

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131
รายงานวิจัย

ประจำปีงบประมาณ 2556

ศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเล: แหล่งกรดไขมันชนิดจำเป็น

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

ภายใต้แผนงานวิจัยเรื่อง

จุลินทรีย์ทะเล: แหล่งใหม่ของสารตัวยาและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

ณิชา ลีรนนันทนา

จารุพันธ์ ประทุมยศ

จันทร์จรัส วัฒนะโชติ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ผ่านงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

0165065

- 4 ๒๕.๕. 2557

334227

เริ่มบริการ

23 ก.ค. 2557

ศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเล: แหล่งกรดไขมันชนิดจำเป็น

ณิชา สิริพนธ์นา จารุนันท์ ประทุมยศ และจันทร์จิรา วัฒนะโชติ

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำจากยีสต์ 6 ชนิดที่คัดแยกจากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี จากแอคทีโนมัซีท 20 ชนิดคัดแยกจากดินตะกอนในจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี นครศรีธรรมราช และจากแอคทีโนมัซีทคัดแยกจากฟองน้ำทะเลในจังหวัดนครศรีธรรมราช 2 ชนิด เมื่อเลี้ยงยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM และอาหารกากขานอ้อยที่ความเค็ม 30 พีพีทีเป็นระยะเวลา 120 ชม. พบว่ายีสต์ทุกชนิดมีการผลิตกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารกากขานอ้อยมีการสะสมกรดไขมันที่จำเป็นชนิด linoleic acid; C18:2n6 และ α -linolenic acid; C18:3n3 มากที่สุด โดยการเลี้ยงด้วยอาหารกากขานอ้อยมีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:3n3 สูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหาร YM (7.63 ± 0.05 % และ 5.92 ± 0.05 %) ตามลำดับ แต่มีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:2n6 น้อยกว่า (19.91 ± 0.21 % และ 23.90 ± 0.94 %) ตามลำดับ และเมื่อทำการเลี้ยงยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ในอาหารกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที เป็นเวลา 216 ชั่วโมงและเก็บตัวอย่างยีสต์วิเคราะห์กรดไขมันทุก 24 ชั่วโมง พบว่าการเลี้ยงในทุกระดับความเค็มเป็นระยะเวลา 72 และ 120 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 สูงสุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยยีสต์ที่เลี้ยงที่ความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:2n6 สูงสุด (22.58 ± 1.24 %) แสดงว่าระดับความเค็มที่ต่ำมีผลให้ยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารกากขานอ้อยผลิตกรดไขมันที่จำเป็นชนิด C18:2n6 ได้ดีขึ้น เมื่อทำการเลี้ยงแอคทีโนมัซีทในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 เป็นระยะเวลา 7-14 วัน พบว่าแอคทีโนมัซีททุกชนิด ยกเว้น PL 2-2, PL 4-6 และ WN- POR-02-1 มีกรดไขมันอิ่มตัวชนิด palmitic acid; C16:0 เป็นองค์ประกอบหลักโดยพบในปริมาณสูงสุดประมาณ 22.92% สำหรับแอคทีโนมัซีท PL 2-2, PL 4-6 และ WN- POR-02-1 มีกรดไขมันที่จำเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิด C18:2n6 ในปริมาณสูงสุด โดยแอคทีโนมัซีท PL 2-2 มีปริมาณของกรดไขมันที่จำเป็นชนิด C18:2n6 และ C18:3n3 สูงสุดเท่ากับ 37.38 ± 0.27 % และ 4.07 ± 0.09 % ตามลำดับ รองลงมาคือแอคทีโนมัซีท PL 4-6 พบกรดไขมันชนิด C18:2n6 และ C18:3n3 เท่ากับ 36.26 ± 0.88 % และ 2.75 ± 0.14 % ตามลำดับ สำหรับแอคทีโนมัซีทที่คัดแยกจากฟองน้ำพบกรดไขมันที่จำเป็นชนิด C18:2n6 และ C18:3n3 เฉพาะในตัวอย่าง WN POR 02-1 ปริมาณ 28.61 ± 0.17 % และ 2.02 ± 0.32 % ตามลำดับ

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

Nisa Siranonthana Jarunan Pratoomyot and Janjarus Wattnachot

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

Abstract

The essential fatty acid profile and quantities found in a range of aquatic species were determined within the current study. These included six yeasts isolated from seawater collected at Bangsaen Beach, Chon buri, 20 actinomycetes isolated from mangrove sediments in Chanthaburi, Chon Buri and Nakhon Sri Thammarat, and, from two actinomycetes isolated from two marine sponges collected from Nakhon Sri Thammarat, Thailand.

The yeasts were cultured in either yeast extract-malt extract (YM) media or in sugar cane bagasse (SCB) media containing 30 ppt salt for 120 h. All the yeasts were found to produce both saturated and unsaturated fatty acids. Of the yeasts, sample "BS 6-2" which was cultured in the SCB media had the highest concentrations of the essential fatty acids, linoleic acid (C18:2 n-6) and α -linolenic acid (C18:3 n-3). The levels of C18: 3n-3 found in BS 6-2 in this media were higher than those found when cultured in YM media, *i.e.* $7.63 \pm 0.05\%$ versus $5.92 \pm 0.05\%$ respectively. The BS 6-2 yeast cultured in SCB media, however, contained a lower amount of C18: 2n-6 than that grown in YM media, *i.e.* $9.91 \pm 0.21\%$ versus $23.90 \pm 0.94\%$ respectively. The culture of BS 6-2 in SCB media containing either 25, 30 or 35 ppt salt were assessed every 24 h over a period of 216 h. In each culture, the C18:2 n-6 content was highest between 72 and 120 h, with levels in the 25 ppt media being slightly higher ($22.58 \pm 1.24\%$).

All the actinomycete samples were cultured in an ISP-2 media for a period of 7-14 days, after which the fatty acid composition of each was determined. The study found that the saturated fatty acid palmitic acid (C16: 0) was the main component (approximately 22.92 %) in all but three of the actinomycete samples. The main component of the three exceptions, samples "PL 2-2", "PL 4-6" and "WN-POR 02.1", was the polyunsaturated fatty acid C18: 2n-6. The highest levels of C18: 2n-6 and C18: 3n-3 were found in sample PL 2-2 ($37.38 \pm 0.27\%$ and $4.07 \pm 0.09\%$, respectively) and in sample PL 4-6 ($36.26 \pm 0.88\%$ and $2.75 \pm 0.14\%$, respectively).

When the fatty acid composition of the actinomycetes isolated from the two marine sponges were analysed, high levels of C18: 2n-6 and C18: 3n-3, *i.e.* $28.61 \pm 0.17\%$ and $2.02 \pm 0.32\%$, respectively, were found only in sample WN-POR 02-1.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยบูรพาประจำปี 2556 ซึ่งคณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณเป็นอย่างมาก ตลอดจนเจ้าหน้าที่สถาบันวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่มีส่วนช่วยทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	1
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
อุปกรณ์และวิธีการ	31
ผลการทดลอง	36
อภิปรายผลและสรุปผลการศึกษา	62
เอกสารอ้างอิง	70
ภาคผนวก	77

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 การเขียนสัญลักษณ์กรดไขมัน	8
ภาพที่ 2 การสังเคราะห์กรดไขมัน	14
ภาพที่ 3 ขั้นตอนการสลายกรดไขมัน	15
ภาพที่ 4 กระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชัน	19

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 กรดไขมันอิ่มตัวชนิดต่างๆ	9
ตารางที่ 2 กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดต่างๆ	11
ตารางที่ 3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่เกิดโดยแอคติโนแบคทีเรีย	23
ตารางที่ 4 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM	36
ตารางที่ 5 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM	37
ตารางที่ 6 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหารกากขานอ้อยที่ ความเค็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง	38
ตารางที่ 7 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ กากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 24 ชั่วโมง;%TFA)	40
ตารางที่ 8 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ กากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 48 ชั่วโมง; %TFA)	42
ตารางที่ 9 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยง เชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 72 ชั่วโมง;%TFA)	43
ตารางที่ 10 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยง เชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 96 ชั่วโมง;%TFA)	44
ตารางที่ 11 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหาร เลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 120 ชั่วโมง;%TFA)	46
ตารางที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ กากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 144 ชั่วโมง: %TFA)	47
ตารางที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยง เชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 168 ชั่วโมง;%TFA)	49
ตารางที่ 14 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยง เชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 192 ชั่วโมง;%TFA)	50
ตารางที่ 15 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยง เชื้อกากขานอ้อยที่ ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 216 ชั่วโมง;%TFA)	51
ตารางที่ 16 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกจากดินป่า ชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)	53

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 17 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากดินป่า ชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)	54
ตารางที่ 18 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากดินป่า ชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)	55
ตารางที่ 19 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากดินป่า ชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)	56
ตารางที่ 20 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากดินป่า ชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)	57
ตารางที่ 21 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากดินป่า ชายเลน จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)	58
ตารางที่ 22 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากฟองน้ำ ทะเล จังหวัดนครศรีธรรมราช (%TFA)	59
ตารางที่ 23 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากดิน ชายฝั่ง จังหวัดจันทบุรี (%TFA)	60
ตารางที่ 24 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากดิน ชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี (%TFA)	61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
ข. 1 การเตรียมน้ำทะเลเทียม	80
ค. 1 สารมาตรฐานกรดไขมัน (PUFA) NO. 3 Menhaden oil ที่แสดงผลจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	82
ง. 1 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวชนิด C14:0 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	84
ง. 2 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวชนิด C16:0 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	84
ง. 3 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวชนิด C18:0 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	85
ง. 4 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	85
ง. 5 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิด C16:1n7 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	86
ง. 6 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิด C18:1n9 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	86
ง. 7 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิด C20:1n9 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	87
ง. 8 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	87
ง. 9 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิด C18:2n6 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	88
ง. 10 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขี้เถ้าที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ	88

ศักยภาพของจุลินทรีย์ทะเล: แหล่งกรดไขมันชนิดจำเป็น

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

บทนำ

จุลินทรีย์ (Microorganisms) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีจำนวนชนิดหรือสปีชีส์มากที่สุดเมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น มีความหลากหลายทางชีวภาพ (Biological diversity) ในเชิงความหลากหลายของชนิด (Species diversity) ความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic diversity) และความหลากหลายของแหล่งที่อยู่อาศัย (Ecological diversity) สูงมาก เมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตกลุ่มอื่น เชื่อกันว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่นักจุลชีววิทยาพบและศึกษาจนถึงปัจจุบันคิดเป็นประมาณ 1% ของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดบนโลก (<http://www.environNet.in.th>) จุลินทรีย์มีประโยชน์ในหลายด้านเช่น ด้านสิ่งแวดล้อม นำมาบำบัดสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ ทางด้านการแพทย์ จุลินทรีย์ถูกนำมาใช้เป็นตัวกลางในการผลิตสารที่จำเป็นบางอย่างที่เกี่ยวข้องกับทางการแพทย์และการรักษาโรค ด้านอุตสาหกรรม ด้านการเกษตร เป็นต้น ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในทางการแพทย์ เช่น ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และแบคทีเรีย *E.coli* ใช้ผลิตสารอินซูลินซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญในการควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือด แบคทีเรีย *E.coli* ใช้ในการผลิตฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตในคน เป็นต้น แบคทีเรียทะเลแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ แบคทีเรียที่ถูกพัฒนามาจากแหล่งอื่นและแบคทีเรียที่มีถิ่นกำเนิดในทะเลในบริเวณนั้น ๆ แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้อาศัยอยู่ที่ผิวหน้า ในชั้นของน้ำ ตะกอนดิน และอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ เช่น *Pseudomonas insolita* พบอยู่ในฟองน้ำคลาสเดโมสปองเจีย (class demospongiae) ชนิด *Halichondria panacea* แบคทีเรียบางชนิดอาศัยอยู่ในลำไส้และทางเดินอาหารของสัตว์ทะเล เช่น *Clostridium welchii*, *C. sporogenes*, *C. tetani* พบในทางเดินอาหารของปลา ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ทำให้ปลาได้รับสารอาหารในการเจริญเติบโต (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) แบคทีเรียทะเลมีประโยชน์ต่อระบบนิเวศทางทะเล ช่วยให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุ ทำให้แหล่งน้ำอุดมสมบูรณ์ เป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน และแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสร้างสาร ซึ่งมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาทางเภสัชวิทยา สารที่สร้างจากแบคทีเรียเรียกว่า สารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ โดยเฉพาะยีสต์มีการศึกษาถึงคุณสมบัติพบว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีปริมาณโปรตีนในเซลล์สูงและยังประกอบไปด้วยไขมัน วิตามินแร่ธาตุหลายชนิด และ แอคติโนมัยซีทจัดเป็นแบคทีเรียที่มีคุณค่าและมีคุณประโยชน์มหาศาลต่อเศรษฐกิจต่องานด้านเทคโนโลยีชีวภาพเนื่องจากเป็นแหล่งของการผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารยับยั้งเซลล์มะเร็ง สารแอนติไบโอติก และสารยับยั้งระบบภูมิคุ้มกัน (Selvameenal et al . 2009)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งพบทั่วไปในธรรมชาติ ทั้งแหล่งที่อยู่บนบก ในน้ำ รวมทั้งแหล่งที่อยู่ที่มีความรุนแรง เช่น มีความเค็มสูง และมีความเย็นจัด แหล่งที่อยู่ซึ่งยีสต์ชอบคือ ฟีซ โดยพบยีสต์ได้ทั้งดอก ผล

ใบ ลำต้น และยางไม้ ทั้งนี้เพราะพืชนอกจากจะมีความสามารถในการสังเคราะห์น้ำตาล และ พอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดแล้ว พืชยังสามารถสังเคราะห์สารประกอบคาร์บอนชนิดอื่นๆ ได้อีกหลายชนิดนอกจากนี้พืชยังให้เกลือแร่ชนิดต่างๆ และสารอื่นๆ ที่ยีสต์ต้องการปริมาณเล็กน้อย จึงทำให้มีข้อได้เปรียบที่หลากหลายสำหรับการเจริญ ซึ่งยีสต์ต้องการแหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง ที่ทำให้ยีสต์เจริญเติบโต ได้รวดเร็ว สามารถให้จำนวนปริมาณเซลล์ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น เนื่องจากยีสต์ไม่กลายพันธุ์ มีความคงตัวทางพันธุกรรมสูงและไม่ก่อให้เกิดโรค (สาวิตรี ลิ้มทอง, 2549) ทำให้ยีสต์มีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม ในปัจจุบันเป็นอย่างมากในการเป็นตัวกลางในการผลิต โดยยีสต์จะเปลี่ยนวัตถุดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ ผลิตภัณฑ์เหล่านี้เกิดขึ้นจากกระบวนการสร้างและการสลายสารอินทรีย์โดยยีสต์ ปฏิบัติการเกิดแบบนี้เรียกว่า “การหมัก” อาทิ เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม ได้แก่ เบียร์ สุรา และไวน์ อุตสาหกรรมอาหาร และอาหารเสริม ได้แก่ ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว น้ำปลา นมเปรี้ยว และโยเกิร์ต อุตสาหกรรมด้านความสวยความงาม ได้แก่ เครื่องสำอาง อุตสาหกรรมการผลิตเชื้อเพลิง ได้แก่ แก๊สชีวภาพที่ได้จากการหมักมูลสัตว์หรือเศษใบไม้ (Harley, 2004) รวมถึงอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ได้แก่ การนำยีสต์มาเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์เพื่อใช้ประโยชน์ในสองทางด้วยกันคือ เป็นแหล่งโปรตีนที่เราเรียกว่า “โปรตีนเซลล์เดียว” (single cell protein) และอีกในแง่หนึ่งคือ เป็นตัวช่วยเสริมสุขภาพของสัตว์ หรือเราเรียกว่าเป็น “โพรไบโอติก” (probiotic) ให้กับสัตว์เลี้ยง ซึ่งจะทำให้สัตว์แข็งแรง และมีภูมิต้านทานโรคสูงขึ้น (Moore and Landecker, 1996) นอกจากนี้ยีสต์ยังมีปริมาณกรดไขมันที่เป็นประโยชน์มากสำหรับมนุษย์และสัตว์ รวมทั้งสัตว์น้ำ ดังนั้น จึงมีการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการเพิ่มปริมาณกรดไขมันจากยีสต์ให้สูงขึ้น จากคุณสมบัติของยีสต์ ที่มีช่วงชีวิตสั้น และมีการใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย สิ่งที่สำคัญคือ ยีสต์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกันกับพืชเช่น กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นกรดไขมันจำเป็นที่ร่างกายมนุษย์เรานั้นไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ (สมถวิล จิตรควร และคณะ, 2551) ดังนั้นจึงมีการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการเพิ่มปริมาณกรดไขมันจากยีสต์ให้สูงขึ้น

กรดไขมันจำเป็น (Essential Fatty Acids) เป็นกรดไขมันที่มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริม และใช้ในทางการแพทย์ โดยเฉพาะโอเมก้า 3 (Linolenic หรือ Alpha Linoleic Acid) ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและอัมพาต ลดการอักเสบ ของโรคไขข้อเสื่อมรูมาตอยด์ ลดอาการปวดหัวไมเกรนและปวดประจำเดือน เพิ่มภูมิคุ้มกันร่างกายและลดอาการของ โรคภูมิแพ้ โอเมก้า 6 (Linoleic Acid) ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ โดยการลดการแข็งตัวของเลือดด้วยการลดการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดทำให้หลอดเลือดที่หัวใจเป็นปกติ ลดอัตราการเกิดโรคความดันโลหิตสูง ลดการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง ป้องกันโรคสมองเสื่อมหรือโรคอัลไซเมอร์ โดยลดการแข็งตัวของเยื่อหุ้มเม็ดเลือดแดงทำให้สมองได้รับออกซิเจนมากขึ้นนอกจากนี้ยังพบว่า EPA และ DHA มีบทบาทในการควบคุมการตอบสนองการอักเสบผ่านการผลิตสารที่เรียกว่า eicosanoids (Lee et al 2009; Oliver et al 2010) <http://health.deedeejang.com/news/Essential-Fatty-Acids;>) รวมทั้งยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิต

อาหารสัตว์ องค์ประกอบคุณค่าทางอาหารที่ให้สัตว์น้ำกินมีบทบาทอย่างมากในการเพิ่มการรอดตายและการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยเฉพาะกรดไขมัน ซึ่งกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ได้แก่ eicosapentaenoic acid และ docosahexaenoic acid เนื่องจากสัตว์น้ำวัยอ่อนบางชนิดไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นได้จะต้องได้รับจากการกินอาหารเท่านั้น (สุพิศ, 2535) จากการที่มีความต้องการในการบริโภคกรดไขมันเหล่านี้เพิ่มขึ้น ทำให้มีการนำเทคนิคต่างๆ มาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์สิ่งมีชีวิตให้มีศักยภาพในการผลิตกรดไขมันได้ตามที่ต้องการ มีการค้นหาแหล่งกรดไขมันจากสิ่งมีชีวิตกันอย่างกว้างขวางและด้วยหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในทะเลก่อให้เกิดสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางทะเลมีศักยภาพที่ดีหลายชนิด เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัว sterols โปรตีน polysaccharides สารต้านอนุมูลอิสระและสี เป็นต้น สารเหล่านี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพสามารถต้านมะเร็งหรือป้องกันการอักเสบได้ (Bhatnagar I, Kim SK 2010; Sinéad Lordan et al 2011) โดยเฉพาะจุลินทรีย์เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้รวดเร็วในอาหารที่ไม่ซับซ้อนใช้วัตถุดิบได้หลากหลายและราคาถูก การคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมจากธรรมชาติสามารถทำได้ง่ายเนื่องจากมีความหลากหลายสูงการปรับปรุงสายพันธุ์ก็สามารถทำได้ง่ายโดยอาจใช้วิธีเปลี่ยนแปลงระบบเอนไซม์หรือวิถีในการสังเคราะห์ อีกทั้งกรดไขมันจากจุลินทรีย์สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่ายกว่าจากแหล่งอื่น ซึ่งสามารถนำมาทดแทนการผลิตทางเกษตรกรรมหรือการผลิตจากน้ำมันสัตว์ได้ ปัจจุบันแหล่งวัตถุดิบในการสกัด DHA จะมาจากน้ำมันปลาทะเล แต่ปริมาณของ DHA ในน้ำมันปลามีน้อยจำกัด (ประมาณ 7-14%) (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2552) ทำให้ในการผลิตต้องใช้ปลาจำนวนมาก และมลพิษเกิดขึ้นในทะเล เช่น การปนเปื้อนโดยสารฆ่าแมลงและโลหะหนัก อาจส่งผลกระทบต่อทั้งคุณภาพและปริมาณของกรดไขมันที่ได้ ดังนั้นการผลิต DHA จากจุลินทรีย์ทะเลน่าจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ โดยเฉพาะเชื้อยีสต์สามารถเจริญเติบโตบนอาหารหลายอย่างและชนิดและกรดไขมันจากยีสต์มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับกรดไขมันที่ได้จากพืช ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดจำเป็น (กอบกุล เหล่าเท่ง 2001) การศึกษาในครั้งนี้มุ่งเน้นการใช้วัตถุดิบที่เหลือใช้ทางการเกษตร ในเขตจังหวัดชลบุรี เช่น ชานอ้อย กากมัน กากน้ำตาล มาใช้ในการหมักเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเหลือใช้ ปัจจุบันวัสดุที่เหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมถือเป็นแหล่งในการเจริญและการสร้างพลังงานที่ดี ทั้งนี้เพื่อลดต้นทุนและการใช้ทรัพยากรจากธรรมชาติอย่างคุ้มค่า จากการศึกษาพบว่าแหล่งที่พบยีสต์ที่เจริญเติบโตได้รวดเร็วและสามารถให้จำนวนเซลล์ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น คือ แหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง ปัจจุบันวัสดุที่เหลือใช้ ดังเช่น กากชานอ้อย พบว่ามีองค์ประกอบหลักของน้ำตาลซูโครส (sucrose) ที่ประกอบด้วยน้ำตาล 2 โมเลกุล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และน้ำตาลฟรุกโตส (fructose) กากชานอ้อยถือเป็นชีวมวลที่เหลือใช้จากทางการเกษตร จึงมีความเป็นไปได้ที่นำกากชานอ้อยมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตของยีสต์ในการศึกษาครั้งนี้ จึงมีการเลี้ยงยีสต์โดยการใช้กากชานอ้อยเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน

