

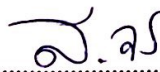
ความหลากหลายของทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้
ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2
(ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี

อุทุมพร อู่ยง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวาริชศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
มกราคม 2561
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

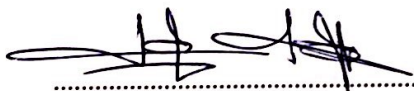
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ อุทุมพร อุ่ยขก ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

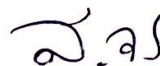
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

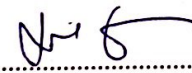

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมถวิล จิตคอร)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุคาร์ตัน สวนจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ไกรรักษ์)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมถวิล จิตคอร)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุคาร์ตัน สวนจิตร)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิรดี ปิณฑนภาคย์)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ของมหาวิทยาลัยบูรพา


..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ ศรีสุข)

วันที่ 12 เดือน มกราคม พ.ศ. 2561

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมถวิล จิตตควร อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุदारัตน์ สนวนจิตร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิรดี ปิณฑนภาคย์ กรรมการ และรองศาสตราจารย์ ดร. วิภูมิิต มัณฑะจิตร กรรมการ ที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ แนะนำอย่างละเอียด และแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ไกรรักษ์ ผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้กรุณามาเป็นประธานกรรมการสอบในครั้งนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณเผด็จ อ่อนใจเอื้อ ปฏิบัติหน้าที่หัวหน้าสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 ท่าสอง จังหวัดจันทบุรี (เจ้าพนักงานป่าไม้ชำนาญงาน) ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าไปเก็บตัวอย่างใบไม้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อนิคม คุณแม่เพียว คุณหาญณรงค์ ชูพล คุณธีร์ธวัช คำคงแก้ว ที่คอยให้การสนับสนุนและให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้า ขอขอบคุณ คุณวรารุณี วัณโรโก คุณวัชรินทร์ ขวัญสุข คุณฮาซามิ นาคุตะ คุณกนกสถิณี ศิริรักษ์ คุณนฤมล ฐปบุชา คุณทิวพร ทองประสม เจ้าหน้าที่ภาควิชาวาริชศาสตร์ทุกท่าน เพื่อน ๆ ทีมมหาวิทยาลัยบูรพา และพี่ ๆ ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำชลบุรี ที่ให้ความกรุณา คอยให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูคุณเวทิตาแต่นุพการี บุรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

อุทุมพร อู่ยก

55910370: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วาริชศาสตร์)

คำสำคัญ: ทรอสโทไคตริคส์/ ป่าชายเลน/ กรดไขมัน/ ดีเอชเอ

อุทุมพร อู่ยง: ความหลากหลายของทรอสโทไคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าซอน) จังหวัดจันทบุรี (DIVERSITY OF THRAUSTOCHYTRIDS AND APLANOCHYTRIDS FROM FALLEN MANGROVE LEAVES AT TARSON, CHANTHABURI PROVINCE) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สมถวิล จริตควร, Ph. D., สุภารัตน์ สวนจิตร, Ph. D. 81 หน้า. ปี พ.ศ. 2561.

ศึกษาความหลากหลายของทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าซอน) จังหวัดจันทบุรี ในเดือนตุลาคม 2559 (ฤดูฝน) และเดือนมีนาคม 2560 (ฤดูแล้ง) จากพันธุ์ไม้ป่าชายเลน 11 ชนิด พบทรอสโทไคตริคส์ (Thrautochytrids) ทั้งหมด 249 ไอโซเลท จำแนกได้ 3 ชนิดได้แก่

Aurantiochytrium mangrovei, *Aurantiochytrium limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. 1

โดย *A. limacinum* มีความถี่ของการพบ (Frequency of occurrence) สูงสุด โดยมีค่าอยู่ในช่วง 10-85 เปอร์เซ็นต์ และอะพลาโนไคตริคส์ (Aplanochytrids) 1 ชนิด คือ *Aplanochytrium* sp. จำนวน 107 ไอโซเลท มีความถี่ของการพบ 5-65 เปอร์เซ็นต์ โดยพบในเดือนมีนาคม 2560 (ฤดูแล้ง) มากกว่าเดือนตุลาคม 2559 (ฤดูฝน) เมื่อพิจารณาชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน พบว่าใบโกงกางใบเล็กมีความถี่ของการพบทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์สูงสุด เมื่อนำทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์มาเลี้ยงในอาหารเหลว กลูโคส : ยีสต์สกัด (6 :1) เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที่ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน พบว่ามีชีวมวลอยู่ในช่วง 8.12-21.37 กรัม/ลิตร ปริมาณกรดไขมันเออาร์เออยู่ในช่วง 0.18-0.51 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.04-0.12 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเออยู่ในช่วง 1.81-47.62 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.54-9.07 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และดีเอชเออยู่ในช่วง 6.81-193.49 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (2.04-38.35 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

55910370: MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS: THRAUSTOCHYTRIDS/ MANGROVE FOREST/ FATTY ACID/
DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA)

AUTUMPORN AUIYOK: DIVERSITY OF THRAUSTOCHYTRIDS AND
APLANOCHYTRIDS FROM FALLEN MANGROVE LEAVES AT TARSON, CHANTABURI
PROVINCE. ADVISORY COMMITTEE: SOMTAWIN JARITKHUAN, Ph.D., SUDARAT
SUANJIT, Ph.D. 81 P. 2018.

Diversity of thraustochytrids and aplanochytrids from fallen senescent leaves of 11 mangrove trees collected from Mangrove Resources Development Station 2 Tarson, Chantaburi Province in October 2016 (rainy season) and March 2017 (dry season) were investigated. A total of 249 isolates of thraustochytrids were found which classified into 3 species, namely *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium limacinum* and *Aurantiochytrium* sp. 1. The highest frequency of occurrence was found in *A. limacinum* (10-85 %). This study also found 107 isolates (1 species) of Aplanochytrids (*Aplanochytrium* sp.) expressed as 5-65 % of occurrence. The frequency of occurrence was higher in March 2017 (dry season) than that in October 2016 (rainy season). Consider with the species of mangrove trees, the highest percentage of occurrence of thraustochytrids and aplanochytrids found in leaves of *Rhizophora apiculata*. The culture of thraustochytrids and aplanochytrids in glucose : yeast extract (6 : 1) medium at 200 rpm, 25 °C for 4 days were carried out for biomass and fatty acid profiles. Their biomass were in a range of 8.12-21.37 g/L. Arachidonic acid (ARA) ranged from 0.18-0.51 mg/g dry wt. (0.04-0.12 % of total fatty acids), while docosapentaenoic acid (DPA) and docosahexaenoic acid (DHA) were in a range of 1.81-47.62 mg/g dry wt. (0.54-9.07 % of total fatty acids) and 6.81-193.49 mg/g dry wt. (2.04-38.35 % of total fatty acids), respectively.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฌ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
สมมติฐานของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
สถานที่ทำการทดลอง.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ทროสโทไคตริคส์ (Thraustochytrids) และอะพลาโนไคตริคส์ (Aplanochytrids).....	4
การแพร่กระจายและบทบาทของทროสโทไคตริคส์ (Thraustochytrids) และ อะพลาโนไคตริคส์ (Aplanochytrids).....	11
ทროสโทไคตริคส์ (Thraustochytrids) และอะพลาโนไคตริคส์ (Aplanochytrids) :... แหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง.....	11
ประโยชน์ของทროสโทไคตริคส์ (Thraustochytrids) และอะพลาโนไคตริคส์ (Aplanochytrids).....	12
กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated Fatty Acids).....	12
ป่าชายเลนท่าสอน อำเภอลำลูกเกด จังหวัดจันทบุรี.....	14
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	16
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัย.....	28
ชนิดพันธุ์ไม้ในป่าชายเลน.....	28
การจัดจำแนกทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์ตามลักษณะทาง สัณฐานวิทยา.....	30
จำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ ป่าชายเลน.....	37
ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ บริเวณป่าชายเลน.....	40
ชีวมวลของทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์.....	46
กรดไขมันในทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์.....	49
5 อภิปรายและสรุปผล.....	60
ความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์.....	60
ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ ป่าชายเลน.....	62
ชีวมวลและปริมาณกรดไขมันของทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์.....	63
สรุปผลการทดลอง.....	64
ข้อเสนอแนะ.....	65
บรรณานุกรม.....	66
ภาคผนวก.....	71
ภาคผนวก ก.....	72
ภาคผนวก ข.....	74
ภาคผนวก ค.....	76
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	81

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
4-1	ปัจจัยสภาพแวดล้อมบางประการบริเวณป่าชายเลนสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลน ที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในฤดูฝนและฤดูร้อนที่ทำการเก็บตัวอย่าง.....	28
4-2	พันธุ์ไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัด จันทบุรีในฤดูฝนเดือนตุลาคม 2559 และฤดูร้อนมีนาคม 2560.....	29
4-3	จำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่พบใน เดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560 ที่คัดแยกจากใบไม้บริเวณป่าชายเลน สถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี.....	39
4-4	จำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีใน เดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560.....	39
4-5	ความถี่ของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในเดือน ตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560.....	43
4-6	ชีวมวลของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในเดือน ตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560.....	49
4-7	ปริมาณกรดไขมันเฉลี่ยในทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจาก ใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัด จันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559.....	52
4-8	ปริมาณกรดไขมันเฉลี่ยในทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจาก ใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัด จันทบุรี ในเดือนมีนาคม 2560.....	53

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-9	58
4-10	59

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 เส้นใยเอกโตพลาสติกของ <i>Thraustochytrium</i>	4
2-2 วงจรชีวิตของ <i>Thraustochytrium</i> sp.	6
2-3 วงจรชีวิตของทรอสโทโคตริคัส.....	8
2-4 ภาพ <i>Aurantiochytrium limacinum</i> และ <i>Aurantiochytrium</i> sp.	10
2-5 โครงสร้างของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า 3 และ โอเมก้า 6.....	14
2-6 การแบ่งเขตของพรรณไม้ในป่าชายเลน.....	15
3-1 สถานที่เก็บตัวอย่างบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) ตำบลบ่อยาง จังหวัดจันทบุรี.....	22
3-2 พื้นที่ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี	23
4-1 ลักษณะโคโลนีของ <i>A. mangrovei</i> บนอาหารแข็ง GYP เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน.....	30
4-2 (ก – จ) ลักษณะเซลล์ <i>A. mangrovei</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน.....	31
4-3 ลักษณะโคโลนีของ <i>A. limacinum</i> บนอาหารแข็ง GYP เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน.....	32
4-4 (ก – ฉ) ลักษณะเซลล์ <i>A. limacinum</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน.....	33
4-5 ลักษณะโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp. 1 บนอาหารแข็ง GYP เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน.....	34
4-6 (ก – ง) ลักษณะเซลล์ <i>Aurantiochytrium</i> sp. 1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน.....	35
4-7 ลักษณะโคโลนีของ <i>Aplanochytrium</i> sp. บนอาหารแข็ง GYP เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน.....	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-8 (ก – ง) ลักษณะเซลล์ <i>Aplanochytrium</i> sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน	37
4-9 จำนวนไอโซเลทของทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560.....	40
4-10 ความถี่ของทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560.....	45
4-11 ซิวมวลของทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560.....	48
4-12 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอสเอ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง) ในทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์ที่พบในใบไม้ป่าชายเลนในเดือนตุลาคม 2559.....	54
4-13 กรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอสเอ (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์ที่พบในใบไม้ป่าชายเลนในเดือนตุลาคม 2559.....	55
4-14 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอสเอ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง) ในทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์ที่พบในใบไม้ป่าชายเลนในเดือนมีนาคม 2560.....	56
4-15 กรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอสเอ (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไคตริคส์และอะพลาโนไคตริคส์ที่พบในใบไม้ป่าชายเลนในเดือนมีนาคม 2560.....	57

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ภาคผนวก ค-1 โครมาโตแกรมของกรดไขมันมาตรฐาน (Standard Fatty Acid 37 Component FAME Mix).....	78
ภาคผนวก ค-2 โครมาโตแกรมกรดไขมันของ <i>Aplanochytrium</i> sp. BUCHAAcA 092 วิเคราะห์จากเครื่อง Gas Chromatography (GC 6890).....	78
ภาคผนวก ค-3 ผลโครมาโตแกรมกรดไขมันของ <i>Aplanochytrium</i> sp. BUCHAAcA 092 ในเดือนมีนาคม 2560 วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC 6890).....	79

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ป่าชายเลนเป็นระบบนิเวศที่มีคุณค่าและมีความสำคัญต่อมนุษย์ เมื่อใบไม้หล่นลงสู่พื้นดิน จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์เปลี่ยนเป็นอนินทรีย์สารต่าง ๆ ที่ผู้ผลิตเบื้องต้น เช่น แพลงก์ตอนพืชนำไปใช้ในการเจริญเติบโตไปเป็นอาหารชั้นปฐมภูมิในระบบนิเวศ ทำให้มีแพลงก์ตอนสัตว์และสัตว์ต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก และเป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำขนาดใหญ่ต่อไป (สนิท อักษรแก้ว, 2541) ทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์เป็นจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มหนึ่งที่มีประโยชน์และมีคุณค่าทางอาหาร พบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมทางทะเล เช่น บริเวณชายฝั่ง ปากแม่น้ำ และป่าชายเลน (Nakahara, 1996; Naganuma, 1998) ทรอสโทโคตริดส์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง โดยเฉพาะดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid, DHA) มีปริมาณสูงถึง 35 – 40 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (Naganuma, 2006; Yokochi, 1998; Barclay, 1994) ในขณะที่น้ำมันปลาดีเอชเอเพียง 7 – 14 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (Bajpai, Bajpai, & Ward, 1991) ประโยชน์ของดีเอชเอทางการแพทย์ใช้ในการบำบัดและรักษาโรค มีความสำคัญในการพัฒนาสมอง ความจำและการมองเห็น รวมทั้งการเรียนรู้ในทารก พบมากในบริเวณสมองและเรตินาของดวงตา โดยทารกจะได้รับดีเอชเอสูงจากน้ำนมมารดา (ศิริวรรณ เนติวรานนท์, 2546) อีกทั้ง ทรอสโทโคตริดส์สามารถนำมาเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงอาร์ทีเมีย เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอชเอในลูกปลา และลูกกุ้งอีกด้วย (Jaritkhuan, Jones, & Bremer, 1998)

การศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์ในป่าชายเลนของประเทศไทยยังมีไม่มากนัก เช่น กนกสิณี ยิ้มยวน (2550) ศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์ในป่าชายเลนที่จังหวัดเพชรบุรี พบทรอสโทโคตริดส์ 6 ชนิด ได้แก่ *Schizochytrium mangrovei*, *S. limacinum*, *Schizochytrium* sp. 1, *Schizochytrium* sp. 2, *Ulkenia visurgensis* และ *Thraustochytrid* 1 ส่วน จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) พบทรอสโทโคตริดส์ในป่าชายเลนที่บางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร จำนวน 4 ชนิด คือ *S. mangrovei*, *S. limacinum*, *Schizochytrium* sp. 2 และ *U. visurgensis* และพบทรอสโทโคตริดส์จากป่าชายเลนจังหวัดสมุทรสาครคือ *S. mangrovei*, *S. limacinum* และ *U. visurgensis* (คณิษฐา เอี่ยมละออ, 2553) และจังหวัดสมุทรปราการ พบ *S. mangrovei*, *S. limacinum* และ *Schizochytrium* sp. 8 (มยุรา ประยูรพันธ์, 2549)

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นคัดแยกทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์จากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานด้านความหลากหลายของทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ ความถี่ของการพบ และปริมาณกรดไขมันในทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์จากใบไม้ชนิดต่าง ๆ สำหรับนำไปใช้เป็นแหล่งกรดไขมันในเชิงพาณิชย์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดแยกทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์จากใบไม้ชนิดต่าง ๆ ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในฤดูแล้งและฤดูฝน
2. เพื่อศึกษาความถี่ของการพบทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์จากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในฤดูแล้งและฤดูฝน
3. เพื่อศึกษาปริมาณกรดไขมันจากทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์จากใบไม้ชนิดต่าง ๆ

สมมติฐานของการวิจัย

1. ฤดูกาลมีผลต่อชนิดและความถี่ของการพบทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์
2. ชนิดของใบไม้ป่าชายเลนมีผลต่อชนิดและความถี่ของการพบทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้เชื้อทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์จากใบไม้ป่าชายเลน
2. ทราบความถี่ของการพบทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์จากใบไม้และฤดูกาลที่แตกต่างกัน
3. ได้เชื้อทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ที่มีศักยภาพสูงในการเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง

ขอบเขตของการศึกษา

เก็บตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี มาคัดแยก และศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ โดยเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง คือฤดูฝนในเดือนตุลาคม 2559 และฤดูแล้งในเดือนมีนาคม 2560 โดยคัดแยกเชื้อพร้อมทั้งจัดจำแนกทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา และนำเชื้อที่คัดแยกได้มาวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทรอสโทไคทริดส์ (Thraustochytrids) และอะพลาโนไคทริดส์ (Aplanochytrids)

สามารถจัดลำดับทางอนุกรมวิธานของทรอสโทไคทริดส์ (Thraustochytrids) และอะพลาโนไคทริดส์ (Aplanochytrids) (Yokoyama & Honda, 2007) ได้ดังนี้

Superkingdom Eucaryota

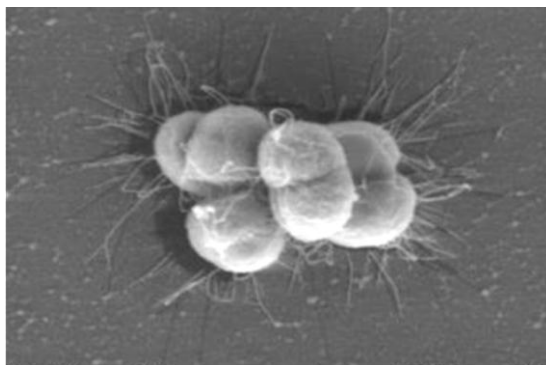
Kingdom Stramenopila

Phylum Labyrinthulomycota

Order Labyrinthulida

Family Thraustochytriidae

ทรอสโทไคทริดส์ (Thraustochytrids) และอะพลาโนไคทริดส์ (Aplanochytrids) เป็นจุลินทรีย์ทะเลที่พบแพร่หลายในสภาพแวดล้อมทางทะเล พบที่บริเวณ ปากแม่น้ำ บริเวณชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน (สมถวิล จริตควร, สุภารัตน์ สวนจิตร และเศรษฐวัชร น้าศาสตร์, 2552) มีลักษณะเป็นทรงกลมเดี่ยว ๆ (Monocentric) มีส่วนที่ยื่นยาวออกมายึดเกาะพื้นผิวลักษณะเป็นตาข่ายแตกแขนง เรียกว่า เส้นใยเอกโตพลาสซึม (Ectoplasmic net) (ภาพที่ 2-1) สร้างจากซาจิโนเจน (Sagenogen) ซึ่งไม่มีผนังเซลล์และออร์แกเนล (Organelle) (Moss, 1986) ทรอสโทไคทริดส์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual Reproduction) สปอร์แรงเจียม (Sporangium) พัฒนามาจากทาลัส ลักษณะทางสัณฐานวิทยา รูปร่าง ขนาดของเซลล์ การสร้าง การปล่อยซุโอสปอร์จากเซลล์แม่ และวงจรชีวิตสามารถนำมาใช้จัดจำแนกชนิดของทรอสโทไคทริดส์แต่ละสกุล (Bowles, 1997)



ภาพที่ 2-1 เส้นใยเอกโตพลาสซึมของ *Thraustochytrium* (Leander & Porter, 2002)

อะพลาโนไคทริคส์ (Aplanochytrids) พบทั้งหมด 8 ชนิด ก่อนข้างจำแนกได้ยาก ขึ้นอยู่กับลักษณะรูปร่างของอะพลาโนไคทริคส์ โดยมีลักษณะเฉพาะ เช่น การสร้างสปอร์ที่มีการคืบคลานไปตามแฟลกเจลเลท ตามพื้นของผิวอาหารและตามพื้นผิวต่าง ๆ ลักษณะทางโมเลกุลของอะพลาโนไคทริคส์ชนิดต่าง ๆ ลักษณะของดีเอ็นเอ (DNA) และลักษณะสัณฐานวิทยา (Leander, Porter, & Leander, 2004) ลักษณะที่จำแนกว่าเป็นอะพลาโนไคทริคส์นั้นประการแรกจะดูที่เส้นใยเอกโตพลาสติก โดยจะอยู่ภายในหรือครอบคลุมเซลล์ที่มันคืบคลานไป (Leander & Porter, 2000) หรือลักษณะของผนังเซลล์จะมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ (Honda, 1999) อะพลาโนไคทริคส์บางชนิดเป็นทรงกลม และมีแฟลกเจลลา 2 เส้น นอกจากนี้ยังมีอะพลาโนไคทริคส์รูปร่างรียาว ๆ มีการแบ่งเซลล์ออกเป็น 4 เซลล์ ปกติจะเคลื่อนที่ตลอดวงจรชีวิต (Life cycle) บางชนิดเป็นรูปร่างกลมคล้ายรูปไข่ จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อจะสร้างสปอร์แรงเจีย (Sporangia) และกลายเป็นเซลล์ที่พัฒนามากขึ้นเรื่อย ๆ (Leander et al., 2004)

วงจรชีวิต (Life cycle)

Shabala, Shabala, Ross, and Mcmeekin (2001) ศึกษาการเจริญของ *Thraustochytrium* sp. 5 ระยะ ดังภาพที่ 2-2 คือ

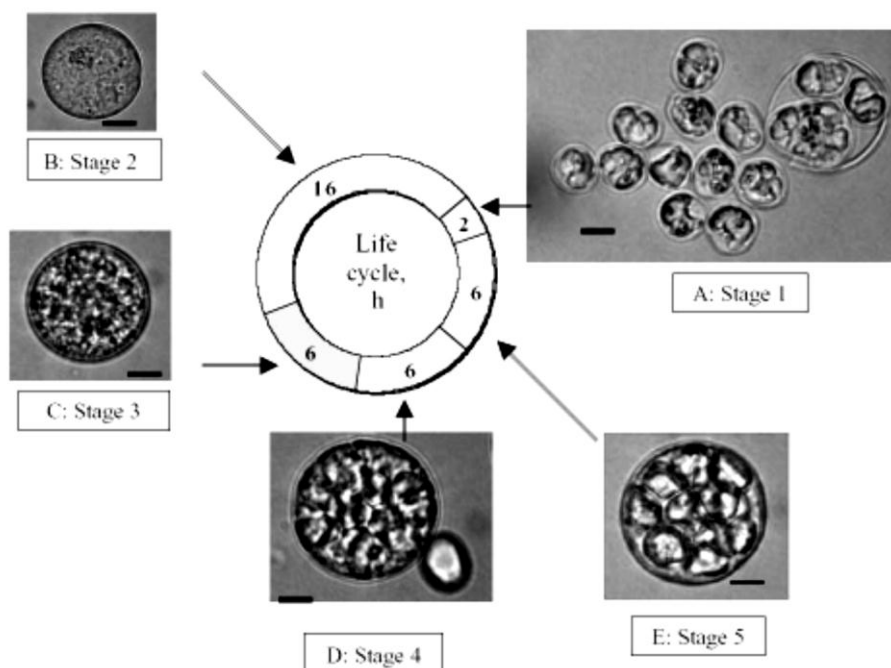
ระยะที่ 1 ซูโอสปอร์มีขนาดค่อนข้างเล็กโดยทั่วไปมีขนาดประมาณ 6-12 ไมโครเมตร

ระยะที่ 2 ซูโอสปอร์ไม่เคลื่อนไหว มีการสร้างซิสต์ (Cyst) และมีขนาดใหญ่ขึ้นจนเป็นสปอร์แรงเจียม

ระยะที่ 3 โครงสร้างของเม็ดไขมันภายในสปอร์แรงเจียมมีความชัดเจน มีการสร้างหยดไขมัน และมีการพัฒนาของผนังเซลล์

ระยะที่ 4 มีการเพิ่มจำนวนเม็ดไขมัน ทลัสมีการแผ่ขยายออกมากขึ้น มีการสร้างแคปซูลให้มีผนังหนาขึ้นบริเวณรอบ ๆ สปอร์แรงเจียม และเริ่มมองเห็นการแบ่งเซลล์ (Cleavage Lines) ได้อย่างชัดเจน

ระยะที่ 5 มีการแบ่ง Cleavage Lines เพื่อแยก Planonts ออกจากกัน ผนังเซลล์จะแตกออก และปล่อยซูลโอสปอร์ออกมาภายนอกสู่สิ่งแวดล้อม จากนั้นจะเข้าสู่ระยะที่ 1 ต่อไปตามลำดับ



ภาพที่ 2-2 วงจรชีวิตของ *Thraustochytrium* sp. (Shabala et al., 2001)

ทรอสโทโคตริคส์ที่ถูกตรวจพบและมีรายงานไว้มีทั้งหมด 7 สกุล ได้แก่ *Schizochytrium*, *Thraustochytrium*, *Japonochytrium*, *Ulkenia*, *Aplanochytrium*, *Althonia* และ *Labyrinthuloides* (Honda, 2001) (ภาพที่ 2-3) ดังนี้

1. *Schizochytrium* เซลล์ปกติมีรูปร่างกลม อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือหรือหลายเซลล์ เกาะกันเป็นกลุ่ม มีส่วนของเส้นใยเอกโตพลาสมิกยึดเกาะกับซับสเตรท (Raghumar, 1988) ชูโอสปอร์แรกเจียมมีการแบ่งครึ่งเซลล์แบบทวีคูณ (successive binary division) จำนวน 4-5 ครั้ง ซึ่งแต่ละเซลล์จะผลิตชูโอสปอร์ และชนิด *S. limacinum* พบว่าบางเซลล์มีลักษณะแบบอะมีบอยด์ เซลล์ (amoeboid cell) คือเซลล์มีรูปร่างยาวขึ้นและหดตัวเป็นทรงกลมก่อนแบ่งตัวสร้างชูโอสปอร์ (Honda, Yokochi, Nakahara, Erata, & Higashihara, 1998) ชูโอสปอร์มีรูปร่างรีหรือเกือบกลม มีแฟลกเจลลา 2 เส้นทางด้านข้าง การปล่อยชูโอสปอร์เกิดจากการหนีขาออก (Alderman, Harrison, & Jones, 1974)

