

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชุดินทรีย์ทะเล: แหล่งทางเลือกใหม่ของกรดไขมันไม่อิมตัวสูง

Marine Microbes:

New Alternative Source of Highly Unsaturated Fatty Acids

สมถวิล จริตควร รัตนาการณ์ ศรีวิบูลย์ และ วิภาณิช มัณฑะจิตร

๘๐๐๐๒๖๓๒๕

๓๐ ส.ค. ๒๕๔๘

๑๙๐๖๗๑

ทุนอุดหนุนการวิจัย

งบประมาณแผ่นดิน ปีการศึกษา ๒๕๔๕

มหาวิทยาลัยบูรพา

## บทคัดย่อ

ได้ทำการคัดแยกจุลินทรีย์ทະเลจากตัวอย่างน้ำบริเวณแนวปะการังจากเกาะมันใน จังหวัดระยอง เกาะเตี้ย จังหวัดชลบุรี และเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี และจากตัวอย่างในหมู่ทะเล จากอ่าวศักดิ์สิทธิ์ จังหวัดชั้นทบูรี อ่าวมะขามป้อม จังหวัดระยอง อ่าวสัตหีบ และเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ผลปรากฏว่า พบยีสต์จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณแนวปะการังทั้งสิ้น 7 ชนิด ได้แก่ *Saccharomyces* sp.1, *Saccharomyces* sp.2, *Saccharomyces* sp.3, *Kloeckera* sp., *Nadsonia* sp., *Zygosaccharomyces* sp.2, *Zygosaccharomyces* sp.1 เมื่อวิเคราะห์กรดไขมันในยีสต์พบทั้งกรดไขมันอิมมัตและไม่อิมมัต โดยพบว่า *Kloeckera* sp. ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDB ผลิตกรดไขมัน Palmitic acid (C16:0) ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 30.19 ของกรดไขมันทั้งหมด *Saccharomyces* sp.2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร SB ผลิตกรดไขมัน C18:1 n-9 ได้สูงสุดร้อยละ 47.73 ของกรดไขมันทั้งหมด *Zygosaccharomyces* sp.2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร SB ผลิตกรดไขมัน C18:2 n-6 ได้มากที่สุดร้อยละ 28.17 ของกรดไขมันทั้งหมด และ C18:3 n-6 พบสูงสุดใน *Saccharomyces* sp.3 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร SB (3.45 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนดีเอชเอ (C22:6 n-3) พบสูงสุดใน *Saccharomyces* sp.2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM (2.38 % ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับ จุลินทรีย์ทະเลในกลุ่มทรอสโตริกิทิด (Thraustochytrids) พบทั้งสิ้น 30 isolates จากตัวอย่างน้ำทะเล บริเวณเกาะเต่า แต่ไม่สามารถแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และเลี้ยงต่อได้ ส่วนในหมู่ทะเลไม่พบจุลินทรีย์ทະเล ในกลุ่ม Thraustochytrids