เนื่องจากปัญหาการดื้อยา Antibiotic จึงมีการนำสารเสริมชีวนะ (Probiotic) มาใช้ในการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย โดยหาผลผลิตจากสารประกอบต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ต่อต้านเชื้อ สารประกอบที่นำมาศึกษาได้แก่ วิตามิน กรดไขมัน และ digestive enzymes (Niall et al, 2006) และมีการศึกษาการออกฤทธิ์ทาง

ชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวชนิดคาร์บอนสายยาวซึ่งรายงานแสดงให้เห็นว่ากรดไขมันสายยาวคาร์บอนมากกว่า 10 ตัว จะ induced lysis of bacterial protoplasts (Nieman, 1954; Galbraith & Millter, 1973a-c) และจากงานวิจัยพบว่าอาหารที่มีกรดไขมันชนิด n-3 สูงจะเพิ่มอัตราการอยู่รอดและลดความรุนแรงของเชื้อโรคที่เกิดตามธรรมชาติได้ (Ergas, 2002; Simopoulos, 2002) เช่นเดียวกับงานวิจัยผลของโภชนาการด้านกรดไขมันในการต่อต้านโรค (Autoimmune disease) ของ Harbige (1998) ที่กล่าวว่าอาหารที่มี กรดไขมันชนิด n- 3 สูง จะเพิ่มอัตราการอยู่รอดและลดความรุนแรงของโรคในสัตว์ทดลองเช่นกัน ปลาตู้้น้ำเค็มเป็นปลาที่ยอมรับต่อโรคติดเชื้อได้ง่าย เช่น เชื้อแบคทีเรีย โปรโตซัว โรคปลาที่พบได้บ่อยในการเลี้ยงปลาตู้้น้ำเค็มได้แก่ โรคพยาธิ โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียและไวรัส ซึ่งโรคที่เกิดจากโปรโตซัว จะสังเกตเห็นได้ช้าก่อให้เกิดความเสียหายมากมายต่อการเพาะเลี้ยง ปัจจุบันมีการคิดค้นวัคซีนป้องกันโรคปลาและใช้สารเคมีบางชนิดเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกันต่อโรคให้ปลากิน เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะซึ่งมีราคาแพง ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาสารสกัดไขมันจากจุลินทรีย์ทะเล โดยเฉพาะจากยีสต์ทะเล หรือแบคทีเรียทะเล/แอคติโนมัยซีท ซึ่งรูปแบบของไขมันและกรดไขมัน ที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อนำไปพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมาก และใช้เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์ ตลอดจนพัฒนาเป็นสารกระตุ้นภูมิสำหรับสัตว์น้ำ อันจะเป็นทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและต่อไป

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ลิพิด (Lipid)

ลิพิด หมายถึง กรดไขมันและอนุพันธ์รวมถึงสารอื่นๆ ที่ทำหน้าที่คล้ายคลึงกับกรดไขมันและอนุพันธ์ลิพิด เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญทางชีวเคมีของเมมเบรน มีผลต่อกระบวนการควบคุมของน้ำ และเกลือแร่ (osmoregulation และ ionic regulation) การสืบพันธุ์ การนำอาหารไปใช้ ตลอดจนการลำเลียงสารอาหาร สามารถสกัดได้จากเซลล์หรือเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่ละลายได้ในสารอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ และ เบนซีน เป็นต้น ลิพิดที่พบในธรรมชาติมักไม่อยู่ในสภาพอิสระ จะประกอบกับชีวโมเลกุลอื่น เช่น ถักรวมอยู่กับ คาร์โบไฮเดรตเรียกว่า “ไกลโคลิพิด (glycolipid)” และรวมอยู่กับโปรตีนเรียกว่า “ลิโปโปรตีน (lipoprotein)” นอกจากนี้ ลิพิดแบ่งออกได้หลายประเภท ส่วนใหญ่ประกอบด้วยองค์ประกอบที่เรียกว่า “กรดไขมัน (fatty acid)” (สุกัญญา สุนทรส และวิเชียร ริมพณิชยกิจ, 2553)

บทบาทและความสำคัญของลิพิด

1. เป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อหุ้มเซลล์และอวัยวะเซลล์ (biological membrane)
2. เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานมากที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำหนักที่เท่ากัน โดยไขมัน 1 กรัม ให้พลังงานโดยประมาณ 9 กิโลแคลอรี โปรตีนให้พลังงานโดยประมาณ 5 กิโลแคลอรี และคาร์โบไฮเดรตให้พลังงานเพียง 4 กิโลแคลอรี
3. เป็นสารให้ความอบอุ่นและช่วยป้องกันอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกายไม่ให้กระทบกระเทือน และยังเป็นฉนวนป้องกันการสูญเสียความร้อนจากร่างกาย
4. เป็นตัวเคลือบหรือฉาบผิวสิ่งมีชีวิต เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำหรือป้องกันไม่ให้น้ำเข้าภายในและยังมีผลป้องกันการติดเชื้อด้วย
5. เป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญบางอย่างได้แก่ วิตามินที่ละลายในไขมัน (vitamin A, D, E, K) รวมทั้งฮอร์โมน เช่น พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin), สเตอรอยด์ (steroid) และกรดไขมัน
6. เป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ของแบคทีเรียและพืชชั้นสูง รวมทั้งผิวหนังและระบบประสาทของสัตว์ มีกระดูกสันหลัง และเป็นองค์ประกอบของปีกและลำตัวแมลง (พัชรี บุญศิริ และคณะ, 2551)

ชนิดของลิพิด

ลิพิดสามารถจำแนกได้หลายแบบคือ

1. ลิพิดจำแนกตามโครงสร้างทางเคมี แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1.1 Simple lipid เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยๆ ได้แก่

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

1.1.2 แวกซ์ (Waxes) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเพียงหมู่เดียว (monohydric alcohol) และมีน้ำหนักโมเลกุลสูง

1.2 Compound lipid เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์และมีสารอื่นรวมอยู่ด้วย ได้แก่

1.2.1 ฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) เป็นกลุ่มของลิพิดที่โมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมัน แอลกอฮอล์ กรดฟอสฟอริก เบสที่มีไนโตรเจน และอาจมีสารประกอบอื่นๆ

1.2.2 ไกลโคลิพิด (Glycolipid) เป็นกลุ่มของลิพิดที่โมเลกุลประกอบด้วยกรดไขมัน คาร์โบไฮเดรต เบสที่มีไนโตรเจน แต่ไม่มีกรดฟอสฟอริก

1.2.3 ลิพิดเชิงประกอบอื่นๆ ได้แก่ ไลโปโปรตีน และอะมิโนลิค

1.3 Derived lipid เป็นสารประกอบที่ได้จากไฮโดรไลซิสของลิพิด 2 กลุ่มแรก ซึ่งได้แก่ กรดไขมัน กลีเซอรอล โมโนกลีเซอไรด์ สเตอรอยด์ โคเลสเตอรอล วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน แครอทินอยด์ พรอสตาแกลนดิน เทอร์ปีน ควิโนน และคิโตนอยด์ (สาวิตรี ลิ้มทอง, 2549)

2. ลิพิดจำแนกตามคุณสมบัติ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

2.1 Neutral lipid ได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์ โคเลสเตอรอล สเตอรอยด์อื่นๆ รวมทั้งวิตามินที่ละลายในไขมันคือ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค ลิพิดกลุ่มนี้มีสมบัติเป็นกลาง

2.2 Amphiphilic lipid ได้แก่ ฟอสโฟลิพิดชนิดต่างๆ เช่น เลซิทีน และสฟิงโกมายอีลิน ลิพิดกลุ่มนี้มีสมบัติเป็น bilayer เนื่องจากส่วนของโมเลกุลมีทั้งเป็นโพลาร์ (polar) ซึ่งละลายน้ำได้ และส่วนที่เป็นนอนโพลาร์ (nonpolar) ซึ่งไม่ละลายน้ำ ดังนั้นสารประกอบพวกฟอสโฟลิพิดจึงหมุนตัวอยู่ที่ผิวของสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าหรือบนผิวน้ำ หรือแทรกตัวอยู่ระหว่างผิวของของเหลว 2 ชนิดที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

สมบัติของฟอสโฟลิปิดเหล่านี้ จึงมีความสำคัญต่อการทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของเซลล์เมมเบรนและการนำไปใช้ประโยชน์เป็น surfactants หรือ emulsifying agent (สมศักดิ์ วรคามิน, 2552)

3. ลิพิดจำแนกตามหน้าที่ในสิ่งมีชีวิต แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

3.1 ลิพิดที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมพลังงาน ลิพิดส่วนใหญ่ที่สะสมอยู่ในร่างกายจะอยู่ในรูปไตรกลีเซอไรด์ นอกจากนี้ยังพบได้ตามเนื้อเยื่อต่างๆ ทั้งของพืชและสัตว์ เป็นแหล่งสะสมพลังงานให้แก่เซลล์ กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ที่ร่างกายสะสมไว้จะแปรผันตามชนิดกรดไขมันในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ที่ได้รับจากอาหาร

3.2 ลิพิดที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง ได้แก่ ฟอสโฟลิปิด และ โคเลสเตอรอล ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อต่างๆ ในร่างกาย และเนื้อเยื่อสมอง ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบมีความสำคัญต่อชนิดของเนื้อเยื่อซึ่งมีความจำเพาะเจาะจง ถึงแม้ว่าชนิดของกรดไขมันจะผันแปรตามชนิดและปริมาณอาหารที่ร่างกายได้รับก็ตาม แต่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ลิพิดบางชนิดได้ (ประดิษฐ์ มีสุข, 2547)

กรดไขมัน (Fatty acid)

กรดไขมันจัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ที่มีหมู่ $-COOH$ เพียงหมู่เดียวต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาวเส้นตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคู่ระหว่าง 4 - 24 อะตอม และพบในรูปกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) เล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน (saponifiable lipid) (ศุภศิษฎ์ อรุณรุ่งสวัสดิ์, 2541)

การเรียกชื่อกรดไขมันและการเขียนสัญลักษณ์

กรดไขมันแต่ละชนิดต่างกันที่ความยาวของโมเลกุล จำนวนพันธะและตำแหน่งพันธะคู่ การเรียกชื่อกรดไขมันมีทั้งการเรียกชื่อสามัญ เรียกตามระบบ และการใช้สัญลักษณ์ ชื่อสามัญเป็นชื่อที่ผู้ค้นพบตั้งขึ้นโดยมีที่มาแตกต่างกัน ชื่อตามระบบใช้เรียกชื่อกรดไขมันเพื่อให้มาตรฐานเดียวกัน โดยการแสดงจำนวนคาร์บอนเป็นภาษากรีก และตามด้วย -anoic สำหรับกรดไขมันอิ่มตัว และ -enoic สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัว การเรียกชื่อกรดไขมันนิยมเรียกชื่อสามัญ ตามด้วยการใช้สัญลักษณ์ เพราะสัญลักษณ์สามารถบอกความยาวโมเลกุล จำนวนคาร์บอนและตำแหน่งพันธะคู่ในกรณีที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว การใช้สัญลักษณ์ประกอบด้วยเลข 2 ชุดซึ่งมีเครื่องหมาย : คั่น ตัวเลขข้างหน้าเครื่องหมาย : แสดงจำนวนคาร์บอน ตัวเลขข้างหลังเครื่องหมาย : แสดงจำนวนพันธะคู่ ในการนับจำนวนคาร์บอนเพื่อบอกตำแหน่งพันธะคู่ในปัจจุบันใช้อยู่ 3 ระบบคือ ระบบ Δ , n และ ω (omega) โดยระบบ Δ และ n นับคาร์บอนทุกอะตอมแต่มีทิศทางที่

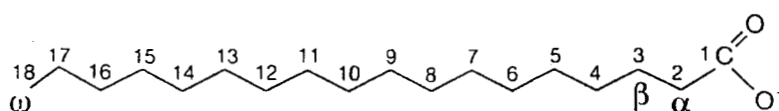
แตกต่างกัน ขณะที่ระบบ ω ไม่นับคาร์บอนของฟังก์ชัน (คาร์บอกซิล) ระบบ Δ เริ่มนับจากหมู่คาร์บอกซิน ขณะที่ระบบ ω เริ่มนับจากคาร์บอนอะตอมแรกที่อยู่ติดกับหมู่คาร์บอนซิล (หมู่ฟังก์ชัน) ส่วนระบบ n เริ่มนับจากปลายโมเลกุลด้านเมทิล ($-\text{CH}_3$) จะเห็นได้ว่าระบบการนับจำนวนคาร์บอนเพื่อบอกตำแหน่งพันธะคู่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากถูกตั้งขึ้นมาจากกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ที่สนใจบทบาททางชีวภาพที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ระบบ Δ และ ω นิยมใช้ในระบบการสลายไขมันที่เรียกว่า “วิถี β - ออกซิเดชัน” ส่วนระบบ n นิยมใช้ในระบบการสังเคราะห์กรดไขมัน

ปลายเมทิล $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ ปลายคาร์บอกซิล

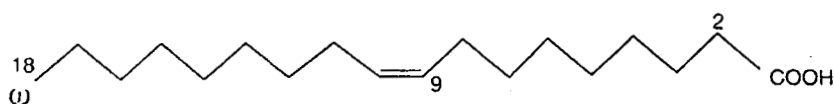
ระบบ Δ 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

ระบบ n 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

ระบบ ω ω $\omega-1$ δ γ β α

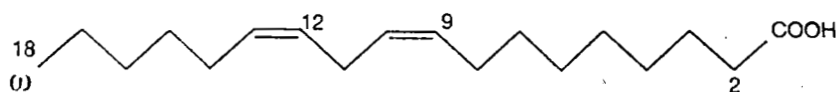


Stearic acid 18:0

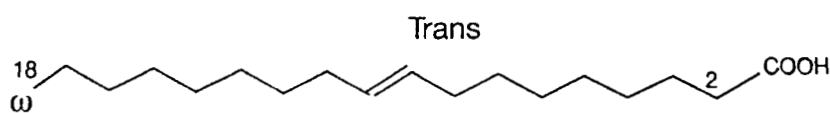


Oleic acid 18:1 Δ^9

(ω 9)



Linoleic acid 18:2 Δ^9



Elaidic acid 18:1, Δ^9 trans

ภาพที่ 1 การเขียนสัญลักษณ์กรดไขมัน

ภาพที่ 1 ตัวอย่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีชื่อสามัญว่า กรดไขมันสเตียริกมีคาร์บอน 18 อะตอมมีสัญลักษณ์เป็น 18:0 สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีชื่อสามัญว่ากรดไขมันโอเลอิก มีคาร์บอน 18 อะตอม มี 1 พันธะคู่ (cis-) ที่ระหว่างตำแหน่งที่ 9 กับ 10 จะใช้สัญลักษณ์เป็น 18:1 n9 หรือกรดไขมันไลโนเลอิกที่มีคาร์บอน 18 อะตอม

มี 2 พันธะคู่ (cis-) ที่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 9 กับ 10 และที่ตำแหน่งที่ 12 กับ 13 เขียนสัญลักษณ์เป็น 18:2 $\Delta^{9,12}$ หรือ $\Delta^{6,9}$ จะเห็นได้ว่าปลายพันธะคู่แบบ cis ไม่ต้องเขียนคำว่า cis ไว้ แต่ถ้าเป็นแบบ trans ต้องเขียนคำว่า trans ไว้ด้วย เช่น กรดไขมันอีไลดิก (elaidic acid) มีคาร์บอน 18 อะตอม มี 1 พันธะคู่ (trans) เขียนสัญลักษณ์เป็น 18:1 $\Delta^{9(trans)}$ (คาร์ลีย์ จิมกู, 2550)

กรดไขมันที่พบมากที่สุดในกลุ่มลิปิด แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

1. กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids) เป็นกรดไขมันที่มีโซ่คาร์บอนสายสั้นและยาวและไม่มีพันธะคู่ (double bond) จึงทำให้มีจุดหลอมเหลวสูง (กรดไขมันอิ่มตัวที่มีโซ่คาร์บอนยาวบางชนิดอาจมีจุดหลอมเหลวมากกว่า 60 องศาเซลเซียส) ดังนั้นกรดไขมันชนิดนี้จึงแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง และกรดอะซิติก (Acetic, CH_3COOH) เป็นต้นกำเนิดของการสังเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวโดยขบวนการ elongation คือ การเพิ่มจำนวนคาร์บอนเข้าไปครั้งละ 2 อะตอม น้ำมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่มากจะอยู่ในสภาพที่เป็นไขและมีสภาพแข็งตัวเมื่ออุณหภูมิต่ำ หรือในฤดูหนาว เช่น น้ำมันหมู น้ำมันวัว เป็นต้น กรดไขมันอิ่มตัวที่พบเป็นองค์ประกอบในน้ำมันทั่วไป เช่น กรดไขมันไมริสติก (Myristic acid, $\text{C}_{14}:0$), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, $\text{C}_{16}:0$) และกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, $\text{C}_{18}:0$)

ตารางที่ 1 กรดไขมันอิ่มตัวชนิดต่างๆ (อากัสตรา ชมิคท์, 2543)

ชื่อสามัญ	สูตร	สัญลักษณ์ย่อ	จุดหลอมเหลว (องศาเซลเซียส)
กรดบิวไทริก (Butyric)	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	4:0	- 7.9
กรดคาโปรอิก (Caproic)	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$	6:0	- 3.4
กรดคาไพริก (Caprylic)	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$	8:0	16
กรดคาพริก (Capric)	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_2$	10:0	31
กรดลอริก (Lauric)	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$	12:0	44
กรดไมริสติก (Myristic)	$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$	14:0	54
กรดปาล์มิติก (Palmitic)	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	16:0	63
กรดสเตียริก (Stearic)	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	18:0	70
กรดอะราซิดิก (Arachidic)	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$	20:0	76

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

กรดไขมันไม่อิ่มตัว สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

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

2.2 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) เป็นกรดไขมันที่มีโซ่คาร์บอนเชื่อมกันในสายด้วยพันธะคู่ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป นอกจากนี้กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 20 คาร์บอนอะตอมขึ้นไป และมีจำนวนพันธะคู่มากกว่า 2 ตำแหน่งขึ้นไป เรียกกรดไขมันกลุ่มนี้ว่า “Highly unsaturated fatty acid, HUFA” โดยทั่วไปจะใช้เรียกกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 เช่น กรดไขมันอีโคซะไตรอีโนอิก (Eicosatrienoic acid, C20:3n3), กรดไขมันอีโคซะเตตระอีโนอิก (Eicosatetraenoic acid, C20:4n3), กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) และกรดไขมันดีเฮกซะอีโนอิก (Docosahexaenoic acid, C22:6n3) หรือกลุ่มโอเมก้า 6 เช่น กรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic acid, C20:4n6) เป็นต้น กรดไขมันในกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวที่ต่ำ และจุดหลอมเหลวของกรดไขมันแต่ละชนิดขึ้นกับจำนวนของคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล และตำแหน่งของพันธะคู่ (พิทักษ์ สุตอนันต์, 2552)

ตารางที่ 2 กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดต่างๆ (พัชร บุญศิริ และคณะ, 2551)