2. *Thraustochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลมขนาดเล็ก ผนังเซลล์มีหลายชั้น ส่วนล่างมีส่วนของเส้นใยเอกโตพลาสมิกใช้ในการยึดติดกับซับสเตรทซึ่งไม่เกี่ยวกับการเคลื่อนที่ ภายในชูโอสปอร์แรกเจียมมีการสร้างผนังกัน เรียกว่า proliferous body ซึ่งถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ โดยที่แต่ละชนิดจะมีจำนวน proliferous body แตกต่างกัน (Alderman et al., 1974)

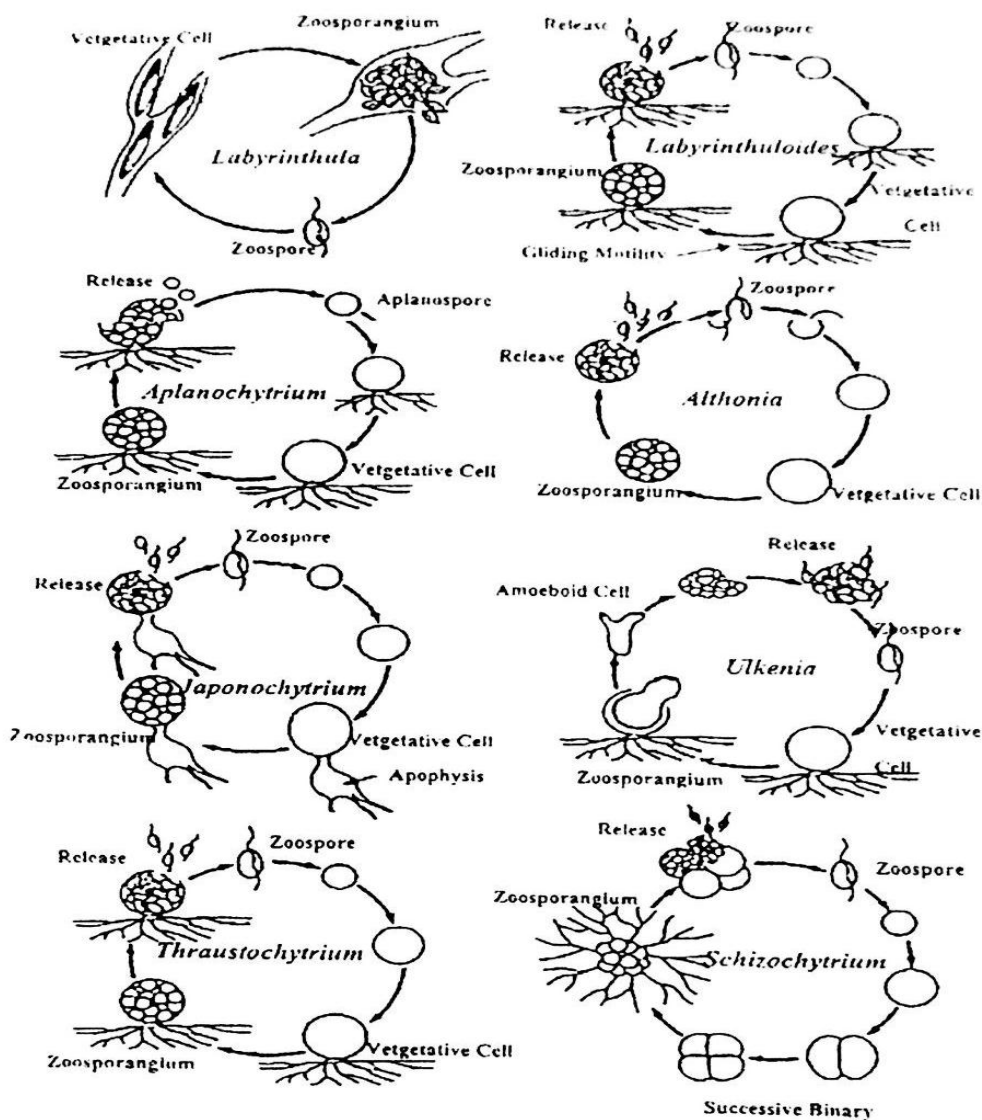
3. *Japonochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลม ส่วนล่างยึดติดกับซับสเตรทโดยส่วนของเส้นใยเอกโตพลาสติกที่มีลักษณะบวมพองออก ถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ เรียกส่วนนี้ว่า apophysis ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากรูหรือช่องว่างของซูโอสปอร์แรงเจียม (Alderman et al., 1974)

4. *Ulkenia* เป็นกลุ่มที่ย้ายมาจาก *Thraustochytrium* มีรูปร่างกลม ผนังเซลล์บาง เซลล์แม่จะสร้าง amoeboid cell และปล่อย amoeboid cell ออกมา จากนั้น amoeboid cell จะสร้างซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เมื่อซูโอสปอร์เจริญเต็มที่ จะดันจนผนังเซลล์แม่แตกออก (Hunt, 2000)

5. *Aplanochytrium* เป็นกลุ่มที่ย้ายมาจาก *Thraustochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลม ซูโอสปอร์แรงเจียมสร้างสปอร์รูปร่างกลม ไม่พบส่วนของแฟลกเจลลา เรียกว่า aplanospore 50-100 สปอร์ ถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ (Alderman et al., 1974) การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการขยายขนาดของสปอร์จนผนังเซลล์แม่แตกออก (Porter, 1989)

6. *Althonia* ซูโอสปอร์แรงเจียมมีรูปร่างกลมล่องลอยเป็นอิสระ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-120 ไมโครเมตร ไม่พบส่วนของเส้นใยเอกโตพลาสติก ผนังเซลล์มีความหนา 3-8 ไมครอน (Alderman & Jones, 1971) ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น จำนวน 10-100 ซูโอสปอร์ การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการเสื่อมสลายของผนังเซลล์ซูโอสปอร์แรงเจียม หลังปล่อยออกจากเซลล์แม่ซูโอสปอร์จะเคลื่อนที่เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 36 ชั่วโมง เมื่อพบซับสเตรทที่เหมาะสมจะสลัดหางออกและเจริญเป็นเซลล์ปกติ ซึ่งจีสินี้ไม่พบระยะลงเกาะ (Alderman & Jones, 1971)

7. *Labyrinthuloides* ทัลลัสมีรูปร่างกลม มีส่วนของเส้นใยเอกโตพลาสติก ซึ่งใช้ในการเคลื่อนที่ ลักษณะเด่นของสกุลนี้คือเป็นแบบคืบคลาน (Gliding) ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เมื่อเซลล์เจริญเต็มที่ จะถูกปล่อยออกจากเซลล์แม่ (Porter, 1989; Leander, 2006; Porter, 2000)



ภาพที่ 2-3 วงจรชีวิตของทรอสโทโคตริคส์ (Honda, 2001)

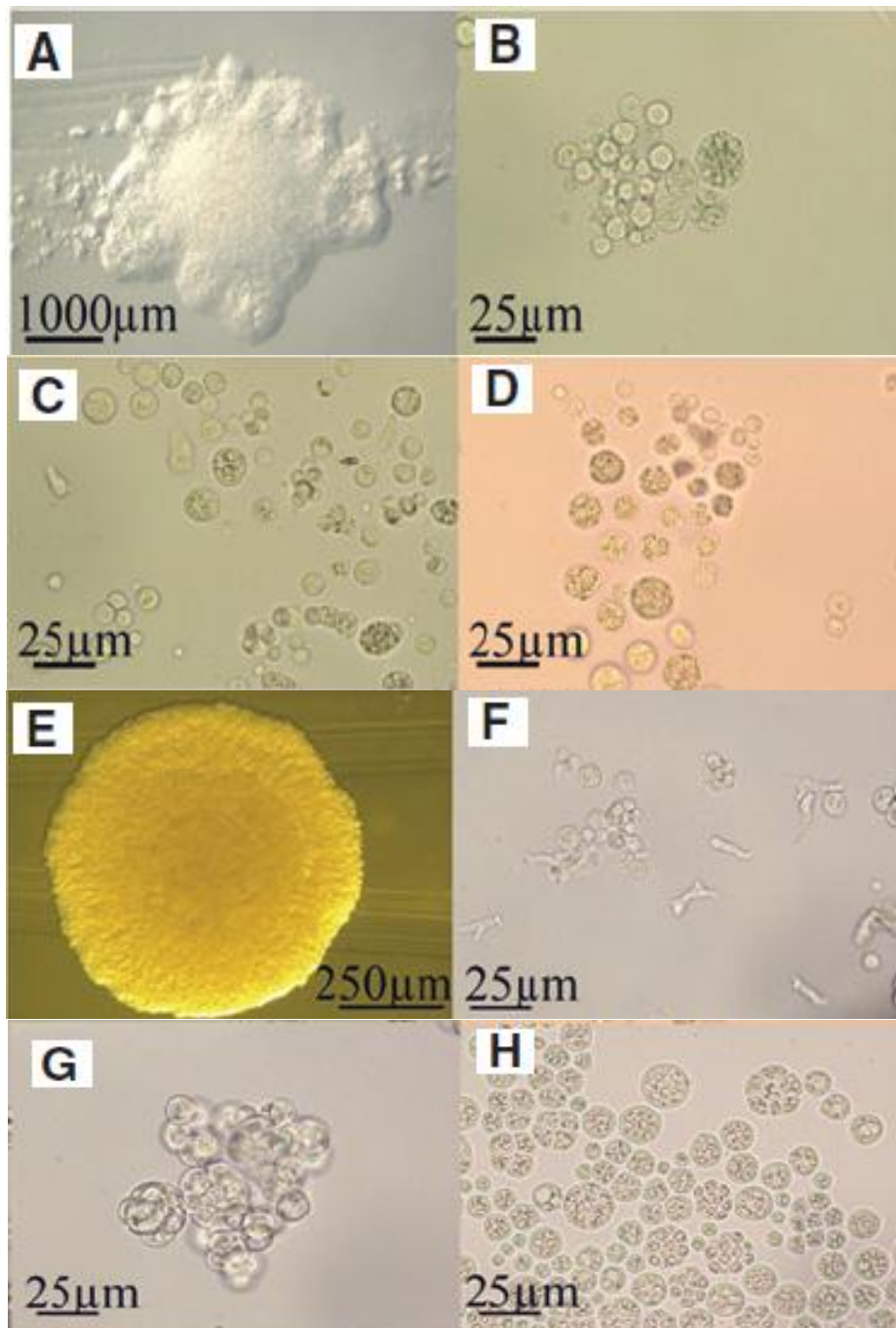
ในปี 2007 Yokoyama and Honda (2007) พบว่าทรอสโทโคตริคส์ในสกุล *Schizochytrium* มีความหลากหลายในด้านสัณฐานวิทยา ปริมาณกรดไขมัน รวมทั้งชนิดของ แคโรทีนอยด์ ทำให้สามารถแยกเชื้อในสกุล *Schizochytrium* เดิมออกเป็น 3 สกุล ที่แตกต่างกัน คือ ได้แก่ *Schizochytrium*, *Oblongichytrium* และ *Aurantiochytrium* ดังนี้

1. *Aurantiochytrium* โคโคโคนีเป็นรูปร่างกลม มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division เส้นใยเอกโตพลาสมิกพัฒนาไม่ดี ซูโอสปอร์มีรูปร่างรีจนถึงกลม เซลล์มีการกระจาย (ภาพที่ 2-4) ทัลลัสมีผนังบาง มีแฟลกเจลลาจำนวน 2 เส้น และไม่พบ Resting Spore เซลล์มีรูปร่างกลม มีสีส้ม

เซลล์มีแอสตาแซนธิน ฟีนีโคแซนธิน แคนตาแซนธิน และเบตา-แคโรทีน มีปริมาณกรดไขมัน ดีเอชเอสูง แต่มีเออาร์เอน้อย

2. *Oblongichytrium* โคลโณรูปร่างกลม มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division เส้นใยเอกโตพลาสติกพัฒนาดี ซูโอสปอร์มีรูปร่างรีรูปไข่ มีแฟลกเจลลาจำนวน 2 เส้น และไม่พบ Resting Spore ทัลลัสมีผนังบาง มีรูปร่างกลม มีสีเหลืองอ่อน เซลล์มีเบตา-แคโรทีน และ แคนตาแซนธิน มีกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 มาก แต่มีกรดไขมันมีดีพีเอ มีกลุ่มโอเมก้า-6 น้อย

3. *Schizochytrium* โคลโณรูปร่างกลม มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division เส้นใยเอกโตพลาสติกพัฒนาดี ซูโอสปอร์มีรูปร่างรีจนถึงกลม ทัลลัสมีผนังบาง มีแฟลกเจลลา จำนวน 2 เส้น และไม่พบ Resting Spore เซลล์มีรูปร่างทรงกลม มีสีเหลืองอ่อน เซลล์มีเบตา-แคโรทีนเพียงชนิดเดียว มีปริมาณกรดไขมันเออาร์เอประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 2-4 *Aurantiochytrium limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. (Unagul et al., 2017)

(A) โคลนีของ *Aurantiochytrium limacinum* ที่ถ่ายจากกล้อง Stereo microscope

(B-D) เซลล์ของ *Aurantiochytrium limacinum* ที่ถ่ายจากกล้อง Compound microscope

(E) โคลนีของ *Aurantiochytrium* sp. ที่ถ่ายจากกล้อง Stereo microscope

(F-H) เซลล์ของ *Aurantiochytrium* sp. ที่ถ่ายจากกล้อง Compound microscope

การแพร่กระจายและบทบาทของทรอสโทไคทริคส์ (Thraustochytrids) และ อะพลาโนไคทริคส์ (Aplanochytrids)

ทรอสโทไคทริคส์และอะพลาโนไคทริคส์ทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ในธรรมชาติ สามารถพบได้ในน้ำทะเลธรรมชาติและน้ำกร่อยทุก ๆ พื้นที่ทั่วโลก ส่วนใหญ่พบได้จากสารอินทรีย์ เช่น สาหร่ายและใบไม้ป่าชายเลนที่เน่าเปื่อย (Raghukumar et al., 1994; Leano, 2001; Fan et al., 2002) การแพร่กระจายของทรอสโทไคทริคส์และอะพลาโนไคทริคส์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน มีการรายงานว่าสามารถพบได้บนบกที่เป็นพื้นดินที่มีความเค็มสูง (Olsen, 2007) ขณะที่ Sparrow (1936) พบ *Thraustochytrium proliferum* จากสาหร่ายทะเลในบริเวณใกล้เคียงแหล่งน้ำ Woods Hole บริเวณชายฝั่งมหาสมุทรแอตแลนติก และมหาสมุทรแอนตาร์กติก ส่วนทรอสโทไคทริคส์ชนิดอื่น ๆ เช่น *Thraustochytrium*, *Japonochytrium*, *Schizochytrium* และ *Ulkenia* พบในบริเวณแนวชายฝั่งทะเล (Raghukumar, 2002) ส่วนอะพลาโนไคทริคส์ส่วนใหญ่คัดแยกได้จากบริเวณชายฝั่งทะเล เช่น *Aplanochytrium kerguelensis* คัดแยกได้จากมหาสมุทรแอตแลนติก (Bahnweg & Sparrow, 1972) และมหาสมุทรอินเดีย (Damare & Raghukumar, 2010)

ทรอสโทไคทริคส์ (Thraustochytrids) และอะพลาโนไคทริคส์ (Aplanochytrids) : แหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง

ทรอสโทไคทริคส์และอะพลาโนไคทริคส์มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว Polyunsaturated fatty acid (PUFA) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของ cell membrane และเกี่ยวข้องกับระบบการสื่อสารของเซลล์ การขาด PUFA ส่งผลทำให้การทำงานของเซลล์บกพร่องลง ซึ่งนำไปสู่การเกิดโรคได้ (Lewis et al., 1999) PUFA จึงเป็นส่วนประกอบของอาหารที่สำคัญสำหรับมนุษย์ (Takahara et al., 1998) และในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทางทะเล โดยเฉพาะในการผลิตสัตว์น้ำวัยอ่อน (Sorgeloos & Leger, 1992)

จากกระบวนการเทคโนโลยีชีวภาพของทรอสโทไคทริคส์และอะพลาโนไคทริคส์ มีการค้นพบว่า ภายในเซลล์มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว Polyunsaturated fatty acid (PUFA) ในระดับที่สูง (Lewis et al., 1999) โดยเฉพาะกรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid; DHA) มีการให้ความสนใจในสารอาหารที่สำคัญของ PUFA มากขึ้นในทศวรรษที่ 2 จุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถเป็นแหล่งทางเลือกของ PUFA ที่ส่วนใหญ่จะได้มาจากน้ำมันปลา โดยมีการเปรียบเทียบกับน้ำมันปลา พบว่า PUFA ที่ผลิตจาก Thraustochytrids มีกลิ่นคาวน้อยกว่า และมีความบริสุทธิ์ที่สูงกว่าน้ำมันปลา

(Singh & Ward, 1996) ดังนั้นทรอสโทโคตริคส์จึงเป็นแหล่งน้ำมันที่น่าสนใจในการนำมาแทนที่น้ำมันปลา และยังสามารถลดค่าใช้จ่ายในการผลิตได้ (Lewis et al., 1999)

ประโยชน์ของทรอสโทโคตริคส์ (Thraustochytrids) และอะพลาโนโคตริคส์ (Aplanochytrids)

ทรอสโทโคตริคส์ และอะพลาโนโคตริคส์เป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่ม โอเมก้า-3 พบว่าสัตว์น้ำมีความต้องการปริมาณดีเอชเอสูง (Raghukumar, 1988) จึงมีการนำ ทรอสโทโคตริคส์มาเป็นแหล่งอาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในส่วนของกรดไขมัน ให้กับอาหารมีชีวิต เช่นอาร์ทีเมีย ก่อนที่จะนำอาร์ทีเมียไปเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป เพื่อให้สัตว์น้ำ วัยอ่อนแข็งแรงและมีอัตราการสูงขึ้น (Jaritkhuan & Jones, 2007) และการนำทรอสโทโคตริคส์ไป ผสมเป็นอาหารเม็ดในการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อน เพื่อให้มีอัตราการสูงขึ้นและมีปริมาณดีเอชเอ ในตัวกุ้งสูงขึ้นอีกด้วย (Jaritkhuan et al., 1998; Jaritkhuan & Jones, 1999; Jaritkhuan & Jones, 2001, Jaritkhuan, 2002) นอกจากนี้วิเชียร ยงมานิตชัย (2551) นำ *Schizochytrium* sp. ที่แยกได้จาก ป่าชายเลนของประเทศไทย มาเลี้ยงและสกัดดีเอชเอ เพื่อใช้เลี้ยงลูกกุ้งขาว พบว่า *Schizochytrium* sp. มีความเหมาะสมในการนำมาใช้กับอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้ง สามารถลดปัญหาโรคระบาดและ การแตกขนาดของกุ้งได้เป็นอย่างดี และพบว่าดีเอชเอยังสามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และใช้กับตัวอ่อนของปลาทะเลบางชนิด ทำให้ปลาที่ได้รับดีเอชเออย่างเพียงพอในช่วงโตเต็มวัย ก่อนการวางไข่ จะทำให้ไข่มีอัตราในการฟักเป็นตัวสูง ตัวอ่อนแข็งแรง ปริมาณของไข่ที่ได้รับการ ผสมพันธุ์สูง และมีอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนสูงอีกด้วย

กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated Fatty Acids)

กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated Fatty Acids) เป็นกรดไขมันที่พันธะระหว่างคาร์บอน อะตอมในโมเลกุลบางตำแหน่งเป็นพันธะคู่ ทำให้สามารถเติมไฮโดรเจนเข้าไปในโมเลกุลของ กรดไขมันได้อีก (นิธิยา รัตนานนท์, 2545) กรดไขมันที่จำเป็นร่างกายสังเคราะห์เองไม่ได้ ต้อง ได้รับจากอาหารเช่น น้ำมันถั่วเหลือง (ศิริวรรณ เนติวรานนท์, 2546)

กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็น (Essential Fatty Acids) สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 พวก ใหญ่ ๆ (ภาพที่ 2-5) คือ

1. กรดไขมัน โอเมก้า-3 (Omega-3 Fatty Acid) เป็นกลุ่มของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ประกอบด้วย

1.1 Alpha-Linolenic Acid ; 18:3n-3 พบมากในวอลนัท ถั่วเหลือง น้ำมันพืช และคาโนลา

1.2 Eicosapentaenoic Acid (EPA) ; 20:5n-3 อีพีเอมีจำนวนคาร์บอน 20 อะตอม พันธะคู่ 5 คู่ เป็นกรดไขมันที่ช่วยลดการจับตัวของเกล็ดเลือด และการสร้างสารที่ทำให้เส้นเลือดขยายตัวได้ดี จึงลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด กรดไขมันชนิดนี้พบมากในสัตว์ทะเลจำพวก ปลา หอย กุ้งและสาหร่าย

1.3 Docosahexaenoic Acid (DHA) ; 22:6n-3 ดีเอชเอมีจำนวนคาร์บอน 22 อะตอม พันธะคู่ 6 คู่ กรดไขมันชนิดนี้จำเป็นต่อร่างกายเป็นอย่างยิ่ง เพราะเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์สมองและเซลล์ประสาท ทั้งยังสำคัญต่อการสร้างจอตา (retina) ในทารกและเด็กแรกเกิด และเป็นส่วนประกอบของเซลล์สมองซึ่งพบในปริมาณสูง (Bajpai et al., 1991) และเชื่อกันว่า ดีเอชเอผ่านเข้าไปในสมอง และเสริมสร้างการเจริญของปลายประสาทที่เรียกว่า เดนไดรท์ (dendrite) ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดสัญญาณและส่งผ่านข้อมูลระหว่างสมองด้วยกัน ทำให้เกิดความจำและการเรียนรู้ในสมองของเด็กทารก ดังนั้นดีเอชเอนี้มีความสำคัญต่อสตรีในระยะตั้งครรภ์ และมารดาที่ให้นมบุตร เนื่องจากในนมมารดามีปริมาณดีเอชเอสูงทำให้ส่งผลต่อทารก รวมทั้งดีเอชเอยังจำเป็นต่อคนทุกเพศทุกวัย ซึ่งมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ดีเอชเอได้ จึงจำเป็นต้องได้รับกรดไขมันนี้จากการรับประทานอาหารที่มีดีเอชเอในปริมาณที่เหมาะสมและเพียงพอในแต่ละวัน ดีเอชเอพบมากในปลา น้ำมันตับปลาและสาหร่าย (ศิริวรรณ เนติวรานนท์, 2546)

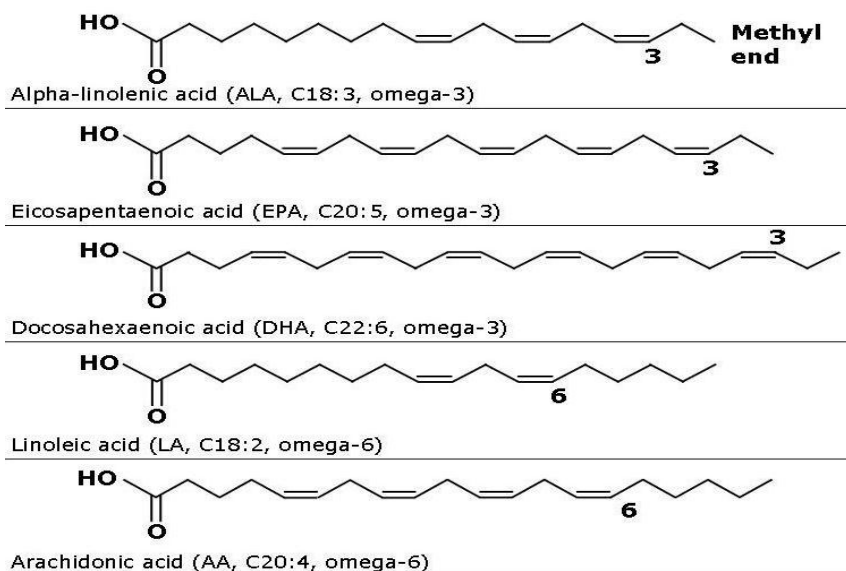
2. กรดไขมัน โอเมก้า-6 (Omega-6 Fatty Acid) เป็นกลุ่มของกรดไขมันไม่อิ่มตัวอีกกลุ่มหนึ่งที่ตำแหน่งแรกของพันธะคู่นับจากทางด้านหมู่เมทิลอยู่ที่ตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 6 กรดไขมันกลุ่มนี้ประกอบด้วย

2.1 Linoleic Acid ; 18:2n-6 พบมากในน้ำมันถั่วเหลือง (Soy bean Oil) น้ำมันข้าวโพด (Corn Oil) และน้ำมันดอกทานตะวัน (Sunflower Oil)

2.2 Arachidonic Acid (ARA) ; 20:4n-6 เออาร์เอมีจำนวนคาร์บอน 20 อะตอม พันธะคู่ 4 คู่ ทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ลิพิด เป็นฮอร์โมนในระบบสืบพันธุ์เพศชาย หากขาดในเด็กทำให้เด็กมีการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ พบในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ (ศิริวรรณ เนติวรานนท์, 2546)

3. กรดไขมัน โอเมก้า-9 (Omega-9 Fatty Acid) เป็นกลุ่มที่มีสารตั้งต้นเป็น Oleic acid ; 18:1n-9 พบในสัตว์บก เช่น น้ำมันวัว และน้ำมันหมู กรดไขมันทั้ง 3 กลุ่มนี้เป็นพวกกรดไขมันไม่อิ่มตัว โมเลกุลยาว ๆ (คาร์บอน 18 อะตอมหรือสูงกว่า) ร่างกายสามารถเปลี่ยนกรดไขมันที่จำเป็น (ถ้ามีเพียงพอ) ไปเป็นกรดไขมันที่มีโมเลกุลยาวขึ้นคือ ดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid, DHA)

และอีพีเอ (Eicosapentaenoic Acid, EPA) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ delta-6 desaturase และ delta-5 desaturation (ศิริวรรณ เนติวารานนท์, 2546)



