1993. Fatty Acid Composition of Cane Molasses and Yeasts. Sciagric, Piracicaba 50, p. 473-477.

Hill, J., Nelson, E., Tilman, D., Polasky, S., Tiffany, D., 2006. Environmental, Economic, and Energetic Costs and Benefits of Biodiesel and Ethanol Biofuels. Proceedings of the National Academy of Science 103, p. 11206–11210.

Hunter, K., Rose, A. H., 1971. Yeast Lipids and Membranes. The Yeast 2, p. 211 - 270.

James, C. M., Dias, P., Salman, E., 2004. The Use of Marine Yeast (*Candida* sp.) and Bakers' Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in Combination with *Chlorella* sp. for Mass Culture of the Rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia 147, p. 263-268.

Kandasamy, K., Alikunhi, N.M., Subramanian, M., 2012. Yeasts in Marine and Estuarine Environments. Journal of Yeast and Fungal Research 3, p. 74-82.

Kurtzman, C.P., Fell, J.W., 2000. The Yeasts: A Taxonomic Study, 4th Revised and Enlarged Edition. Elsevier, Amsterdam, pp 1–525.

Lee, C.F., Liu, C.H., Young, S.S., Chang, K.S. 2008. *Kazachstania jiainicus* sp. nov., an Ascomycetous Yeast Species Isolated from Soil

in Taiwan. FEMS Yeast Research 8, p.114–118.
Liu, C.H., Young, S.S., Chang, T.C., Lee, C.F. 2008. *Candida dajiaensis* sp. nov., *Candida yuanshanicus* sp. nov., *Candida jianshihensis* sp. nov., and *Candida sanyiensis* sp. nov., Four Anamorphic, Ascomycetous Yeast Species Isolated from Soil in Taiwan. FEMS Yeast Research 8, p.815–822.
Matsushika, A., Watanabe, S., Kodaki, T., Makino, K., Sawayama, S., 2008. Bioethanol Production from Xylose by Recombinant *Saccharomyces cerevisiae E*xpressing Xylose Reductase, NADP(+)-Dependent Xylitol Dehydrogenase, and Xylulokinase. Journal of Bioscience and Bioengineering 105, p. 296–299.
Molina, E., Boza, J., Aguilera, J. F. 1983. Nutritive Value for Ruminants of Sugar Cane Bagasse Ensiled after Spray Treatment with Different Levels of NaOH. Animal Feed Science and Technology 9, p. 1-17.
Monteoliva-Sanchez, M., Ramos-Cormenzana, A., 1987. Cellular Fatty Acid Composition of *Planococcus halophilus* NRCC 14033 affected by Growth Temperature and Salt Concentration. Current Microbiology 15, p.133-136.
Nisiotou, A.A., Gibson, G.R., 2005. Isolation of Culturable Yeasts from Market Wines and Evaluation of the 5.8S-ITS rDNA Sequence Analysis for Identification Purposes. Letters in Applied Microbiology 41, p. 454–463.
Nyanga, L.K., Nout, M.J., Gadaga, T.H., Theelen, B., Boekhout, T., Zwietering, M.H., 2007. Yeasts and Lactic Acid Bacteria Microbiota from Masau (*Ziziphus mauritiana*) Fruits and Their Fermented Fruit Pulp in Zimbabwe. International Journal of Food Microbiology 120, p.159–166.
Oestmann, D.J., Lewis, D. H., 1995. A Method for Producing Microbe-free *Amyloodinium Ocellatum* (Brown) with Percoll. Veterinary Parasitology 59, p. 169-175.
Passoth, V., Schnürer, J. 2003. Non-Conventional Yeasts in Antifungal Application. in "*Functional Genetics of Industrial Yeast*" de Winde, J.H. Editor. Springer Verlag, Berlin, p. 297–319.
Patterson, J. A., Burkholder, K. M., 2003. Application of Prebiotics and Probiotics in Poultry Production. Poultry Science 82, p. 627–631.
Rattray, J. B. M., Schibeci, A., Kidby, D. K. 1975. Lipids of Yeasts. Bacteriological Reviews 39, p. 197-231.
Rao, R.S., Bhadra, B., Shivaji, S. 2008. Isolation and Characterization of Ethanol-Producing Yeasts from Fruits and Tree Barks. Applied Microbiology 47, p. 19–24.
Rodríguez, B., Iben, C., Valdivié, M., Martínez. M., 2012. Profile of Fatty Acids from Torula Yeast (*Candida utilis*) Grown on Distiller's vinasse. Technical note. Cuban Journal of Agricultural Science 46, p.199-201.
Rowell, R.M., Keany, F.M., 1991. Fiber Boards Made from Acetylated Bagasse Fibers. Wood and Fiber Science 23, p. 15-22.
Sargent, J. R., Tocher, D.R., Bell, J. G., 2002. The Lipids. in "*Fish Nutrition* 3rd" Halver, J.E., Hardy, R.W. Editors. Academic Press, San Diego, pp. 188-257.
Sidana, A., Farooq, U. 2014. Sugarcane Bagasse: A Potential Medium for Fungal Cultures. Chinese Journal of Biology, p. 1-5. doi.org/10.1155/2014/840505.
Soliman, E. M., Ahmed, S. A., Fadl, A. A. 2011. Reactivity of Sugar Cane Bagasse as a Natural Solid Phase Extractor for Selective Removal of Fe (III) and Heavy-metal Ions from Natural Water Samples. Arabian Journal of Chemistry 4, p. 63–70.
Spencer, J. F. T., Spencer. D.M., 1997. Yeasts in Natural and Artificial Habitats. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. 373 pp.
Srivibool, R., Jaritkhuan, S., 2007. "Marine yeast: a new alternative source for highly unsaturated fatty acids." 2nd International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. Khon Kaen, Thailand, p. 4-3.
Sun, X.F., Sun, R.C., Sun, J.X., 2004. Acetylating of Sugar Cane Bagasse Using NBS as a Catalyst under Mild Reaction Conditions for the Production of Oil Sorption-active Materials. Bioresource Technology 95, p. 343–350.
Sungngaun, I., Yingprayul, C., 2011. Study on Fatty Acid Composition of Yeasts (BS1-2 and BS 6-2) Isolated from Seawater in Various Culture Medium from Sugarcane Bagasse. B.Sc. Thesis, Faculty of Science, Burapha University, 83 pp.
Tahir, H., Sultan, M., Akhtar, N., Hameed, U., Abid, T. 2012. Application of Natural and Modified Sugar Cane Bagasse for the Removal of Dye from Aqueous Solution. Journal of Saudi Chemical Society. doi.org/10.1016/j.jscs.2012.09.007.
Urano, N., Yamazaki, M., Ueno, R., 2001. Distribution of Halotolerant and/or Fermentative Yeasts in Aquatic Environments. Journal of the Tokyo University of Fisheries 87, p. 23-29.
Wang, G.Y., Chi, Z., Song, B., Wang, Z.P., Chi, Z.M., 2012. High Level Lipid Production by a Novel Inulinase-Producing Yeast *Pichia guilliermondii* Pcla22. Bioresource Technology 124, p.77-82.
Watanachote, J., Siranonthana, N., Watanadilok, R., Srivibool, R., 2012. "PUFAs in marine yeast isolated from coastal water, Thailand". International Conference on Microbial Taxonomy, Basic and Applied Microbiology. Khon Kaen, Thailand. p. 350-356.
Yanagida, F., Kodama, K., Shinohara, T. 2002. Selection of Marine Yeast Stock for Making White Wine. Journal of the Brewing Society of Japan 97, p. 150–161.