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

ความสำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6

กลุ่มโอเมก้า 3

กรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นกลุ่มของกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง เป็นหนึ่งในกรดไขมันที่จำเป็น (Essential Fatty acid) สำหรับร่างกาย ซึ่งในสูตรโครงสร้างโมเลกุลจะมีพันธะคู่อยู่ไม่น้อยกว่า 3 ตำแหน่ง โดยพันธะคู่แรกจะอยู่ที่ตำแหน่งของคาร์บอนตัวที่ 3 นับจากปลายโมเลกุลด้านที่มีกลุ่มของเมทิล (methyl group) เข้าไป และส่วนพันธะคู่ต่อไปจะอยู่ตรงตำแหน่งคาร์บอนถัดไปครั้งละ 3 ตำแหน่ง (Anderson, 1994)

กรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid) เป็นกรดไขมันชนิดกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม และมีพันธะคู่ (double bond) 3 ตำแหน่ง ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9, 12 และ 15 เป็น Polyunsaturated fatty acid กรดไขมันไลโนเลนิก เป็นกรดไขมันที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย (essential fatty acid) เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นของกรดไขมันกลุ่มเดียวกันที่มีโซ่คาร์บอนสายยาว (Anderson, 1994) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบน้ำมันพืช เช่น น้ำมันเมล็ดแฟลก น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันคาโนลา และสาหร่าย สไปรูลินา (spirulina) ส่วนประกอบของกรดไขมันในน้ำมันและไขมันที่รับประทาน เช่น น้ำมันปลา และน้ำมันตับปลา ที่มา : http://www.thepaleodiet.com/nutritional_tools/fats.shtml

กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) เป็นกรดไขมันที่สร้างมาจากกรดไขมัน ไลโนเลนิกและเป็นสารตั้งต้นของ eicosanoids อีพีเอเป็นกรดไขมันที่มีคุณสมบัติ ลดการจับตัวของเกล็ดเลือด

และสร้างสารที่ทำให้เส้นเลือดขยายตัวได้ดี จึงลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้จากสมมติฐานทางการแพทย์ของการเกิดโรคหัวใจอุดตันพบว่า การเกิดลิ่มเลือด (thrombogenesis) เป็นสาเหตุที่สำคัญประการหนึ่งของปัญหาโรคหัวใจและหลอดเลือด thromboxanes A_2 ที่สร้างมาจากกรดไขมันอีพีเอที่มีคุณสมบัติด้านการรวมตัวของเกล็ดเลือดบริเวณผนังหลอดเลือด ทำให้สามารถลดความหนืดของเลือดลง และช่วยเพิ่มระดับของเหลวในเมมเบรน ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้สามารถพบได้ในน้ำมันปลาชนิดต่างๆ โดยเฉพาะปลาทะเล ดังนั้นการบริโภคปลาเป็นประจำย่อมลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้ (สมศักดิ์ วรคามิน, 2552) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบมากในน้ำมันปลา (fish oil), น้ำมันลินสีด (Linseed oil), น้ำมันวอลนัท (walnut oil), น้ำมันคาโนล่า (canola oil), น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil), น้ำมันข้าวโพด และสาหร่าย (Aslan and Triadafilopoulos, 1992)

กรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid, $C_{22}:6n3$) เป็นกรดไขมันที่สร้างมาจากกรดไขมันไลโนเลนิกเช่นเดียวกับกรดไขมันอีพีเอ มีความสำคัญต่อร่างกายและมีผลโดยตรงต่อสุขภาพมนุษย์ (โดยเฉพาะทารก) พบได้ที่บริเวณเรตินาของดวงตาและผนังเซลล์ทั่วร่างกาย ทำให้เซลล์มีความไวต่อการรับสัญญาณประสาทและที่สำคัญที่สุดคือ เป็นส่วนประกอบของเซลล์สมองซึ่งพบในปริมาณสูง กรดไขมันดีเอชเอที่เข้าไปในสมองจะเสริมสร้างการเจริญเติบโตของปลายประสาทที่เรียกว่า “เดนไดรต์ (dendrite)” ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดสัญญาณส่งผ่านข้อมูลระหว่างสมองด้วยกันทำให้เกิดการเรียนรู้และการจดจำ นอกจากนี้กรดไขมันดีเอชเอยังช่วยป้องกันการเกิดโรคทางหัวใจและหลอดเลือด ช่วยบำบัดโรคที่เกี่ยวข้องกับความชราภาพ และมีผลทำให้การตั้งครรภ์และการคลอดบุตรเป็นไปตามปกติ (สมศักดิ์ วรคามิน, 2552) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบในปลาทะเล น้ำมันแม่ ไข่แดง และสาหร่ายทะเล

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1904/docosahexaenoic-acid-dha>

กลุ่มโอเมก้า 6

โครงสร้างของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 6 เป็นกลุ่มของกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง เป็นกรดไขมันที่จำเป็น (Essential fatty acid) ต่อร่างกายมนุษย์ เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 จากปลายด้านเมทิล กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 6 มีหลายชนิด โดยมีเพียงบางชนิดมีความสำคัญต่อการทำงานของร่างกาย ได้แก่ กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, $C_{18}:2n6$) และกรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic acid, $C_{20}:4n6$) (Abbey and Nestel, 1994)

กรดไขมันไลโนเลอิก กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, $C_{18}:2n6$) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม และมีพันธะคู่ 2 คู่ พันธะคู่อยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9 และ 12 มีชื่อเคมีว่า 9, 12

octadecadienoic acid จัดเป็น Polyunsaturated fatty โครงสร้างที่พบตามธรรมชาติเป็นแอลฟา - ไลโนเลอิก (alpha - linoleic acid) กรดไขมันไลโนเลอิกถือเป็นกรดไขมันจำเป็นที่เป็นสารตั้งต้นของกรดไขมันกลุ่มเดียวกันที่มีโซ่คาร์บอนสายยาว (Adler and Holub, 1997) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบมากในน้ำมันพืช เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันงา น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันเมล็ดทานตะวัน น้ำมันเมล็ดคำฝอย และน้ำมันปลา (http://www.thepaleodiet.com/nutritional_tools/fats.shtml)

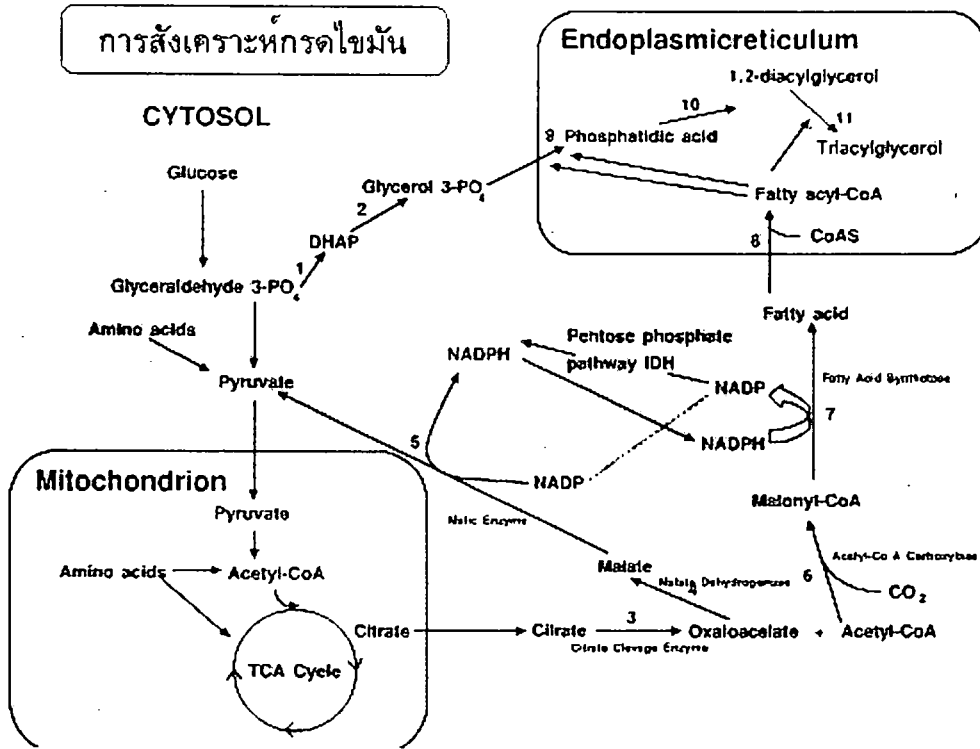
กรดไขมันเออาร์เอ (Arachidonic acid, C20:4n6) เป็นกรดไขมันที่สร้างมาจากกรดไขมันไลโนเลอิกและเป็นสารเริ่มต้นของ eicosanoids เช่น thromboxanes A₂ มีคุณสมบัติในการทำให้เม็ดเลือดเกาะกลุ่ม กรดไขมันเออาร์เอ มีบทบาทในการสร้างและการเก็บความจำระยะยาวของทารกซึ่งเป็นพื้นฐานของการเรียนรู้ ช่วยเพิ่มความไวของการรับแสงในส่วนเรตินาของลูกตา และความสามารถในการมองเห็น กรดไขมันเออาร์เอเป็นส่วนประกอบหลักของซินแนปส์หรือจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ประสาท และมีบทบาทเป็นตัวนำข้อมูลตรงรอยต่อของซินแนปส์และภายในเซลล์ นอกจากนี้กรดไขมันเออาร์เอ ยังช่วยเพิ่มความเร็วในการส่งสัญญาณประสาทระหว่างเซลล์ประสาทของทารกเพื่อนำข้อมูลมาเก็บไว้ในสมอง ซึ่งเป็นการช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของกระบวนการเรียนรู้และความจำในระยะยาว (Albert and Henneks, 1998) แหล่งที่พบโดยทั่วไปพบมากในน้ำมันตับปลา น้ำมันจากปลาทะเล น้ำมันเมล็ดคำฝอย น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง (<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1650/arachidonic-acid-กรดอะราคิโดนิก>)

การสังเคราะห์กรดไขมัน (Fatty acid synthesis)

การสังเคราะห์กรดไขมัน หมายถึง การนำเออะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl - Co A) ที่ได้จากการสลายกรดอะมิโน การสลายกรดไขมันหรือการสลายกลูโคสมาใช้ในการสร้างหรือสังเคราะห์กรดไขมันเพื่อเป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อเซลล์ การสังเคราะห์ดังกล่าวเกิดในไซโทพลาซึม และจำเป็นต้องใช้พลังงานจำนวนหนึ่งในการนำเอคาร์บอนมาต่อกันทีละ 2 อะตอม (Elongation) หรือสร้างพันธะคู่ (Desaturation) ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด ฉะนั้นมีผลทำให้องค์ประกอบกรดไขมันที่พบในเนื้อเยื่อ เช่น ตับ กล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อไขมันจึงมีความแตกต่างกัน

กระบวนการเหล่านี้ เริ่มจากอะซิติลโคเอนไซม์เอจะรวมกับออกซาโลอะซิเตต (Oxaloacetate) ได้เป็นซิเตรท (Citrate) ซึ่งจะถูกนำออกมาจากไมโทคอนเดรียมาอยู่ในไซโทพลาซึมแล้วถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซิเตรทคลีเวจ (Citrate Cleavage Enzyme หรือ Citrate Lyase) ได้เป็นออกซาโลอะซิเตตและอะซิติลโคเอนไซม์เอ ต่อมาออกซาโลอะซิเตตจะถูกรีดิวซ์เป็นมาเลท (Malate) โดยเอนไซม์มาเลทดีไฮโดรจิเนส (Malate Dehydrogenase) แล้วมาเลทก็จะถูกออกซิไดส์ด้วยเอนไซม์มาลิก (Malic Enzyme) ได้เป็นไพรูเวท (Pyruvate) ซึ่งจะกลับเข้าไปในไมโทคอนเดรียอีกครั้ง ส่วนอะซิติลโคเอนไซม์เอจะทำปฏิกิริยากับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยอาศัย เอนไซม์อะซิติลโคเอนไซม์เอคาร์บอกซิเลส (Acetyl - Co A Carboxylase) ได้

เป็นมาโลนิลโคเอนไซม์เอ (Malonyl - Co A) ซึ่งต่อมากจะถูกนำมาสังเคราะห์ให้เป็นกรดไขมันโดยใช้เอนไซม์ แฟตตีเอซิดซินทีเทส (Fatty Acid Synthetase) และพลังงาน (NADPH) (รูปที่ 2)



ภาพที่ 2 การสังเคราะห์กรดไขมัน

ที่มา : (ดาวัลย์ จิมมู, 2550)

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

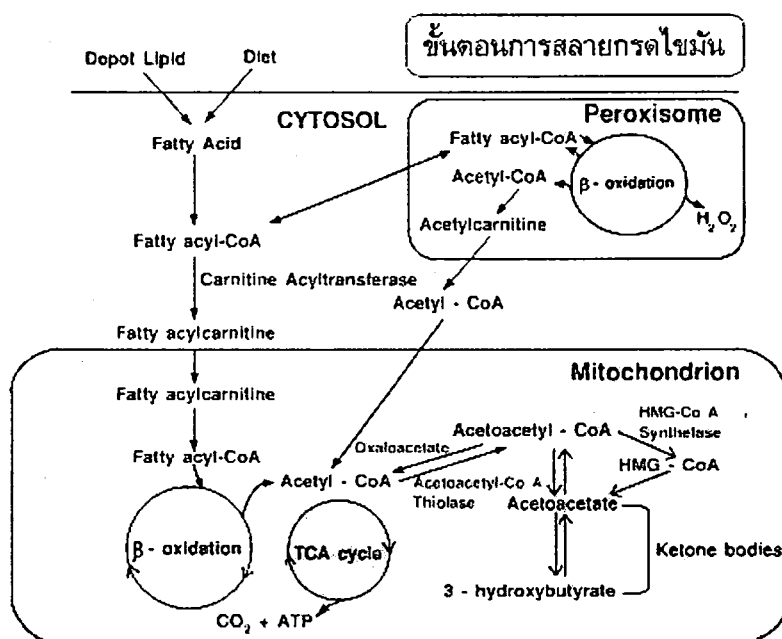
การสลายกรดไขมัน (Fatty acid synthesis)

การสลายกรดไขมันหรือการเผาผลาญกรดไขมัน หมายถึง การนำกรดไขมันมาออกซิไดส์เพื่อให้ได้พลังงานออกมา โดยอาจเกิดขึ้นได้ทั้งในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) และในเพอร์ออกซิโซม (Peroxisome)

กระบวนการเหล่านี้เริ่มจากกรดไขมันที่ได้จากการย่อยและดูดซึมอาหาร จะอยู่ในไซโทพลาสซึม แต่จะถูกนำเข้าไปในไมโทคอนเดรียเพื่อการสลายกรดไขมัน โดยกรดไขมันจะรวมกับโคเอนไซม์เอ

(Coenzyme A) ได้เป็นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอ (Fatty Acyl - Co A) จากนั้นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอจะเปลี่ยนเป็นแฟตตีเอซิลคาร์นิทีน (Fatty Acylcarnitine) โดยอาศัยเอนไซม์คาร์นิทีนเอซิลทรานเฟอร์ส (Carnitine Acyltransferase) เป็นตัวนำกรดไขมันเข้าผนังไมโทคอนเดรีย แล้วจึงเปลี่ยนกลับมาเป็นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เออีกครั้งหนึ่ง ต่อมาแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์จะถูกนำไปสลายในไมโทคอนเดรียโดยกระบวนการที่เรียกว่า “เบตา - ออกซิเดชัน (β - oxidation)” ได้เป็นอะซีติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl - Co A) ซึ่งจะถูกนำเข้าวัฏจักรไทรคาร์บอกซิลิก เพื่อให้ได้พลังงานออกมา อย่างไรก็ตามพบว่า ในบางครั้งอะซีติลโคเอนไซม์เอไม่ได้ถูกสลายให้เกิดพลังงานเพราะขาดออกซาโลอะซิเตท (Oxaloacetate) ทำให้อะซีติลโคเอนไซม์เอ 2 ตัวรวมกันเป็นอะซีโตอะซีติลโคเอนไซม์เอ (Acetoacetyl - Co A) โดยอาศัยเอนไซม์อะซีโตอะซีติลโคเอนไซม์เอไทโอเลส (Acetoacetyl - Co A Thiolase) จากนั้นอะซีโตอะซีติลโคเอนไซม์เอจะถูกเร่งโดยเอนไซม์ เอชเอ็มจี โคเอนไซม์เอ ซินทีเทส (HMG - Co A Synthetase) ได้เป็น เอชเอ็มจี โคเอนไซม์เอ (HMG - Co A) และพร้อมที่จะเปลี่ยนเป็นอะซีโตอะซิเตท (Acetoacetate) และ 3 - ไฮดรอกซีบิวไทเรท (3 - Hydroxybutyrate) ซึ่งจัดเป็นสารจำพวกคีโตนบอดี้ (Ketone Body) โดยคีโตนบอดี้จะถูกส่งผ่านไปยังกระแสเลือดและเข้าสู่เซลล์เพื่อการออกซิเดชันอย่างสมบูรณ์ในวัฏจักรไทรคาร์บอกซิลิก (รูปที่ 3)

สำหรับการสลายกรดไขมันในเพอร์ออกซิโซมมีความแตกต่างกับการสลายกรดไขมันในไมโทคอนเดรียหลายประการ เช่น คาร์นิทีนไม่ได้ช่วยนำกรดไขมันเข้าไปในเพอร์ออกซิโซม และแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะซีติลโคเอนไซม์เอออกซิเดส (Acyl - Co A Oxidase) ได้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide) อีกทั้งจะไม่มีวัฏจักรไทรคาร์บอกซิลิกมาเกี่ยวข้อง ฉะนั้นอะซีติลโคเอนไซม์เอนี้ จึงอาจถูกทำลายไปยังไม่ถึงไมโทคอนเดรียเพื่อการสลายกรดไขมันภายใน ไมโทคอนเดรียได้อีกทางหนึ่ง (พัชร บุญศิริ และคณะ, 2551)



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการสลายกรดไขมัน ที่มา : (พัชร บุญศิริ และคณะ, 2551)

แหล่งของกรดไขมัน

แหล่งกรดไขมันจากพืช

กรดไขมันที่พบในพืชโดยทั่วไปเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว และพบในปริมาณสูงในน้ำมันพืช เช่น น้ำมันปาล์ม น้ำมันมะพร้าว น้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันถั่วลิสง เป็นต้น ในอุณหภูมิห้องมีลักษณะเป็นน้ำมัน (ของเหลว) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากการหักงอของสายไฮโดรคาร์บอนตรงบริเวณที่เกิดพันธะคู่ ทำให้โมเลกุลไม่สามารถเรียงตัวเป็นระเบียบและอัดตัวแน่นเหมือนไขมัน กรดไขมันที่พบได้แก่ กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมปริมาณกรดไขมันในเมล็ดพืช คือ ปัจจัยทางด้านกายภาพ ได้แก่ สภาพแวดล้อมที่เพาะปลูก ความชื้น อุณหภูมิ แสง ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ ชนิดของเมล็ดพืช และองค์ประกอบของสารอาหาร (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2543)

แหล่งกรดไขมันจากสัตว์

กรดไขมันจากสัตว์ส่วนใหญ่ประกอบขึ้นจากกรดไขมันชนิดอิ่มตัวมากกว่าพืช ซึ่งมีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง พบได้ในสัตว์บก สัตว์น้ำ และในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งกรดไขมันที่พบในไขมันสัตว์เช่น กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) เป็นต้น (พิมพ์ วัชรพงศ์กุล, ม.ป.ป.) ส่วนในสัตว์น้ำ มักพบมากในปลาทะเลโดยเฉพาะในปลาที่อาศัยเขตที่มีอากาศหนาวเย็นจะมีกรดไขมันอยู่ทุกส่วนของร่างกาย ในปลาทะเลพบกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 20 - 22 อะตอมสูง (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2543) และกรดไขมันส่วนมากที่พบในปลาทะเลเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวประเภทกรดไขมันจำเป็นกลุ่มโอเมก้า 3 สูงที่สุด รองลงมาคือ กรดไขมันจำเป็นกลุ่มโอเมก้า 6 ในสัตว์น้ำมีปริมาณไขมันต่ำแต่มีปริมาณกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 สูงกว่าสัตว์บกและสัตว์ปีกโดยเฉพาะกรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) และกรดไขมันดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid, C22:6n3) เช่น ปลาซาร์ดีน ปลาแฮร์ริง ปลาแมคคาเรล ปลาแซลมอน ปลาทูน่า พบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ในสัดส่วน 2.5 - 8 กรัมต่อเนื้อปลา 200 กรัม

นอกจากนี้ยังพบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ในปลาน้ำจืดของไทยหลายชนิด เช่น ปลาสวาย ปลาช่อน ที่มีปริมาณกรดไขมัน โอเมก้า 3 เทียบเท่ากับปลาทะเล (Birch and Hoffman, 1992)