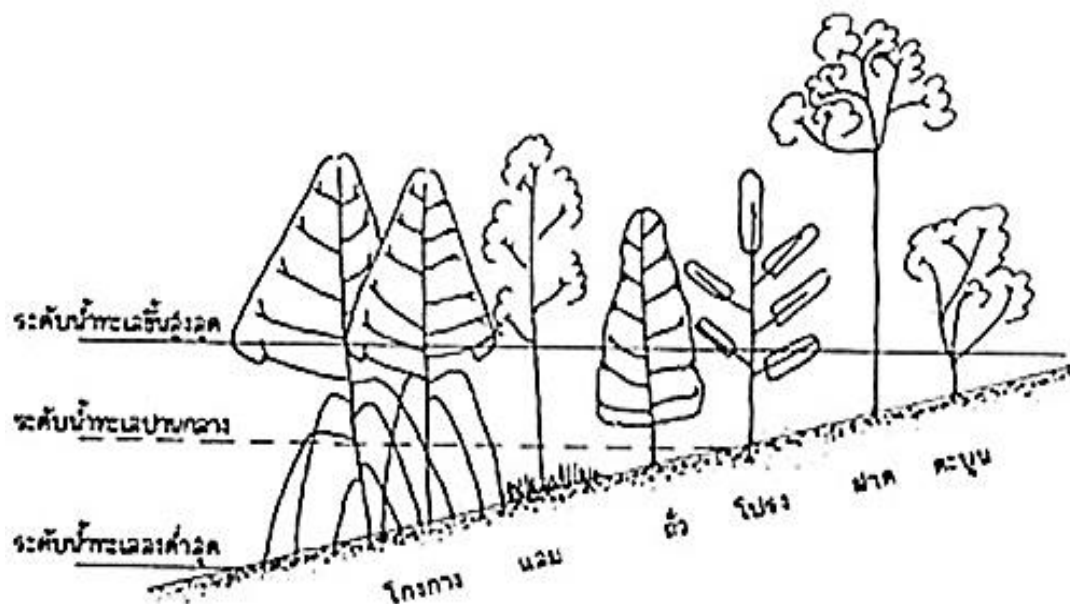
ภาพที่ 2-5 โครงสร้างของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6

(<https://www.google.co.th/Fatty+n-3>)

ป่าชายเลน

ป่าชายเลนประกอบไปด้วยพรรณไม้นานาชนิด สามารถพบได้ทั้งไม้ยืนต้น พืชกาฝาก เถาวัลย์ และสาหร่าย พรรณไม้ในป่าชายเลนเกือบทั้งหมดเป็นไม้ไม่ผลัดใบ และมีความทนทานต่อสภาพความเค็มได้ดี ประเทศไทยมีพรรณไม้ในป่าชายเลน 74 ชนิด ซึ่งพรรณไม้ที่เด่นและเป็นไม้ที่สำคัญในป่าชายเลนของไทยนั้น ได้แก่ โกงกาง แสม โปรง ถั่ว ลำพู ลำแพน และตะบูน เป็นต้น พรรณไม้เหล่านี้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อสมดุลของระบบนิเวศป่าชายเลน

เอกลักษณ์ของป่าชายเลนที่ทำให้แตกต่างจากป่าบกอย่างชัดเจน คือ การแพร่กระจายของพืชพรรณที่มีลักษณะแบ่งออกเป็นแนวเขต (zonation) โดยพรรณไม้แต่ละชนิดจะขึ้นเป็นแนวเขตหรือเป็นโซนค่อนข้างแน่นอน (ภาพที่ 2-6) แต่การแบ่งเขตของพืชในพื้นที่แต่ละแห่งจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพและเคมีภาพของดิน ความเค็มของน้ำ การท่วมถึงของน้ำทะเล กระแสน้ำ การระบายน้ำ และความเปียกชื้นของดิน (สนิท อักษรแก้ว, 2541)



ภาพที่ 2-6 การแบ่งเขตของพรรณไม้ในป่าชายเลน (มนตรี สุมณฑา, 2551)

รูปแบบโครงสร้างของป่าชายเลน สามารถแบ่งได้อย่างกว้าง ๆ 5 แบบ ได้แก่

1. Fringe forests เป็นลักษณะของป่าชายเลนที่อยู่บนชายฝั่งที่มีความลาดชันน้อย พบทั่วไปบริเวณชายฝั่งของแผ่นดินใหญ่และเกาะใหญ่ ๆ มักพบป่าประเภทนี้อยู่บริเวณที่เป็นอ่าวเปิด และได้รับอิทธิพลจากคลื่นลมไม่แรง ป่าชายเลนประเภทนี้ถ้าพบบนเกาะจะอยู่เหนือระดับน้ำทะเลสูงสุด
2. Basin forests เป็นลักษณะป่าชายเลนที่เป็นพื้นที่ต่ำ น้ำท่วมและขังอยู่ มักพบขึ้นอยู่บนฝั่งที่ติดปาก สัมผัสกับน้ำจืดจากบนบก และน้ำกร่อยนานกว่าป่าชายเลนที่อยู่ตามชายฝั่ง ป่าชายเลนประเภทนี้มีพืชอิงอาศัยขึ้นอยู่มาก เช่น กัลวลไม้
3. Riverine forests เป็นลักษณะป่าชายเลนที่ขึ้นบนร่องน้ำ หรือทางน้ำจืดที่ไหลลงสู่ทะเล
4. Overwash forests เป็นลักษณะป่าชายเลนที่ขึ้นบนที่ราบน้ำทะเลท่วมถึง และได้รับอิทธิพลจากกระแสน้ำขึ้นลงอย่างสม่ำเสมอ
5. Dwarf forests เป็นลักษณะป่าชายเลนที่ขึ้นบนบริเวณที่มีปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโต โดยทั่วไปจะเป็นไม้พุ่มเตี้ย ๆ ประมาณ 2 เมตร มักพบในบริเวณที่แห้งแล้งกว่าบริเวณอื่น (สนิท อักษรแก้ว, 2541)

ป่าชายเลนท่าสอน อำเภอลำลูกกา จังหวัดจันทบุรี

ป่าชายเลนท่าสอน อำเภอลำลูกเกด จังหวัดจันทบุรี เป็นศูนย์การเรียนรู้ และเป็นสถานที่ท่องเที่ยวเชิงนิเวศ โดยเป็นป่าชายเลนที่อยู่ในลุ่มน้ำแคว ตั้งอยู่ที่บริเวณบ้านท่าสอน ตำบลบ่อ อำเภอลำลูกเกด มีพื้นที่ 120,000 ไร่ ห่างจากตัวเมืองจันทบุรี 18 กิโลเมตร บนเส้นทางถนนสุขุมวิท ประมาณกิโลเมตรที่ 374-375 เป็นป่าชายเลนที่อยู่ในความดูแลของสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี นอกจากนี้บริเวณนี้ยังเป็นพื้นที่ที่อุดมสมบูรณ์ของสิ่งมีชีวิตทางพรรณไม้ และสัตว์ธรรมชาติ มีเส้นทางเดินศึกษาธรรมชาติระยะทาง 1.2 กิโลเมตร มีพันธุ์ไม้หลายชนิด เช่น โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ แสมขาว ลำพู ประทล ปอทะเล เป็นต้น (<http://www.emagtravel.com>) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานด้านความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์ และอะพลาโนโคตริดส์ ความถี่ของการพบ และปริมาณกรดไขมันในทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์จากใบไม้ชนิดต่าง ๆ จึงมีความน่าสนใจทำการศึกษาในครั้งนี้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์และอะพลาโนโคตริดส์ การเลี้ยงและปริมาณกรดไขมันในประเทศไทย พบว่ามยุรา ประยูรพันธ์ (2549) คัดแยกทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอมะนัง จังหวัดสมุทรปราการ จากพันธุ์ไม้ 9 ชนิด พบทรอสโทโคตริดส์ 3 ชนิด (184 ไอโซเลท) คือ *S. mangrovei*, *S. limacinum* และ *Schizochytrium* sp. โดยใบโกงกางใบเล็กและพังกาหัวสุ่มดอกแดงพบมากที่สุด เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร GY (6 เปอร์เซ็นต์ : 1 เปอร์เซ็นต์) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน พบว่าปริมาณดีเอชเอสสูงในช่วง 15.41-180.74 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (8.79-48.60 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และมีปริมาณอีพีเอในปริมาณต่ำเท่ากับ 0.25-7.42 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.15-6.17 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) นอกจากนี้ จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร จากพันธุ์ไม้ 5 ชนิด พบทรอสโทโคตริดส์ 2 สกุล 893 ไอโซเลท พบ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*) *Aurantiochytrium* sp. 2 (*Schizochytrium* sp. 2) และ *U. visurgensis* พบว่าใบไม้สีน้ำตาลมีทรอสโทโคตริดส์ 79 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าใบไม้สีเหลือง 49.28 เปอร์เซ็นต์ เดือนพฤศจิกายน 2549 พบทรอสโทโคตริดส์สูงสุด 69.54 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 334 ไอโซเลท และเดือนกรกฎาคม 2549 พบ 64.50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 318 ไอโซเลท และเดือนมีนาคม 2549 พบ 60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 241 ไอโซเลท ส่วน คณิฎฐา เอี่ยมละออ (2553) ศึกษากรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในทรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกจากป่าชายเลนจังหวัดสมุทรสาคร สามารถคัดแยกทรอสโทโคตริดส์ได้หมด 669 ไอโซเลท จากใบไม้ 9 ชนิด ได้แก่ แสมทะเล ลำแพน โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่

แคทะเล จาก ดินเปิดทะเล ถั่วขาว และ โพทะเล พบ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*) และ *U. visurgensis* และพบว่าแสมทะเลมีความถี่ของการพบสูงสุด 74 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ สมถวิล จริตควร, สุदारัตน์ สวนจิตร และเศรษฐวัชร นักศาสตร์ (2552) คัดแยก จุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโโคไตรดส์จากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน จังหวัด ฉะเชิงเทรา จากพันธุ์ไม้ 5 ชนิด พบทรอสโโคไตรดส์ 687 ไอโซเลท จำแนกได้ 2 สกุล 3 ชนิด ได้แก่ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*) และ *U. visurgensis* ชนิดที่พบมากที่สุดคือ *A. mangrovei* รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *U. visurgensis* ตามลำดับ และพบว่า ใบตาคุ่มทะเลมีความถี่ของการพบทรอสโโคไตรดส์สูงสุดร้อยละ 43 พบว่า *A. limacinum* มีดีเอสเอ สูงเท่ากับ 0.93-197.02 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-42.44 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A. mangrovei* มีดีเอสเออยู่ในช่วง 5.12-195.18 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (2.76-41.14 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอและอีพีเอใน *U. visurgensis* มีค่าอยู่ในช่วง 0-6.93 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-10.48 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 0-2.63 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-3.24 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ ดีพีเอพบสูงใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* มีค่าอยู่ในช่วง 0-35.19 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-9.46 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 0-40.58 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-11.92 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนชีวมวลของทรอสโโคไตรดส์ทั้ง 3 ชนิด พบว่า *A. mangrovei* มีสูงสุด (6.05-21.55 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *U. visurgensis* มีค่าอยู่ในช่วง 3.83-21.18 กรัม/ลิตร และ 6.73-19.86 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

ต่อมา สมถวิล จริตควร และสุदारัตน์ สวนจิตร (2552) ได้คัดแยกจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโโคไตรดส์จากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน 3 สถานี ได้แก่ สถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และสถานีที่ 3 สวนป่าชายเลนฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี พบทรอสโโคไตรดส์รวมทั้งสิ้น 715 ไอโซเลท จัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 10 ชนิด ได้แก่ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*) *Aurantiochytrium* sp. 1, *Aurantiochytrium* sp. 2, *Aurantiochytrium* sp. 3, *Aurantiochytrium* sp. 4, *Aurantiochytrium* sp. 5, *Aurantiochytrium* sp. 7 และทรอสโโคไตรดส์อีก 2 ชนิด ที่ไม่สามารถจำแนกได้คือ Unknown 1 และ Unknown 2 โดยมีความถี่ของการพบทรอสโโคไตรดส์เฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.50-57.50 เปอร์เซ็นต์ *A. mangrovei* และ *A. limacinum* เป็นชนิดที่โดดเด่น พบสูงสุดที่ใบแสมขาว มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 57.50 เปอร์เซ็นต์ และ 28.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน Unagul et al. (2017) คัดแยกทรอสโโคไตรดส์จากใบไม้ป่าชายเลนที่เน่าเปื่อย ภูเขาทะเล และน้ำทะเล ที่เก็บจาก 12 จังหวัด จากภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม ฉะเชิงเทรา

ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง พังงา กระบี่ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และตรัง โดยศึกษาโครงสร้างของกรดไขมัน และการแช่แข็งทออสโทโคตริคัสทางทะเล พบว่าทออสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ออกเป็น 7 กลุ่ม ส่วนใหญ่ คือ *A. limacinum* นอกจากนี้ยังพบ *Schizochytrium* sp. *Parietichytrium sakarianum* และ *Thraustochytrium* sp. และสามารถคัดแยกทออสโทโคตริคัสได้มากกว่า 300 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์หลัก ๆ ที่คัดแยกได้จากใบไม้ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอีก 10 เปอร์เซ็นต์คัดแยกได้จากน้ำทะเล และพบว่าทออสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ มีปริมาณกรดไขมันสูง สามารถนำไปผลิตในเชิงอุตสาหกรรมได้

นอกจากนั้น ลลิตา เชาวเรืองฤทธิ์ (2548) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตดีเอชเอของ *Schizochytrium* 3 สายพันธุ์ ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี นำมาเลี้ยงในกลูโคสต่อยีสต์สกัด (6 เปอร์เซ็นต์ : 1 เปอร์เซ็นต์) ในอุณหภูมิและความเค็มแตกต่างกันพบว่า *Schizochytrium* sp. 1 BUCACD 032 มีชีวมวล 18.21 กรัม/ลิตร และปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 145.50 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง สายพันธุ์ *S. mangrovei* BUCARA 021 มีชีวมวล 17.67 กรัม/ลิตร และปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 115.16 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ส่วน *Schizochytrium* sp. 1 BUCAA 093 มีชีวมวล 4.82 กรัม/ลิตร และปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 13.85 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง

ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับทออสโทโคตริคัสจากต่างประเทศ พบว่า Nakahara et al. (1996) รายงานการคัดแยก *Schizochytrium* sp. จากแนวปะการังบนเกาะ Yap Island ประเทศญี่ปุ่น และเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 ชั่วโมง มีชีวมวลเท่ากับ 21 กรัม/ลิตร สามารถผลิตกรดไขมันดีเอชเอสูงถึง 34 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 4.7 กรัม/ลิตร ต่อมา Bowles, Hunt, Bremer, Duchars, and Eaton (1999) ศึกษา *S. mangrovei* G13 ที่คัดแยกได้จากใบลำพู โดยเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่า เมื่อเลี้ยงในอาหารกลูโคส ยีสต์สกัด และโซเดียมซัลเฟตที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 107 ชั่วโมง สามารถผลิตดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 2.17 กรัม/ลิตร ส่วน Fan, Chen, Jones, and Vrijmoed (2001) ศึกษาทออสโทโคตริคัส 9 สายพันธุ์ ที่คัดแยกได้จากใบรังกะแท้วจากป่าชายเลนประเทศฮ่องกง เลี้ยงในกลูโคส 60 กรัม ยีสต์สกัด 10 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน พบว่าชีวมวลของ *S. mangrovei* (6.6-13.5 กรัม/ลิตร) มีปริมาณสูงกว่า *Thraustochytrium statum* KF9 (0.8 กรัม/ลิตร) และ *Ulkenia* sp. KF13 (4.6 กรัม/ลิตร) และปริมาณดีเอชเอของ *S. mangrovei* อยู่ในช่วง 118.1-208.8 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง โดย *S. mangrovei* KF2 และ *S. mangrovei* KF6 มีปริมาณดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 208.8 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (ดีเอชเอเท่ากับ 2778.9 มิลลิกรัม/ลิตร) และ 204.3 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (มีปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 2762.0 มิลลิกรัม/ลิตร) ตามลำดับ หลังจากนั้น Kamlangdee and Fan (2003) ศึกษาการผลิต

กรดไขมันไม่อิ่มตัวจาก *Schizochytrium* sp. จำนวน 5 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากใบ *Kandelia candel* ในป่าชายเลนบริเวณเกาะฮ่องกง พบว่า *Schizochytrium* sp. สายพันธุ์ N-2 มีชีวมวลมากที่สุดเท่ากับ 13.2 กรัม/ลิตร สายพันธุ์ N-9 เจริญได้น้อยที่สุด โดยมีชีวมวลเท่ากับ 10.8 กรัม/ลิตร *Schizochytrium* ทั้ง 5 สายพันธุ์สะสมกรดไขมันอีพีเอปริมาณต่ำ ขณะที่มีการสะสมดีเอสเอในปริมาณที่สูงมีค่าเป็น 174.9, 203.6, 186.1, 171.3 และ 157.9 มิลลิกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ สำหรับ Arafiles et al. (2011) ศึกษาทรอสโทโคตริคัส 2 ไอโซเลท ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นในบริเวณป่าชายเลนเมือง Subic bay ประเทศฟิลิปปินส์คือ *Thraustochytrium* sp. SB04 และ *Schizochytrium* sp. SB11 เมื่อทำการวิเคราะห์กรดไขมัน พบว่า *Thraustochytrium* sp. ผลิตกรดไขมันชนิดโอเลอิก (18:1) ซึ่งเป็น Monounsaturated fatty acid ที่ผลิตได้มากถึง 71 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ส่วน *Schizochytrium* sp. สามารถผลิตดีเอสเอ ได้ในปริมาณที่สูงถึง 22.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์เก็บตัวอย่างภาคสนาม

1. ถุงพลาสติก
2. น้ำทะเลความเค็ม 15 psu
3. เครื่องมือวัดความเค็ม (Refractometer) ATAGO S/ MILL-E
4. เทอร์โมมิเตอร์
5. เครื่องมือวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) METROHM 713
6. เครื่องมือวัดปริมาณออกซิเจน (DO meter) JANWAY
7. เหล็กเสียบใบไม้
8. น้ำกลั่น

สารเคมี

1. น้ำทะเลความเค็ม 15 psu
2. ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) (ภาคผนวก ข)
 - 2.1 สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (Streptomycin Sulfate) (GENERAL DRUGS HOUSE CO., LTD.)
 - 2.2 เพนนิซิลลิน จี (Penicillin G) (GENERAL DRUGS HOUSE CO., LTD.)
3. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffered Saline) (ภาคผนวก ข)
 - 3.1 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) MERCK
 - 3.2 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) MERCK
 - 3.3 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) MERCK
4. เมทานอล (methanol) J. T. BAKER
5. เฮกเซน (hexanes) J. T. BAKER
6. โซเดียมซัลเฟต ($NaSO_4$) MERCK
7. กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) MERCK
8. กรดไขมันมาตรฐาน 19:0 (nonadecanoic acid) (Internal standard) SIGMA – ALDRICH

9. กรดไขมันมาตรฐาน 37 COMPONENT FAME MIX (Internal standard) SIGMA – ALDRICH

อาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาคผนวก ก)

1. อาหารแข็ง GYP (Glucose, Yeast Extract, Peptone)
2. อาหารเหลว GY (Glucose, Yeast Extract)

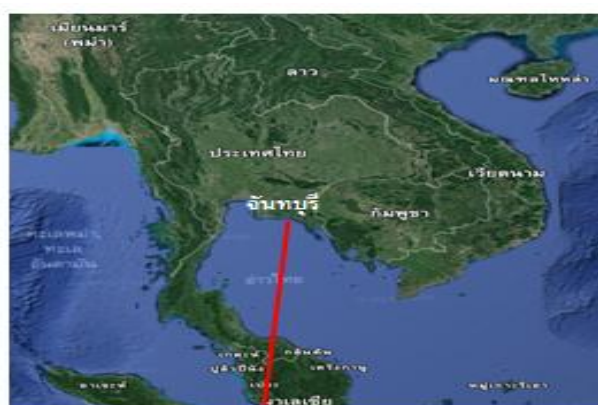
อุปกรณ์และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) HEWLETT PACKARD/HP 6890
2. เครื่องเขย่า (Incubator Shaker) INNOVA
3. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง METTELER TOLEDO AG-285
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Refrigerated Centrifuge) KUBOTA 6930
5. เครื่อง Vortex mixer (Vortex –Genie2)
6. เครื่องอบแห้งระบบทำความเย็น (Freeze Dryer) LABCONCO
7. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) TOMY SS-325
8. เครื่องให้ความร้อน (Hot Plate) FRAMO-GERATETECCHNIK M21/1
9. แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic Stirrer)
10. เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH Meter) METROHM 713
11. เครื่องวัดความเค็ม (Refractometer) ATAGO S/ MILL-E
12. โถดูดความชื้น (Dessicator)
13. ตู้ทำความเย็นอุณหภูมิต่ำ -80 องศาเซลเซียส (Deep freezer) ULTRALOW, SANYO
14. อ่างปรับอุณหภูมิ (Water bath) MEMMERT
15. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) MEMMERT
16. Auto pipette (Pipette) GIBSON
17. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร จานเพาะเชื้อ (Petri dish) ปีกเกอร์ (Beaker) ปิปेट (Pipette) เข็มเข็มเชื้อ (Needle)
19. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) PUFFER HUBBARD IRI 1930 A14

วิธีการวิจัย

สถานที่เก็บตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี (ภาพที่ 3-1) เก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 2 ครั้ง คือ ฤดูฝนในเดือนตุลาคม 2559 และฤดูแล้งในเดือนมีนาคม 2560 ทำการเก็บใบไม้ที่ร่วงหล่นในช่วงเวลาน้ำกำลังขึ้น-ลงต่ำสุดจากพื้นดิน โดยที่พื้นดินและใบไม้ที่ร่วงหล่นยังมีความชื้นอยู่ เก็บตัวอย่างใบไม้ 11 ชนิด ชนิดละ 20 ใบ (เลือกใบที่มีสีเหลืองอมน้ำตาลที่ร่วงหล่นอยู่บริเวณดินที่มีความชื้น) และวัดค่าปัจจัยสภาพแวดล้อมบางประการ ได้แก่ ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร) ใช้เครื่องวัดออกซิเจน (DO meter) ค่าความเป็นกรด-เบสใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) ค่าอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ใช้เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) และค่าความเค็ม (psu) ใช้เครื่องวัดความเค็ม (Refractometer)



ภาพที่ 3-1 สถานที่เก็บตัวอย่างบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) ตำบลบ่อ อำเภอลុង จังหวัดจันทบุรี (<https://www.google.co.th/maps>)



ภาพที่ 3-2 พื้นที่ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี

1. การคัดแยกและศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคทริคส์และอะพลาโนโคทริคส์

1.1 นำตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน 11 ชนิด ชนิดละ 20 ใบ แต่ละใบ ล้างด้วยน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อ 2-3 ครั้ง จากนั้นตัดใบไม้แต่ละชนิดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 0.5 ตารางเซนติเมตร จำนวน 9 ชิ้น ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำทะเลปราศจากเชื้อและเติมยาปฏิชีวนะ (ภาคผนวก ข) โดยให้ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร แช่ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง

1.2 นำใบไม้จากข้อ 1 สุ่มตัดมาจำนวน 9 ชิ้น ปักลงในอาหารแข็ง GYP ในจานเพาะเชื้อ ปักใบไม้ 3 ชิ้น/จาน (3 ซ้ำ) ปักระยะห่างกัน จากนั้นเติมน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อที่เติมยาปฏิชีวนะความเข้มข้นเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 27-32 องศาเซลเซียส สังเกตการเจริญของเชื้อ

1.3 ตรวจเชื้อทรอสโทโคทริคส์และอะพลาโนโคทริคส์จากใบไม้ในอาหารแข็ง GYP จากข้อ 2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นใช้รูปเปียเชื้อทรอสโทโคทริคส์และอะพลาโนโคทริคส์ ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) แล้วทำการ Streak ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ GYP จากนั้นแยกทรอสโทโคทริคส์และอะพลาโนโคทริคส์จนได้เชื้อบริสุทธิ์ จำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนี การสร้างซุโอสปอร์ การแบ่งเซลล์ ลักษณะของซุโอสปอร์แรงเจียม การปล่อยซุโอสปอร์ (Yokoyama & Honda, 2007)

1.4 เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดทดลองที่มีอาหารแข็ง GYP ผิวแข็ง (ภาคผนวก ก) ที่เติมน้ำทะเลปราศจากเชื้อ (ความเค็ม 15 psu) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองและเก็บในตู้บ่มที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส และถ่ายเชื้อทุก ๆ 2 เดือน

1.5 คำนวณหาความถี่ของการพบทรอสโทโคทริคส์และอะพลาโนโคทริคส์ของตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษา

$$\text{ความถี่ของการพบ} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคทริคส์และอะพลาโนโคทริคส์} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

1.6 คู่มือที่ใช้ในการจัดจำแนกระดับจันัส (Yokoyama & Honda, 2007) ดังนี้

- | | |
|---|-----------------------------------|
| 1. เซลล์ปกติ (vegetative cells) รูปร่างยาวรีคล้ายกระสวยและ | Family Labyrinthaceae |
| ก๊ีบคลานภายในเส้นใยเอกโตพลาสติก..... | Single genus: <i>Labyrinthula</i> |
| 1. เซลล์ปกติรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมและไม่อยู่ภายในเส้นใย | |
| เอกโตพลาสติก..... | Family Thraustochytriaceae |
| 2. เซลล์ปกติใช้เวลานานจึงจะเคลื่อนที่และสร้างสปอร์ที่ไม่มีแฟลกเจลลา | <i>Aplanochytrium</i> |

2. เชลล์ปกติถ้ามีการเคลื่อนที่จะเคลื่อนที่ตั้งแต่แรก.....	ข้อ 3
3. เชลล์ปกติไม่มีเส้นใยเอกโตพลาสติก.....	<i>Althonia</i>
3. เชลล์ปกติมีเส้นใยเอกโตพลาสติก.....	ข้อ 4
4. เชลล์ปกติมีเส้นใยเอกโตพลาสติกที่มีลักษณะบวมพอง.....	<i>Japonochytrium</i>
4. เชลล์ปกติมีเส้นใยเอกโตพลาสติกที่มีลักษณะไม่บวมพอง.....	ข้อ 5
5. เชลล์มีการแบ่งแบบ Binary Division.....	ข้อ 6
5. เชลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเชลล์เดี่ยว ๆ หรือ อะมิบอยด์เชลล์	ข้อ 8
6. โคลโอนีมีขนาดเล็ก เส้นใยเอกโตพลาสติกไม่ค่อยพัฒนา.....	<i>Aurantiochytrium</i>
6. โคลโอนีมีขนาดใหญ่ เส้นใยเอกโตพลาสติกพัฒนาดี.....	ข้อ 7
7. ซูโอสปอร์รูปร่างรีและสร้างแกนด้านเซนทรินและเบต้าแคโรทีน.....	<i>Oblongichytrium</i>
7. ซูโอสปอร์รูปร่างกลมและสร้างเพียงเบต้าแคโรทีน.....	<i>Shizochytrium</i>
8. เชลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเชลล์เดี่ยว ๆ.....	<i>Thraustochytrium</i>
8. เชลล์พัฒนาเป็นอะมิบอยด์เชลล์.....	ข้อ 9
9. โคลโอนีมีขนาดเล็ก เส้นใยเอกโตพลาสติกไม่ค่อยพัฒนา.....	ข้อ 10
9. โคลโอนีมีขนาดใหญ่ เส้นใยเอกโตพลาสติกพัฒนาดี.....	ข้อ 11
10. ซูโอสปอร์ถูกสร้างด้วยวิธีการบิดตัวและดึงตัว.....	<i>Sicyoidochytrium</i>
10. ซูโอสปอร์ไม่ได้ถูกสร้างด้วยวิธีการบิดตัวและดึงตัว.....	<i>Ulkenia</i>
11. ยังคงเหลือผนังเชลล์หลังจากปล่อยอะมิบอยด์เชลล์.....	<i>Parietichytrium</i>
11. ผนังเชลล์สลายหมดหลังจากที่ปล่อยอะมิบอยด์เชลล์แล้ว.....	<i>Botryochytrium</i>