## ABSTRACT

Marine microbes from the coral reef area of Ko Man Nai , Rayong Province; Ko Sri Chang, Chon Buri Province; and Ko Toa, Surattani Province and seagrass leaves from Kung Kra Ben Bay, Chantaburi Province; Ma Kam Pom Bay, Rayong Province; Sataheep Bay and Ko Samarsarn, Chon Buri Province, were isolated by screening test for polyunsaturated fatty acids. The results showed that 7 species of yeasts were found from water samples of coral reef area : *Saccharomyces* sp.1, *Saccharomyces* sp.2, *Saccharomyces* sp.3, *Kloeckera* sp., *Nadsonia* sp., *Zygosaccharomyces* sp.2, *Zygosaccharomyces* sp.1. Fatty acid compositions of isolated yeasts were found both saturated fatty acids and unsaturated fatty acids. *Kloeckera* sp. cultured in PDB medium had the highest amount of Palmitic acid (C16:0) which found to be 30.19% of total fatty acids while the highest content of oleic acid (C18:1 n-9) was accumulated in *Saccharomyces* sp.2 reared with SB medium comprised 47.73 % of total fatty acids. *Zygosaccharomyces* sp.2 in SB medium had the highest amount of linoleic acid (C18:2 n-6) containing 28.17 % of total fatty acids. However, *Saccharomyces* sp.3 in SB medium produced the highest amount of linolenic acid (C18:3 n-6) at 3.45 % of total fatty acids and the highest DHA (C22:6 n-3) proportion was produced by *Saccharomyces* sp.2 reared with YM medium (2.38 % of total fatty acids). Thirty isolates of thraustochytrid were found from Ko Toa, Surattani Province but their culture could not be maintained and also no thraustochytrid group was found from seagrass leaves.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย จากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยบูรพา  
ผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณอาจารย์นรินทร์รัตน์ คงจันตรี คุณมยุรา ประยูรพันธ์ คุณลดา เชาว์เรืองฤทธิ์  
คุณขวัญใจ บุญแต่ง คุณนานาภรณ์ สุขสุนทร คุณอัญชลี จันทร์คง และคุณรณวนิช บุญประกอบ ที่ช่วยในการ  
เก็บตัวอย่างและศึกษาในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ภาควิชาฯ ศาสตราจารย์ที่อ่านวิทยานิพนธ์ใน  
การใช้อุปกรณ์ต่างๆ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	๙
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๑
กิตติกรรมประกาศ	๑
สารบัญ	๗
สารบัญตาราง	๘
สารบัญรูป	๙
<b>บทที่ ๑ บทนำ</b>	<b>๑</b>
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	๒
สมมุติฐานของการศึกษา	๒
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	๒
สถานที่ทำการทดลอง	๒
ขอบเขตของการวิจัย	๒
<b>บทที่ ๒ เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา</b>	
ลิปิด	๔
ชนิดของลิปิด	๔
กรดไขมัน	๕
การผลิตกรดไขมัน	๖
กรดไขมันจากกลินทรี	๑๒
กรดโทโคทิริด (Thraustochytrids)	๑๕
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	๑๗
ยีสต์	๑๘
ลิปิดในยีสต์	๑๙
ปัจจัยการเจริญเติบโตต่อปริมาณของลิปิดในเซลล์ยีสต์	๒๒
การกระจายของลิปิดในเซลล์ยีสต์	๒๒
การสร้างกรดไขมันในยีสต์	๒๓
ยีสต์ในระบบนิเวศทางทะเล	๒๔
การแยกเชื้อยีสต์	๒๔

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การจัดทำแบบเรียนเชิงปฏิสัมพันธ์	24
<b>บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ</b>	<b>27</b>
สารเคมี	27
วิธีการทดลอง	29
1. การเก็บตัวอย่าง	29
2. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ทะเล	30
3. การวิเคราะห์กรดไขมัน	31
<b>บทที่ 4 ผลการทดลอง</b>	<b>33</b>
1. จุลินทรีย์ทะเลที่แยกจากตัวอย่างน้ำบริเวณแนวปะการังและเมือกที่ขุด จากก้อนปะการัง	33
2. จุลินทรีย์ทะเลที่แยกจากตัวอย่าง หญ้าทะเล	36
3. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการในบริเวณที่เก็บตัวอย่าง	40
<b>บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง</b>	<b>41</b>
อภิปรายผลการทดลอง	41
สรุปผลการทดลอง	43
ข้อเสนอแนะ	44
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	<b>45</b>

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 กรณีมันอิ่มตัวชนิดต่างๆ	5
2 กรณีมันไม่อิ่มตัวชนิดต่างๆ	6
3 ปริมาณกรณีมันไม่อิ่มตัวในราชันค่า	14
4 ยีสต์ที่พบจากตัวอย่างน้ำทะเลขและเมือกที่ขุดจากก้อนปะการัง	32
5 ลักษณะรูปร่างของยีสต์ที่พบ ณ สถานีต่างๆ	33
6 ผลการทดสอบการเจริญของยีสต์ในอาหาร Glucose / Nitrate Agar และ Glucose / Yeast Extract Broth	34
7 การเจริญของยีสต์ในอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB), Yeast and Mold (YM), Czapecdox Broth (CZB) และ Sabourand Broth (SB)	35
8 กรณีมันในยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน	37
9 คุณภาพน้ำทะเลขบริเวณปะการังและแหล่งหญ้าทะเลขในบริเวณที่ทำการศึกษา	40

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 เอนไซม์ fatty acid synthetase complex กับการสังเคราะห์กรดไขมัน	7
2 ปฏิกิริยา activation และการนำกรดไขมันเข้าไนโตกอนเดรีบ	8
3 การเกิดนีต้า – ออกซิเดชั่นของกรดไขมันเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง	9
4 Desaturation- Elongation pathway ของกรด Acetic ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )	10
5 Elongation and desaturation pathways ของกรดไขมัน n-7, n-9, n-6 and n-3 ที่ถูกสร้างขึ้นในสัตว์	11
6 แหล่งส่วนของกรดไขมันในสัตว์	16
7 วงจรชีวิตของกรดไขมันในสัตว์	16