แหล่งกรดไขมันจากจุลินทรีย์

กรดไขมันจากจุลินทรีย์มีทั้งในจุลินทรีย์กลุ่มโปรคาริโอตและยูคาริโอต ดังเช่น แบคทีเรีย และไซยาโนแบคทีเรีย อะมีบา โปรโตซัว จุลสาหร่าย ตลอดจนจุลินทรีย์ต่างๆ ล้วนแล้วแต่มีกรดไขมันที่มีสายอะตอมคาร์บอนยาว มีความไม่อิ่มตัวสูงมีพันธะคู่หลายตำแหน่ง เป็นองค์ประกอบของเซลล์ทั้งสิ้น โดยมีปริมาณมากหรือน้อยแตกต่างกันไปตามชนิดและแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์นั้นๆ (สาวิตรี ลิ้มทอง, 2549) ยีสต์และรา มีองค์ประกอบของกรดไขมันที่คล้ายคลึงกับพืช ถือเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดไขมันสูง ในจุลินทรีย์กลุ่มยูคาริโอตนี้ ยีสต์มีประสิทธิภาพการผลิตกรดไขมันสูงกว่ารา ซึ่งยีสต์แต่ละชนิดสามารถสะสมลิปิดได้สูงสุดถึง 40 - 70 ของชีวมวล โดยปริมาณลิปิดที่สร้างขึ้นจะแตกต่างกันตามสายพันธุ์และสภาวะการเลี้ยง (ปาริชาติ สักกะทำนุ, 2544) ยีสต์ผลิตกรดไขมันตั้งแต่คาร์บอน 8 อะตอม จนถึงคาร์บอน 24 อะตอม ซึ่งกรดไขมันส่วนใหญ่ที่พบในยีสต์จะพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่พบจะเป็นกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) ตัวอย่างเช่น *Canida* sp., *Cryptococcus* sp., *Hansenula* sp., *Lipomyces* sp. และ *Rhodotorula* sp. (Zelles, 1997) นอกจากนี้ยังพบกรดไขมันที่จำเป็นกลุ่มโอเมก้า 3 ที่ผลิตได้จากยีสต์ คือ กรดไขมันอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, C20:5n3) และกรดไขมันด็อกซาเฮกซาอีเอ (Docosahexaenoic acid, C22:6n3) (สมศักดิ์ วรรคามิน, 2552)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ปริมาณลิปิด และกรดไขมันในเซลล์ยีสต์

ปริมาณลิปิดที่เป็นองค์ประกอบในยีสต์จะแปรเปลี่ยนตามปัจจัยต่างๆ ของการเจริญเติบโตด้วยซึ่งเพียงแค่องค์ประกอบทางเคมีของอาหารเปลี่ยนแปลงไปก็จะเห็นเชื้อหุ้มต่างๆ เปลี่ยนแปลงไปด้วย กลไกสำคัญที่ทำให้ปัจจัยสิ่งแวดล้อมเหล่านี้มีผลต่อองค์ประกอบของลิปิดในเซลล์ก็ยังไม่มีการทราบแน่ชัด และคงจะต้องเป็นงานวิจัยที่สำคัญที่ต้องค้นหาค้นต่อไปในอนาคต

1. อัตราการเจริญเติบโต นักวิจัยส่วนใหญ่มักจะศึกษาที่ปริมาณการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของลิปิดของยีสต์ ในช่วงระยะต่างๆ ของการเจริญใน batch culture ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะมีผลปริมาณของกรด

ไขมันไม่อิ่มตัว รวมทั้งสัดส่วนของ phospholipid ด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า ในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มที่จะสร้างกรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0) สูงกว่า กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) และมีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว ถ้าการเจริญมีอัตราช้าลง

2. อุณหภูมิในการเจริญ อุณหภูมิในการเจริญของจุลินทรีย์มีผลต่อองค์ประกอบของลิปิดของเซลล์ เป็นที่ทราบกันมากกว่าครึ่งศตวรรษในแทบจะทุกชนิดของสิ่งมีชีวิตว่าเมื่ออุณหภูมิในการเจริญลดลงจากอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum) การสร้างไขมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้มักจะเพิ่มมากขึ้นไปด้วย ซึ่งอิทธิพลนี้ได้มีการรายงานไว้ใน การเลี้ยงแบบ batch – culture ของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และยีสต์ *C. utilis* รวมทั้งยีสต์ *C. lipolytica* ซึ่งพบว่าเมื่อเลี้ยงโดยควบคุมให้มีปริมาณออกซิเจนคงที่ ปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกสร้างมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการเจริญลดลง ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NCYC366 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่ามี phospholipid เพิ่มขึ้นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง phosphatidylcholine และ phosphatidic acid

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

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

5. ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น จากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณลิปิดของ *Candida albicans* เพิ่มสูงขึ้น จากร้อยละ 0.32 เป็นร้อยละ 6.29 แต่อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของยีสต์จะถูกยับยั้งได้ถ้ามีปริมาณเกลือเข้มข้นสูงเกินไป

6. วิตามิน การขาดวิตามินมีผลต่อปริมาณลิปิดในยีสต์ ในยีสต์ *Hanseniaspora valbyensis* ที่เลี้ยงในอาหารที่ขาดวิตามิน Pyridoxine มีปริมาณลิปิดน้อยลงถึงร้อยละ 40 เปรียบเทียบกับเซลล์ยีสต์ชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในอาหารที่มีวิตามินอย่างเพียงพอ และยังพบว่ายีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่เลี้ยงในอาหารที่ขาด Panthothenate ก็มีการสร้างลิปิดที่น้อยกว่ายีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่ขาดวิตามินนี้ นอกจากนี้ยีสต์

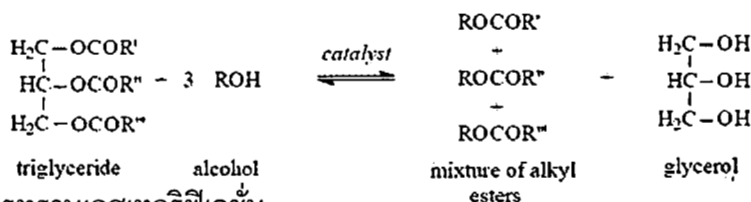
Saccharomyces cerevisiae ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี inositol ก็จะมีการสร้าง Phosphatidy - inositol ลดลงด้วย (สมถวิล จิตตวร และคณะ, 2551)

การสร้างกรดไขมันในยีสต์

ในการสร้างกรดไขมันทั้งเอนไซม์ *fatty acid synthase* และ *acetyl - CoA carboxylase* เป็นเอนไซม์หลักที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง ถ้าเป็นในยีสต์ *fatty acid synthase* เป็นโมเลกุลที่ซับซ้อนประกอบด้วย α - subunits และ β - subunits ชนิดละ 6 units ซึ่งถูกสร้างขึ้นจาก gene *FAS2* และ *FAS1* ตามลำดับ ส่วน *acetyl - CoA carboxylase* ซึ่งเป็น โมเลกุลแบบ homotetramer ถูกสร้างขึ้นจาก gene *FAS3* ในเชื้อราที่มีเส้นใย วิธีการสร้าง fatty acid มีการ desaturation และ elongation จากกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) เพื่อให้ได้กรดไขมันที่มีความยาวมากขึ้น และเป็น Polyunsaturated fatty acid (PUFAs) และสารที่ใช้เป็น substrate ในการสร้างกรดไขมันโอเลอิก (oleic, C18:1) จากการ $\Delta 9$ - desaturation ของกรดไขมันสเตียริก คือ stearoyl - CoA (Mackenzie et al., 2002)

ทรานเอสเทอร์ฟิเคชันด้วยกรด (acid - catalysed transesterification)

การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Chromatograph) อาศัยหลักการที่ว่าสารตัวอย่างที่ใช้แยกต้องเป็นสารที่ระเหยกลายเป็นไอง่าย กรดไขมันในโครงสร้างเซลล์ส่วนมากอยู่ในรูปเอสเทอร์กับไขมันชนิดอื่นๆ ดังนั้นในการวิเคราะห์จึงต้องแทนที่เอสเทอร์ของกรดไขมันในโครงสร้างเซลล์ด้วยแอลกอฮอล์ (ส่วนมากเป็นเมทานอล) ให้เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ ให้ได้ผลิตภัณฑ์ Fatty acid methyl ester ที่มีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวต่ำกว่า และระเหยกลายเป็นไอง่าย



ภาพที่ 4 กระบวนการทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน

ที่มา : http://www.barascientific.com/article/Biodiesel2/biodiesel_2.php

กระบวนการทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน

สามารถทำได้หลายวิธีดังต่อไปนี้ การใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน อาทิเช่น Sulfuric, phosphoric, hydrochloric organic, sulfonic acid ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดนี้ได้รับการพัฒนาขึ้นเพื่อแก้ไขข้อจำกัดของตัวเร่งต่าง โดยข้อดีของการใช้ตัวเร่งประเภทกรดคือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณผลได้สูงและยังสามารถใช้กับสารตั้งต้นที่มีคุณภาพด้อยกว่าน้ำมันบริสุทธิ์ได้ (เช่น มีกรดไขมันอิสระปนอยู่) อย่างไรก็ตาม ตัวเร่งดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดการกัดกร่อนของอุปกรณ์ที่ใช้ อีกทั้งกระบวนการใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าการใช้เบสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งเหมาะสำหรับกลีเซอรอลที่มีปริมาณ free fatty acid สูงและมีน้ำมาก โดยอาศัยปฏิกิริยาทางเคมีที่เรียกว่า “ทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน (แอลกอฮอล์ไลซิส) และ เอสเทอร์ฟิเคชัน” โดยมีสารตั้งต้นเป็นน้ำมัน (ไตรกลีเซอไรด์) หรือกรดไขมัน ซึ่งทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ (ทั้งเมทานอล หรือเอทานอล แต่ส่วนใหญ่ใช้เมทานอลเนื่องจากให้ประสิทธิภาพการผลิตที่สูงกว่า) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแอลคิลเอสเทอร์หรือไบโอดีเซล

ที่มา : http://www.barascientific.com/article/Biodiesel2/biodiesel_2.php

กากขานอ้อย

กากขานอ้อย ประกอบด้วยเซลลูโลส และไซโตส ซึ่งจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลจากกากขานอ้อยเป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ ลำต้นของอ้อยประกอบด้วยน้ำร้อยละ 84 โปรตีนร้อยละ 0.2 ไขมันร้อยละ 0.5 ถ้าที่ละลายน้ำได้ร้อยละ 12 แคลเซียม 8 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ และเหล็ก 1.3 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ส่วนของลำต้นที่หีบเอาน้ำออก มีส่วนประกอบคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักของขานอ้อยเปียก ประกอบด้วย ความชื้นร้อยละ 46 - 52 เส้นใยร้อยละ 13 - 52 ของแข็งที่ละลายน้ำได้ (ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล) ร้อยละ 2.6 กรดอะมิโน ได้แก่ Aspartic acid 13.25 ร้อยละมิลลิกรัม, Threonine 5.58 ร้อยละมิลลิกรัม, Methionine 7.84 ร้อยละมิลลิกรัม, Valine 3.33 ร้อยละมิลลิกรัม, Leucine 5.75 ร้อยละมิลลิกรัม, Tyrosine 1.51 ร้อยละมิลลิกรัม และ Alanine 3.56 ร้อยละมิลลิกรัม นอกจากนี้ยังมีสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเนื้องอก (Antitumor Substance) ร้อยละ 0.1 อาจเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นสารประกอบน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม เช่น น้ำตาลกลูโคส (glucose) และน้ำตาลฟรุคโตส (fructose) น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม

เช่น ไซโลส (xylose) เป็นน้ำตาลไม่พบอิสระ แต่พบน้ำตาลในโครงสร้างโพลีแซ็กคาไรด์ อีกทั้งน้ำตาลในกากขานอ้อยเหล่านี้มักมีองค์ประกอบหลักเป็นพวกสารลิกโนเซลลูโลสซึ่งจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายในสภาพธรรมชาติ (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2543)

กรดไขมันในจุลินทรีย์

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีกรดไขมันที่แตกต่างกัน ในสาหร่ายเซลล์เดียวส่วนใหญ่จะเป็นพวก even-chain saturated หรือพวก monounsaturated fatty acids ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัว กรดไขมันส่วนใหญ่จะไม่อยู่ในรูปกรดไขมันอิสระแต่จะมีโครงสร้างอยู่ในรูปของโมเลกุลเชิงซ้อน (complex molecules) เช่น acylglycerol, glycosylglycerol และ acylphosphoglycerol lipids ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมัน 7 ชนิด คือ myristic (C14:0), palmitic (C16:0), palmitoleic (C16:1n7), stearic (C18:0), oleic (C18:1n9), linoleic (C18:2n6) และ linolenic โดยพบอยู่ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (Harwood และ Russell, 1984) Shimen และคณะ (1989) พบว่าเชื้อรา *Mortierella alpina* 20-17 สามารถผลิตกรดไขมันที่มี AA (C20:4n6) ได้มากที่สุด ส่วนกรดไขมันอื่นๆในเส้นใยได้แก่ palmitic acid, stearic acid, oleic acid, LA (linoleic C18:2n6), ALA [α -linolenic acid (18:3n3)] และ GLA (C18:3n6) Anamnart และคณะ (1998) ได้รายงานผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Hansenula polymorpha* สายพันธุ์ CBS 1976 พบว่าประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว oleic acid (C18:1n9), GLA (C18:3n6) และ ALA (C18:3n3) ส่วนกรดไขมันในแบคทีเรียพบว่าเป็นสารประกอบพวก short-chain polyunsaturated fatty acid และบางส่วนเป็น linoleic acid (GLA) (Russell และ Nichols, 1999) สำหรับโปรโตซัว Sul และคณะ (2000) ได้ศึกษาใน *Parauronema acutum* พบว่ามีกรดไขมันหลายชนิดดังนี้ คือ กรดไขมันอิ่มตัว ได้แก่ myristic acid, palmitic acid และ stearic acid ซึ่งมีประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 ถึง 3 พันธะ ได้แก่ oleic acid, LA, ALA และ ETA ซึ่งมีอยู่ประมาณ 35-50 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ได้แก่ EPA และ DHA มีอยู่ประมาณ 16-25 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด Stredansky และคณะ (2000) ได้รายงานการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ ในรา *Pythium ultimum* พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ประกอบด้วย ข้าวบาร์เลย์ (28.5 เปอร์เซ็นต์) spent malt grains (5.75 เปอร์เซ็นต์) น้ำมันลินสีด (5.75 เปอร์เซ็นต์) และสารละลายอาหาร (60 เปอร์เซ็นต์) ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน จะพบกรดไขมัน ดังนี้ คือ myristic (C14:0) ร้อยละ 6.8, palmitic (C16:0) ร้อยละ 14.1, palmitoleic (C16:1n7) ร้อยละ 2.3, stearic (C18:0) ร้อยละ 21.3, oleic (C18:1n9) ร้อยละ 22.3, linoleic (C18:2n6) ร้อยละ 20.4, α -linolenic (C18:3n3) ร้อยละ 19.6, arachidonic (C20:4n6) ร้อยละ 5.9 และ eicosapentaenoic (C20:5n3) ร้อยละ 7.9

แอกติโนมัยซีท (*actinomycetes*)

แอกติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายเชื้อรา คือมี mycelium แตกกิ่งก้าน และสามารถสร้างสปอร์ไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า conidiospore หรือ conidia และ sporangiospore อยู่ใน sporangium ลักษณะที่แตกต่างจากราที่สำคัญของแอกติโนมัยซีทคือ ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสซึ่งจัดเป็นเซลล์โปรคาริโอต และขนาดของเส้นใยมีขนาดเล็กกว่ารา ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 ไมโครเมตร ลักษณะของโคโลนีที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าโคโลนีเกาะแน่นและมีลักษณะจมอยู่ในอาหาร โคโลนีคล้ายผงหรือฝุ่นแป้ง หยาดขรุขระคล้ายหนังสัตว์ บางชนิดอาจมีการสร้างรงควัตถุสีต่างๆ เช่น สีส้ม สีครีม สีเทา เป็นต้น ส่วนการเจริญของเส้นใยสามารถเจริญไปเป็นเส้นใยที่สัมผัสกับอากาศเรียกว่า aerial mycelium และมีส่วนที่เป็นเส้นใยเจริญลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเรียกว่า substrate mycelium ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญหรือช่วงอายุจะยาวนานกว่าแบคทีเรียมาก แอกติโนมัยซีทที่เรียกจึงเจริญได้อย่างช้าๆ อันเป็นลักษณะสำคัญประการหนึ่งของแอกติโนมัยซีท จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถนำมาใช้เป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกหมวดหมู่ของแอกติโนมัยซีทได้ (Martin, 1961)

ประโยชน์ของแอกติโนมัยซีท

แอกติโนมัยซีทสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ สารสี หรือสารอื่นๆ ได้ จากข้อมูลล่าสุดพบว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่สร้างมาจากแอกติโนมัยซีท (45%) เชื้อรา (38%) และแบคทีเรียชนิดอื่น (17%) โดยจุลินทรีย์กลุ่มแอกติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดเป็นเชื้อในสกุล *Streptomyces* ซึ่งผลิตสารปฏิชีวนะได้ 70% (ประมาณ 8,000 ชนิด) ของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากแอกติโนมัยซีททั้งหมด (McCarthy and Williams, 1990) เอนไซม์ที่แอกติโนมัยซีทสามารถผลิตได้มีหลายชนิด ได้แก่ xylanase, cellulase, amylase และ chitinase เป็นต้น เอนไซม์ amylase ที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีหลายชนิดที่สามารถผลิต amylase ได้ ได้แก่ *Micromonospora*, *Nocardia* และ *Streptomyces* (Das, 1996) เอนไซม์ amylase สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ เช่น การลดความหนืดของแป้งในอุตสาหกรรมทอผ้า การเพิ่มหรือการผลิตสารให้ความหวานในอุตสาหกรรมเบียร์ หรือเครื่องดื่ม เป็นต้น ส่วนเอนไซม์ chitinase ที่มีคุณสมบัติในการย่อยไคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของรา หรือเป็นองค์ประกอบของ exoskeleton ของพวก arthropod จินส์ที่สามารถผลิต chitinase ได้แก่ *Streptomyces* (Dahiya, 2006) เอนไซม์ chitinase สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ ได้เช่น นำมาทำ protoplast ของรา เพื่อศึกษาองค์ประกอบของผนังเซลล์ของรา การสังเคราะห์สารต่างๆ การนำมาเป็น สารควบคุมทางชีวภาพ เช่น ใช้ควบคุมราที่ก่อโรคพืช และ การนำมาย่อยสลายของเสียทางอุตสาหกรรมการแช่แข็งอาหารทะเลเป็น

การเพิ่มมูลค่าของของเสียในอุตสาหกรรม เป็นต้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่เกิดโดยแอคติโนแบคทีเรียที่มีรายงานในช่วงปี ค.ศ. 2003-2005 แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่เกิดโดยแอคติโนแบคทีเรีย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	แอคติโนแบคทีเรีย	กิจกรรมการยับยั้ง
Abyssomicins	<i>Verrucosispora</i> sp.	Antibacterial
Aureoverticillactam	<i>Streptomyces aureoverticillatus</i>	Anticancer
Bonactin	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial; antifungal
Caprolactones	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Chandrananimycins	<i>Actinomadura</i> sp.	Antialgal; antibacterial; anticancer; antifungal
Chinikomycins	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Chloro-dihydroquinones	Novel actinobacteria	Antibacterial; anticancer
Diazepinomicin	<i>Micromonospora</i> sp.	Antibacterial; anticancer antiinflammatory
3,6-disubstituted indoles	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Frigocyclinone	<i>Streptomyces griseus</i>	Antibacterial
Gutingimycin	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial
Helquinoline	<i>Janibacter limosus</i>	Antibacterial
Himalomycins	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial
Komodoquinone A	<i>Streptomyces</i> sp.	Neuritogenic activity
Lajollamycin	<i>Streptomyces nodosus</i>	Antibacterial
Marinomycins	<i>Marinispora</i>	Antibacterial; anticancer
Mechercharmycins	<i>Thermoactinomyces</i> sp.	Anticancer
Salinosporamide A	<i>Salinispora tropica</i>	Anticancer
Sporalides	<i>Salinispora tropica</i>	Unknown biological acti
Trioxacarcins	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial; anticancer antimalarial