2. การศึกษาปริมาณชีวมวลและกรดไขมันของทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์

การศึกษาปริมาณชีวมวลของทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์

โดยมีการเลือกเชื้อทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ที่เจริญไวในระยะเวลา 4 วันเท่ากัน จากสกุลที่แตกต่างกัน จากใบไม้แต่ละชนิด มีขั้นตอน ดังนี้

1. นำทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์แต่ละไอโซเลทที่คัดแยกได้ เลี้ยงในอาหารเหลว GY ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเร็ว 200 รอบ/นาทิต เป็นเวลา 4 วัน

2. เก็บเชลล์โดยปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์ (KUBOTA 6930) ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาทิต ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนที่เป็นของเหลวทิ้ง จากนั้น

เติมสารละลายพีอีเอสปริมาตร 30 มิลลิลิตร ลงในส่วนที่เป็นตะกอน เพื่อล้างตะกอนเซลล์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3. เทส่วนที่เป็นของเหลวทิ้ง จากนั้นนำตัวอย่างตะกอนเซลล์ที่ได้ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง แล้วนำไปวิเคราะห์กรดไขมันต่อไป

การศึกษาปริมาณกรดไขมันของทรอสโทโคทริคส์และอะพลาโนโคทริคส์ (ดัดแปลงจาก Shimizu et al., 1988)

1. ชั่งตัวอย่างเซลล์แห้งของทรอสโทโคทริคส์และอะพลาโนโคทริคส์ประมาณ 0.15 กรัม เซลล์แห้ง ใส่ในขวดไวแอลที่มีฝาปิดขนาด 20 มิลลิลิตร

2. เติม 2 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ในเมทานอล (Methanol) (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Internal Standard (19 : 0) 100 ไมโครลิตร (ภาคผนวก ค) ผ่านด้วยก๊าซไนโตรเจน แล้วจุ่มใน Water bath ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น

3. เติมเฮกเซน (ที่มี BHT ; Butylated hydroxytoluene 10 ส่วนในล้านส่วน) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในขวดปากเกลียวเขย่าให้เข้ากันทิ้งให้แยกชั้น

4. คูคของเหลวที่อยู่ชั้นบน ใส่ในหลอดปากเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตรที่ชั่งน้ำหนัก หลอดเปล่าเรียบร้อยแล้ว กรองผ่าน Pasteur pipette ที่ทำเป็นชุดกรอง โดยใส่สำลีลงไปให้มีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นเติม โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นออก ของเหลวที่ได้ให้ใส่ลงในขวดปากเกลียวที่มีฝาปิด และผ่านด้วยก๊าซไนโตรเจนจนแห้ง เก็บใส่ตู้เย็น เพื่อรอการวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

5. เติมเฮกเซน 200 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างข้อ 4 จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน แล้วฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี อ่านผลจากกราฟโครมาโตแกรม และคำนวณโดยเปรียบเทียบกับกรดไขมันมาตรฐาน (Nonadecanoic acid Standard Fatty Acid 19:0) (ภาพภาคผนวกที่ ค-1, ค-2 และ ค-3)

สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

ใช้ Flame ionization detector เป็นเครื่องตรวจวัดสัญญาณ ส่วนคอลัมน์ใช้ Capillary Column Agilent J&W DB – 23 (60 เมตร x 25 ไมโครเมตร x 0.25 ไมโครเมตร) ใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา โดยอุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 50 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วค่อย ๆ เพิ่มขึ้น 2 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 14 นาที และใช้อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียสในส่วนของ Injector และ Detector

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ชนิดพันธุ์ไม้ในป่าชายเลน

จากการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ทำการคัดแยกใบไม้ในฤดูฝนและฤดูร้อน โดยมีปัจจัยสภาพแวดล้อมบางประการ ดังตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 ปัจจัยสภาพแวดล้อมบางประการบริเวณป่าชายเลนสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในฤดูฝนและฤดูร้อนที่ทำการเก็บตัวอย่าง

ปัจจัยสภาพแวดล้อม	ตุลาคม 2559	มีนาคม 2560
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร)	5.57	5.53
ความเป็นกรด-เบส	7.23	7.28
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	28.8	29.9
อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส)	32	33
ความเค็ม (psu)	35	3.9

จากการเก็บใบไม้จากพันธุ์ไม้ (ตารางที่ 4-2) บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในฤดูฝนเดือนตุลาคม 2559 และฤดูร้อนในมีนาคม 2560 พบว่าคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ปกติ ยกเว้นความเค็มที่มีค่าต่ำมากในเดือนมีนาคม 2560 อาจเนื่องจากมีฝนตกหนักมากก่อนการเก็บตัวอย่าง มีผลทำให้พื้นที่ที่ทำการเก็บใบไม้มีน้ำขัง ส่งผลต่อใบไม้ที่ร่วงหล่นมีความชื้นมากกว่าในฤดูฝนเดือนตุลาคม 2559

ตารางที่ 4-2 พันธุ์ไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน)
จังหวัด จันทบุรี ในเดือนตุลาคม 2559 (ฤดูฝน) และเดือนมีนาคม 2560 (ฤดูร้อน)

ลำดับที่	ชื่อพันธุ์ไม้	ชื่อวิทยาศาสตร์	คำย่อชื่อวิทยาศาสตร์
1	โกงกางใบเล็ก	<i>Rhizophora apiculata</i>	RA
2	โกงกางใบใหญ่	<i>Rhizophora mucronata</i>	RM
3	ตะบูนดำ	<i>Xylocarpus moluccensis</i>	XM
4	ปอทะเล	<i>Hibiscus tiliaceus</i>	HT
5	ปรังทะเล	<i>Acrostichum aureum</i>	AcA
6	โปรงแดง	<i>Ceriops tagal</i>	CT
7	ฝาดดอกแดง	<i>Lumnitzera littorea</i> (Jack) Voigt	LL
8	ฝาดดอกขาว	<i>Lumnitzera racemosa</i> Willd	LR
9	พังกาหัวส้มดอกแดง	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	BG
10	พังกาหัวส้มดอกขาว	<i>Bruguiera eripetala</i>	BE
11	แสมขาว	<i>Avicennia alba</i>	AA

หมายเหตุ คำย่อชื่อวิทยาศาสตร์ ใช้เป็นรหัสของทรอสโทโคตริคส์ที่คัดแยกได้ในการศึกษา
เท่านั้น และมีหลักการเรียกชื่อทรอสโทโคตริคส์ ดังตัวอย่างต่อไปนี้

Aurantiochytrium mangrovei BUCHARA 022 หมายถึง

Aurantiochytrium mangrovei หมายถึง ชื่อวิทยาศาสตร์ของทรอสโทโคตริคส์

BU หมายถึง มหาวิทยาลัยบูรพา (Burapha University)

CHA หมายถึง จังหวัดจันทบุรีที่ทำการเก็บตัวอย่างใบไม้ (Chantaburi)

RA หมายถึง คำย่อชื่อวิทยาศาสตร์ของพันธุ์ไม้ คือ โกงกางใบเล็ก

(*Rhizophora apiculata*)

02 หมายถึง ตัวอย่างใบไม้ที่เก็บจากป่าชายเลน ใบที่ 2

2 หมายถึง ซ้ำในการทำการทดลองใบไม้เป็นซ้ำที่ 2

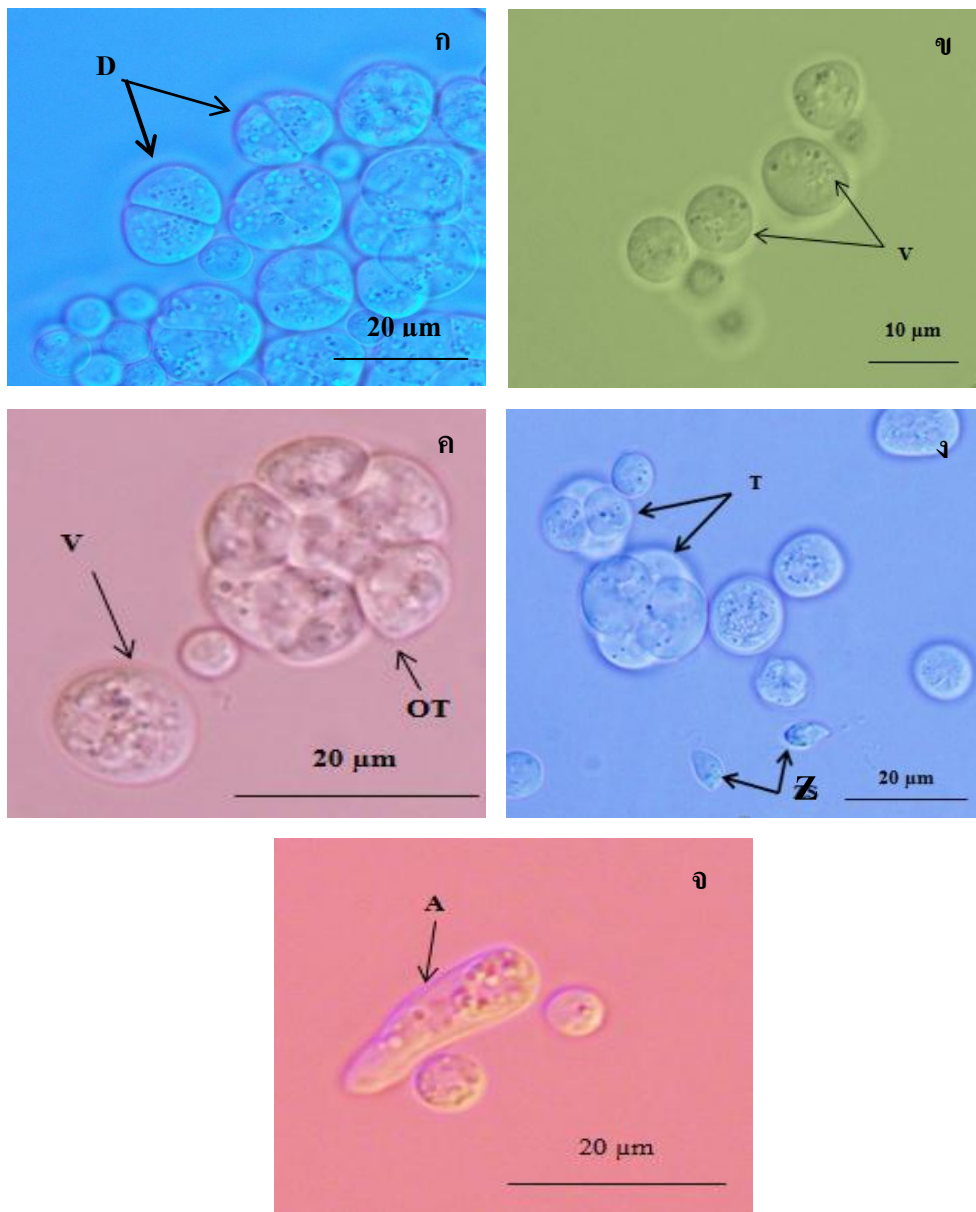
การจำแนกทროสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ทროสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่น บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี พบทროสโทโคตริคส์ ทั้งหมด 249 ไอโซเลท จำแนกได้ 3 ชนิด ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium* sp. 1 และพบอะพลาโนโคตริคส์จำนวน 107 ไอโซเลท ซึ่งจำแนกได้ เป็น 1 ชนิด คือ *Aplanochytrium* sp. ลักษณะของทროสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์แต่ละ ชนิด มีรายละเอียด ดังนี้

1. *Aurantiochytrium mangrovei* เป็นทროสโทโคตริคส์ที่พบมากเป็นอันดับ 3 ในการศึกษา ครั้งนี้ พบจำนวน 72 ไอโซเลท (ตารางที่ 4-2) ลักษณะโคโลนีสบนอาหารแข็ง GYP ที่เลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน พบว่า โคโลนีบนก้อนข้างกลม มีสีขาวขุ่นทึบแสง ขอบไม่เรียบ โคโลนีโค้งมนเล็กน้อย (ภาพที่ 4-1) เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GY เป็นเวลา 4 วัน เซลล์มีการตกตะกอนเป็นเม็ดจำนวนมากที่บริเวณก้นฟลาस्क และพบว่าเซลล์มีการแบ่งแบบ Binary Division มีอะมีบอยด์เซลล์ (Amoeboid cell) มีการเกาะกลุ่มบ้าง ส่วนใหญ่เซลล์มีการกระจาย เซลล์กลม มีขนาด 5-3 ไมโครเมตร ผลิตซุโอสปอร์ 8-64 ซุโอสปอร์มีรูปร่างรี การปล่อยซุโอสปอร์จะถูกปล่อยจาก ซุโอสปอร์แรงเจียมที่จุดใดจุดหนึ่งตำแหน่งเดียว เมื่อซุโอสปอร์ ถูกปล่อยออกจะพัฒนาต่อไปเป็น Vegetative Cell (ภาพที่ 4-2)



ภาพที่ 4-1 ลักษณะ โคโลนีของ *A. mangrovei* บนอาหารแข็ง GYP เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4-2 (ก-จ) ลักษณะเซลล์ *A. mangrovei* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว

GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน

A (Amoeboid Cell) คือ เซลล์ที่พัฒนามาจากซุโอสปอร์ (Zoospore)

D (Diad) คือ เซลล์ปกติที่พัฒนามาเป็น 2 เซลล์

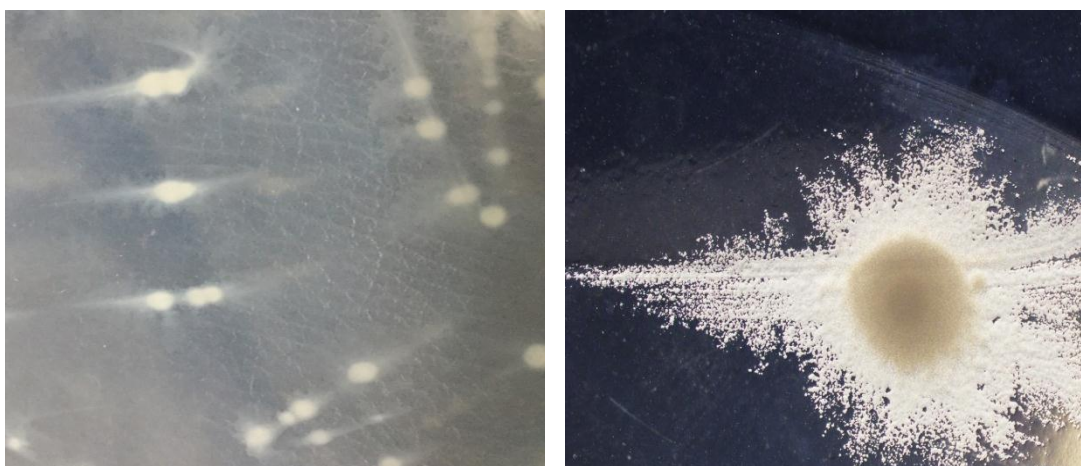
OT (Octrad) คือ เซลล์ปกติที่พัฒนามาเป็น 8 เซลล์

T (Tetrad) คือ เซลล์ปกติที่พัฒนามาเป็น 4 เซลล์

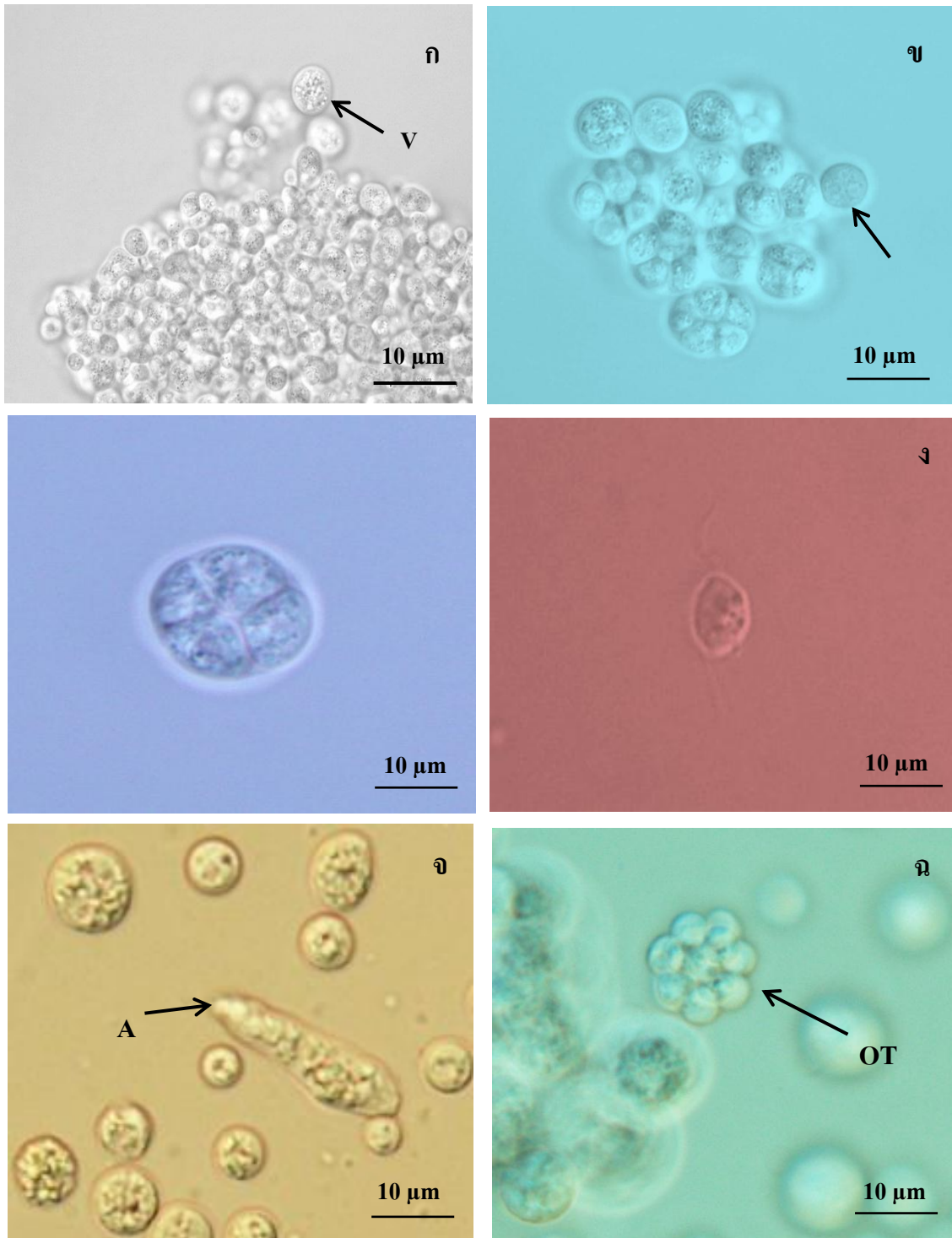
V (Vegetative Cell) คือ เซลล์ปกติ

Z (Zoospore) คือ เซลล์ซุโอสปอร์

2. *Aurantiochytrium limacinum* เป็นทรอสไคตริคส์ที่พบมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ พบ จำนวน 137 ไอโซเลท (ตารางที่ 4-2) ลักษณะบนอาหารแข็ง GYP โคโลนี่มีลักษณะค่อนข้างกลม สีขาวขุ่น โคโลนี่โค้งมนเล็กน้อย (ภาพที่ 4-3) ขอบโคโลนี่มีการแผ่กระจายของอะมิบอยด์เซลล์ (Amoeboid cell) มีการสืบคลานบน Agar ออกจากขอบโคโลนี่ มีลักษณะการแผ่เป็นบริเวณกว้าง สามารถมองเห็นได้ชัดเจนเมื่อโคโลนี่มีอายุตั้งแต่ 4 วันขึ้นไป เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่า เมื่อระยะเวลา 4 วัน มีการลอยของเซลล์เป็นคราบหนา สีครีม บริเวณผิวหน้าของอาหารเหลว เซลล์มีการแบ่งแบบ Binary Division มีการเกาะกลุ่มบ้าง ส่วนใหญ่เซลล์มีการกระจาย เซลล์กลม มีขนาด 5-25 ไมโครเมตร ผลิตซูโอสปอร์ 8-32 ซูโอสปอร์ ซูโอสปอร์มีรูปร่างรี (ภาพที่ 4-4)

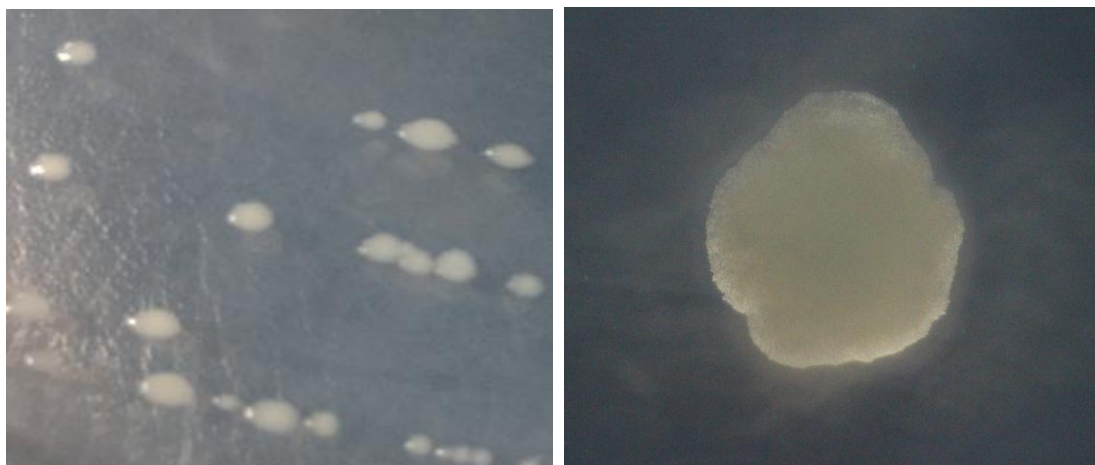


ภาพที่ 4-3 ลักษณะโคโลนี่ของ *A. limacinum* บนอาหารแข็ง GYP เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

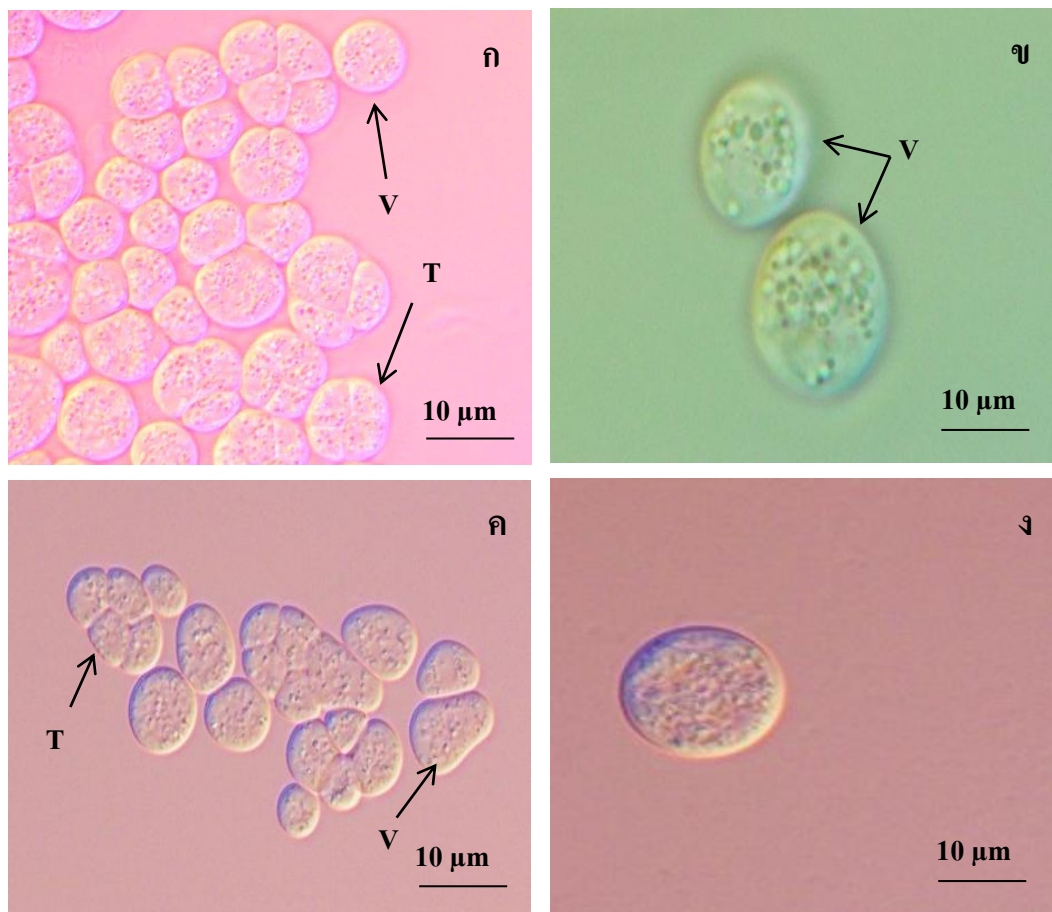


ภาพที่ 4-4 (ก-ฉ) ลักษณะเซลล์ *A. limacinum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน
(A) Amoeboid Cell, (OT) Octrad, (T) Tetrad, (V) Vegetative Cell, (Z) Zoospore

3. *Aurantiochytrium* sp. 1 เป็นทรอสโคตริคัสที่พบน้อยที่สุด ในการศึกษารั้งนี้พบจำนวน 40 ไอโซเลท (ตารางที่ 4-2) ลักษณะโคโลนินบนอาหารแข็ง GYP มีสีขาวขุ่นทึบแสง ขอบไม่เรียบ โคโลนีโค้งมนเล็กน้อย (ภาพที่ 4-5) เมื่อนำมาส่องใต้กล้อง Inverted Microscope พบว่า ขอบโคโลนีมีการแบ่งเซลล์เป็นจำนวนมาก เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GY เป็นเวลา 4 วัน เซลล์มีลักษณะจับกันเป็นเม็ด แต่มีปริมาณน้อยกว่า *A. mangrovei* และเซลล์มีการแบ่งแบบ Binary Division เซลล์มีการเกาะกลุ่มกันบ้าง ส่วนใหญ่เซลล์มีการกระจาย เซลล์กลม มีขนาด 5-20 ไมโครเมตร ซูโอสปอร์มีรูปร่างรี (ภาพที่ 4-6)