549.147
bn 451 n
ฉ.3

334227

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีการศึกษาวิจัยในเรื่องกรดไขมันในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น สิ่งมีชีวิตที่นำมาศึกษามีทั้งพืช สัตว์และจุลินทรีย์ โดยพบองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างที่ศึกษาโดยส่วนมากมีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ C16-18 ตัว กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), และ linolenic acid (C18:3) เป็นต้น (วิเศษฐ์ ถิลาภานิตย์, 2540) ในการศึกษาปริมาณกรดไขมันที่พบในจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นั้น จะพบกรดไขมันต่างชนิดกันน้อยแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ โดยมีรายงานว่าจุลินทรีย์พวกโปรคาริโอต ได้แก่ แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรีย และพวกยูคาริโอต ได้แก่ รา โปรโตซัว และสาหร่าย จะมีองค์ประกอบของกรดไขมันต่างกัน โดยแบคทีเรียต่าง ๆ นั้นจะพบว่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว oleic acid (C18:1) อยู่เป็นจำนวนมาก และในแบคทีเรียบางชนิดจะพบ EPA ประกอบอยู่ด้วย (Dennis, 1993) กรดไขมัน นอกจากมีประโยชน์ด้านการแพทย์แล้ว ยังมีประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานด้านการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย โดยใช้องค์ประกอบกรดไขมันเป็นตัวจำแนก (พนิดา พงศ์ภาณุมาพร, 2543) การใช้ องค์ประกอบกรดไขมันในการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์นั้น มีใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งในเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา และยังมีประโยชน์ในการแยกความแตกต่างของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ที่ คล้ายกันมากออกจากกันได้

จากความสัมพันธ์ระหว่างฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำซึ่งเป็นความสัมพันธ์ที่ก่อให้เกิด ผลิตภัณฑ์งานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดนี้ เช่น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดของ แบคทีเรียที่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เป็นต้น จากประสิทธิภาพของฟองน้ำและ แบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำทางด้านเภสัชภัณฑ์ ทำให้เกิดสิ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้ประโยชน์ทางการ เพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์เพื่อลดต้นทุนการเพาะเลี้ยง กล่าวคือเมื่อสกัดสารจากฟองน้ำธรรมชาติ และจาก แบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำแล้วทราบถึงชนิดและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน และ แบคทีเรียใดที่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ดี โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่ม PUFA เช่น 20:5 n-3 และ 22:6 n-3 เป็นต้น ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปเป็นประโยชน์ด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์ น้ำหรือแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดอื่นเช่น โรติเฟอร์ หรือลูกหอยวัยอ่อน ซึ่งการนำไปใช้อาจเป็นการเลี้ยงด้วย แบคทีเรียชนิดเดียวหรือเลี้ยงเสริมกับอาหารชนิดอื่น มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษากรดไขมันใน แบคทีเรียและการนำแบคทีเรียไปใช้ประโยชน์มาการเพาะเลี้ยง ซึ่งผลการศึกษาที่มีความหลากหลายแตกต่างกันดังนี้ Brown et al 1996 ศึกษาองค์ประกอบคุณค่าทางอาหารของแบคทีเรียทะเล 7 ชนิด ได้แก่

Aeromonas sp. ACM 4771 *Derxia* sp. ACM 4771 *Derxia* sp. ACM 4772 *Derxia* sp. ACM 4773

Methylophilus methylotrophus NCIB 10515 *Pseudomonas testosteroni* ACM 4768 *Pseudomonas testosteroni* ACM 4769 *Pseudomonas* sp. ACM 4770 และยีสต์ 6 ชนิด *Debaryomyces hansenii* ACM 4784 *Dipodascus capitatus* ACM 4779 *Dipodascus* sp. ACM 4780 *Dipodascus* sp. 4778 *Dipodascus* sp. ACM 4781 *Dipodascus* sp. ACM 4782 เพื่อใช้เป็นอาหารของลูกหอยวัยอ่อน โดยเปรียบเทียบผลกับยีสต์ 2 ชนิดที่ใช้กันทั่วไปคือ *Candida utilis* ACM 4774 *Saccharomyces cerevisiae* ACM 4775 ผลการศึกษาพบว่าทั้งยีสต์และแบคทีเรียมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก (25-49 % น้ำหนักแห้ง) มีไขมันเป็นองค์ประกอบ 2.5-11.5 % น้ำหนักแห้ง) และทั้งยีสต์และแบคทีเรียไม่มี กรดไขมัน 20:5 n-3 และ 22:6 n-3 ซึ่ง Brown ได้สรุปว่าสามารถนำยีสต์และแบคทีเรียมาใช้เป็นอาหารได้โดยนำมาเป็นส่วนผสมของอาหารที่ให้

Leonardos and Lucas, 2000 อ้างถึง Yasuda and Taga, 1980 Intriago and Jone, 1993 รายงานถึงการให้แบคทีเรียเป็นอาหารสัตว์น้ำว่าแบคทีเรียบางชนิดเมื่อใส่ร่วมกับแพลงก์ตอนพืชที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน (อาร์ทีเมีย) ทำให้สัตว์น้ำวัยอ่อนมีการเจริญเติบโตดีขึ้นมากกว่าเลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืชอย่างเดียว นอกจากนี้ Douillet and Langdon, 1993, 1996 ได้ทดลองเลี้ยงลูกหอย *Crassostrea gigas* พบว่าแบคทีเรียชนิด axenic ที่มีในระบบเลี้ยงลูกหอยทำให้ลูกหอยมีการเจริญเติบโตดีขึ้น อ้างโดย Leonardos and Lucas, 2000

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

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

Nichols, 2003 ทบทวนรายงานการวิจัยในช่วง 16 ปีที่ผ่านมาถึงการกระจายและความอุดมสมบูรณ์ของแบคทีเรียที่ผลิต PUFA ได้ ในสภาวะแวดล้อมทางทะเล พบว่าแบคทีเรียที่สามารถผลิต PUFA อยู่ในสกุล *Shewanella*, *Colwellia*, *Moritella*, *Pseudomonas*, *Psychoroflexus* และ *Photobacterium* ซึ่งพบในลำไส้ปลิงทะเล ทะเลน้ำแข็งแอนตาร์กติก ตะกอนดิน หอย ต่อมหมึกของปลาหมึก ในทะเลลึกและในน้ำทะเลประเทศญี่ปุ่น นอกจากนี้ได้สรุปถึงบทบาทของแบคทีเรียในสภาวะแวดล้อมทางทะเล พบว่ามี 2 อย่าง ได้แก่ เป็นแหล่งของอาหารชั้นต้นของสัตว์กินเนื้อ สัตว์หน้าดิน สัตว์ที่กินอาหารโดยวิธีการกรอง และ เป็นส่วนประกอบของชุมชนสัตว์ทะเล นอกจากนี้ยังรายงานเพิ่มเติมว่าสิ่งมีชีวิตเล็กๆในทะเลหลายชนิดไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมัน n-3 polyunsaturated (PUFA) ได้ ต้องอาศัยจากอาหารที่กินเท่านั้น

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

Doumenq et al, 1999 ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ได้แก่ ชนิดแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ ระยะเวลาเจริญเติบโตและการให้และไม่ให้ออกซิเจนต่อองค์ประกอบกรดไขมันของเชื้อแบคทีเรีย denitrifying marine, *Pseudomonas nautica* strain IP 617 โดยใช้ n-eicosane, Sodium acetate และ rich medium เป็นแหล่งคาร์บอน และควบคุมอุณหภูมิที่ 13°C, 20°C และ 30°C ผลการศึกษาสามารถแบ่งตามลำดับความสำคัญต่อการผลิตกรดไขมันดังนี้ แหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ ระยะเวลาเจริญเติบโต ออกซิเจน ความแตกต่างระหว่างแหล่งคาร์บอน n-eicosane (nC20) กับอีก 2 ชนิด คือมีทั้งกรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันแบบมีกิ่งก้าน (20:1 n-9, 20:0) และ 10 methyl branched series) ส่วนผลของอุณหภูมิต่อ *Pseudomonas nautica* strain IP 617 พบว่ามีกระบวนการ acyl chain length thermoregulation ของกรดไขมัน monounsaturated ซึ่งเป็นกรดไขมันหลัก ซึ่งมีผลให้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นมีผลต่ออัตราส่วนของ C18:1/ 16:1 เพิ่มขึ้น ส่วนผลของระยะเวลาเจริญเติบโตและการให้ออกซิเจนไม่มีความแตกต่างกันต่อการผลิตกรดไขมัน

Mei et al., 2010 ศึกษากรดไขมันในยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a ที่แยกจากผิวของปลาทะเลที่มีปริมาณไขมันมาก จากการย่อยของแป้งมันสำปะหลังของยีสต์ *R. mucilaginosa* ในอาหารเลี้ยงยีสต์แบบหมักไม่ต่อเนื่อง (batch fermentation) พบว่า มีการให้ผลผลิตของกรดไขมันร้อยละ 47.9 โดยมวล ในขณะที่การย่อยของแป้งมันสำปะหลังของยีสต์ *R. mucilaginosa* ในอาหารเลี้ยงยีสต์แบบหมักกะ (fed - batch fermentation) พบกรดไขมันร้อยละ 52.9 โดยมวล และผู้วิจัยสรุปว่า ยีสต์ที่มาจากทะเล *R.*

mucilaginos TJY15a ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มโทเลอิก (Palmitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linolenic acid, C18:2n6)

Gutierrez and Da Silva, 1993 ศึกษาไขมัน และองค์ประกอบของกรดไขมันของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M-300A และ *Saccharomyces uvarum* IZ-1904 ที่เจริญในสภาวะไร้ออกซิเจน โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีกรดไขมันชนิดกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงสุด ประมาณร้อยละ 42 ของกรดไขมันทั้งหมด กรดไขมันที่พบรองลงมาคือ กรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0) กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และพบกรดไขมันแอลฟาไลโนเลนิก (α - Linolenic acid, C18:3n3) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดลิปิดที่ได้นั้นมีปริมาณ 1.02 - 3.13 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง ขึ้นอยู่กับชนิดของกากน้ำตาลและสายพันธุ์ของยีสต์

Evans and Ratledge, 1992 ศึกษาอาหารที่ใช้เลี้ยงยีสต์ และองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Candida curvata* โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการศึกษาคือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส น้ำตาลซูโครส น้ำตาลแลคโตส และเอทานอล พบว่ายีสต์ *C. curvata* สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์มากที่สุด ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลแลคโตส รองลงมาคือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส และเอทานอล ตามลำดับ พบว่ากรดไขมันจากยีสต์ *C. curvata* ที่เลี้ยงในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลไซโลส ผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดกรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0) และกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) สูงที่สุด แต่กลับให้กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวน้อยที่สุด ตรงกันข้ามกับยีสต์ที่เลี้ยงในแหล่งคาร์บอนที่เป็นเอทานอล ที่ผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดกรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0) น้อยที่สุด และผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงที่สุด

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

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

มนูเทพ กนกศิลป์, 2550 ศึกษาปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตไขมันของยีสต์ *Rhodotorula gracilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM พบว่า พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์คือ 6.0 โดยให้น้ำหนักแห้ง 1.44 กรัมต่อลิตร (ของอาหารเลี้ยงเชื้อ) ในที่ 72 ชั่วโมง แต่มีการสะสมไขมันต่ำคือ เพียงร้อยละ 9.3 (ของน้ำหนักแห้ง) ขณะที่พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 5.5 เป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตไขมันโดยให้น้ำหนักแห้ง 0.83 กรัมต่อลิตร (ของอาหารเลี้ยงเชื้อ) และมีการสะสมไขมันสูงถึงร้อยละ 16.7 อย่างไรก็ตาม ยีสต์ที่เจริญในอาหาร YM ที่มีพีเอช 5.5 และ 6.0 และเลี้ยงในสภาวะขาดแหล่งไนโตรเจน ต่างก็สามารถเพิ่มการสะสมไขมันสูงขึ้นเป็นร้อยละ 23 และการสะสมไขมันนี้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 7 ชั่วโมงแรกของการเกิดสภาวะขาดแหล่งไนโตรเจน สำหรับยีสต์ที่เลี้ยงการเจริญในอาหารที่จำกัดปริมาณไนโตรเจน เซลล์ยีสต์จะเริ่มสะสมไขมันเพิ่มขึ้นขณะที่การเจริญเข้าสู่ Stationary phase การเติมแหล่งไนโตรเจน หลังจากเลี้ยงเซลล์ที่ 32 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่เซลล์เริ่มเข้าสู่ Stationary phase ไม่สามารถเพิ่มการเจริญหรือเพิ่มการสะสมไขมันได้ เมื่อเลี้ยงเซลล์ต่อไปที่ 72 ชั่วโมง เซลล์ที่ได้มีน้ำหนักแห้ง 1.10 กรัมต่อลิตร และมีการสะสมไขมันร้อยละ 16.1

Christophe et al., 2012 การเปรียบเทียบองค์ประกอบกรดไขมันของพืชผลิตน้ำมัน เช่น น้ำมันจากเมล็ดคาโนล่า (Rapeseed Oil), ปาล์มน้ำมัน (Oil palm), น้ำมันจากเมล็ดทานตะวัน (Sunflower) และจุลินทรีย์ในยีสต์ *Rhodotorula* sp., *Rhodospiridium* sp., *Yarrowia* sp., *Lipomyces* sp., *Trichosporon* sp. และ *Cryptococcus* sp. เป็นต้น โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคส พบว่ายีสต์ดังกล่าวสามารถผลิตกรดไขมันได้ทั้งกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวคล้ายคลึงกับพืชผลิตน้ำมัน กรดไขมันอิ่มตัวที่พบคือ กรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0), และกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) เป็นต้น และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบคือ กรดไขมันปาล์มโทเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไลโนเลนิก (Linolenic acid, C18:3n3) จุลินทรีย์กลุ่มยีสต์มีองค์ประกอบกรดไขมันไม่แตกต่างจากพืชน้ำมันแต่ปริมาณกรดไขมันที่พบขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์นั้นๆ ซึ่งยีสต์ *Trichosporon* sp. ผลิตกรด

ไขมัน โอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ร้อยละ 57 ของกรดไขมันทั้งหมด ไม่แตกต่างจากน้ำมันจากเมล็ดคาโนล่า ผลิตภัณฑ์ไขมัน โอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ร้อยละ 56 - 64 ของกรดไขมันทั้งหมด เป็นต้น

อิงสุรจักษ์ สังข์เงิน และชนิดากา ยิ่งประยูร, 2554 ศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในยีสต์ BS 1-2 และเชื้อยีสต์ BS 6-2 ที่ทำการคัดแยกได้จากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยในน้ำกลั่น อาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที อาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที ที่กรองกากขานอ้อยก่อนนำเข้าสู่เครื่องหมักหนึ่งความดันอัดโนมิตี และอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที ที่กรองก่อนกากขานอ้อยหลังนำออกจากเครื่องหมักหนึ่งความดันอัดโนมิตี ผลการศึกษาพบว่าจำนวนเซลล์ของยีสต์ BS 1-2 และยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยทั้ง 4 ชนิด มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นสูงที่สุดที่ 72 ชั่วโมง และวิธีการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที ที่กรองกากขานอ้อยก่อนนำเข้าสู่เครื่องหมักหนึ่งความดันอัดโนมิตีให้จำนวนเซลล์สูงสุด ยีสต์ BS 6-2 มีจำนวนเซลล์เท่ากับ 2.4×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และยีสต์ทั้งสองชนิดที่เลี้ยงเป็นระยะเวลาที่ 72 ชั่วโมง ซึ่งมีกรดไขมันชนิดกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวเป็นองค์ประกอบสูงสุด ร้อยละ 43.78 ± 0.15 และร้อยละ 40.66 ± 0.35 ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ชนิดของกรดไขมันที่พบมาก คือ กรดไขมัน โอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) สูงที่สุดรองลงมาคือ กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) และกรดไขมัน ไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ตามลำดับ

Andreishcheva et al., 1999 ศึกษายีสต์ *Yarrowia lipolytica* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.01, 1.5, 3, 4, 5, 6 และ 9 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ basel medium ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาด รูปร่าง และระดับกลีเซอรอลภายในเซลล์ ยีสต์ ความเข้มข้นของเกลือที่ระดับร้อยละ 6 และ 9 มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7) และกรดไขมัน โอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และการลดลงของกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) และกรดไขมัน ไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6)

Martina et al., 2004 ทำการเลี้ยงยีสต์ชนิดชอบความเค็ม (halophilic) กลุ่ม *Hortaea werneckii* และ *Phaeotheca triangularis* และชนิดทนความเค็ม (halotolerant) *Aureobasidium pullulans* ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 0.5, 10, 17, 25 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ YNB ที่มียีสต์สกัด 1.7 กรัม ไนโตรเจน 0.8 กรัม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5 กรัม และกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และพีเอชอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.0 การบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่ายีสต์กลุ่ม *H. werneckii* และ *P. triangularis* มีการเจริญที่ดี และมีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรด

ไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และ กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) โดยพบกรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) และกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) สูงสุด ร้อยละ 24 และ 25 ของกรดไขมันทั้งหมด ในยีสต์ *H. werneckii* และ *P. triangularis* ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 25 ส่วนยีสต์กลุ่ม *A. pullulans* มีการเจริญที่ดี และมีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) โดยพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงสุด ร้อยละ 50 ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 10 ในการวิจัยนี้มุ่งเน้นที่ศึกษาชนิดของไขมัน และองค์ประกอบของอาหารกรดไขมันที่อยู่ในยีสต์ หรือแบคทีเรียทะเล/แอคติโนมัยซีท ซึ่งรูปแบบของไขมันและกรดไขมัน ที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมาก และใช้เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์ ตลอดจนพัฒนาเป็นสารกระตุ้นภูมิสำหรับสัตว์น้ำ อันจะเป็นทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สารเคมี

Methanol, AR grade	BDH, England
Chloroform, AR grade	BDH, England
n-Hexane, AR grade	Merck, Germany
Sulfuric acid, AR grade	Merck, Germany
Butylated hydroxytoluene (BHT), AR grade	Sigma, USA
Potassium chloride, AR grade	Merck, Germany
Sodium chloride, AR grade	Merck, Germany
Potassium hydrogen carbonate, AR grade	Fluka, Switzerland
Sodium sulfate anhydrous, AR grade	Merck, Germany
สารมาตรฐานกรดไขมัน PUFA No. 3	Supelco, USA

แก๊สฮีเลียม

แก๊สไฮโดรเจน

แก๊สไนโตรเจน

Air zreo

เครื่องมือและอุปกรณ์

Gas Chromatograph Agilent Technologies 7820A GC system, ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง Sartorius laboratory balance, ประเทศเยอรมัน

Hot air oven Yamato, Japan

คอลัมน์กรดไขมัน HP - INNOWAX เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร

เคลือบด้วย Polyethylene glycol หน้า 0.25 ไมโครเมตร ความยาว 30 เมตร:

ประเทศสหรัฐอเมริกา

กรวยแยกขนาด 2000 ml, 100 ml

ขวดลดปริมาตรหลอดลดปริมาตร

หม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ (Autoclave): TOMY SS - 325, ประเทศญี่ปุ่น

กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereoscopic microscope): Olympus, ประเทศญี่ปุ่น

ออโตเมติกปิเปต (Automatic pipette): Boeco, ประเทศเยอรมัน

เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge): TOMY SEIKO, ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer model VX - 100): Arkansas, ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการทดลอง

การเตรียมหัวเชื้อยีสต์

เตรียมหัวเชื้อยีสต์ BS 6-2 โดยการเชื้อหัวเชื้อยีสต์จากอาหารเลี้ยงเชื้อ YM medium แบบแข็งลงในน้ำกลั่นที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ ค่าการดูดกลืนแสงของหัวเชื้อที่เตรียมมีค่าเท่ากับ 0.2

การเตรียมวัตถุดิบ

กากชานอ้อยจากตลาดแหลมแท่น อำเภอแสนสุข จังหวัดชลบุรี ตัดกากชานอ้อยให้เป็นชิ้นลูกเต๋า ขนาดใกล้เคียงกัน โดยใช้อัตราส่วนของ กากชานอ้อย 1 กรัม ต่อน้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water) 10 มิลลิลิตร ที่ระดับความเค็ม (25, 30 และ 35 พีพีที)

น้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water) องค์ประกอบและวิธีการเตรียมน้ำทะเลเทียม (แสดงในภาคผนวก ก)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจากกากชานอ้อยในน้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water) 25, 30 และ 35 พีพีที

ทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำการกรองกากชานอ้อยก่อนนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันอัตโนมัติ องค์ประกอบและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (แสดงในภาคผนวก ก)

การเลี้ยงยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่ระดับความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที

นำหัวเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาस्कขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 125 มิลลิลิตร นำไปวางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 216 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192 และ 216 เพื่อทำการวิเคราะห์การเจริญและปัจจัยที่เกี่ยวข้อง

การเตรียมตัวอย่างแอกติโนมัยซีท

แยกเชื้อจากฟองน้ำทะเล และดินตะกอนชายฝั่ง /ป่าชายเลน โดยใช้ selective medium 2 ชนิด (Mineral Agar Guase I (MAGI) และ Starch Casein Agar แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ก่อนนำมาเลี้ยงให้เจริญและสร้างสปอร์บนจานเพาะเชื้อ ในอาหารเหลว ISP2 (มีน้ำทะเล 25-30%) บ่มที่ 30 °C เป็นเวลา 7-14 วัน แล้วเก็บเซลล์ด้วยวิธีปั่นเหวี่ยง ล้างด้วย Normal saline เก็บเซลล์ เพื่อตรวจวิเคราะห์ชนิดกรดไขมัน