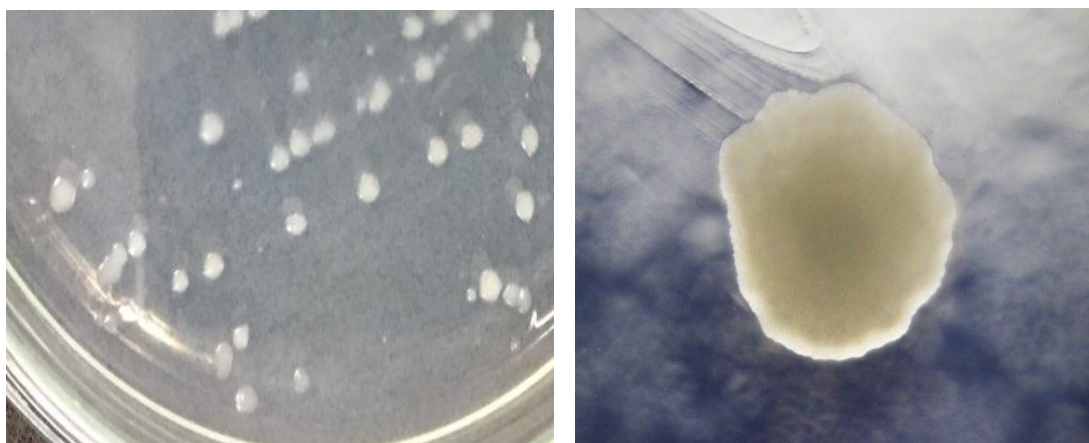


ภาพที่ 4-5 ลักษณะ โคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp. 1 บนอาหารแข็ง GYP เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

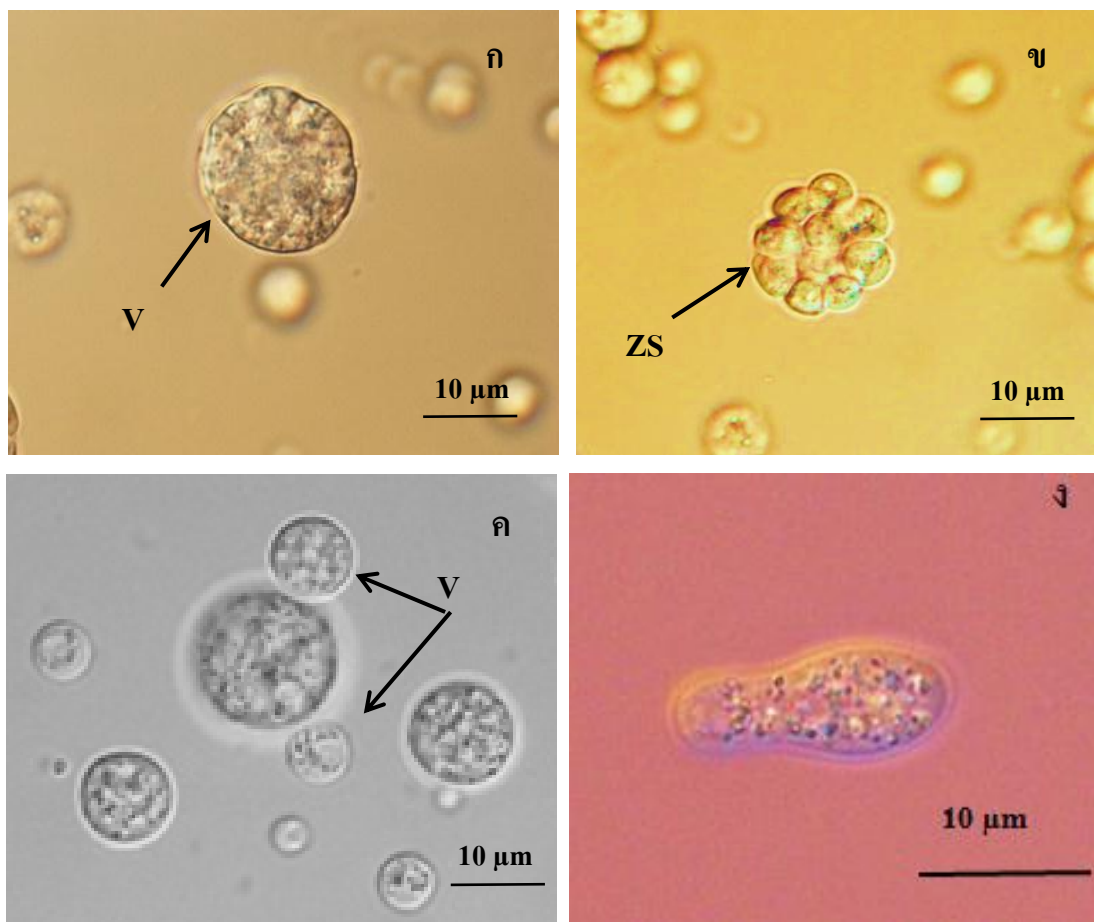


ภาพที่ 4-6 (ก-ง) ลักษณะเซลล์ *Aurantiochytrium* sp. 1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน (T) Tetrad, (V) Vegetative Cell

4. *Aplanochytrium* sp. เป็นชนิดที่อยู่ในกลุ่มอะพลาโนไคตริคส์ ที่พบมากเป็นอันดับสองในการศึกษาครั้งนี้พบจำนวน 107 ไอโซเลท (ตารางที่ 4-2) ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง GYP มีสีขาวขุ่น ขอบไม่เรียบ โคโลนีโค้งนูน (ภาพที่ 4-7) เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GY เป็นเวลา 4 วัน มีคราบของเซลล์เกาะบริเวณขอบพลาสติก เมื่อนำมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบส่วนของแฟลกเจลลา ชูโอสปอร์นี้เรียกว่า อะพลาโนสปอร์ (aplanospore) ชูโอสปอร์แรงเจียมสร้างสปอร์ที่มีรูปร่างกลม เซลล์มีการแบ่งแบบ Binary Division มีการเกาะกลุ่มบ้าง แต่ส่วนใหญ่เซลล์มีการกระจาย เซลล์มีลักษณะกลม มีขนาด 5-25 ไมโครเมตร มีการปล่อยชูโอสปอร์โดยการขยายขนาดของสปอร์ จนผนังของเซลล์แม่แตกออก (ภาพที่ 4-8)



ภาพที่ 4-7 ลักษณะโคโลนีของ *Aplanochytrium* sp. บนอาหารแข็ง GYP เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4-8 (ก-ง) ลักษณะเซลล์ *Aplanochytrium* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน (A) Amoeboid Cell, (V) Vegetative Cell, (ZS) Zoosporangium

จำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน

จากใบไม้ที่คัดแยกจากบริเวณป่าชายเลน สถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560 ได้ผลดังตารางที่ 4-2 โดยพบจำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริคัส ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. 1 ในเดือนตุลาคม 2559 มีค่าเท่ากับ 125 ไอโซเลท มีค่าใกล้เคียงกับเดือนมีนาคม 2560 มีค่าเท่ากับ 124 ไอโซเลท ส่วนอะพลาโนโคตริคัสที่พบ คือ *Aplanochytrium* sp. มีจำนวนไอโซเลทที่พบในเดือนตุลาคม 2559 เท่ากับ 21 ไอโซเลท น้อยกว่าในเดือนมีนาคม 2560 โดยมีค่าเท่ากับ 86 ไอโซเลท ดังนั้นจำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่พบในเดือนตุลาคม 2559 รวมทั้งสิ้นจำนวน 146 ไอโซเลท ส่วนในเดือนมีนาคม 2560 มีไอโซเลท

รวมทั้งสิ้นจำนวน 210 ไอโซเลท โดยมีจำนวนไอโซทมากกว่าในเดือนตุลาคม 2559 จำนวน 64 ไอโซเลท

จำนวนไอโซเลทของการพบทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน ได้แก่ โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ ตะบูนดำ ปอทะเล ประททะเล โปรงแดง ฝาดดอกแดง ฝาดดอกขาว พังกาหัวสุมดอกแดง พังกาหัวสุมดอกขาว และแสมขาว (ตารางที่ 4-3, 4-4, ภาพที่ 4-9, ตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-10) พบว่าเดือนตุลาคม 2559 ทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ที่พบมีจำนวนไอโซเลทมากที่สุด คือ *A. mangrovei* จำนวน 64 ไอโซเลท *A. limacinum* จำนวน 46 ไอโซเลท *Aplanochytrium* sp. จำนวน 21 ไอโซเลท แล *Aurantiochytrium* sp. 1 จำนวน 15 ไอโซเลท จำนวนไอโซทเลทของทรอสโทโคตริคส์และอะพลา-โนโคตริคส์มากสุดในใบแสมขาวจำนวน 28 ไอโซเลท และน้อยที่สุดในใบโปรงแดง จำนวน 5 ไอโซเลท

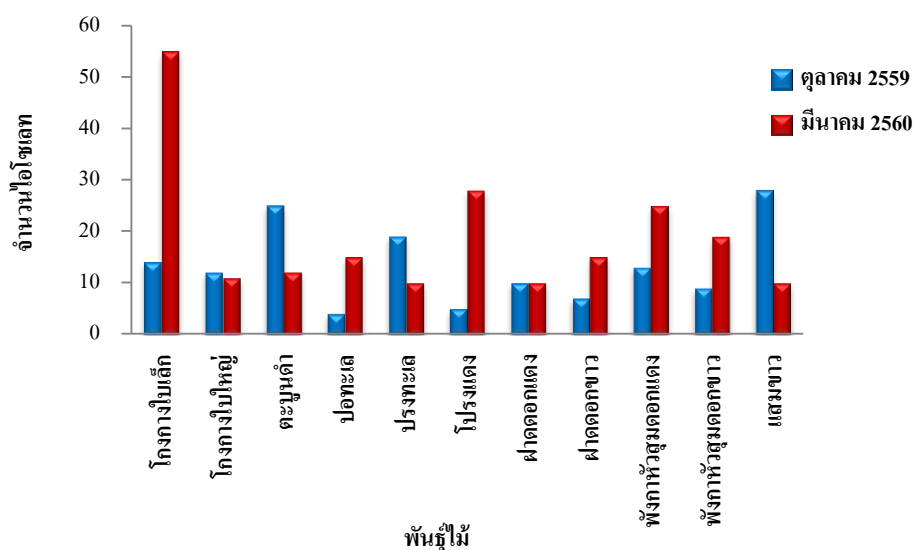
ส่วนทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์เดือนมีนาคม 2560 ที่พบมีจำนวนไอโซเลทมากที่สุด คือ *A. limacinum* จำนวน 91 ไอโซเลท *Aplanochytrium* sp. จำนวน 86 ไอโซเลท *Aurantiochytrium* sp. 1 จำนวน 25 ไอโซเลท และ *A. mangrovei* จำนวน 8 ไอโซเลท โดยพบจำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์มากสุดในใบโกงกางใบเล็กจำนวน 55 ไอโซเลท และน้อยที่สุดในใบประททะเล ฝาดดอกแดง และแสมขาวจำนวน 10 ไอโซเลท

ตารางที่ 4-3 จำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่พบในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560 ที่คัดแยกจากใบไม้บริเวณป่าชายเลน สถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี

ทรอสโทโคตริคัส และอะพลาโนโคตริคัส	จำนวนไอโซเลท		จำนวน รวมทั้งหมด
	ตุลาคม 2559	มีนาคม 2560	
<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	64	8	
ทรอสโทโคตริคัส <i>Aurantiochytrium limacinum</i>	46	91	
<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	15	25	
รวม	125	124	249
อะพลาโนโคตริคัส <i>Aplanochytrium</i> sp.	21	86	107
รวม	146	210	356

ตารางที่ 4-4 จำนวนไอโซเลทของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560

พันธุ์ไม้	จำนวนไอโซเลท	
	(n = 146)	(n = 210)
	ตุลาคม 2559	มีนาคม 2560
โกงกางใบเล็ก	14	55
โกงกางใบใหญ่	12	11
ตะบูนดำ	25	12
ปอทะเล	4	15
ปรังทะเล	19	10
โปรงแดง	5	28
ฝาดดอกแดง	10	10
ฝาดดอกขาว	7	15
พังกาหัวส้มดอกแดง	13	25
พังกาหัวส้มดอกขาว	9	19
แสมขาว	28	10



ภาพที่ 4-9 จำนวนไอโซเลตของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560

ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน

จากใบไม้ที่คัดแยกจากบริเวณป่าชายเลน สถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560 มีความถี่ของการพบ ดังนี้ (ตารางที่ 4-4)

1. ใบโกงกางใบเล็ก ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคัส 3 ชนิด คือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ *A. limacinum* เท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ และ *Aurantiochytrium* sp. 1 น้อยที่สุดเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ และพบ *Aplanochytrium* sp. เพียง 5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคัส 2 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 85 เปอร์เซ็นต์ และ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบน้อยสุดเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์
2. ใบโกงกางใบใหญ่ ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคัส 2 ชนิด คือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบเท่ากับ *A. limacinum* คือ 30 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคัส 2 ชนิด คือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 15

เปอร์เซ็นต์ และ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์

3. ใบตะบูนดำ ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์ 3 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ *A. mangrovei* เท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ และ *Aurantiochytrium* sp. 1 น้อยที่สุดเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และพบ *Aplanochytrium* sp. เท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์ 3 ชนิด คือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ *A. limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบเท่ากันเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์

4. ใบปอทะเล ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์เพียง 1 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์เพียง 1 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 45 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์

5. ใบปรังทะเล ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์ 3 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ *A. mangrovei* เท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ และ *Aurantiochytrium* sp. 1 น้อยที่สุดเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ และพบ *Aplanochytrium* sp. เท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์ 2 ชนิด คือ *A. limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบเท่ากันเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์

6. ใบโปรงแดง ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์เพียง 1 ชนิด คือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และพบ *Aplanochytrium* sp. เท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์ 1 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบเท่ากันเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 45 เปอร์เซ็นต์

7. ใบฝาดดอกแดง ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์ 2 ชนิด คือ *A. mangrovei* และ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบเท่ากันเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์เพียง 1 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์

8. ใบฝาดดอกขาว ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์ 2 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และ *A. mangrovei* น้อยที่สุดเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์ 3 ชนิด คือ

Aurantiochytrium sp. 1 มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ และ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบน้อยที่สุดเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์

9. ใบพังกาหัวสุมดอกแดง ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์ 3 ชนิด คือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ และ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบน้อยที่สุดเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์ 2 ชนิด คือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ และ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบน้อยที่สุดเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 65 เปอร์เซ็นต์

10. ใบพังกาหัวสุมดอกขาว ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์ 3 ชนิด คือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ และ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบน้อยที่สุดเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์ 2 ชนิด คือ *A. limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบเท่ากันเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์

11. ใบแสมขาว ที่คัดแยกในเดือนตุลาคม 2559 พบทรอสโทโคตริคส์ 3 ชนิด คือ *A. mangrovei* มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ และมี *A. limacinum* มีความถี่ของการพบน้อยที่สุดเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Aplanochytrium* sp. มีความถี่ของการพบเท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อคัดแยกในเดือนมีนาคม 2560 พบทรอสโทโคตริคส์ 2 ชนิด คือ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีความถี่ของการพบมากที่สุดเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ และ *A. limacinum* มีความถี่ของการพบน้อยที่สุดเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4-5 ความถี่ของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในเดือน ตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560

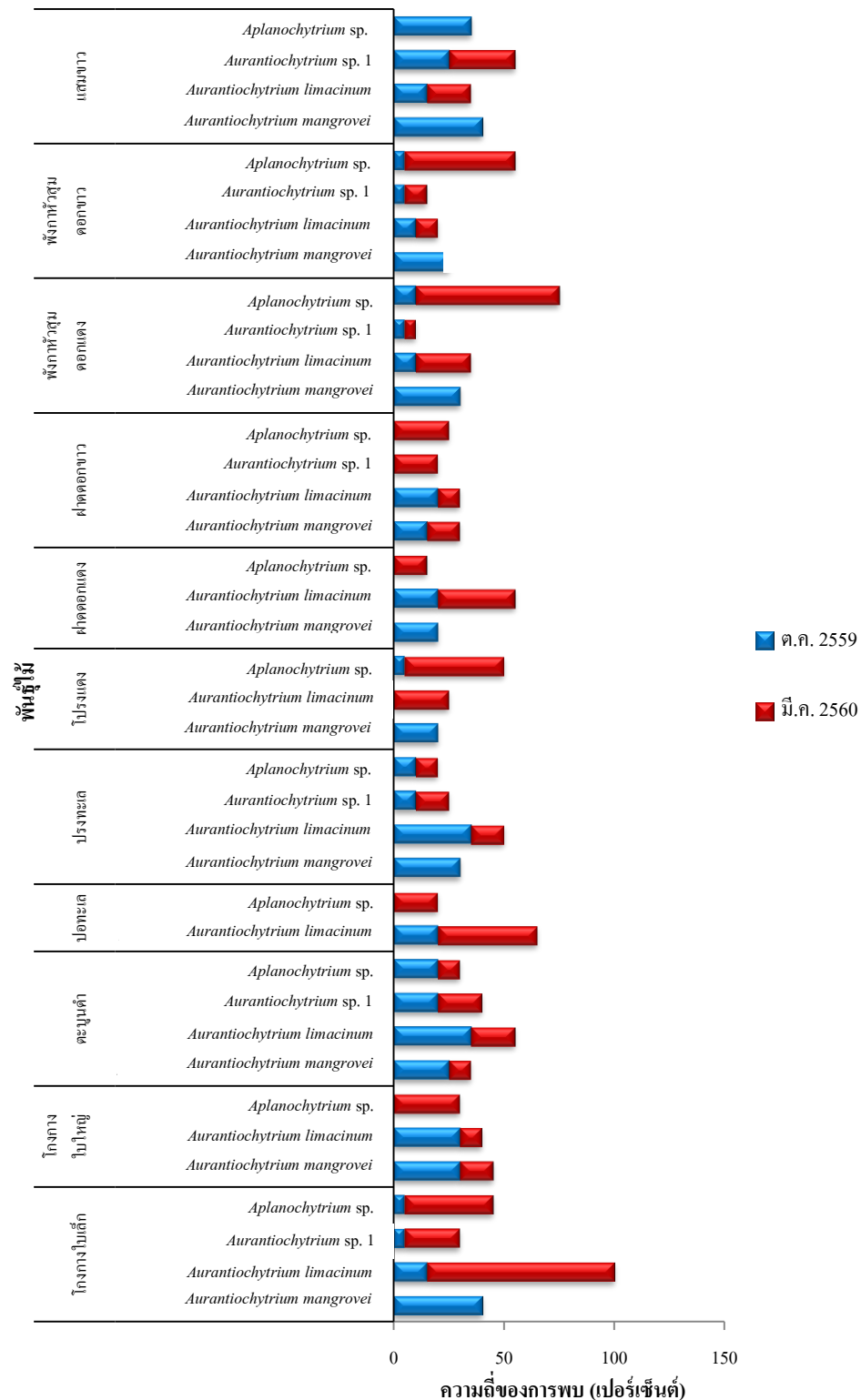
พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคัส และอะพลาโนโคตริคัส	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	
		ต. ค. 2559	มี. ค. 2560
โกงกางใบเล็ก	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	40	-
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	15	85
	<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	5	25
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	5	40
โกงกางใบใหญ่	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	30	15
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	30	10
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	-	30
ตะบูนดำ	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	25	10
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	35	20
	<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	20	20
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	20	10
ปอทะเล	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	20	45
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	-	20
ปรังทะเล	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	30	-
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	35	15
	<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	10	15
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	10	10
โปรงแดง	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	20	-
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	-	25
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	5	45

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่พบเชื้อทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส

ตารางที่ 4-5 (ต่อ)

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคัส และอะพลาโนโคตริคัส	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	
		ต. ค. 2559	มี. ค. 2560
ฝาดดอกแดง	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	20	-
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	20	35
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	-	15
ฝาดดอกขาว	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	15	15
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	20	10
	<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	-	20
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	-	25
พังกาหัวสุ่มดอกแดง	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	30	-
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	10	25
	<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	5	5
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	10	65
พังกาหัวสุ่มดอกขาว	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	25	-
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	10	10
	<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	5	10
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	5	50
แสมขาว	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	40	-
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	15	20
	<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	25	30
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	35	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่พบเชื้อทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส



ภาพที่ 4-10 ความถี่ของทรอสโทโคตริคส์และอะพลาโนโคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ใน เดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560

ชีวมวลของทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส

จากการศึกษาทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสนอน) จังหวัดจันทบุรี เดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560 ทำการเลือกเชื้อทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส โดยเลือกเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารแข็งกลูโคส : ยีสต์สกัด : เปปโตน (GYP) (ภาคผนวก ก) เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จากเชื้อที่คัดแยกได้ในเดือนตุลาคม 2559 ทั้งหมด 146 ไอโซเลท และเดือนตุลาคม 2559 ทั้งหมด 210 ไอโซเลท จากนั้นตรวจคัดกรองเชื้อบนอาหารแข็ง เพื่อเห็นเชื้อได้ชัดเจน แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวกลูโคส : ยีสต์สกัด (GY) (ภาคผนวก ก) เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน เพื่อทำการศึกษาชีวมวลของทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส

ชีวมวลของทออสโทโคตริคัส

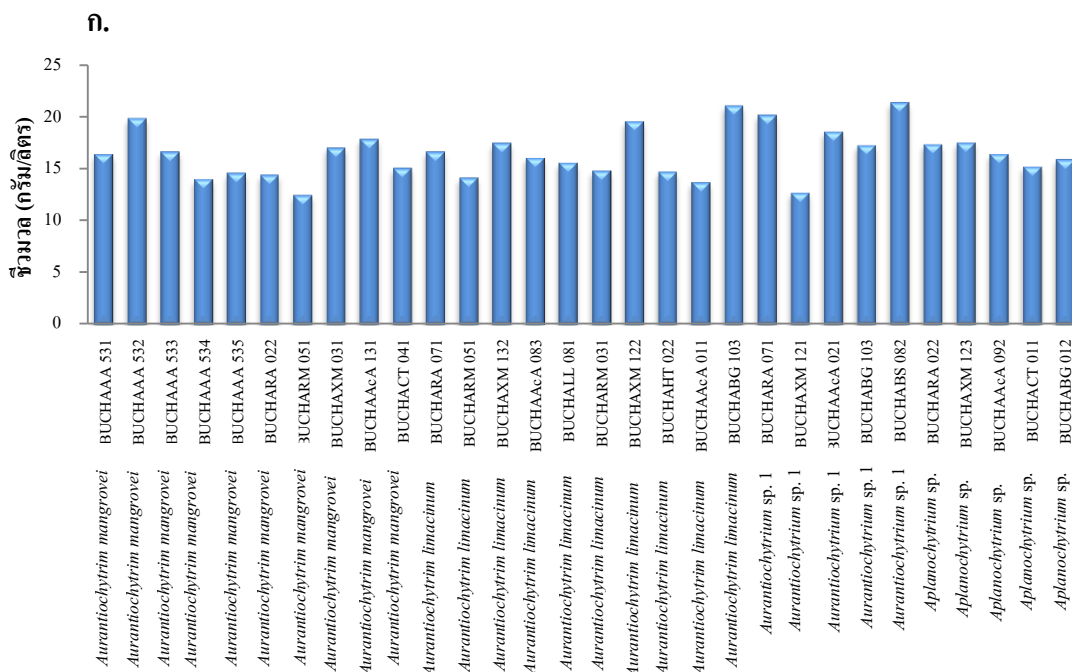
จากการศึกษาชีวมวลของทออสโทโคตริคัส 3 ชนิด ในเดือนตุลาคม 2559 พบว่า *A. mangrovei* มีค่าเฉลี่ยของชีวมวลเท่ากับ 15.35 ± 2.14 กรัม/ลิตร มีชีวมวลอยู่ในช่วง 12.46 – 19.85 กรัม/ลิตร โดย *A. mangrovei* BUCHAAA 532 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 19.85 กรัม/ลิตร และ *A. limacinum* มีค่าเฉลี่ยของชีวมวลเท่ากับ 16.37 ± 2.29 กรัม/ลิตร โดยมีค่าชีวมวลอยู่ในช่วง 13.68 – 21.07 กรัม/ลิตร โดย *A. limacinum* BUCHABG 103 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 21.07 กรัม/ลิตร และ *Aurantiochytrium* sp.1 มีค่าเฉลี่ยของชีวมวลเท่ากับ 18.01 ± 3.36 กรัม/ลิตร โดยมีค่าชีวมวลอยู่ในช่วง 12.70 – 21.37 กรัม/ลิตร โดย *Aurantiochytrium* sp.1 BUCHABS 082 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 21.37 กรัม/ลิตร อีกทั้งยังมีชีวมวลสูงสุดเมื่อเทียบกับ *A. mangrovei* และ *A. limacinum* ดังภาพที่ 4-11 และตารางที่ 4-6

การศึกษาชีวมวลของทออสโทโคตริคัส 3 ชนิด ในเดือนมีนาคม 2560 พบว่า *A. mangrovei* มีค่าเฉลี่ยของชีวมวลเท่ากับ 13.38 ± 2.77 กรัม/ลิตร มีชีวมวลอยู่ในช่วง 8.12–16.89 กรัม/ลิตร โดย *A. mangrovei* BUCHALR 051 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 16.89 กรัม/ลิตร และ *A. limacinum* มีค่าเฉลี่ยของชีวมวลเท่ากับ 15.94 ± 1.23 กรัม/ลิตร โดยมีค่าชีวมวลอยู่ในช่วง 13.70 – 18.72 กรัม/ลิตร โดย *A. limacinum* BUCHARA 163 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 18.72 กรัม/ลิตร และ *Aurantiochytrium* sp.1 มีค่าเฉลี่ยของชีวมวลเท่ากับ 17.57 ± 2.15 กรัม/ลิตร โดยมีค่าชีวมวลอยู่ในช่วง 14.48 – 20.39 กรัม/ลิตร โดย *Aurantiochytrium* sp.1 BUCHARA 202 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 20.39 กรัม/ลิตร อีกทั้งยังมีชีวมวลสูงสุดเมื่อเทียบกับ *A. mangrovei* และ *A. limacinum* ดังภาพที่ 4-11 และตารางที่ 4-6

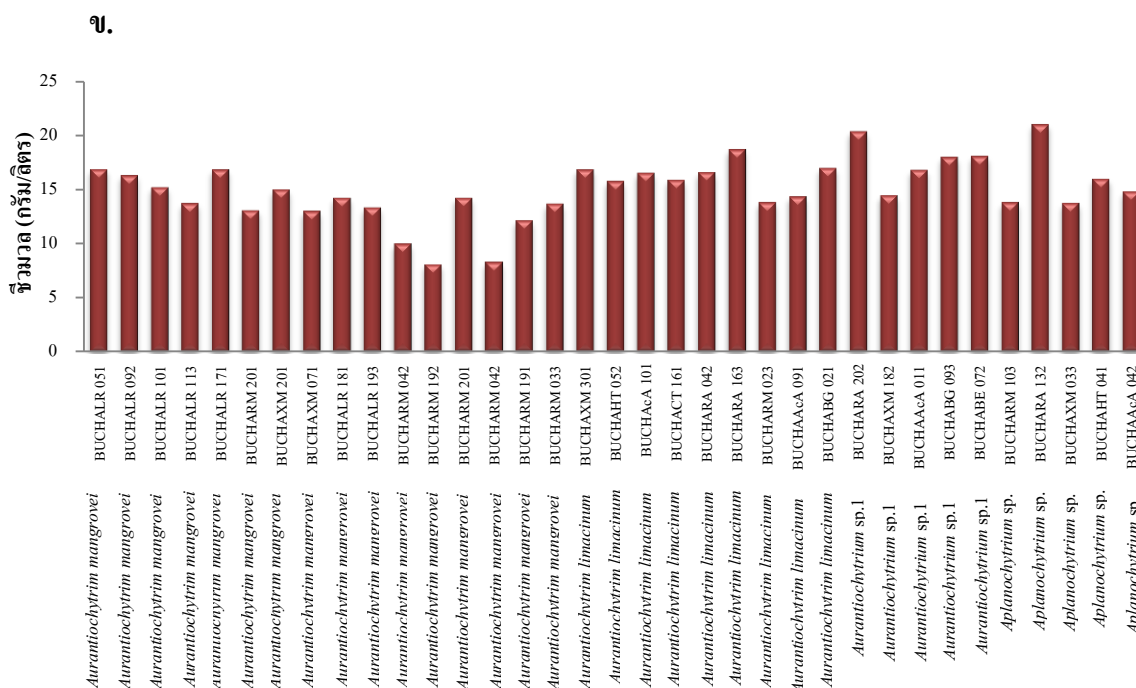
ชีวมวลของอะพลาโนไคตริคัส

จากการศึกษาชีวมวลของอะพลาโนไคตริคัส *Aplanochytrium* sp. ในเดือนตุลาคม 2559 พบว่า *Aplanochytrium* sp. มีค่าเฉลี่ยของชีวมวลเท่ากับ 16.46 ± 0.98 กรัม/ลิตร มีชีวมวลอยู่ในช่วง 15.20–17.51 กรัม/ลิตร โดย *Aplanochytrium* sp. BUCHAXM 123 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 17.51 กรัม/ลิตร ดังภาพที่ 4-11 และตารางที่ 4-6

การศึกษาชีวมวลของอะพลาโนไคตริคัส *Aplanochytrium* sp. ในเดือนมีนาคม 2560 พบว่า *Aplanochytrium* sp. มีค่าเฉลี่ยของชีวมวลเท่ากับ 15.90 ± 3.02 กรัม/ลิตร มีชีวมวลอยู่ในช่วง 13.76–21.06 กรัม/ลิตร โดย *Aplanochytrium* sp. BUCHARA 132 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 21.06 กรัม/ลิตร ดังภาพที่ 4-11 และตารางที่ 4-6



ไอโซเลท



ไอโซเลท

ภาพที่ 4-11 ชีวมวลของทรอสโทโคดริคัสและอะพลาโนโคดริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน

บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในเดือน

ตุลาคม 2559 (ก) และเดือนมีนาคม 2560 (ข) ที่เลี้ยงในอาหารกลูโคส : ยีสต์สกัด (6 : 1)

เขย่าที่ ความเร็ว 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

ตารางที่ 4-6 ชีวมวลของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในเดือน ตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560

ทรอสโทโคตริคัสและ อะพลาโนโคตริคัส	ค่าเฉลี่ยชีวมวล (กรัม/ลิตร)	
	ตุลาคม 2559	มีนาคม 2560
<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	15.35 ± 2.14 (12.46-19.85)	13.38 ± 2.77 (8.12-16.89)
<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	16.37 ± 2.29 (13.68-21.07)	15.94 ± 1.23 (13.70-18.72)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	18.01 ± 3.36 (12.70-21.37)	17.57 ± 2.15 (14.48-20.39)
<i>Aplanochytrium</i> sp.	16.46 ± 0.98 (15.20-17.51)	15.90 ± 3.02 (13.76-21.06)

หมายเหตุ ตัวเลขที่มีค่า ± หมายถึง ค่าเฉลี่ยของชีวมวลของทรอสโทโคตริคัสและ อะพลาโนโคตริคัส ± SD
ค่าในวงเล็บ หมายถึง ช่วงของค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดของชีวมวลของ ทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส

กรดไขมันในทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส

จากการศึกษาปริมาณกรดไขมันในทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส พบว่า กรดไขมันมีหลายชนิด มีทั้งกรดไขมันอิ่มตัวสูงและกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง เช่น C14:0, C15:0, C16:0, C18:0, C20:4-6, C22:5n-3 และ C22:6n-3 เป็นต้น แต่กรดไขมันที่มีความสำคัญ คือ C20:4-6 (เออาร์เอ) C22:5n-3 (ดีพีเอ) และ C22:6n-3 (ดีเอชเอ) ในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560 มี ปริมาณดังนี้

ปริมาณของกรดไขมันในทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกจากเดือนตุลาคม 2559 มีปริมาณ กรดไขมันเออาร์เอ อยู่ในช่วง 0.26-0.49 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.06-0.10 เปอร์เซ็นต์ของกรด- ไขมันทั้งหมด) ดีพีเอ อยู่ในช่วง 22.87-47.62 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (5.43-9.07 เปอร์เซ็นต์ของ กรดไขมันทั้งหมด) และดีเอชเอ อยู่ในช่วง 116.07-193.49 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (26.06-38.35 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) โดยพบ *A. mangrovei* BUCHAAA 532 มีปริมาณของกรดไขมัน เออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.36, 30.28 และ 173.79 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

(0.07, 6.14 และ 35.24 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) *A. limacinum* BUCHAXM 122 มีปริมาณของกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.49, 37.91 และ 185.03 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (0.10, 7.62 และ 37.21 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ)

Aurantiochytrium sp. 1 BUCHARA 071 มีปริมาณของกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.43, 47.62 และ 193.49 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (0.08, 8.60 และ 34.94 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) (ภาพที่ 4-12 และ 4-13 และตารางที่ 4-7 และ 4-9)

ปริมาณกรดไขมันของทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกมาจากเดือนมีนาคม 2560 มีปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อยู่ในช่วง 0.00-0.49 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง (0.00-0.12 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอ อยู่ในช่วง 1.81-31.34 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง (0.00-7.35 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และดีเอชเอ อยู่ในช่วง 6.81-173.95 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง (2.04-33.92 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) โดยพบ *A. mangrovei* BUCHARM 191 มีปริมาณของกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.49, 31.21 และ 144.07 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (0.12, 7.35 และ 33.92 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) *A. limacinum* BUCHAAcA 091 มีปริมาณของกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.34, 31.34 และ 151.81 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (0.08, 6.88 และ 33.31 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) ซึ่งมีปริมาณดีเอชเอใกล้เคียงกับ *A. limacinum* BUCHARM 033 เท่ากับ 151.92 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง (32.98 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) แต่มีปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ น้อยกว่า *A. limacinum* BUCHAAcA 091 เท่ากับ 0.26 และ 27.43 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (0.06 และ 5.96 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) *Aurantiochytrium* sp. 1 BUCHARA 202 มีปริมาณของกรดไขมันเออาร์เอ และดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.43 และ 173.95 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (0.07 และ 29.22 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) แต่ไม่พบกรดไขมันดีพีเอ (ภาพที่ 4-14 และ 4-15 และตารางที่ 4-8 และ 4-10)

จากการศึกษาปริมาณกรดไขมันในอะพลาโนโคไตรดส์ *Aplanochytrium* sp. ที่คัดแยกมาจากเดือนตุลาคม 2559 มีปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อยู่ในช่วง 0.42-0.51 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง (0.09-0.10 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอ อยู่ในช่วง 32.63-37.39 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง (6.86-7.46 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และดีเอชเอ อยู่ในช่วง 134.66-155.10 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง (28.97-32.85 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) พบว่า *Aplanochytrium* sp. BUCHAXM 123 มีปริมาณของกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.42 32.67 และ 155.10 มิลลิกรัม/กรัม-น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (0.09, 6.92 และ 32.85 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) (ภาพที่ 4-12 และ 4-13 และตารางที่ 4-7 และ 4-9)

ส่วนปริมาณกรดไขมันของอะพลาโนไคตริคัส *Aplanochytrium* sp. ในเดือนมีนาคม 2560 มีปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อยู่ในช่วง 0.21-0.45 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.05-0.11 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอ อยู่ในช่วง 9.96-40.57 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (2.96-10.08 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และดีเอสเอ อยู่ในช่วง 49.65-152.24 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (14.76-33.76 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) พบว่า *Aplanochytrium* sp. BUCHARM 103 มีปริมาณของกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอสเอสูงสุดเท่ากับ 0.36, 31.39 และ 152.24 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (0.08, 6.96 และ 33.76 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) *Aplanochytrium* sp. BUCHAHT 041 ไม่พบกรดไขมันเออาร์เอ ส่วนปริมาณดีพีเอ และดีเอสเอมีของกรดไขมันต่ำสุดเท่ากับ 9.96 และ 49.65 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (2.96 และ 14.76 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ) (ภาพที่ 4-14 และ 4-15 และตารางที่ 4-8 และ 4-10)

ตารางที่ 4-7 ปริมาณกรดไขมันเฉลี่ยในทรอสโทโคไตรคส์และอะพลาโนโคไตรคส์ที่คัดแยกจาก
ใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าซอน) จังหวัด
จันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559

Fatty acid	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>		<i>Aurantiochytrium limacinum</i>		<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1		<i>Aplanochytrium</i> sp.	
	mg/g DW	% of Total fatty acid	mg/g DW	% of Total fatty acid	mg/g DW	% of Total fatty acid	mg/g DW	% of Total fatty acid
C 12:0	0.56±0.14	0.12±0.02	0.55±0.09	0.12±0.02	0.60±0.04	0.11±0.00	0.55±0.06	0.11±0.01
C 13:0	0.49±0.04	0.10±0.03	0.33±0.10	0.07±0.02	0.30±0.04	0.06±0.01	0.38±0.08	0.08±0.02
C 14:0	18.31±2.95	3.91±0.52	17.04±1.83	3.83±0.36	17.11±0.83	3.29±0.06	17.11±0.76	3.58±0.15
C 15:0	22.62±1.87	4.86±0.58	17.68±2.75	3.99±0.47	20.03±1.23	3.85±0.09	21.29±0.59	4.45±0.21
C 15:1	0.09±0.02	0.02±0.00	0.08±0.02	0.02±0.00	0.12±0.02	0.02±0.00	0.09±0.01	0.02±0.00
C 16:0	235.91±21.76	50.48±2.40	214.57±15.33	48.41±3.01	235.73±10.42	45.31±1.17	239.89±11.69	50.12±1.51
C 16:1	1.09±0.23	0.23±0.04	1.20±0.17	0.27±0.04	1.51±0.29	0.29±0.06	1.14±0.18	0.24±0.04
C 17:0	5.45±0.44	1.17±0.11	4.92±0.44	1.11±0.08	5.81±0.36	1.12±0.04	5.38±0.52	1.12±0.11
C 17:1	ND	ND	ND	ND	0.04±0.10	0.01±0.02	ND	ND
C 18:0	7.46±0.63	1.60±0.06	6.71±0.48	1.51±0.11	7.68±0.39	1.48±0.06	7.39±0.48	1.54±0.07
C 18:1n-9	0.13±0.08	0.03±0.04	0.09±0.08	0.02±0.02	0.11±0.10	0.02±0.02	0.07±0.06	0.01±0.01
C 18:3n-6	0.23±0.01	0.05±0.00	0.19±0.06	0.04±0.01	0.33±0.03	0.06±0.00	0.31±0.02	0.06±0.00
C 18:3n-3	0.44±0.16	0.09±0.00	0.26±0.19	0.06±0.04	0.50±0.02	0.10±0.00	0.46±0.03	0.10±0.01
C 20:0	1.30±0.08	0.28±0.02	1.02±0.06	0.23±0.02	1.40±0.08	0.27±0.01	1.25±0.08	0.26±0.01
C 20:3n-6	0.49±0.04	0.10±0.01	0.48±0.04	0.11±0.01	0.77±0.08	0.15±0.01	0.60±0.04	0.13±0.00
C 20:4n-6 (ARA)	0.39±0.03	0.08±0.01	0.38±0.05	0.09±0.01	0.42±0.04	0.08±0.01	0.46±0.04	0.10±0.00
C 22:0	0.18±0.28	0.04±0.09	0.48±0.35	0.11±0.08	0.13±0.18	0.03±0.03	0.31±0.38	0.07±0.08
C 20:5n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 22:1n-9	1.99±0.20	0.43±0.08	2.28±0.20	0.51±0.02	2.01±0.25	0.39±0.05	2.17±0.18	0.45±0.02
C 22:5 (DPA)	31.34±2.71	6.71±0.85	28.99±4.16	6.57±0.67	43.63±3.62	8.38±0.55	34.38±2.09	7.18±0.29
C 22:6n-3 (DHA)	138.82±7.51	29.69±2.59	145.49±18.97	32.91±2.57	182.08±9.28	34.99±0.88	145.31±7.37	30.38±1.59
Total unsat fat	143.66	30.73	167.02	36.31	187.91	36.11	150.60	31.48
Total sat fat	323.63	69.27	292.19	63.69	332.43	63.89	327.92	68.52
Total n-3	139.25	29.79	162.17	35.25	182.59	35.09	145.77	30.47
n-3 HUFA	138.82	29.69	161.76	35.16	182.08	34.99	145.31	30.38
Total n-6	1.11	0.24	1.17	0.25	1.53	0.29	1.36	0.28
n-3/n-6	126.08	126.08	138.96	138.96	119.85	119.85	107.17	107.17

หมายเหตุ ND = มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้

ทรอสโทโคไตรคส์และอะพลาโนโคไตรคส์ที่เลี้ยงในอาหารกลูโคส : ยีสต์สกัด (6 : 1)

เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

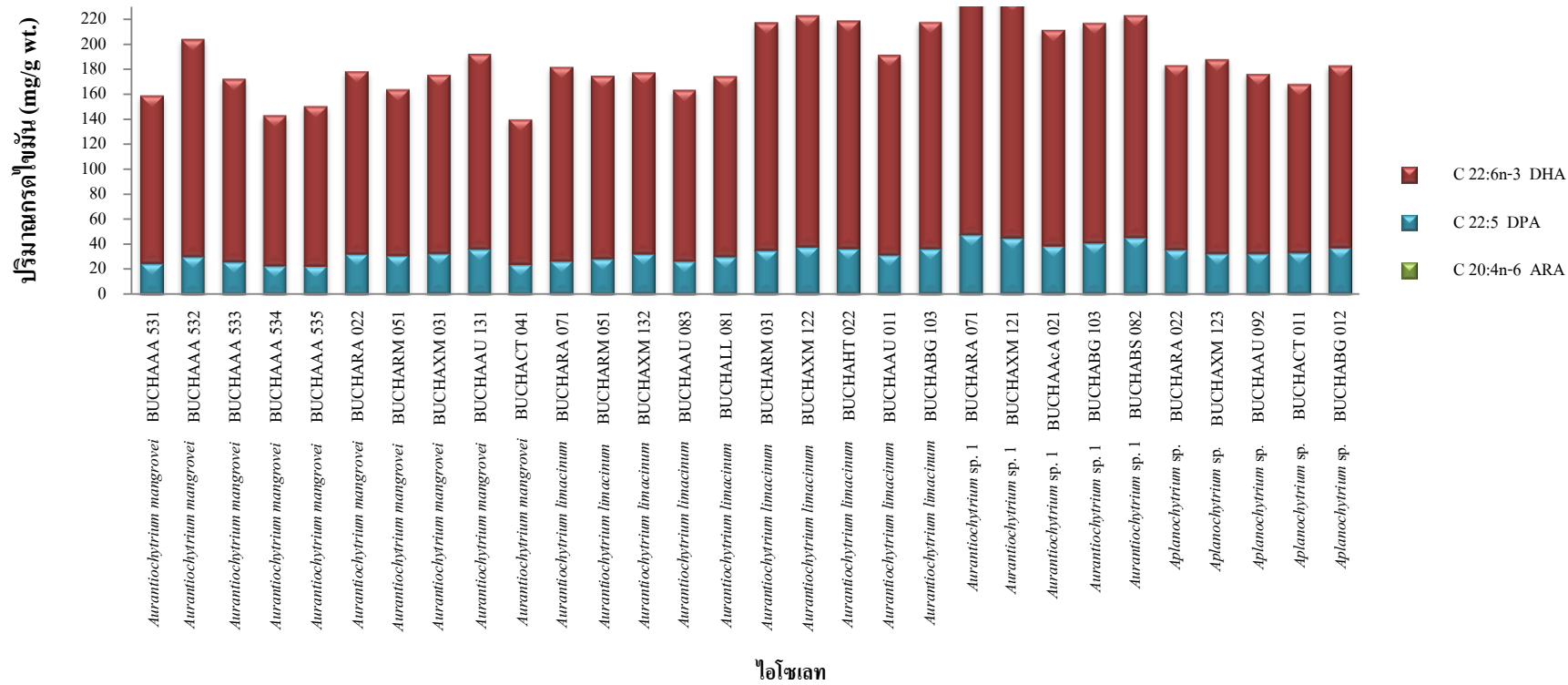
ตารางที่ 4-8 ปริมาณกรดไขมันเฉลี่ยในทรอสโทโคไตรคส์และอะพลาโนโคไตรคส์ที่คัดแยกจาก
ใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัด
จันทบุรี ในเดือนมีนาคม 2560

Fatty acid	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>		<i>Aurantiochytrium limacinum</i>		<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1		<i>Aplanochytrium</i> sp.	
	mg/g DW	% of Total fatty acid	mg/g DW	% of Total fatty acid	mg/g DW	% of Total fatty acid	mg/g DW	% of Total fatty acid
C 12:0	0.58±0.05	0.14±0.02	0.68±0.03	0.17±0.01	0.79±0.09	0.16±0.01	0.67±0.03	0.17±0.02
C 13:0	2.44±0.07	0.61±0.11	2.73±0.06	0.69±0.05	2.39±0.10	0.5±0.07	2.5±0.12	0.64±0.07
C 14:0	17.89±1.26	4.33±0.61	19.61±0.39	4.98±0.34	22.71±2.54	4.72±0.19	18.28±0.69	4.65±0.49
C 15:0	22.24±1.56	5.60±0.90	23.87±1.67	5.99±0.42	19.94±0.053	4.19±0.50	22.65±1.33	5.77±0.70
C 15:1	0.07±0.03	0.02±0.01	0.03±0.02	0.01±0.01	0.05±0.03	0.01±0.01	0.08±0.02	0.02±0.01
C 16:0	244.92±12.82	60.17±9.94	230.98±15.80	58.96±6.85	270.78±24.50	56.53±5.29	213.23±8.69	54.39±7.09
C 16:1	0.91±0.12	0.22±0.03	1.04±0.16	0.26±0.05	1.13±0.25	0.24±0.06	1.10±0.14	0.28±0.04
C 17:0	6.64±0.47	1.67±0.26	5.38±0.34	1.36±0.11	6.05±0.17	1.27±0.17	5.69±0.24	1.45±0.15
C 17:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.02±0.04	0.00±0.01
C 18:0	7.35±0.46	1.80±0.24	6.32±0.45	1.61±0.18	7.85±0.55	1.64±0.17	6.17±0.13	1.57±0.17
C 18:1n-9	0.60±0.18	0.14±0.04	0.70±0.21	0.17±0.05	1.17±0.30	0.24±0.07	0.78±0.13	0.20±0.03
C 18:3n-6	0.16±0.09	0.04±0.02	0.15±0.04	0.04±0.01	0.25±0.05	0.05±0.01	0.26±0.11	0.06±0.02
C 18:3n-3	0.33±0.17	0.08±0.04	0.28±0.08	0.07±0.01	0.45±0.09	0.09±0.01	0.39±0.13	0.10±0.03
C 20:0	1.25±0.09	0.31±0.05	1.03±0.12	0.27±0.03	1.15±0.11	0.24±0.02	1.24±0.06	0.32±0.04
C 20:3n-6	0.30±0.22	0.07±0.05	0.20±0.17	0.04±0.04	0.47±0.08	0.10±0.00	0.37±0.23	0.09±0.06
C 20:4n-6 (ARA)	0.19±0.09	0.04±0.02	0.11±0.13	0.02±0.03	0.31±0.10	0.06±0.01	0.25±0.17	0.06±0.04
C 20:3n-3	0.03±0.00	0.01±0.00	0.02±0.09	ND	ND	ND	ND	ND
C 22:0	0.72±0.14	0.18±0.02	0.62±0.05	0.16±0.01	0.72±0.05	0.15±0.01	0.55±0.31	0.14±0.08
C 20:5n-3	0.01±0.00	ND	0.02±0.00	ND	ND	ND	ND	ND
C 22:1n-9	1.19±0.51	0.27±0.11	1.01±0.39	0.24±0.08	1.53±0.57	0.31±0.08	1.34±0.62	0.33±0.14
C 22:5 (DPA)	18.95±10.05	4.31±20.8	16.53±6.47	3.94±1.25	18.26±11.28	3.98±2.37	24.04±12.10	5.93±2.75
C 24:1n-9	ND	ND	ND	ND	7.19±16.08	1.21±2.70	ND	ND
C 22:6n-3 (DHA)	88.60±45.50	20.01±9.48	88.30±33.51	21.00±6.44	119.50±39.41	24.30±5.07	96.57±37.3	23.83±7.01
Total unsat fat	415.37±66.93	100.00	399.61±25.51	100.00	482.68±67.45	100.00	396.17±40.68	100.00
Total sat fat	92.39±46.80	20.89±9.72	91.86±34.24	21.86±6.56	132.04±53.77	26.61±7.01	101.16±28.15	24.97±7.12
Total n-3	322.98±21.81	79.11±9.72	307.76±10.93	78.14±6.56	350.64±16.13	73.39±7.01	295.01±10.39	75.03±7.12
n-3 HUFA	88.97±45.67	20.09±9.52	88.62±33.58	21.08±6.45	119.95±39.49	24.39±5.08	96.96±37.39	23.93±70.3
Total n-6	88.64±45.50	20.02±9.48	88.34±33.51	21.01±6.44	119.50±39.41	24.30±5.07	96.57±37.30	23.83±70.1
n-3/n-6	0.65±0.39	0.14±0.08	0.45±0.32	0.10±0.07	1.02±0.23	0.21±0.02	0.88±0.50	0.22±0.12

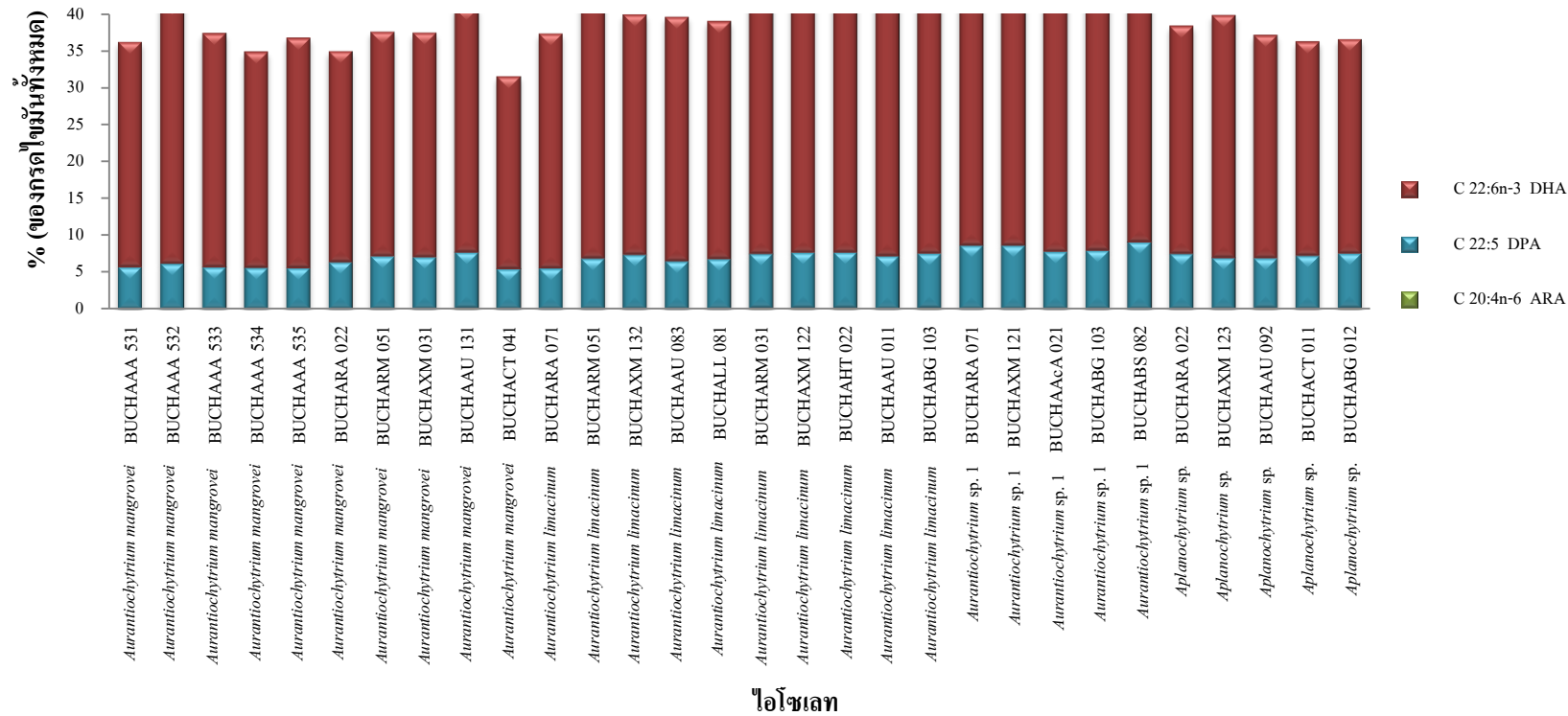
หมายเหตุ ND = มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้