การเตรียมตัวอย่างยีสต์

ตัวอย่างเซลล์ยีสต์

นำตัวอย่างเซลล์ยีสต์ ที่ได้จากการเลี้ยงปริมาตร 60 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 20 นาที เทส่วนใสทิ้ง หลังจากนั้นทำการล้างเซลล์ยีสต์จำนวน 2 ครั้ง โดยการเติมสารละลาย 0.85 เปอร์เซ็นต์ Normal saline (NaCl) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ

10 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 20 นาที จากนั้นเทส่วนผสมลงในขวดที่ติดป้ายกำกับและปิดฝา

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ขั้นตอนการวิเคราะห์กรดไขมันแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการสกัดไขมันในตัวอย่าง (Folch et al., 1957) และขั้นตอนการทำทรานเอสเทอร์ิฟิเคชันด้วยกรด (acid - catalysed transesterification) หลังจากนั้นนำไปวัดปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (ดัดแปลงวิธีของ Christie, 2003)

การสกัดไขมันตัวอย่าง

1) ชั่งตัวอย่างเซลล์พืช (น้ำหนักแห้ง) โดยประมาณ 0.1 กรัม ในบีกเกอร์ 100 มิลลิลิตร เติมน้ำสกัดไขมันผสมคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2 : 1) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่ผสม BHT 0.01 เปอร์เซ็นต์ นำไปผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันและตกตะกอนด้วยเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำสกัดไขมันส่วนบนใส่กรวยแยก และทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่ได้นำมาผสมกันในกรวยแยก

2) เติมน้ำสกัดไขมัน 0.88 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมคลอไรด์ ปริมาตร 1 ใน 4 ของปริมาตร สารละลายที่แยกได้จากการสกัด (12.5 มิลลิลิตร) ปิดฝากรวยแยก เขย่าประมาณ 1 นาที ปล่อยให้ไขมันแยกชั้น

3) ชั่งน้ำหนักพลาสติกกันกลม เติมน้ำสกัดไขมันลงในพลาสติกกันกลมผ่านกรวยแก้วที่บรรจุโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส เพื่อดูดความชื้น

4) นำสารละลายในพลาสติกกันกลมไประเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบสูญญากาศ

5) นำพลาสติกกันกลมที่มีไขมันทำให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

6) ชั่งน้ำหนักพลาสติกและไขมันด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง เพื่อหาน้ำหนัก

(ภาคผนวก ข)

7) ละลายไขมันด้วยสารละลายผสมคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2 : 1) ที่ผสม BHT 0.01 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำไปทำทรานเอสเทอร์ิฟิเคชันต่อไป

การทรานเอสเทอร์ิฟิเคชัน

1) บีบไขมันปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ชนิดฝาเกลียว จากนั้นเติมน้ำสกัดไขมัน 1 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริกในเมทานอล 10 มิลลิลิตร และเติม C: 17: O (Heptadecanoic acid, > 98% GC) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำไปใส่ในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง

2) นำสารละลายออกจากตู้อบทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายสารละลายใส่กรวยแยก ชะสารที่ตกค้างในหลอดทดลองด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเก็บรวมกันในกรวยแยก

3) เติมเฮกเซน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในกรวยแยก และเขย่า 1 นาที ปลดปล่อยไว้ให้แยกชั้น เก็บสารละลายชั้นบนไว้ (เฮกเซน) และถ่ายสารละลายชั้นล่างลงในหลอดทดลองเดิม เพื่อนำมาสกัดด้วยเฮกเซนปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเขย่า 1 นาที ปลดปล่อยไว้ให้แยกชั้น ใช้หลอดดูดสารละลายชั้นบน ใส่รวมกับสารละลายในกรวยแยกอันเดิม

4) เติมสารละลายโพแทสเซียมไบคาร์บอเนต 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ลงในกรวยแยก และเขย่าเล็กน้อย 1 นาที ปลดปล่อยไว้ให้แยกชั้น เก็บสารละลายชั้นบนไว้ในกรวยแยก

5) เทสารละลายที่เก็บไว้ในกรวยแยกลงในฟลาสก์ก้นกลมผ่านกรวยแก้วที่บรรจุโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส

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

7) นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ และชนิดของอุปกรณ์ตรวจวัดเป็น Flame Ionization Detector (FID) คอลัมน์ที่ใช้เป็นคอลัมน์ชนิด HP - INNOWax ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร และเคลือบด้วย Polyethylene glycol หนา 0.25 ไมโครเมตร ปริมาตรที่ฉีด 1 ไมโครลิตร สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์มีดังนี้ ฉีดด้วยระบบ split ในอัตราการ spit เท่ากับ 10:1 อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม (แก๊สพา) 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ ณ จุดฉีดสารเท่ากับ 230 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่อุปกรณ์ตรวจวัด (ดีเทคเตอร์) เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส โปรแกรมอุณหภูมิวิเคราะห์เริ่มต้นที่ 150 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 0.50 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 170 องศาเซลเซียส ในอัตราการเพิ่ม 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีและคงอุณหภูมิไว้ 10 นาที หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 190 องศาเซลเซียส ในอัตราการเพิ่ม 3 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงอุณหภูมิไว้ 25 นาที รวมระยะเวลาทั้งหมดในการวิเคราะห์ 49 นาที

การแยกและการตรวจวัด

สำหรับการวิเคราะห์หาชนิดของกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำ ใช้การเปรียบเทียบเวลาที่พีคของสารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์เทียบกับเวลาของสารมาตรฐานซึ่งทราบแล้วว่าแต่ละพีคเป็นสารมาตรฐานชนิดใด ส่วนการหาปริมาณของกรดไขมัน ทำโดยใช้การเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างกับพื้นที่ทั้งหมดการคำนวณ %กรดไขมันตามสูตร

$$\% \text{กรดไขมัน} = 100 \times \frac{\text{พื้นที่ใต้พีคของกรดไขมัน}}{A}$$

$$A = \text{พื้นที่ใต้พีคกรดไขมันทั้งหมด} - (\text{พื้นที่ใต้พีคเฮกเซน} + \text{พื้นที่ใต้พีค BHT} + \text{พื้นที่ใต้พีค internal standard})$$

วิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบทางเดียว (One way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS V. 17 ทำการแปลงข้อมูลที่มีการกระจายแบบไม่ปกติ ก่อนวิเคราะห์ (Zar, 1999)

ผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในยีสต์จำนวน 6 ชนิดที่คัดแยกจากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน จากนั้นเลี้ยงด้วยอาหาร YM พบชนิดและปริมาณกรดไขมันแตกต่างกันผลแสดงดังตารางที่ 4-5

ตารางที่ 4 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM

กรดไขมัน	BS1-2	BS1-3	BS6-1	BS6-2
C14:0	1.97 ± 0.46	0.39 ± 0.00	2.79 ± 0.34	3.17 ± 0.11
C16:0	21.56 ± 1.53	12.87 ± 0.07	11.41 ± 1.39	24.05 ± 0.65
C16:1n7	10.96 ± 0.64	10.94 ± 0.05	6.87 ± 0.63	
C16:2n4	0.22 ± 0.03	0.27 ± 0.00	0.42 ± 0.04	
C16:3n4	0.34 ± 0.00	2.51 ± 0.10	0.52 ± 0.08	
C18:0	3.19 ± 0.40	7.16 ± 0.04	2.12 ± 0.24	6.34 ± 0.13
C18:1n9	24.40 ± 1.40	35.71 ± 0.18	37.66 ± 0.74	22.02 ± 1.32
C18:1n7	0.60 ± 0.10	1.94 ± 0.01	1.39 ± 0.18	
C18:2n6	17.71 ± 0.62	20.29 ± 0.12	8.25 ± 0.19	23.90 ± 0.94
C18:3n4		nd	nd	
C18:3n3	13.15 ± 0.42	0.00	0.00	5.92 ± 0.05
C18:4n3		nd	nd	
C20:1n9		3.47 ± 0.02	1.83± 0.30	
C20:4n6		nd	0.76± 0.09	
C20:4n3		nd	0.59± 0.04	
C20:5n3		nd	nd	
C22:5n3		nd	nd	
C22:6n3		nd	nd	
sum	94.10	95.55	74.61	85.39
other	5.90	4.45	25.39	14.61
SFAs	26.73	20.42	16.32	33.56
MUFAs	35.95	48.59	45.92	22.02
PUFAs	31.42	23.07	9.19	29.82

ตารางที่ 5 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM

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

เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในยีสต์ 6 ตัวอย่าง ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM พบยีสต์ BS1-2, BS6-2 มีปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 และ C18:3n3 สูงกว่าตัวอย่างอื่น จึงนำตัวอย่างยีสต์ทั้งสองมาเลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อย ที่ความเต็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบชนิดและปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 ใน

ปริมาณ 15.56 และ 19.91 %TFA ตามลำดับ และพบกรดไขมัน C18:3n3 ในปริมาณ 9.78 และ 7.63 %TFA ตามลำดับ ผลแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างยีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหารกากชานอ้อยที่ความเค็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

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

เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันในยีสต์ BS1-2 กับ BS6-2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารกากขานอ้อย พบว่าตัวอย่างยีสต์ BS6-2 มีปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 สูงกว่า จึงเลือกยีสต์ BS6-2 มาทำการศึกษาต่อ โดยนำมาปรับสภาพการเลี้ยงที่มีความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ 25, 30 และ 35 พีพีที

การวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที โดยการวิเคราะห์กรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมันภายนอกจำนวน 18 ชนิด (ชื่อสารมาตรฐาน) ซึ่งประกอบด้วย Myristic acid; (C14:0), Palmitic acid; (C16:0), Plamitoleic acid; (C16:1n7), Hexadecadienoic acid; (C16:2n4), Hexadecatrienoic acid; (C16:3n4), Stearic acid; (C18:0), Oleic acid; (C18:1n9), Vaccenic acid; (C18:1n7), Linoleic acid; (C18:2n6), Octadecatrienoic acid; (C18:3n4), α -Linolenic acid; (C18:3n3), Stearidonic acid; (C18:4n3), Eicosenoic acid; (C20:1n9), Arachidonic acid; (C20:4n6), Eicosatetraenoic acid; (C20:4n3), Eicosapentaenoic acid; (C20:5n3) Docosapentaenoic acid, (C22:5n3), Docosahexaenoic acid; (C22:6n3)

องค์ประกอบกรดไขมันในเซลล์ยีสต์ BS 6-2

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับเป็นเวลา 216 ชั่วโมง และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมันจำนวน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมันไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และในทุกระดับความเค็มกรดไขมันของยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยทั้ง 3 ระดับความเค็มในระยะเวลาที่ 24 ชั่วโมง พบว่าเฉพาะกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ปริมาณร้อยละของกรดไขมันที่พบดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และมีผลให้ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็มต่างกันมีกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ในระหว่างกรดไขมันทั้ง 3 กลุ่มนี้ พบว่ายีสต์ BS 6-2 มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) เป็นองค์ประกอบมากที่สุด (ตารางที่ 7) โดยยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 และ 30 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ประมาณร้อยละ 30 - 33 ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งน้อยกว่า

ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที ที่มีกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ร้อยละ 49 ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งในทางตรงกันข้าม ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) เป็นองค์ประกอบร้อยละ 50 ของกรดไขมันทั้งหมด และมากกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) ในยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 30 และ 35 พีพีที ที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) เป็นองค์ประกอบร้อยละ 45 และร้อยละ 34 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 4-1) และในยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยทั้ง 3 ระดับความเค็มพบว่า มีกรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0) และกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) เป็นองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวชนิดเชิงเดี่ยวมากที่สุด ประมาณร้อยละ 22 - 32 และ 31 - 44 ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ และในยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที และ 35 พีพีที มีกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) มากที่สุด และน้อยที่สุด ตามลำดับ นอกจากนี้พบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) เป็นองค์ประกอบเพียงชนิดเดียวของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ในปริมาณร้อยละ 17 - 23 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 4-1)

ตารางที่ 7 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 24 ชั่วโมง:%TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	0.64 ± 0.91	0.86 ± 1.22	2.30 ± 0.42
C16:0	22.16 ± 0.99	24.64 ± 3.15	31.94 ± 2.92
C18:0	6.79 ± 0.50	7.06 ± 2.67	14.44 ± 3.45
C16:1n7	1.07 ± 1.52	0.86 ± 1.22	1.95 ± 2.75
C18:1n9	44.32 ± 1.98 ^b	39.11 ± 1.67 ^{ab}	30.64 ± 4.76 ^a
C20:1n9	4.29 ± 0.00	4.83 ± 0.49	1.30 ± 1.84
C18:2n6	20.73 ± 1.03	22.63 ± 4.57	17.44 ± 0.79
SFA	29.59 ± 0.58 ^a	32.57 ± 4.60 ^a	48.68 ± 0.96 ^b
MUFA	49.68 ± 0.46 ^c	44.80 ± 0.04 ^b	33.88 ± 0.17 ^a
PUFA	20.73 ± 1.03	22.63 ± 4.57	17.44 ± 0.79

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD และ อักษร a, b, และ c ที่แตกต่างกันตามแนวนอน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และ

SFA (Saturated fatty acids) คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ ที่ 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน กรดไขมัน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมัน ไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโทเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และปริมาณร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดที่พบดังกล่าว ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) สูงสุด ประมาณร้อยละ 48 - 51 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) เป็นองค์ประกอบมากที่สุดประมาณร้อยละ 42 - 47 ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ประมาณร้อยละ 31 - 33 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) เป็นองค์ประกอบมากที่สุด ประมาณร้อยละ 24 - 28 ของกรดไขมันทั้งหมด และพบ กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นองค์ประกอบชนิดเดียวในกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ประมาณร้อยละ 18 - 19 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 48 ชั่วโมง; %TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	0.84 ± 1.19	0.79 ± 1.12	0.00 ± 0.00
C16:0	24.17 ± 3.10	26.10 ± 0.37	27.64 ± 3.34
C18:0	5.69 ± 1.27	5.45 ± 0.24	5.87 ± 0.53
C16:1n7	1.77 ± 0.95	2.88 ± 0.90	2.97 ± 1.10
C18:1n9	47.40 ± 6.01	44.93 ± 6.38	42.38 ± 6.90
C20:1n9	2.30 ± 0.14	1.44 ± 0.45	2.35 ± 0.21
C18:2n6	17.83 ± 1.90	18.41 ± 3.79	18.79 ± 1.71
SFA	30.70 ± 3.02	32.34 ± 1.24	33.51 ± 3.88
MUFA	51.47 ± 4.92	49.25 ± 5.03	47.70 ± 5.58
PUFA	17.83 ± 1.90	18.41 ± 3.79	18.79 ± 1.71

หมายเหตุ : SFA (Saturated fatty acids)

คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ ที่ 72 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน กรดไขมัน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมัน ไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และปริมาณร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดที่พบดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) สูงสุดประมาณร้อยละ 44 - 52 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมัน โอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) เป็นองค์ประกอบมากที่สุดประมาณร้อยละ 41 - 47 ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ประมาณร้อยละ 30 - 41 ของกรดไขมันทั้งหมด มีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) มากที่สุด

ประมาณร้อยละ 24 - 30 ของกรดไขมันทั้งหมด และพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นองค์ประกอบชนิดเดียวในกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) ประมาณร้อยละ 15 - 18 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 72 ชั่วโมง:%TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	0.71 ± 1.01	1.05 ± 0.38	0.44 ± 0.62
C16:0	24.25 ± 0.93	25.06 ± 0.82	30.00 ± 3.49
C18:0	5.48 ± 0.20	4.67 ± 1.28	10.45 ± 5.43
C16:1n7	2.90 ± 0.93	3.94 ± 2.42	3.05 ± 1.20
C18:1n9	47.20 ± 6.35	44.86 ± 7.51	40.56 ± 9.61
C20:1n9	1.45 ± 0.46	2.44 ± 1.88	0.55 ± 0.78
C18:2n6	17.65 ± 2.72	17.60 ± 4.40	14.95 ± 0.90
SFA	30.44 ± 1.74	30.78 ± 1.72	40.89 ± 8.30
MUFA	51.91 ± 4.46	51.61 ± 2.68	44.16 ± 9.19
PUFA	17.65 ± 2.72	17.60 ± 4.40	14.95 ± 0.90

หมายเหตุ : SFA (Saturated fatty acids) คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด
MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด
PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ ที่ 96 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมัน ไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และปริมาณร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดนั้น ที่พบ

ดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) สูงสุดประมาณร้อยละ 49 - 51 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมัน โอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) เป็นองค์ประกอบมากที่สุด ประมาณร้อยละ 44 - 46 ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ช่วงร้อยละ 30 - 34 ของกรดไขมันทั้งหมด มีกรดไขมันปาล์มมิก (Palmitic acid, C16:0) มากที่สุด ประมาณร้อยละ 24 - 28 ของกรดไขมันทั้งหมด และพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นองค์ประกอบชนิดเดียวในกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ร้อยละ 17 - 19 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขาน้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 96 ชั่วโมง:%TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	0.69 ± 0.98	0.92 ± 0.71	0.49 ± 0.69
C16:0	24.30 ± 1.48	25.94 ± 0.69	28.46 ± 3.27
C18:0	5.21 ± 0.85	6.72 ± 2.00	5.29 ± 0.23
C16:1n7	3.47 ± 1.61	3.62 ± 0.62	4.20 ± 1.32
C18:1n9	46.32 ± 6.85	45.25 ± 6.50	43.93 ± 4.11
C20:1n9	0.92 ± 1.30	0.99 ± 0.04	0.49 ± 0.69
C18:2n6	19.09 ± 2.33	16.57 ± 2.44	17.14 ± 1.14
SFA	30.20 ± 1.60	33.58 ± 3.39	34.23 ± 2.35
MUFA	50.71 ± 3.93	49.85 ± 5.83	48.62 ± 3.49
PUFA	19.09 ± 2.33	16.57 ± 2.44	17.14 ± 1.14

หมายเหตุ : SFA (Saturated fatty acids) คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขาน้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ ที่ 120 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมัน ไมริสติก (Myristic acid, C14:0),

กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และในทุกระดับความเค็ม เฉพาะกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) ที่มีปริมาณร้อยละของกรดไขมันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และมีผลให้กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 และ 30 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ประมาณร้อยละ 31 - 32 ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งน้อยกว่ายีสต์ชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ประมาณร้อยละ 37 ของกรดไขมันทั้งหมด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4-5) และยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 และ 30 พีพีที มีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) เป็นองค์ประกอบมากที่สุดประมาณร้อยละ 23 - 25 ของกรดไขมันทั้งหมด ในขณะที่ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที มีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) ประมาณร้อยละ 28 ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยในทุกระดับความเค็มพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) สูงสุดประมาณช่วงร้อยละ 46 - 51 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) เป็นองค์ประกอบมากที่สุด ประมาณร้อยละ 42 - 47 ของกรดไขมันทั้งหมด และพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นองค์ประกอบชนิดเดียวในกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ช่วงร้อยละ 16 - 19 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 11)

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ ที่ 144 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมันไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และปริมาณร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดที่พบดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) สูงสุดประมาณร้อยละ 50 - 52 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) เป็นองค์ประกอบมากที่สุดประมาณร้อยละ 45 - 48 ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

(SFA) พบประมาณร้อยละ 28 – 31 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) เป็นองค์ประกอบมากที่สุด ประมาณร้อยละ 23 – 26 ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นองค์ประกอบชนิดเดียวในกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ร้อยละ 19 – 20 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 11 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 120 ชั่วโมง:%TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	0.56 ± 0.79	0.76 ± 0.28	0.59 ± 0.83
C16:0	23.07 ± 1.74^a	25.36 ± 0.51^{ab}	28.24 ± 0.00^b
C18:0	6.97 ± 3.36	6.08 ± 2.28	8.24 ± 1.66
C16:1n7	3.59 ± 0.21	3.60 ± 0.35	3.53 ± 1.66
C18:1n9	45.63 ± 3.74	46.72 ± 3.53	42.35 ± 1.66
C20:1n9	1.42 ± 0.38	0.98 ± 0.03	0.59 ± 0.83
C18:2n6	18.76 ± 2.73	16.48 ± 1.17	16.47 ± 1.66
SFA	30.60 ± 5.89^a	32.21 ± 2.05^a	37.06 ± 2.50^b
MUFA	50.64 ± 3.16	51.31 ± 3.21	46.47 ± 0.83
PUFA	18.76 ± 2.73	16.48 ± 1.17	16.47 ± 1.66

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SD และ อักษร a, b, และ c ที่แตกต่างกันตามแนวนอน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

และ SFA (Saturated fatty acids) คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ ที่ 168 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมัน ไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก

(Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และปริมาณร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดที่พบดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) สูงสุด ช่วงร้อยละ 48 - 52 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) เป็นองค์ประกอบมากที่สุด ปริมาณร้อยละ 44 - 49 ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ช่วงร้อยละ 25 - 33 ของกรดไขมันทั้งหมด มีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0)เป็นองค์ประกอบมากที่สุด ปริมาณร้อยละ 21 - 26 ของกรดไขมันทั้งหมด และยังพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นองค์ประกอบชนิดเดียวในกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ปริมาณร้อยละ 19 - 22 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 144 ชั่วโมง: %TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	0.00 ± 0.00	0.22 ± 0.31	0.44 ± 0.62
C16:0	23.13 ± 3.71	24.06 ± 0.25	25.69 ± 3.55
C18:0	4.99 ± 0.99	5.67 ± 3.41	4.77 ± 0.50
C16:1n7	3.28 ± 1.42	3.65 ± 0.55	4.22 ± 1.28
C18:1n9	47.59 ± 3.57	46.18 ± 5.32	45.44 ± 4.42
C20:1n9	1.10 ± 0.27	0.89 ± 0.18	0.44 ± 0.62
C18:2n6	19.91 ± 0.84	19.33 ± 1.23	19.00 ± 0.33
SFA	28.12 ± 2.72	29.95 ± 3.35	30.91 ± 3.43
MUFA	51.97 ± 1.88	50.72 ± 4.59	50.10 ± 3.76
PUFA	19.91 ± 0.84	19.33 ± 1.23	19.00 ± 0.33

หมายเหตุ : SFA (Saturated fatty acids) คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ ที่ 192 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

กรดไขมัน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมัน ไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Plamitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และในทุกระดับความเค็ม เฉพาะกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ปริมาณร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดที่พบดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมีผลให้กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 และ 35 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ประมาณร้อยละ 22 ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งมากกว่ายีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีที ที่มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ประมาณร้อยละ 19 ของกรดไขมันทั้งหมด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4-8) นอกจากนี้ในทุกระดับความเค็มพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) สูงสุด ช่วงร้อยละ 49 - 51 ของกรดไขมันทั้งหมด มีกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) เป็นองค์ประกอบมากที่สุด ประมาณร้อยละ 45 - 47 ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ช่วงร้อยละ 27 - 31 ของกรดไขมันทั้งหมด มีกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) เป็นองค์ประกอบมากที่สุด ประมาณร้อยละ 21 - 24 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขาน้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 168 ชั่วโมง:%TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	0.00 ± 0.00	0.63 ± 0.90	0.00 ± 0.00
C16:0	21.44 ± 0.11	25.16 ± 2.02	25.98 ± 4.43
C18:0	3.84 ± 0.06	7.22 ± 4.11	5.43 ± 3.06
C16:1n7	3.21 ± 0.96	3.52 ± 0.40	3.53 ± 0.38
C18:1n9	48.62 ± 2.85	44.43 ± 7.34	44.74 ± 5.98
C20:1n9	0.49 ± 0.69	0.38 ± 0.53	0.49 ± 0.69
C18:2n6	22.41 ± 1.26	18.66 ± 0.46	19.83 ± 1.19
SFA	25.28 ± 0.05	33.01 ± 7.02	31.41 ± 7.49
MUFA	52.31 ± 1.21	48.33 ± 7.48	48.76 ± 6.30
PUFA	22.41 ± 1.26	18.66 ± 0.46	19.83 ± 1.19

หมายเหตุ : SFA (Saturated fatty acids) คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

ตารางที่ 14 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 192 ชั่วโมง:%TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	0.52 ± 0.73	0.00 ± 0.00	0.22 ± 0.31
C16:0	21.54 ± 1.18	24.03 ± 0.95	22.61 ± 1.30
C18:0	5.74 ± 1.61	7.52 ± 4.34	3.98 ± 1.03
C16:1n7	2.87 ± 0.81	3.43 ± 0.14	3.39 ± 0.19
C18:1n9	46.26 ± 4.56	45.06 ± 5.49	47.34 ± 2.07
C20:1n9	0.95 ± 0.12	0.50 ± 0.71	0.43 ± 0.61
C18:2n6	22.12 ± 0.36^b	19.45 ± 0.77^a	22.02 ± 0.47^b
SFA	27.80 ± 3.52	31.55 ± 5.29	26.81 ± 2.02
MUFA	50.08 ± 3.88	48.99 ± 6.06	51.17 ± 2.49
PUFA	22.12 ± 0.36^b	19.45 ± 0.77^a	22.02 ± 0.47^b

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SD และ อักษร a, b, และ c ที่แตกต่างกันตามแนวนอน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และ

SFA (Saturated fatty acids) คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ของเชื้อ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ ที่ 216 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดไขมัน 18 ชนิด ผลการทดลองพบกรดไขมัน 7 ชนิด ได้แก่ กรดไขมันไมริสติก (Myristic acid, C14:0), กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมันปาล์มิโตเลอิก (Palmitoleic acid, C16:1n7), กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9), กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และกรดไขมันไอโคซีโนอิก (Eicosenoic acid, C20:1n9) และในทุกระดับความเค็ม เฉพาะกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ปริมาณร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดที่พบดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมีผลให้กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

(MUFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ประมาณร้อยละ 41 ของกรดไขมันทั้งหมด ซึ่งน้อยกว่ายีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 30 และ 35 พีพีที ที่มีปริมาณกรดไขมัน โอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) ประมาณร้อยละ 44 ของกรดไขมันทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 15) นอกจากนี้ในทุกระดับความเค็มพบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) สูงสุดประมาณร้อยละ 45 - 49 ของกรดไขมันทั้งหมด รองลงมาคือ กรดไขมันชนิดอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ประมาณร้อยละ 28 - 32 ของกรดไขมันทั้งหมด และมีกรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0) เป็นองค์ประกอบมากที่สุดประมาณร้อยละ 22 - 24 ของกรดไขมันทั้งหมด และพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นองค์ประกอบชนิดเดียวในกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ประมาณร้อยละ 22 - 24 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ ความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที (ที่ 216 ชั่วโมง;%TFA)

ชนิดกรดไขมัน	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
C14:0	1.87 ± 0.85	0.60 ± 0.84	0.29 ± 0.40
C16:0	23.48 ± 0.04	21.71 ± 2.97	24.53 ± 0.67
C18:0	6.70 ± 0.75	5.26 ± 0.71	4.69 ± 1.78
C16:1n7	3.04 ± 0.81	2.94 ± 0.89	4.65 ± 1.52
C18:1n9	41.17 ± 0.60 ^a	44.52 ± 0.66 ^b	43.79 ± 0.37 ^b
C20:1n9	1.16 ± 0.11	1.00 ± 0.27	0.46 ± 0.65
C18:2n6	22.58 ± 1.24	23.98 ± 3.61	21.60 ± 0.24
SFA	32.05 ± 0.06	27.57 ± 3.10	29.51 ± 2.04
MUFA	45.37 ± 1.31	48.45 ± 0.50	48.90 ± 1.81
PUFA	22.58 ± 1.24	23.98 ± 3.61	21.60 ± 0.24

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD และ อักษร a, b, และ c ที่แตกต่างกันตามแนวนอน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และ

SFA (Saturated fatty acids) คือ กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด

MUFA (Monounsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด

PUFA (Polyunsaturated fatty acid) คือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด

ผลการศึกษาชนิดแลปริมาณกรดไขมันในแอคติโนมัยซีท

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคติโนมัยซีททำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP 2 เป็นระยะเวลา 10 วัน ที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดชลบุรี และ จังหวัดนครศรีธรรมราช 20 ตัวอย่าง และคัดแยกจากฟองน้ำทะเลที่เก็บจากจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 2 ตัวอย่าง ประกอบด้วย CH 54-5, A 1-3, A 3-3, A 16-1, PL 1-2, PL 2-2, PL 2-3, PL 2-5, PL 3-1, PL 3-2, PL 3-10, PL 3-7, PL 4-6, PL 4-10, PL 4-14, PL 5-1, PL 5-3, PL 5-4, PL 6-2, PL 7-4 และจากฟองน้ำทะเลในจังหวัดนครศรีธรรมราช 2 ชนิดประกอบด้วย WN-POR-06-1 และ WN-POR-02-1 ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดไขมันแตกต่างกัน ตัวอย่างแอคติโนมัยซีท PL 2-2 ที่คัดแยกจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราช พบปริมาณของกรดไขมันสูงสุดคิดเป็นปริมาณร้อยละ 96.28 ของกรดไขมันโดยรวม(%TFA) โดยพบ C18:2n6 ประมาณ 38 % (37.38 ± 0.27 %) และพบกรดไขมัน C18:3n3 4.07 ± 0.09 รองลงมาเป็นตัวอย่าง PL 4-6 พบกรดไขมันปริมาณร้อยละ 87.94 โดยพบกรดไขมัน C18:2n6 ปริมาณ 36.26 ± 0.88 % และพบ C18:3n3 ปริมาณ 2.75 ± 0.14 % และแอคติโนมัยซีท WN-POR-02-1 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเลพบกรดไขมันปริมาณร้อยละ 84.33 โดยพบ C18:2n6 ปริมาณ 28.61 ± 0.17 % และพบ C18:3n3 ปริมาณ 2.02 ± 0.32 % และจากการศึกษาพบชนิดกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) โดยชนิดที่ตรวจพบปริมาณสูงสุดเป็น palmitic acid (C16:0) ยกเว้นตัวอย่าง PL 2-2, PL 4-6 และ WN-POR-02-1 ที่พบชนิดกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) โดยชนิดที่พบปริมาณสูงสุดเป็นกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6: 37.38, 36.26, 28.61%TFA ตามลำดับ) รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 16-24

ตารางที่ 16 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัลลิตที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัด นครศรีธรรมราช (%TFA)

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

ตารางที่ 17 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัลลิตที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัด นครศรีธรรมราช (%TFA)

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

ตารางที่ 18 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัลลิตที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัด นครศรีธรรมราช (%TFA)

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

ตารางที่ 19 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัลท์ที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัด นครศรีธรรมราช (%TFA)

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

ตารางที่ 20 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมายส์ที่คัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัด นครศรีธรรมราช (%TFA)

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

ตารางที่ 21 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอดทีโนมัยสิทธิ์ที่ตัดแยกจากดินป่าชายเลน จังหวัด นครศรีธรรมราช (%TFA)

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

ตารางที่ 22 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัยสิตที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล จังหวัด นครศรีธรรมราช (%TFA)

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

ตารางที่ 23 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอกทีโนมัลลิตที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง, จังหวัดจันทบุรี (%TFA)

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

ตารางที่ 24 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างแอดทีโนมัยสิทธิ์ที่คัดแยกจากดินชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี (%TFA)

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

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในยีสต์ 6 ชนิดที่คัดแยกจากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ YM พบว่ายีสต์ทุกชนิดมีการผลิตกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 เป็นยีสต์ที่ให้กรดไขมันจำเป็นชนิด Linoleic acid; C18:2n6 และกรดไขมัน α - Linolenic acid; C18:3n3 ในปริมาณที่สูง (23.90 ± 0.94 และ 5.92 ± 0.05 %TFA ตามลำดับ) เนื่องจากกรดไขมัน Linoleic acid และกรดไขมัน α - Linolenic acid เป็นกรดไขมันตัวเริ่มต้นของกลุ่มโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6 จึงทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ เพื่อให้ได้กรดไขมันจำเป็นดังกล่าวในปริมาณที่สูงขึ้น จึงเปลี่ยนแหล่งของคาร์บอนเป็นกากชานอ้อยเลี้ยงที่ความเค็ม 30 พีพีที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบปริมาณกรดไขมัน C18:3n3 ในปริมาณที่สูงขึ้นเป็น 7.63 ± 0.05 %TFA เนื่องจากกากชานอ้อยมีองค์ประกอบหลักของน้ำตาลซูโครส (sucrose) ที่ประกอบด้วยน้ำตาล 2 โมเลกุล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และน้ำตาลฟรุกโตส (fructose) กากชานอ้อยถือเป็นชีวมวลที่เหลือใช้จากการเกษตร จึงมีความเป็นไปได้ที่นำกากชานอ้อยมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตของยีสต์ จากคุณสมบัติของยีสต์ที่มีช่วงชีวิตสั้นและมีการใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย สิ่งที่สำคัญคือ ยีสต์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกันกับพืช เช่น กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ซึ่งเป็นกรดไขมันจำเป็นที่ร่างกายมนุษย์เรานั้นไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ (สมถวิล จิตตวร และคณะ, 2551) และเมื่อปรับสภาวะการเลี้ยงที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับที่ 25, 30 และ 35 พีพีที เป็นเวลา 216 ชั่วโมงเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณกรดไขมันชนิดจำเป็นจากยีสต์ให้สูงขึ้น พบว่าในทุกระดับความเค็ม ที่เวลา 72 และ 120 ชั่วโมง ยีสต์ BS 6-2 ผลิตกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) และที่ความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 สูงสุด และพบว่าที่ระดับความเค็มสูงจะมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว ที่มากกว่าที่ระดับความเค็มต่ำ

จากงานวิจัยการศึกษาขององค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ (BS 1-2 และ BS 6-2) ที่แยกได้จากน้ำทะเลในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยพบว่า ยีสต์ BS 6-2 ให้ผลผลิตปริมาณกรดไขมันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกว่ายีสต์ BS 1-2 (อิงสุรจักษ์ สังข์เงิน และชนิตาภา ยิ่งประยูร, 2554) นอกจากนี้มีรายงานว่า ปัจจัยต่างๆ ทางสิ่งแวดล้อมยังมีผลต่อปริมาณการผลิตกรดไขมันในยีสต์ เช่น ปัจจัยด้านความเค็ม หากความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ของน้ำหนักต่อปริมาตรอาหารเลี้ยง

เชื่อจะทำให้ปริมาณกรดไขมันของยีสต์ *Candida albicans* เพิ่มขึ้น จากร้อยละ 0.32 เป็นร้อยละ 6.29 ของน้ำหนักต่อปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ปริมาณความเข้มข้นของเกลือสูงมากเกินไปอาจจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ (Hunter and Rose, 1971)

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์ยีสต์ BS 6-2

จากการวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันทางสถิติ ($p < 0.05$) (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 3 ระดับ เป็นเวลา 216 ชั่วโมง พบว่ายีสต์ BS 6-2 มีองค์ประกอบกรดไขมัน 7 ชนิด และมีปริมาณแตกต่างกันไป ในทุกชั่วโมงที่ศึกษาและในทุกระดับความเค็ม ปริมาณกรดไขมันที่พบมากที่สุด ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) รองลงมาคือ กลุ่มกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) และพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) และพบเฉพาะกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) เนื่องจากยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25 - 30 พีพีที และที่ 35 พีพีที มีการเจริญสูงสุดที่ระยะเวลาการเลี้ยงที่ 72 และ 120 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงสรุปเฉพาะการผลิตกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2 ในระยะเวลาที่ 72 และ 120 ชั่วโมงดังนี้ ในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 72 ชั่วโมง การผลิตกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 120 ชั่วโมง ยีสต์ชนิดนี้ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที ผลิตกรดไขมันอิ่มตัวชนิดกรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) สูงกว่ายีสต์ชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และมีผลให้กรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) แตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน ($p < 0.05$) ถึงแม้ว่าการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมด (MUFA, PUFA) ทั้งสองกลุ่มของยีสต์ BS 6-2 ในระยะเวลาที่ 72 และ 120 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที มีแนวโน้มการผลิตกรดไขมันเหล่านี้โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 6, กรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) มากที่สุด นอกจากนี้ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 25 และ 30 พีพีที ไม่มีการผลิตกรดไขมันเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงจาก 72 ชั่วโมงเป็น 120 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างจากยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงเป็น 120 ชั่วโมง ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมด (MUFA, PUFA) ทั้งสองกลุ่มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ประมาณร้อยละ 2 ของกรดไขมันทั้งหมด แต่ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ลดลง ประมาณร้อยละ 4 ของกรดไขมันทั้งหมด (ตารางภาคผนวกที่ 4, 8, 10) และเมื่อพิจารณาถึงกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2 ในระยะที่มีการเจริญสูงสุดที่ 72 และ 120 ชั่วโมง ในแต่ละความเค็มพบว่ายีสต์

BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที มีแนวโน้มการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากที่สุด โดยเฉพาะกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) และมากกว่ากรดไขมันที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 30 - 35 พีพีที (ตารางภาคผนวกที่ ง. 9) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำ (Martina et al., 2004) รายงานว่า ระดับความเค็มมีผลต่อการผลิตกรดไขมันของยีสต์ *Hortaea werneckii* และ *Phaeotheca triangularis* และ *Aureobasidium pullulans* เช่นกัน โดยพบกรดไขมันปาล์มติก (Palmitic acid, C16:0), กรดไขมัน สเตียริก (Stearic acid, C18:0), กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) และกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) องค์ประกอบหลักของยีสต์ทั้งสามชนิด นอกจากนี้ กรดไขมันที่พบสูงสุดในยีสต์ *H. werneckii* และ *P. triangularis* ซึ่งเป็นยีสต์ชอบความเค็ม (halophilic) คือ กรดไขมันสเตียริก (Stearic acid, C18:0) ซึ่งพบสูงสุดถึงร้อยละ 24 - 25 ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อเลี้ยงในที่ที่มีความเค็มร้อยละ 25 พีพีที แต่ยีสต์ *A. pullulans* ซึ่งเป็นยีสต์ทนความเค็ม (halotolerant) มีพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงสุดร้อยละ 50 ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเค็มร้อยละ 10

จากการศึกษารั้วนี้สรุปได้ว่า ยีสต์ BS 6-2 มีการเจริญเติบโตที่ระดับความเค็มต่ำกว่าที่ระดับความเค็มสูง ดังนั้นความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อย ยีสต์ BS 6-2 มีการเจริญเติบโตเร็วเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 - 30 พีพีที นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที มีการเจริญสูงสุด (มีจำนวนเซลล์สูงสุด) และมีแนวโน้มการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) มากกว่ายีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที ดังนั้น ถ้าต้องการเลี้ยงยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยเพื่อได้ผลผลิตเซลล์สูงสุดในระยะเวลานั้น และมีการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวก็ควรเลี้ยงยีสต์ชนิดนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 พีพีที เป็นระยะเวลาที่ 72 ชั่วโมง นอกจากนี้ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที มีแนวโน้มการผลิตกรดไขมันอิ่มตัวมากที่สุด จากงานวิจัยการศึกษาขององค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ (BS 1-2 และ BS 6-2) ที่แยกได้จากน้ำทะเล หาดบางแสนในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยพบว่า ยีสต์ BS 6-2 ให้ผลผลิตปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกว่ายีสต์ BS 1-2 (อิงสุรจักษ์ สังข์เงิน และชนิดาภา ยิ่งประยูร, 2554) นอกจากนี้มีรายงานว่า ปัจจัยต่างๆทางสิ่งแวดล้อมยังมีผลต่อปริมาณการผลิตกรดไขมันในยีสต์ เช่น ปัจจัยด้านความเค็ม หากความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เพิ่มขึ้น จากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ของน้ำหนักต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้ปริมาณกรดไขมันของยีสต์ *Candida albicans* เพิ่มขึ้น จากร้อยละ

0.32 เป็นร้อยละ 6.29 ของน้ำหนักต่อปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ปริมาณความเข้มข้นของเกลือสูงมากเกินไป อาจจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ (Hunter and Rose, 1971) ได้ทำการเลี้ยงยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่กรองกากขานอ้อย ที่มีความเค็มต่างกัน 3 ระดับ เพื่อศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในยีสต์เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์และสัตว์ รวมทั้งอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงยีสต์จากอาหารเลี้ยงเชื้อ YM มาเป็นอาหารกากขานอ้อยซึ่งเป็นกากวัสดุที่เหลือจากการเกษตรในภาคตะวันออก จึงน่าจะเป็นอีกหนทางเลือกเพื่อการเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ต่อไป