ทรอสโทโคไตรคส์และอะพลาโนโคไตรคส์ที่เลี้ยงในอาหารกลูโคส : ยีสต์สกัด (6 : 1)

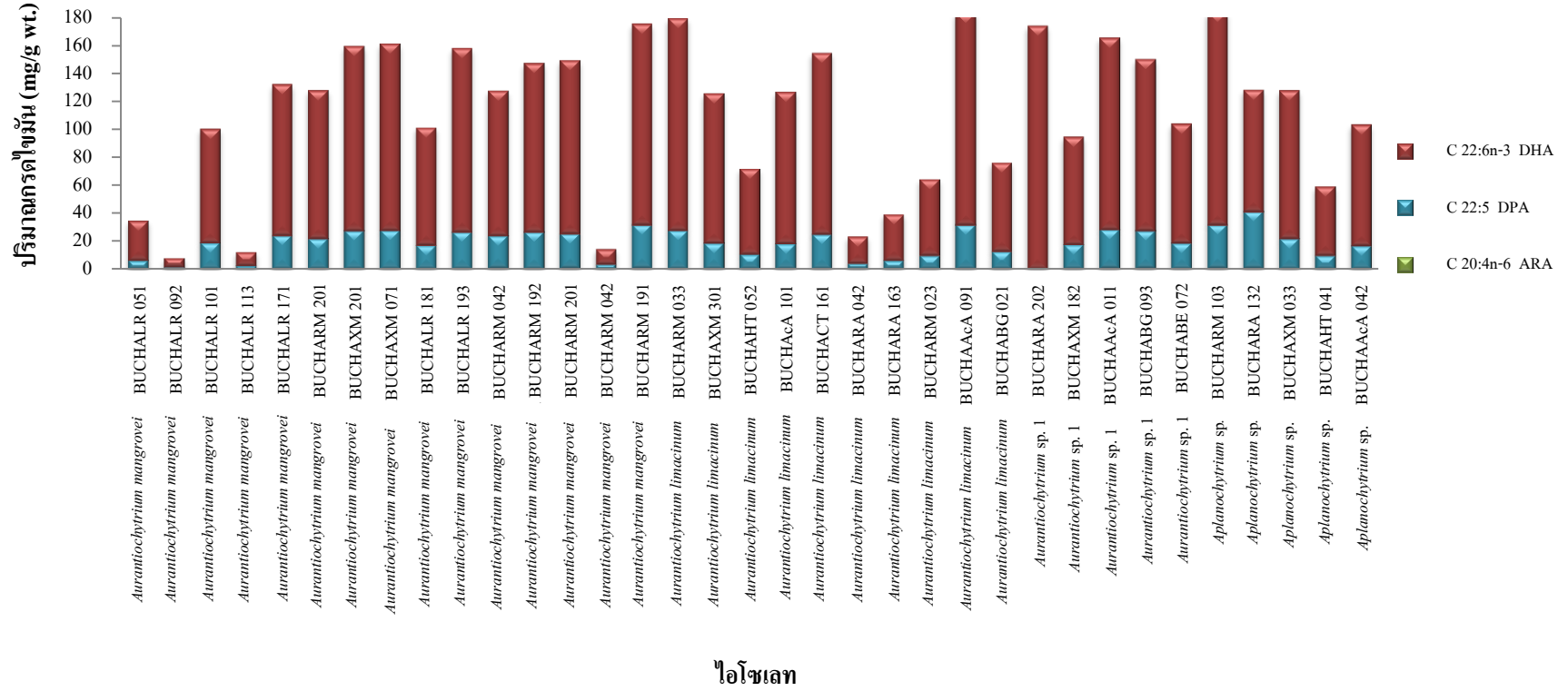
เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน



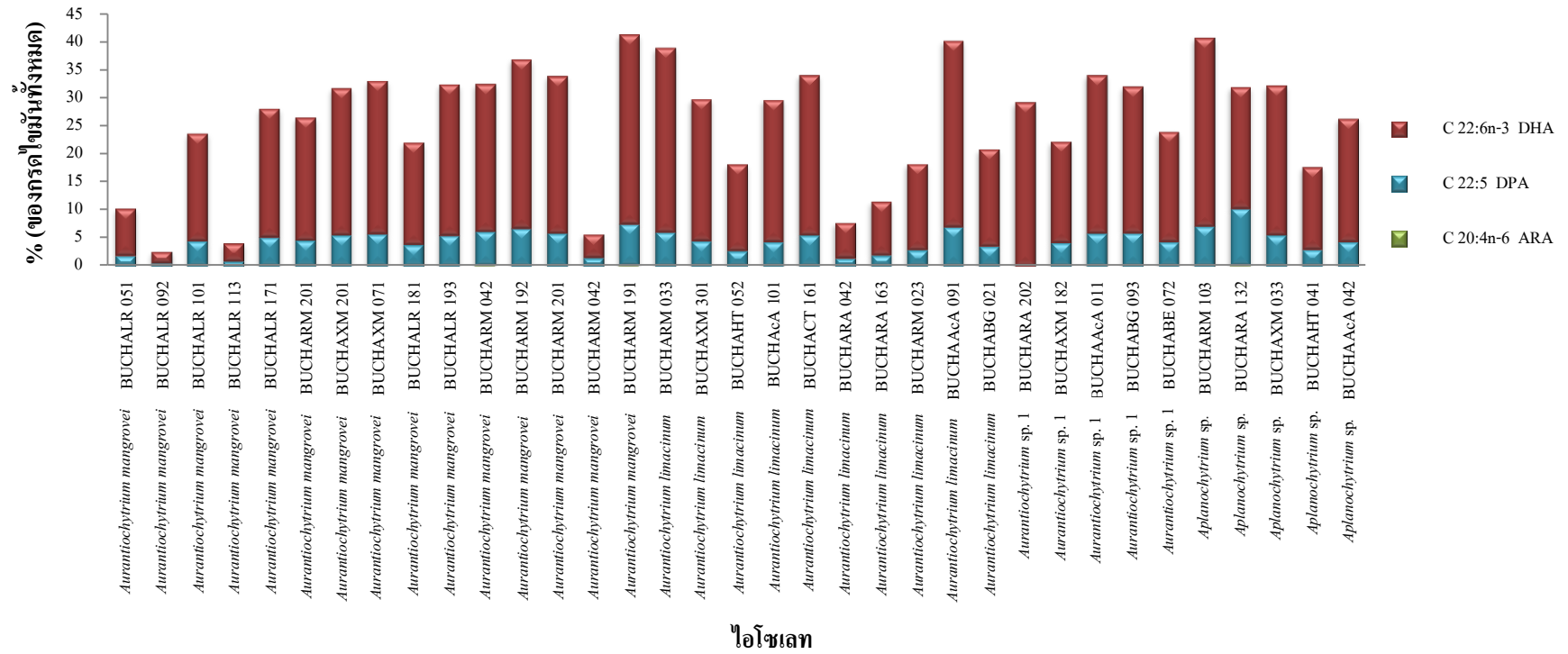
ภาพที่ 4-12 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง) ในทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์สายพันธุ์ที่คัดเลือกมาศึกษาในเดือนตุลาคม 2559



ภาพที่ 4-13 กรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์สายพันธุ์ที่คัดเลือกมา ศึกษาในเดือนตุลาคม 2559



ภาพที่ 4-14 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง) ในทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์สายพันธุ์ที่คัดเลือกมา ศึกษาในเดือนมีนาคม 2560



ภาพที่ 4-15 กรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ (เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์สายพันธุ์ที่คัดเลือกมา ศึกษาในเดือนมีนาคม 2560

ตารางที่ 4-9 ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในเดือนตุลาคม 2559 ที่เลี้ยงในอาหารกลูโคส : ยีสต์สกัด (6 :1) เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

ทรอสโทโคไตรดส์ และอะพลาโนโคไตรดส์	C 20:4n-6 (ARA)		C 22:5n-3 (DPA)		C 22:6n-3 (DHA)	
	ปริมาณกรดไขมัน	% of Total	ปริมาณกรดไขมัน	% of Total	ปริมาณกรดไขมัน	% of Total
	(mg/g wt.)	fatty acid	(mg/g wt.)	fatty acid	(mg/g wt.)	fatty acid
<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	0.39±0.03	0.08±0.01	31.34±2.71	6.71±0.85	138.82±7.51	29.69±2.59
	(0.26-0.47)	(0.06-0.10)	(22.87-36.13)	(5.43-7.12)	(116.07-173.79)	(26.06-35.24)
<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	0.38±0.05	0.09±0.01	28.99±4.16	6.57±0.67	145.49±18.97	32.91±2.57
	(0.35-0.49)	(0.08-0.10)	(26.78-37.91)	(5.49-7.66)	(136.86-185.03)	(31.79-38.35)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	0.42±0.04	0.08±0.01	43.63±3.62	8.38±0.55	182.08±9.28	34.99±0.88
	(0.37-0.48)	(0.07-0.09)	(38.77-47.62)	(7.75-9.07)	(172.75-193.49)	(33.87-36.19)
อะพลาโนโคไตรดส์ <i>Aplanochytrium</i> sp.	0.46±0.04	0.10±0.00	34.38±2.09	7.18±0.29	145.31±7.37	30.38±1.59
	(0.42-0.51)	(0.09-0.10)	(32.63-37.39)	(6.86-7.46)	(134.66-155.10)	(28.97-32.85)

หมายเหตุ ตัวเลขที่มีค่า ± หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ของทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ ± SD

ค่าในวงเล็บ หมายถึง ช่วงของค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดของค่าเฉลี่ยปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ

ตารางที่ 4-10 ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในเดือนมีนาคม 2560 ที่เลี้ยงในอาหารกลูโคส : ยีสต์สกัด (6 : 1) เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

ทรอสโทโคไตรดส์ และอะพลาโนโคไตรดส์	C 20:4n-6 (ARA)		C 22:5n-3 (DPA)		C 22:6n-3 (DHA)	
	ปริมาณกรดไขมัน	% of Total	ปริมาณกรดไขมัน	% of Total	ปริมาณกรดไขมัน	% of Total
	(mg/g wt.)	fatty acid	(mg/g wt.)	fatty acid	(mg/g wt.)	fatty acid
<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	0.19±0.09	0.04±0.02	18.95±10.05	4.31±20.8	88.60±45.50	20.01±9.48
	(0.18-0.49)	(0.04-0.12)	(1.81-31.21)	(0.54-7.35)	(6.81-144.07)	(2.04-33.92)
<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	0.11±0.13	0.02±0.03	16.53±6.47	3.94±1.25	88.30±33.51	21.00±6.44
	(0.20-0.34)	(0.05-0.06)	(4.34-31.34)	(1.40-6.88)	(19.74-151.92)	(6.38-33.31)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. 1	0.31±0.10	0.06±0.01	18.26±11.28	3.98±2.37	119.50± 39.41	24.30±5.07
	(0.20-0.43)	(0.05-0.07)	(17.47-27.98)	(4.09-5.81)	(77.47-173.95)	(18.14-29.22)
อะพลาโนโคไตรดส์ <i>Aplanochytrium</i> sp.	0.25±0.17	0.06±0.04	24.04±12.10	5.93±2.75	96.57±37.3	23.83±7.01
	(0.21-0.45)	(0.05-0.11)	(9.96-40.57)	(2.96-10.08)	(49.65-152.24)	(14.76-33.76)

หมายเหตุ ตัวเลขที่มีค่า ± หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ของทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ ± SD

ค่าในวงเล็บ หมายถึง ช่วงของค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดของค่าเฉลี่ยปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผล

ความหลากหลายของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส

จากการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่น บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ทำการคัดแยกใบไม้ในเดือนตุลาคม 2559 (ฤดูฝน) และเดือนมีนาคม 2560 (ฤดูแล้ง) พบทรอสโทโคตริคัสทั้งหมด 3 ชนิด จำนวน 249 ไอโซเลท ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. 1 โดยแยกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *A. mangrovei* ได้จากลักษณะโคโลนียบนอาหารแข็งที่มีลักษณะค่อนข้างกลม ขาวขุ่นทึบแสง ขอบโคโลนีไม่เรียบ และมีความโค้งมนเล็กน้อย และเลี้ยงในอาหารเหลว GY เป็นเวลา 4 วัน เซลล์มีการตกตะกอนเป็นเม็ดจำนวนมาก เมื่อนำมาส่องใต้กล้อง Inverted Microscope พบว่าเซลล์มีการซ้อนทับกันเป็นชั้นหนา เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวพบว่าเซลล์มีการกระจายเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ และมีที่เกาะกันเป็นกลุ่ม พบอะมิบอยด์เซลล์ในระยะที่จะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเล็กน้อย แตกต่างกับโคโลนีของ *A. limacinum* มีลักษณะค่อนข้างกลม สีขาวขุ่น โคโลนีโค้งมนเล็กน้อย แต่มีลักษณะที่ค่อนข้างเด่นชัดคือ อะมิบอยด์เซลล์จำนวนมากมีการคืบคลานกระจายไปตามอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เห็นขอบโคโลนีมีการแผ่กระจายออกเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 วันขึ้นไป และเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวพบว่า มีการลอยของเซลล์เป็นคราบหนา สีครีม บริเวณผิวหน้าของอาหารเหลว เซลล์มีการกระจายเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ มีการเกาะกลุ่มน้อยมาก แต่พบอะมิบอยด์เซลล์ในระยะที่จะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมจำนวนมาก ส่วน *Aurantiochytrium* sp. 1 ลักษณะโคโลนียบนอาหารแข็งมีสีขาวขุ่นทึบแสง ขอบไม่เรียบ โคโลนีโค้งมนเล็กน้อย แต่เมื่อนำมาส่องใต้กล้อง Inverted Microscope พบว่ามีความแตกต่างจาก *A. mangrovei* และ *A. limacinum* โดยขอบโคโลนีมีการแบ่งเซลล์เป็นจำนวนมาก และเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GY เซลล์มีการเกาะกลุ่มกันเป็นจำนวนมาก และมีลักษณะจับกันเป็นเม็ดตกอยู่บริเวณก้นภาชนะ

ส่วนอะพลาโนโคตริคัสพบ *Aplanochytrium* sp. จำนวนทั้งหมด 107 ไอโซเลท โดยลักษณะโคโลนียบนอาหารแข็งมีสีขาวขุ่น ขอบไม่เรียบ โคโลนีโค้งมน เมื่อนำมาส่องใต้กล้อง Inverted Microscope มีความแตกต่างจาก *A. mangrovei*, *A. limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. 1 ตรงที่ขอบโคโลนีมีการแผ่กระจายของเส้นใยเอกโตพลาสมิกเป็นจำนวนมาก เมื่อนำมาเลี้ยงใน

อาหารเหลว GY มีคราบของเซลล์เกาะบริเวณขอบพลาสติก เมื่อนำมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เซลล์มีการเกาะกลุ่มบ้าง แต่ส่วนใหญ่เซลล์มีการกระจาย และไม่พบส่วนของอะพลาโนสปอร์

การศึกษาค้างนี้พบทรอสโทโคตริคัส 3 ชนิด ได้แก่ *A. mangrovei*, *A. limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. 1 และอะพลาโนโคตริคัส 1 ชนิด คือ *Aplanochytrium* sp. ขณะที่ มยุรา ประยูรพันธ์ (2549) คัดแยกทรอสโทโคตริคัสจากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ พบทรอสโทโคตริคัส 3 ชนิด โดยมีชนิดที่เหมือนกับการศึกษาค้างนี้ 2 ชนิด คือ *A. mangrovei* (*Schizochytrium mangrovei*) และ *A. limacinum* (*S. limacinum*) และต่างกัน 1 ชนิดคือ *Schizochytrium* sp. 8 และไม่พบอะพลาโนโคตริคัสเลย ส่วน คณิษฐา เอี่ยมละออ (2553) คัดแยกทรอสโทโคตริคัสจากใบไม้ป่าชายเลนในจังหวัดสมุทรสาครในเดือนธันวาคม 2550 เดือนเมษายน 2551 และเดือนสิงหาคม 2551 พบทั้งสิ้น 3 ชนิด อยู่ในสกุล *Aurantiochytrium* 2 ชนิดเช่นกันคือ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*) และ *A. limacinum* (*S. limacinum*) และอีก 1 ชนิดคือ *U. visurgensis* แต่ไม่พบอะพลาโนโคตริคัสสำหรับ จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) พบทรอสโทโคตริคัส 4 ชนิด จากใบไม้ป่าชายเลน ที่บางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร คือ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*), *Aurantiochytrium* sp. 2 (*Schizochytrium* sp. 2) และ *U. visurgensis* แต่ไม่พบอะพลาโนโคตริคัสเช่นกัน

สำหรับศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) พบทรอสโทโคตริคัสที่มีความหลากหลายสูงกว่าการศึกษาค้างนี้ โดยจำแนกทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณบ้านเป็ดในจังหวัดตราดได้ 6 ชนิด คือ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *Aurantiochytrium* sp. 1 (*Schizochytrium* sp. 1), *Aurantiochytrium* sp. 2 (*Schizochytrium* sp. 2), *Aurantiochytrium* sp. 6 (*Schizochytrium* sp. 6), *Aurantiochytrium* sp. 8 (*Schizochytrium* sp. 8), *Ulkenia* sp. 1, *Ulkenia* sp. 2, *Ulkenia* sp. 3 และยังพบ *Labyrinthula* sp. ซึ่งอยู่ในอันดับเดียวกันกับทรอสโทโคตริคัส ส่วนสมถวิล จิตตวร, สุดารัตน์ สวนจิตร และเศรษฐวัชร นำศาสตร์ (2552) คัดแยกจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทโคตริคัสจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วนหล่นบริเวณป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา พบทรอสโทโคตริคัส 3 ชนิด ได้แก่ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*) และ *U. visurgensis* แต่ไม่พบอะพลาโนโคตริคัสเช่นกัน ขณะที่ Unagul et al. (2017) คัดแยกทรอสโทโคตริคัสในประเทศไทยจากใบไม้ป่าชายเลนที่เน่าเปื่อยใน 12 จังหวัด พบทรอสโทโคตริคัสจำนวน 4 ชนิด โดยพบทรอสโทโคตริคัสชนิดเดียวกันกับการศึกษาค้างนี้คือ *A. limacinum* นอกจากนี้ยังพบ *Schizochytrium* sp., *Parietichytrium sakarianum* และ *Thraustochytrium* sp. อีกด้วย ส่วน Leander et al. (2004) ศึกษาอะพลาโนโคตริคัสจาก Sweetings Cay Bahamas พบ *Aplanochytrium* sp. SC1-1 เช่นเดียวกับการศึกษาค้างนี้ที่พบ *Aplanochytrium* sp. ดังนั้นความหลากหลายของทรอสโทโค-

ไตรคัลและอะพลาโนไคไตรคัลที่แตกต่างกัน อาจขึ้นอยู่กับความแตกต่างของพื้นที่บริเวณที่ทำกรเก็บใบไม้ และปัจจัยของสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ น้ำ ความเค็ม และแหล่งอาหาร ชนิดของใบไม้ที่แตกต่างกัน (Raghukumar, 2002; Ueda et al., 2015) นอกจากนั้นสภาพเสื่อมโทรมของพื้นที่ แหล่งน้ำ และคุณภาพน้ำของพื้นที่บริเวณนั้นในอดีตอาจเป็นบริเวณที่เสื่อมโทรมและได้รับน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชน น้ำเสียและสิ่งปฏิกูลจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีการระบายลงสู่พื้นที่บริเวณป่าชายเลน มีผลต่อความหลากหลายของทรอสโทไคไตรคัลและอะพลาโนไคไตรคัล (คณิฐา เอี่ยมละออ, 2553)

ความถี่ของการพบทรอสโทไคไตรคัลและอะพลาโนไคไตรคัลที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน

ความถี่ของการพบทรอสโทไคไตรคัลและอะพลาโนไคไตรคัลจากใบไม้ป่าชายเลนในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560 จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเดือนตุลาคม 2559 มีความถี่ของการพบสูงสุดในใบโกงกางใบเล็กและใบแสมขาวอยู่ในช่วง 5-40 เปอร์เซ็นต์ โดยพบ *A. mangrovei* สูงสุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับเดือนมีนาคม 2560 ที่มีความถี่ของการพบสูงสุดในใบโกงกางใบเล็กเช่นเดียวกัน โดยมีความถี่อยู่ในช่วง 25-85 เปอร์เซ็นต์ แต่พบ *A. limacinum* สูงสุด โดยมีความถี่ของการพบเท่ากับ 85 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ กนกสิณี ยิ้มชวน (2550) ศึกษาความหลากหลายของกรดไขมันในทรอสโทไคไตรคัลจากใบไม้ป่าชายเลนแหลม-ผักเบี้ยพบว่าทรอสโทไคไตรคัลในใบโกงกางใบเล็ก แสมทะเล และแสมขาวมีค่าอยู่ในช่วง 35-100 เปอร์เซ็นต์ และ Leano (2001) พบทรอสโทไคไตรคัลในใบไม้ป่าชายเลนหลายชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 85-100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ที่พบทรอสโทไคไตรคัลในใบโกงกางใบเล็กและพังกาหัวสุ่มดอกแดงอยู่ในช่วง 15-75 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าความถี่ของการพบทรอสโทไคไตรคัลและอะพลาโนไคไตรคัลส่วนใหญ่พบในใบโกงกางใบเล็ก พังกาหัวสุ่มดอกแดง พังกาหัวสุ่มดอกขาว และแสมขาว เนื่องจากเป็นใบที่มีลักษณะอวบหนา ทำให้มีความชื้นภายในใบมากกว่าใบที่มีลักษณะบาง เช่นเดียวกับ คณิฐา เอี่ยมละออ (2553) ที่พบว่าใบไม้ที่มีลักษณะใบอวบหนา ได้แก่ โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ แสมทะเล ลำแพน ถั่วขาว แคทะเลและดินเป็ดทะเล มีความถี่ของการพบสูงกว่าใบไม้ที่มีลักษณะบาง เช่น โพทะเล นอกจากนั้น จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) พบว่าทรอสโทไคไตรคัลมีความถี่ของการพบในเดือนพฤศจิกายน 2549 สูงกว่าเดือนมีนาคม 2549 เนื่องจากการเก็บตัวอย่างในเดือนมีนาคม 2549 อากาศแห้ง ความชื้นต่ำ ดินแห้งต่างกับเดือนกรกฎาคม 2549 และเดือนพฤศจิกายน 2549 ที่สภาพอากาศมีความชื้นมีความเหมาะสม

ต่อการเจริญของทออสโทโคตริคัส ซึ่งต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าเดือนมีนาคม 2560 มีความถี่ของการพบสูงกว่าเดือนตุลาคม 2559

การศึกษาความถี่ของการพบทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสจากใบไม้ป่าชายเลนในครั้งนี้ เมื่อพิจารณาจากปัจจัยสภาพแวดล้อมบางประการบริเวณที่ทำการศึกษาค้นพบปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าเท่ากับ 5.53 และ 5.57 มิลลิกรัม/ลิตร มีค่ามากกว่า คณิฐฐา เอี่ยมละออ (2553) ที่ทำการศึกษาในบริเวณที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 2.13-4.56 มิลลิกรัม/ลิตร เนื่องจากเป็นบริเวณที่อยู่ใกล้ชุมชน และมีน้ำเน่าเสียปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าต่ำ แตกต่างกับการศึกษาครั้งนี้ที่ทำการศึกษาในบริเวณป่าชายเลนที่อยู่ห่างจากชุมชน และไม่มีการเน่าเสียของแหล่งน้ำ ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าสูงกว่า ทำให้พบความถี่ของการพบมีความแตกต่างกัน ส่วน ทรงอำนาจ พงษ์สมบูรณ์ (ม.ป.ป.) พบว่าปัจจัยสภาพแวดล้อมบางประการ ได้แก่ อุณหภูมิ อากาศ ความเป็นกรด-เบส ความชื้น เป็นต้น มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และมีผลต่อการเพิ่มจำนวนการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ปัจจัยดังกล่าว ยังพบว่าสีของใบไม้ที่เก็บมาคัดแยกมีผลต่อความถี่ของการพบ ดังการศึกษาของ จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ที่พบว่าใบไม้ป่าชายเลนสีน้ำตาลมีความถี่ของการพบสูงกว่าใบไม้ที่มีสีเขียว อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้พบว่าใบไม้สีน้ำตาล ใบไม้ที่มีการย่อยสลายแต่ไม่เน่าเปื่อยจนเกินไป ใบไม้ที่มีความชื้น และใบไม้ที่ร่วงหล่นในบริเวณที่มีน้ำท่วมถึงตลอดเวลา มีโอกาสพบทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสสูง

ชีวมวลและปริมาณกรดไขมันของทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัส

จากการศึกษาทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสในเดือนตุลาคม 2559 และเดือนมีนาคม 2560 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวกลูโคส : ยีสต์สกัด (6 เปอร์เซ็นต์ : 1 เปอร์เซ็นต์) เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วันพบว่า ทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่มีชีวมวลสูงสุดคือ *Aurantiochytrium* sp. 1 BUCHABS 082 (21.37 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* BUCHABG 103 (21.07 กรัม/ลิตร) สามารถคัดแยกได้จากเดือนตุลาคม 2559 (ฤดูฝน) แต่มีปริมาณน้อยกว่า คณิฐฐา เอี่ยมละออ (2553) ที่คัดแยกได้ *A. limacinum* BUSSBC 052 มีชีวมวลสูงสุด (34.84 กรัม/ลิตร) ในเดือนสิงหาคม 2553

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสพบว่า มีปริมาณกรดไขมันที่แตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาเฉพาะกรดไขมันชนิดเออาร์เอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ปริมาณของกรดไขมันมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน สำหรับทออสโทโคตริคัสและอะพลาโนโคตริคัสที่มีศักยภาพสูงในการผลิตดีเอชเอสูงสุดคือ *Aurantiochytrium* sp.1 BUCHARA 071 มีปริมาณ

ดีเอชเอเท่ากับ 193.49 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (34.94 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ *A. limacinum* BUCHAXM 122 มีปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 185.03 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (37.21 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ซึ่งสูงกว่า *A. limacinum* BUSSAM 041 ที่มีปริมาณดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 121.04 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (30.68 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) (คณิกฐา เอี่ยมละออ, 2553) ในขณะที่ มยุรา ประยูรพันธ์ (2549) พบว่า *A. mangrovei* BUSPRA 081 มีปริมาณดีเอชเอสูงกว่า (180.74 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 48.60 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) แสดงให้เห็นว่าทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์แต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างของชีวมวลและการผลิตกรดไขมันในปริมาณที่แตกต่างกัน

สรุปผลการวิจัย

1. จากการศึกษาคัดแยกทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์จากใบไม้ชนิดต่าง ๆ ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรีในฤดูแล้งและฤดูฝน พบทรอสโทโคไตรดส์ทั้งหมด 249 ไอโซเลท จำแนกได้ 3 ชนิดได้แก่

Aurantiochytrium mangrovei, *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium* sp. 1 และอะพลาโนโคไตรดส์จำนวน 107 ไอโซเลท คือ *Aplanochytrium* sp.

2. ความถี่ของการพบทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ พบว่า มีความถี่ของการพบในเดือนมีนาคม 2560 (ฤดูแล้ง) มากกว่าเดือนตุลาคม 2559 (ฤดูฝน) โดยพบ *A. limacinum* มากที่สุดคือ 10-85 เปอร์เซ็นต์ในใบโกงกางใบเล็ก

3. ทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ที่มีศักยภาพและมีความโดดเด่นสำหรับนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไปคือ *Aurantiochytrium* sp. 1 BUCHARA 071 (ชีวมวลเท่ากับ 20.17 กรัม/ลิตร, ปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 193.49 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (34.94 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)) รองลงมาคือ *A. limacinum* BUCHAXM 122 (ชีวมวลเท่ากับ 19.56 กรัม/ลิตร, ปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 185.03 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (37.21 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)) *A. limacinum* BUCHABG 103 (ชีวมวลเท่ากับ 21.07 กรัม/ลิตร, ปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 181.13 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (37.16 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)) และ *Aurantiochytrium* sp. 1 BUCHABS 082 (ชีวมวลเท่ากับ 21.37 กรัม/ลิตร, ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 177.74 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (35.42 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด))

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาสารสี และองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ เช่น โปรีติน ถ้ำ เขื่อใย และค่าพลังงาน ที่พบในทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลการศึกษาในอนาคตต่อไป

2. ควรมีการศึกษาทรอสโทโคไตรดส์และอะพลาโนโคไตรดส์ในบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี จากแหล่งอื่น ๆ เช่น น้ำทะเล และหญ้าทะเล เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาครั้งต่อไป

บรรณานุกรม

- กนกกลิ่น ยิ้มขวน. (2550). ความหลากหลายและกรดไขมันในทรอสโทโคไตรคส์ที่แยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- คณิกฤษา เอี่ยมละออ. (2553). กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในทรอสโทโคไตรคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดสมุทรสาคร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- จุฬาลักษณ์ จันทบาล. (2550). ความหลากหลายของทรอสโทโคไตรคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ทรงอำนาจ พงษ์สมบุญ. (ม.ป.ป.). อาหารเลี้ยงเชื้อและการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์. เข้าถึงได้จาก http://www.bio.sci.ubu.ac.th/facilities/docs/McMicro_MicroCulture.pdf
- นิธิยา รัตนานนท์. (2545). เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- มยุรา ประยูรพันธ์. (2549). กรดไขมันในทรอสโทโคไตรคส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนอำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2559). โครงสร้างของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า - 3 และโอเมก้า - 6. เข้าถึงได้จาก <https://www.google.co.th/Fatty+n3>
- มนตรี สุมนหา. (2551). เพียงมีวันพุงนี้ของป่าชายเลน. เข้าถึงได้จาก <http://www.talaythai.com/Education/42620237/42620237.php3>.
- วิเชียร ยงมานิตชัย. (2551). สาทร้ายเซลล์เดียวผลิตเป็นอาหารเสริมต้นทุนต่ำ. เข้าถึงได้จาก http://www.dailynews.co.th/web/html/popup_news.
- ศิริวรรณ เนติวานนท์. (2546). บทบาทของไขมันต่อสุขภาพ. วารสารจารย์พา, 11(80), 62-66.
- ศุภพิชญ์ บุญแต่ง. (2548). ความหลากหลายและการจัดจำแนกทรอสโทโคไตรคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน บ้านเปรี๊ดใน จังหวัดตราด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 ชลุม จันทบุรี. (ม. ป. ป.) ป่าชายเลน. เข้าถึงได้จาก <https://www.google.co.th/maps/place>

- สมถวิล จริตควร และ Jones, E. B. G. (2550). จุลินทรีย์ทะเล (*Schizochytrium* sp.) จากป่าชายเลน: แหล่งกรดไขมันเสริมคุณค่าให้อาร์ทีเมีย (*Artemia*). ใน *การประชุมวิชาการระบบนิเวศป่าชายเลนแห่งชาติ “ป่าชายเลน: รากฐานเศรษฐกิจพอเพียงของชุมชนชายฝั่ง”* (หน้า 534-545). เพชรบุรี: โรงแรมฮอติเคย์อินน์ รีสอร์ท ชะอำ.
- สนิท อักษรแก้ว. (2541). *ป่าชายเลนนิเวศวิทยาและการจัดการ*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Alderman, D. J., & Jones, E. B. G. (1971). Physiological requirement of two marine Phycomycetes, *Althornia crochii* and *Ostracoblabe implexa*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57(2), 213-225.
- Alderman, D. J., Harrison, J. L., Bremer, G. B., & Jones, E. B. (1974). Taxonomic revisions in the marine biflagellate fungi: The ultrastructural evidence. *Marine Biology*, 25, 345-357.
- Arafiles, K.H.V., Alcantara, J.C.O., Cordero, P.R.F., Baton, J.A.L., Galura, F.S., Leano, E.M., & Dedeles, G.R. (2011). Cultural optimization of thraustochytrids for biomass and fatty acid production. *Mycosphere*, 2(5), 521-531.
- Bahnweg, G., & Sparrow, F. K. (1972). *Aplanochytrium kerguelensis* gen. nov. spec. nov., a new phycomycete from subantarctic marine waters. *Arch. Mikrobiol*, 81, 45-49.
- Bajpai, P., Bajpai, K., & Ward, P. O. (1991). Production of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium aureum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35, 706-710.
- Barclay, W. R., Meager, K. M., & Abril, J. R. (1994). Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acid utilizing algae and algae-like microorganisms. *Journal of Applied Phycology*, 6, 123-129.
- Bowles, R. D. (1997). *Production of n-3 Polyunsaturated fatty acid by thraustochytrids*. Doctoral Dissertation, Physiology and optimization, University of Portsmouth.
- Bowles, R. D., Hunt, A. E., Bremer, G. B., Duchars, M. G., & Eaton, R. A. (1999). Longchain n-3 Polyunsaturated fatty acid production by members of the marine protistan group the Thraustochytrids: screening of isolates and optimization of docosahexaenoic acid production. *Journal of Biology*, 70, 193-202.

- Damare, V., & Raghukumar, S. (2010). Association of the stramenopilan protists, the aplanochytrids, with zooplankton of the equatorial Indian Ocean. *Mar Ecol Prog Ser*, 399, 53-68.
- Fan, K. W., Chen, F. J., Jones, E. B. G., & Vrijmoed, L. P. (2001). Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acids production by and okara-utilizing potential of *thraustochytrids*. *Journal of Industrial and Biotechnology*, 27, 199-202.
- Fan, K. W., Vrijmoed, L. P. P., & Jones, E. B. G. (2002). Physiology studies of subtropical mangrove thraustochytrids. *Journal Botanica Marina*, 45, 40-57.
- Honda, D. (2001). Phylogeny and taxonomy of labyrinthulids. *Aquabiology*, 132(23), 7-18.
- Honda, D., Yokochi, T., Nakahara, T., Erata, M., & Higashihara, T. (1998). *Schizochytrium limacinum* sp. Nov., a new thraustochytrids from a mangrove area in the west pacific ocea. *Mycol. Res.*, 102(4), 439-448.
- Honda, D., Yokochi, T., Nakahara, T., Raghukumar, S., Nakagiri, A., Schaumann, K., & Higashira, T. (1999). Moleocular phylogeny of labyrinthulids and thraustochytrids based on the sequencing of 18S ribosomal RNA gene. *J Eukaryot Microbiol*, 46, 637-647.
- Hunt, E. A. (2000). *The production of n-3 Polyunsaturated docosahexaenoic acid by member of the marine protistan group the thraustochytrids*. Doctoral Dissertation, Biology Science, University of Potsmouth.
- Jaritkhuan, S. (2002). Thraustochytrids: a new alternative fatty acid source for aquaculture. In K. D. Hyde (Ed.), *Fungi in Marine Environment Fungal Diversity Research Series 7* (pp. 345-357). Hong Kong: City University.
- Jaritkhuan, S., Jones, E. B. G., & Bremer, G. (1998). Thraustochytrids as a food source in aquaculture. In *The Asia – Pacific Mycological Conference on Biodiversity and Biotechnology* (pp. 439-448). Petchaburi: Hua Hin, Thailand.
- Leander, C. (2006). *The Labyrinthulomycota*. Dr. Celeste Lender, Research, Department of Botany University of British Columbia. Retrieved from http://www3.botany.ubc.ca/bleander/Celeste_files/research.html
- Leander, C. A., Porter, D., & Leander, B. S. (2004). Comparative morphology of aplanochytrids (Labyrinthulomycota). *European Journal of Protistology*, 40, 317-328.

- Leano, M. (2001). Straminipilous organism from fallen mangrove leaves from Panay Island, Philippines. *Fungal Diversity*, 6, 75-80.
- Lewis, T. E., Nichols, P. D., & McMeekin, T. A. (1999). The biotechnological potential of thraustochytrids. *Mar Biotechnol*, 1, 580-587.
- Moss, S. T. (1986). The biology of the Thraustochytriales and Labyrinthuloides. In S. T. Moss (Ed.), *The Biology of Marine Fungi* (pp. 105-129). Cambridge: Cambridge University.
- Nagano, N., Taokal, Y., Honda, D., & Hayashi, M. (2000). Optimization of Culture Conditions for Growth & Docosahexaenoic Acid Production by a Marine Thraustochytrid, *Aurantiochytrium limacinum* mh0186. *Journal of Oleo Science*, 58(12), 623-628.
- Naganuma, T., Kimura, H., Karimoto, R., & Pimenov, N. V. (2006). Abundance of planktonic thraustochytrids and bacteria and concentration of particulate ATP in the Greenland and Norwegian Seas. *Polar Biosci*, 20, 37-45.
- Naganuma, T., Takasugi, H., & Kimura, H. (1998). Abundance of thraustochytrids in coastal plankton. *Marine Ecology Progress Series*, 162, 105-110.
- Nakahara, T., Yokochi, T., Hishihara, T., Tanaka, S., Yaguchi, T., & Honda, D. (1996). Production of decosahexaenoic and decosapentaenoic acid by *Schizochytrium* sp. isolate from Yap Island. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 73(11), 1421-1426.
- Olsen, M. W. (2007). *Labyrinthula terrestris*: a new pathogen of cool-season turfgrasses. *Mol Plant Path*, 8, 817-820.
- Perveen, Z., Ando, H., Ueno, A., Ito, Y., Yamamoto, Y., Yamada, Y., Takagi, T., Kaneko, T., Kogame, K., & Okayama, H. (2006). Isolation and characterization of a novel thraustochytrid-like microorganism that efficiently produces docosahexaenoic acid. *Biotechnology Letters*, 28, 197-202.
- Porter, D. (1989). *Handbook of protozoa: Phylum Labyrinthulomycota net slime mold*. n.p.
- Raghukumar, S. (1988). *Schizochytrium mangrovei* sp. nov. a thraustochytrid from mangrove in India. *Transactions of the British Mycological Society*, 9(4), 627-631.
- Raghukumar, S. (2002). Ecology of the marine protists, the Labyrinthulomycetes (Thraustochytrids and Labyrinthulids). *Europ J Protistol*, 38, 127-145.

- Raghukumar, S., Sharma, S., Raghukumar, C., Pathak, S. V., & Chandramohan, D. (1994). Thraustochytrid and fungal component of marine detritus. IV. Laboratory studies on decomposition of leaves of the mangrove *Rhizophora apiculata* Blume. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 183, 113-131.
- Shabala, L., Shabala, S., Ross, T., & Mcmeekin, T. (2001). Membrane transport activity and ultradian ion flux oscillations associated with cell cycle of *Thraustochytrium* sp. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28, 87-99.
- Singh, A., & Ward, O. P. (1996). Production of high yields of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium aureum* ATCC 28210. *J Indust Microbiol*, 16, 370-373.
- Sorgeloos, P., & Leger, P. (1992). Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp and prawn. *J World Aquacult Soc*, 23, 251-264.
- Sparrow, F. K. (1936). Biological observations on the marine fungi of Woods Hole waters. *Biol Bull*, 70, 236-263.
- Takahata, K., Monobe, K., Tada, M., & Weber, P. (1998). The benefits and risks of n-3 polyunsaturated fatty acid. *Biosci Biotechnol Biochem*, 62, 2029-2085.
- Ueda, M., Nomura, Y., Doi, K., Nakajima, M., & Honda, D. (2015). Seasonal dynamics of culturable thraustochytrids (Labyrinthulomycetes, Straminopiles) in estuarine and coastal waters. *Aquat. Microb. Ecol.*, 74, 187-204.
- Unagul, P., Suetrong, S., Preedanon, S., Klayuban, A., Gundool, W., Suriyachadkun, C., & Sakayaroj, J. (2017). Isolation, fatty acid profiles and cryopreservation of marine thraustochytrids from mangrove habitats in Thailand. *Botanica Marina*, 60(4), 363-379.
- Wong, M. K. M., Vrijmoed, L. L. P., & Au, D. W. T. (2005). Abundance of thraustochytrids on fallen decaying leaves of *Kandelia candel* and mangrove sediment in Futian National Nature Reserve. *China Botania Marina*, 48, 374-378.
- Yokochi, T., Honda, D., Higashihara, T., & Nakahara, T. (1998). Optimization of docosahexaenoic acids production by *Schizochytrium limacinum* SR21. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49, 72-76.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงหัวเชื้อ

1. อาหารแข็ง GYP (Glucose, Yeast Extract, Peptone) มีสูตรดังนี้

กลูโคส(Glucose) HIMEDIA	0.1	เปอร์เซ็นต์
ยีสต์สกัด (Yeast extract) HIMEDIA	0.1	เปอร์เซ็นต์
เปปโตน (Peptone) MERCK	0.1	เปอร์เซ็นต์
วุ้น (Agar) HIMEDIA	1	เปอร์เซ็นต์
น้ำทะเลความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดคนให้เข้ากันในน้ำทะเลความเค็ม 15 psu ต้มให้ละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เติมนยาปฏิชีวนะอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 ลิตร เพื่อให้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาปฏิชีวนะเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. อาหารเหลว GY (Glucose, Yeast Extract) มีสูตรดังนี้

กลูโคส	6	เปอร์เซ็นต์
ยีสต์สกัด	1	เปอร์เซ็นต์
น้ำทะเลความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำทะเลความเค็ม 15 psu ปรับความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 6.5 ด้วย 1N HCl หรือ 1M NaOH นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

ยาปฏิชีวนะ บัฟเฟอร์

และ 2 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริก ในเมทานอล

การเตรียมยาปฏิชีวนะ บัฟเฟอร์ และ 2 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริก (Sulfuric Acid) ในเมทานอล (Methanol)

1. การเตรียมยาปฏิชีวนะ (ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีส่วนผสม ดังนี้

เพนนิซิลิน จี (Penicillin G)	3	กรัม
สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (Streptomycin Sulfate)	3	กรัม
น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ	10	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดคนให้เข้ากัน กรอง (Filter Sterile) ด้วยกระดาษกรองขนาดตา 0.23 ไมโครเมตร จากนั้นใส่ลงในขวดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การเตรียม Phosphate Buffer Saline (PBS)

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	8	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	1.21	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.34	กรัม
น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันใส่ในขวดสีชา และเก็บที่อุณหภูมิห้อง

3. การเตรียม 2 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริก (Sulfuric Acid) ในเมทานอล (Methanol)

ต้องการเตรียม 2 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ในเมทานอล (Methanol)

ปริมาตรสุทธิคือ 100 มิลลิลิตร มีขั้นตอนการเตรียม ดังนี้

1. เติมน้ำกลั่น (Methanol) ลงใน Volumetric flask ขนาดปริมาตร 100 มิลลิลิตร สักเล็กน้อย จากนั้นเติมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ลงไป 2 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำกลั่น (Methanol) ลงไปใน Volumetric flask ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดฝา Volumetric flask ให้สนิท เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน แล้วเทใส่ขวดสีชาและเก็บที่อุณหภูมิห้อง

ภาคผนวก ค

การเตรียม Internal Standard

โคโรมาโตแกรมของกรดไขมันมาตรฐาน

(Standard Fatty Acid 37 Component FAME Mix)

และการคำนวณปริมาณกรดไขมัน

การเตรียม Internal Standard

การเตรียม Internal Standard (ความเข้มข้น 0.005 กรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถเตรียมได้ดังนี้

1. ชั่ง Standard fatty acid 19:0 (Nonadecanoic acid) ปริมาณ 0.025 กรัม ใส่ใน Volumetric flask ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
2. เติม Hexane ให้ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
3. ปิดฝาให้สนิท เขย่าเบา ๆ จน Standard fatty acid 19:0 (Nonadecanoic acid) ละลายใน Hexane จนหมด
4. ใช้ Internal Standard ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรต่อ 1 ตัวอย่าง ที่สกัดกรดไขมัน ดังนั้นสามารถคำนวณน้ำหนักของ Internal Standard ต่อ 1 ตัวอย่างได้ดังนี้

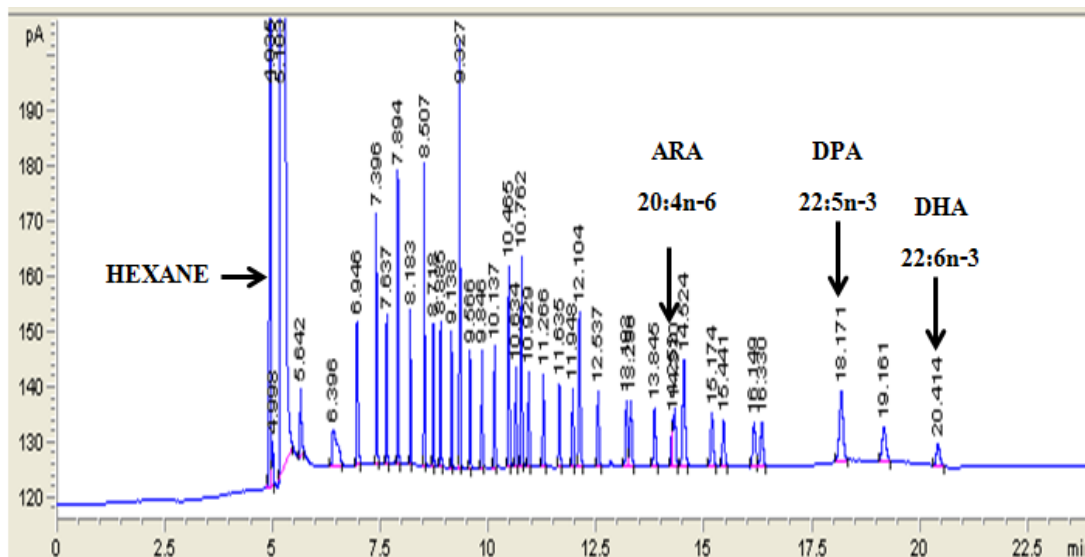
เฮกเซน 5 มิลลิลิตร มี Internal Standard ทั้งหมด 0.0250 กรัม

ถ้าคุณเฮกเซน 0.1 มิลลิลิตร จะมี Internal Standard กี่กรัม

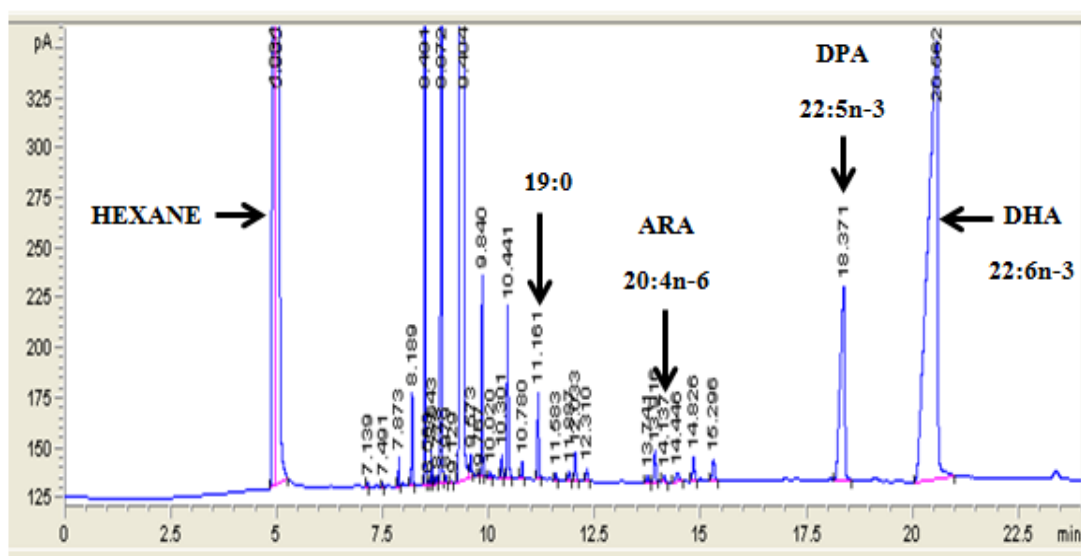
$$= \frac{0.0250 \times 0.1}{5}$$

= 0.0005 กรัม หมายถึง Internal Standard มีน้ำหนักเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม

โครมาโตแกรมของกรดไขมันมาตรฐาน (Standard Fatty Acid 37 Component FAME Mix)



ภาพภาคผนวก ค-1 โครมาโตแกรมกรดไขมันของกรดไขมันมาตรฐาน (Standard Fatty Acid 37 Component FAME Mix)



ภาพภาคผนวก ค-2 โครมาโตแกรมกรดไขมันของ *Aplanochytrium* sp. BUCHAAcA 092

วิเคราะห์จากเครื่อง Gas Chromatography (GC 6890)

```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By           :      Signal
Multiplier          :      1.0000
Dilution            :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: FID1 A.

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	4.934	BV S	0.0313	1.06306e5	5.11168e4	77.44853
2	5.005	VB S	0.0326	1.75392e4	8957.79590	12.77807
3	7.139	BB	0.0297	3.59042	1.84523	0.00262
4	7.491	BB	0.0267	4.05859	2.28690	0.00296
5	7.873	BB	0.0225	20.53938	14.48037	0.01496
6	8.189	BB	0.0269	83.75449	46.65911	0.06102
7	8.491	BV	0.0242	574.96783	367.78824	0.41889
8	8.568	VV	0.0299	4.41483	2.15264	0.00322
9	8.643	VB	0.0256	31.54090	18.79978	0.02298
10	8.778	BV	0.0369	11.15680	4.08375	0.00813
11	8.872	VB	0.0280	696.73773	387.82901	0.50760
12	8.979	BB	0.0294	6.22488	3.10656	0.00454
13	9.129	BB	0.0243	1.88590	1.27123	0.00137
14	9.404	BB	0.0621	6924.26660	1582.15186	5.04462
15	9.573	BB	0.0431	30.73642	10.51639	0.02239
16	9.767	BV	0.0269	2.28796	1.34105	0.00167
17	9.840	VB	0.0285	184.50839	99.99582	0.13442
18	10.020	BB	0.0430	8.04461	2.53748	0.00586
19	10.301	BB	0.0319	21.53427	10.51492	0.01569
20	10.441	BB	0.0353	199.52751	85.25213	0.14536
21	10.780	BB	0.0372	21.72404	8.68725	0.01583
22	11.161	BB	0.0382	107.90401	43.06107	0.07861
23	11.583	BB	0.0363	7.48563	3.19692	0.00545
24	11.887	BB	0.0369	11.84081	4.94911	0.00863
25	12.033	BB	0.0430	39.38725	13.90983	0.02870
26	12.310	BB	0.0425	16.28361	5.85156	0.01186
27	13.741	BB	0.0542	11.64690	3.46855	0.00849
28	13.916	BB	0.0493	50.03273	16.06503	0.03645
29	14.137	BB	0.0534	8.44006	2.50191	0.00615
30	14.446	BB	0.0836	22.95850	4.34998	0.01673
31	14.826	BB	0.0552	43.00470	12.16602	0.03133
32	15.296	BB	0.0601	42.17590	10.66918	0.03073
33	18.371	BB	0.0981	712.77185	96.53135	0.51928
34	20.562	BB	0.1958	3509.58887	219.21426	2.55688

```
Totals :                      1.37260e5  6.31618e4
```

```

=====
*** End of Report ***

```

ภาพภาคผนวก ก-3 ผลโครมาโตแกรมกรดไขมันของ *Aplanochytrium* sp. BUCHAAcA 092 ในเดือนมีนาคม 2560 วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC 6890)

การคำนวณหาปริมาณกรดไขมัน

การคำนวณหาปริมาณกรดไขมัน สามารถคำนวณโดยใช้โครมาโตแกรมที่วิเคราะห์จากเครื่อง Gas Chromatography (GC 6890) ดังภาพภาคผนวก ค-2 และ ค-3 โดยคำนวณจากพื้นที่ใต้พีค (Peak Area) ของกรดไขมันที่ต้องการทราบปริมาณกรดไขมัน จากนั้นนำมาเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้พีคของกรดไขมันมาตรฐานดังภาพภาคผนวก ค-1 มีสูตรการคำนวณ ดังนี้

1. การคำนวณปริมาณดีเอสเอหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง (mg/ g dry weight)

$$= \frac{(\% \text{ Area ดีเอสเอ} \times \text{น้ำหนัก Internal Standard (mg)})}{(\% \text{ Area Internal Standard} \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)})}$$

2. การคำนวณร้อยละกรดไขมันดีเอสเอต่อกรดไขมันทั้งหมด (% of Total Fatty Acid)

$$= \frac{\text{ปริมาณกรดไขมันดีเอสเอ (มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง)}}{\text{ปริมาณกรดไขมันรวมทั้งหมด (มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง)}} \times 100$$

* ปริมาณกรดไขมันรวมทั้งหมด (มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง)

$$= \frac{(\% \text{ Area ไขมันทั้งหมด}^{**} \times \text{น้ำหนัก Internal Standard (mg)})}{(\% \text{ Area Internal Standard} \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)})}$$

** % Area กรดไขมันทั้งหมด คำนวณได้โดย

$$= \text{ผลรวมของ \% Area กรดไขมันทั้งหมด}$$

3. จำนวนผลผลิตกรดไขมันดีเอสเอ (มิลลิกรัม/ ลิตร)

$$= \text{ปริมาณกรดไขมันดีเอสเอ (มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง)} \times \text{ชีวมวล (กรัม/ ลิตร)}$$