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคติโนมัยซีท

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในเซลล์แอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินป่าชายเลนจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี และ จังหวัดนครศรีธรรมราช และคัดแยกจากฟองน้ำทะเลที่เก็บจากจังหวัดนครศรีธรรมราช ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 เป็นเวลา 7-14 วัน พบชนิดกรดไขมัน 7-12 ชนิด และมีปริมาณแตกต่างกันไปชนิดกรดไขมันที่พบได้แก่ C14:0, C15:0, C16:0, C16:1n7, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1n9 และ C18:2n6c ตัวอย่างแอคติโนมัยซีท PL 2-2 ที่คัดแยกจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดนครศรีธรรมราช พบปริมาณของกรดไขมันสูงสุดคิดเป็นปริมาณร้อยละ 96.28 รองลงมาเป็นตัวอย่าง PL 4-6 และ WN POR 02-1 คิดเป็นปริมาณร้อยละ 87.94 และ 84.33 และพบชนิดกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) โดยชนิดที่ตรวจพบปริมาณสูงสุดเป็น palmitic acid (C16:0) ยกเว้นตัวอย่าง PL 2-2, PL 4-6 และ WN- POR-02-1 ที่พบชนิดกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) โดยชนิดที่พบปริมาณสูงสุดเป็นกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6: 37.38, 36.26, 28.61%TFA ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ SM Pimentel-Elardo และคณะ (2009) ทำการแยก actinomycete จากฟองน้ำทะเล *Axinella polypoides* ที่เก็บจาก Banyuls-sur-Mer ประเทศฝรั่งเศส และทำการหาชนิดและปริมาณกรดไขมันพบ actinomycete Strain Pol001T มีองค์ประกอบกรดไขมันเป็น iso-C16:0 (30.78%), anteiso-C15:0 (17.77%), iso-C15:0 (12.03%), anteiso-C17:0 (9.80%), iso-C16:1 (6.92%), iso-C14:0 (5.77%) and iso-C17:1 (4.58%). และจากการศึกษาของ คมสันและคณะ ในปี 2013 ทำการแยก actinomycete strain, S3-1T จากฟองน้ำทะเลที่เก็บจาก เกาะสิขัง จังหวัดชลบุรี และทำการแยกชนิดของไขมันพบมีองค์ประกอบเป็น phosphatidylethanolamine, phosphatidylmethylethanolamine, phosphatidylglycerol, diphosphatidylglycerol, phosphatidylinositol, phosphatidylinositol mannosides, phosphoglycolipid and unknown polar lipids. และจากการศึกษาของ Koval'chuk LP และคณะในปี 1980 พบว่ารูปแบบของกรดไขมันในตัวอย่างแอคติโนมัยซีทขึ้นอยู่กับ

อาหารเลี้ยงเชื้อโดยพบกรดไขมัน C13-C19 และพบว่าเมื่อเลี้ยงใน complex media สัดส่วนของ กรดไขมัน C14:0, C14:1, C16:0, C17:0, C17:1, C18:1, C18:2 จะเปลี่ยนไป เช่นเดียวกับการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันใน actinomycete *Streptomonospora halophila* sp. ที่คัดแยกจาก ดินในจังหวัด Xinjiang Province ประเทศจีน พบองค์ประกอบกรดไขมันจะเป็น i-C16:0, ai-C17:0, 10-methyl C17:0 and 10-methyl C18:0 และจากการศึกษาของ Sobolevskaya, M และคณะ (2012) ทำการศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระในตัวอย่าง *Streptomyces* sp. KMM 7210 and *Nocardiopsis umidischolae* KMM 7036 จาก Okhotsk Sea โดยเลี้ยงด้วย potato starch และ millet broth พบว่ามีการผลิตกรดไขมันชนิดอื่น ไม่อิ่มตัว และแบบ branched fatty acids และพบแอคติโนไมซีท 7 สายพันธุ์ genus *Streptomyces* ที่คัดแยกจากทะเลสาบ Baikal มีการผลิตกรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัว ไม่อิ่มตัว และแบบ branched fatty acids เช่นเดียวกับการศึกษาของ Eun Jung Lee และคณะในปี 2011 พบแอคติโนไมซีท *Streptomyces* sp.A1022 ที่คัดแยกจากดิน บริเวณ ฟาร์ม Wonju City, Gangwon ประเทศเกาหลี มีองค์ประกอบกรดไขมันแบบ Branched-chain acids โดยพบ C15:0 iso ปริมาณ 47.4%TFA และพบ C15:0 anteiso ปริมาณ 28.46%TFA และจากการศึกษาของ Michael Goodfellow และคณะในปี 2012 พบกรดไขมัน iso-C16:0 ปริมาณ 37.4 % และ C17:1 w8c ปริมาณ 24.9 % ในตัวอย่างแอคติโนไมซีท *Verrucosipora fiedleri* sp ที่คัดแยกจากดินตะกอนประเทศ นอร์เวย์

สรุปผลการศึกษา

1. การศึกษาครั้งนี้วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำในยีสต์ที่คัดแยกจากน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี 6 ชนิด ได้แก่ BS1-2, BS1-3, BS6-1, BS6-2, FV1-3 และ MN1-3 และในแอคทีโนไมซีทที่คัดแยกจากดินตะกอนในจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี และนครศรีธรรมราช 20 ชนิด ได้แก่ CH 54-5, A 1-3, A 3-3, A 16-1, PL 1-2, PL 2-2, PL 2-3, PL 2-5, PL 3-1, PL 3-2, PL 3-10, PL 3-7, PL 4-6, PL 4-10, PL 4-14, PL 5-1, PL 5-3, PL 5-4, PL 6-2, PL7-4 และจากฟองน้ำทะเลในจังหวัดนครศรีธรรมราช 2 ชนิด ได้แก่ WN-POR-06-1 และ WN-POR-02-1

2. ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM และอาหารการชานอ้อยที่มีความเค็ม 30 พีพีทีเป็นระยะเวลา 72 ชม พบว่ายีสต์ทุกชนิดมีการผลิตกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารการชานอ้อยมีการสะสมกรดไขมันที่จำเป็นชนิด linoleic acid; C18:2n6 และ α - linolenic acid; C18:3n3 มากที่สุด ยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารการชานอ้อยมีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:3n3 มากกว่า แต่มีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:2n6 น้อยกว่ายีสต์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM โดยยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารการชานอ้อยและเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM มีกรดไขมันชนิด C18:3n3 เท่ากับ 7.63 ± 0.05 % และ 5.92 ± 0.05 % ตามลำดับ และมีกรดไขมันชนิด C18:2n6 เท่ากับ 23.90 ± 0.94 % และ 19.91 ± 0.21 % ตามลำดับ

3. เมื่อทำการเลี้ยงยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ในอาหารการชานอ้อยที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที เป็นเวลา 216 ชั่วโมงและวิเคราะห์กรดไขมันทุกๆ 24 ชม พบว่ายีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในทุกระดับความเค็มเป็นระยะเวลา 72 และ 120 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไขมัน C18:2n6 สูงสุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:2n6 สูงสุดเท่ากับ 22.58 ± 1.24 แสดงว่าระดับความเค็มต่ำมีผลให้ยีสต์สายพันธุ์ BS 6-2 ผลิตกรดไขมันที่จำเป็นชนิด C18:2n6 ได้ดีขึ้น และพบว่าที่ความเค็มสูงปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวจะมากกว่าความเค็มต่ำ

4. ชนิดและปริมาณกรดไขมันในแอคทีโนไมซีท ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 เลี้ยงเป็นระยะเวลา 7-14 วัน พบว่าแอคทีโนไมซีททุกชนิด ยกเว้นแอคทีโนไมซีท PL 2-2, PL 4-6 และ WN-POR-02-1 มีกรดไขมันอิ่มตัวชนิด plamitic acid; C16:0 เป็นองค์ประกอบหลักโดยพบในปริมาณสูงสุดประมาณ 22.92% สำหรับแอคทีโนไมซีท PL 2-2, PL 4-6 และ WN-POR-02-1 มีกรดไขมันที่จำเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิด

C18:2n6 ในปริมาณสูงสุด แอคติโนมัซิท PL 2-2 มีปริมาณของกรดไขมันที่จำเป็นชนิด C18:2n6 และ C18:3n3 สูงสุดเท่ากับ $37.38 \pm 0.27 \%$ และ $4.07 \pm 0.09 \%$ ตามลำดับ รองลงมาคือแอคติโนมัซิท PL 4-6 พบกรดไขมันชนิด C18:2n6 และ C18:3n3 เท่ากับ $36.26 \pm 0.88 \%$ และ $2.75 \pm 0.14 \%$ ตามลำดับ

5. แอคติโนมัซิทที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเลในจังหวัดนครศรีธรรมราช WN POR 02-1 พบกรดไขมันชนิด C18:2n6 และ C18:3n3 มากกว่าแอคติโนมัซิท WN-POR-06-1 โดยมีปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นทั้งสองชนิดนี้ปริมาณ $28.61 \pm 0.17 \%$ และ $2.02 \pm 0.32 \%$ ตามลำดับ

งานที่จะดำเนินการต่อไป

จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันของเชื้อยีสต์ พบว่าการสร้างกรดไขมันในยีสต์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายด้านนอกเหนือจากด้านความเค็ม ในงานวิจัยครั้งนี้ ยังพบปัจจัยด้านแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ อาทิ กากขานอ้อยมีปริมาณองค์ประกอบของน้ำตาลที่แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ตามพื้นที่ในการเพาะปลูก ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปควรมีการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของยีสต์ จากแหล่งกากขานอ้อยที่ได้มาแตกต่างกัน และปัจจุบันมีแหล่งคาร์บอนที่เป็นวัสดุของเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมมากมาย อาทิเช่น กากน้ำตาล ฟางข้าว ชังข้าวโพด ยอดอ้อย เปลือกสับปะรด เป็นต้น จึงควรนำแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกันมาเปรียบเทียบการผลิตกรดไขมันของยีสต์ทะเล BS 6-2 เพื่อให้ได้ปริมาณกรดไขมันที่สูงตามความต้องการ ส่วนอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อชนิดและปริมาณกรดไขมันของเชื้อยีสต์ ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปควรมีการควบคุมอุณหภูมิที่ต่างกันหลายระดับเพื่อเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างกรดไขมันและให้อัตราการเจริญของเชื้อยีสต์ที่ดีที่สุด และพบว่าในแอคติโนมัยซิทบางชนิดมีกรดไขมันที่จำเป็น (C18:2n6, C18:3n3) ในปริมาณที่สูงและมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี ควรทำการศึกษาต่อไป เพื่อนำไปพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมาก และใช้เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเสริมสุขภาพตลอดจนพัฒนาเป็นสารกระตุ้นภูมิสำหรับสัตว์น้ำ อันจะเป็นทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชัน. วันที่ค้นข้อมูล 20 มกราคม 2556, เข้าถึงได้จาก

http://www.barascientific.com/article/Biodiesel2/biodiesel_2.php

กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม 2552 รายงานการศึกษาแนวคิดผลิตภัณฑ์ใหม่ของ อาหารเสริมจาก DHA สำหรับเซลล์เดียว งบประมาณประจำปี. ส่วนบริหารจัดการข้อมูลและปรึกษาแนะนำ สำนักบริหารยุทธศาสตร์

กอบกุล เหล่าแห่ง 2001.โครงการวิจัยการปรับแต่งองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในยีสต์

Hansenulapolyomorpha CBS1976 โดยใช้ยีน 6-desaturase ของ *Mucorrouxii* ATCC24905 ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ ศูนย์สารสนเทศสิ่งแวดล้อม กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม online available <http://www.environNet.in.th> เข้าถึงเมื่อ 5 สิงหาคม 2554

งานวิจัยสิ่งแวดล้อมทางทะเล วิทยาศาสตร์ทางทะเล. (2555). วันที่ค้นข้อมูล 13 กุมภาพันธ์ 2556,

เข้าถึงได้จาก<http://www.bims.buu.ac.th/newbims/?p=141>

ดาวลัย ฉิมภู. (2550). *ชีวเคมี (พิมพ์ครั้งที่2)*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นนทวิทย์ อารีย์ชน, สุภาวดี โกยกุล และนิลบล กิจอันเจริญ. (2546). ผลของความเค็มและอุณหภูมิต่อ

ความอยู่รอดของ *Vibrio harveyi*. *วิทยุเกษตรศาสตร์*, 27, 67 - 73.

น้ำตาลรีดิวิช. วันที่ค้นข้อมูล 4 ธันวาคม 2555, เข้าถึงได้จาก lsbu.ac.uk/biology/enzyme/practical1.html

บัญญัติ สุขศรีงาม 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ประดิษฐ์ มีสุข. (2547). *ชีวเคมีเบื้องต้น(เคมีชีวิต)* (พิมพ์ครั้งที่4). สงขลา: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยทักษิณ.

ปาริชาติ สักกะทำนุ. (2544). *สุขภาพลำไส้ใหญ่ และ FOS - โอลิโกฟรุคโตส*. กรุงเทพฯ: รวมพรรณ.

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

พัชรี บุญศิริ, เปรมใจ อาริจิตรานุสรณ์ และอุบล ชำอ่อน. (2551). *ตำราชีวเคมี (พิมพ์ครั้งที่5)*.

ขอนแก่น: คลังน่านาวิทยา.

- พิทักษ์ สุตอนันต์. (2552). *ชีวเคมีทั่วไป*. ชลบุรี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยบูรพา.
- พิมพ์ รัชวงศ์กุล. (ม.ป.ป.). *กรดไขมันโอเมก้า 3 ในสัตว์น้ำ*. วันที่ค้นข้อมูล 25 พฤศจิกายน 2555, เข้าถึงได้จาก <http://advisor.anamai.moph.go.th/211/21102.html>
- เพ็ญภา ทรัพย์เจริญ. (2543). *อ้อยในฐานะเป็นพืชสมุนไพร*. วันที่ค้นข้อมูล 25 พฤศจิกายน 2555, เข้าถึงได้จาก http://www.e-busitrade.com/Noble_Sugar_Cane_2_index.htm
- มนูเทพ กนกศิลป์. (2550). *ผลของสภาวะแวดล้อมต่อการผลิตไขมันของยีสต์ *Rhodoto rulal-gracilis**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ศุภศิษฐ์ อรุณรุ่งสวัสดิ์. (2541). *ชีวเคมีพื้นฐาน*. กรุงเทพฯ: พิมพ์ที่อป.
- สมถวิล จิตควร, สุภารัตน์ สอนจิตร และเศรษฐวัชร นำศาสตร์. (2551). *ความหลากหลายทางชีวภาพและการประยุกต์ใช้ทรอสโทโคตริคส์จากป่าชายเลนเป็นแหล่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ*. คุณนิพนธ์, สาขาวิชาศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สมศักดิ์ วรรคามิน. (2552). *โอเมก้า 3 น้ำมันปลา*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สาวิตรี ลิ้มทอง. (2549). *ยีสต์ : ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุกัญญา สุนทรส และวิเชียร ริมพลิชยกิจ. (2553). *ชีวโมเลกุล (พิมพ์ครั้งที่ 3)*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุพิศ ทองรอด, 2535. ความสำคัญของไขมันในอาหารสัตว์น้ำ วารสารการประมง 45(4) หน้า 943-950 ภาสตรา ชมิศัพท์. (2543). *ชีวเคมี (พิมพ์ครั้งที่3)*. กรุงเทพฯ: ธีรเชียว.
- อิงสุรจจ์ สังข์เงิน และชนิดาภา ยิ่งประยูร. (2554). *การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ (BS1-2 และ BS6-2) ที่แยกได้จากน้ำทะเลในอาหารเลี้ยงเชื้อจากกากขานอ้อย*. บัณฑิตวิทยาลัย, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- เชษฐ ธิลามานิตย์. 2539. เกสัชรกับอาหารเพื่อสุขภาพและอาหารทางการแพทย์ พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.
- Abbey, M. and Nestel, P.J. (1994). Reduction of blood pressure and plasma triglycerides by omega 3 fatty acids. *J Hypertens*, 1041 - 1045.

- Adler, A.J. and Holub, B.J. (1997). Effect of garlic and fish - oil supplementation on serum lipid and lipoprotein concentrations. *Am J, Clin Nutr.*
- Albert, C.M. and Hennekens, C.H. (1998). Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *JAMA*, 279 (1), 23 - 28.
- Anamnart, S., Wanida, W., Laoteng, K., and Petsom, A. (2004). Elongation of C16:0 to C18:0 fatty acid in methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* CBS 1976 and fatty acid auxotrophic mutants. *Journal FEMS Microbiology Letters*, 237, 213 - 218.
- Anderson, G.J. (1994). Developmental sensitivity of the brain to dietary n - 3 fatty acid. *J Lipid Res*, 35, 105 - 110.
- Andreishcheva, E.N., Isakova, E.P., and Sidorow, N.N. (1999). Adaptation to Salt Stress in a Salt - Tolerant Strain of the Yeast *Yarrowia lipolytica*. *Biochemistry (Moscow)*, 64 (9), 1259 - 1266.
- Arachidonic acid*. วันที่ค้นข้อมูล 22 มกราคม 2556, เข้าถึงได้จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1650/arachidonic-acid-อะราคิโดนิก>
- Aslan, A. and Triadafilopoulos, G. (1992). Fish oil fatty acid supplementation in active ulcerative colitis. *Am. J Gastroenterol*, 87 (4), 432 - 437.
- Bhatnagar I, Kim SK 2010. Immense essence of excellence: marine microbial bioactive compounds. *Mar Drugs*. 15:8(10): 673-701.
- Brown, M.R., Barrett, S.M. Volkman, J.K., Nearhos, S.P., Nell, J.A. and Allan, G.L. 1996. Biochemical composition of new yeasts and bacteria evaluated as food for bivalve aquaculture. *Aquaculture* 143. 341-360
- Birch, D.G. and Hoffman, D.R. (1992). Retinal development in very - low - birth - weight infants fed diets differing in omega 3 fatty acid. *Ophthalmol Sci*, 33 (8).
- Christie, W. W. (2003). *Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids*. 3rd editions. The Oily Press, Bridgewater, UK. 416.

- Christophe, G., Kumar, R. and Gaudet, G. (2012). Recent developments in microbial oils production: a possible alternative to vegetable oils for biodiesel without competition with human food. *Brazilian archives of biology and technology*, 55, 29 - 46.
- Das, U.N., 2006. Essential fatty acids: Biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnology Journal* 1 (4), 420–439.
- Docosahexaenoic acid*. วันที่ค้นข้อมูล 22 มกราคม 2556, เข้าถึงได้จาก <http://www.foodnet.worksolution.com/wiki/word/1904/docosahexaenoic-acid-dha>
- Ergas, D., Eilat, E., Mendlovic, S and Sthoeger ZM. 2002. n-3 Fatty acid and the immune system in autoimmunity. *Isr Med Assoc. J.* 4(1), p.34-38.
- Eun Jung Lee , Kyo Yeol Hwang , Hoi-Seon Lee , and Namhyun Chung. 2011. Characterization of a New *Streptomyces* sp. A1022 as a Potential Biocontrol Agent. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 54(3), 488-493
- Evans, C.T. and Ratledge, C. (1992). A Comparison of Oleaginous Yeast, *Conidia curvata*, Grown on Different Carbon Sources in Continuous and Batch Culture. *Lipids*, 18 (9), 623 - 629.
- Folch, J., Lees, M., and Sloane - Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497 - 509.
- Galbraith, H. & Millter, T.B. 1973b. Physiochemical effects of long chain fatty acids on bacterial cell and their protoplasts. *Journal of Applied Bacteriology*. 36, p.647-675
- Galbraith, H. & Millter, T.B. 1973c. Physiochemical effects of long chain fatty acids on bacterial respiration and amino acid uptake. *Journal of Applied Bacteriology*. 36, p.659-675.a
- Gutierrez, L.E. and Da Silva, R.C.M. (1993). Fatty acid composition of cane molasses and yeasts. *Sci.agric*, 50 (3), 473 - 477.
- Harwood and N J Russel 1984. *Lipids in plants and microbes*: By J L. pp 162. George Allen & Unwin, London.

- Hunter, k. and Rose, A. H. (1971). Yeast lipids and membrane. *In The Yeast*, 2, 211 - 270.
- Intriago Pablo and D.A. Jones, 1993. Bacteria as food for artemia. *Aquaculture* 113,115-127.
- Khomsan Supong, Chanwit Suriyachadkun, Pattama Pittayakhajonwut, Khanit Suwanborirux, and Chitti Thawai. 2013. *Micromonospora spongicola* sp. nov., an actinomycete isolated from a marine sponge in the Gulf of Thailand. *The Journal of Antibiotics* 66, 505–509.
- Koval'chuk LP, Donets AT, Burtseva SA, Iadovina VN, Perepeli'tsa ED.1980. Fatty acids of actinomycete phospholipids]. *Microbiologia*. Sep-Oct;49(5):746-50
- Lee S.A. , H.J. Kim, K.C. Chang, J.C. Baek, J.K. Park, J.K. Shin, et al. 2009. DHA and EPA downregulate COX2 expression through suppression of NF-kappa B activity in LPS treated human umbilical vein endothelial cells. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology* 13: 301-307.
- Leonardos, N and Lucas,A.N.I. 2000. The use of larval fatty acids as an index of growth in *mytilus edulis* L. larvae. *Aquaculture* 184, 155-166.
- Linoleic acid*. วันที่ค้นข้อมูล 22 มกราคม 2556, เข้าถึงได้จาก http://www.thepaleodiet.com/nutritional_tools/fats.shtml
- Linolenic acid*. วันที่ค้นข้อมูล 22 มกราคม 2556, เข้าถึงได้จาก http://www.thepaleodiet.com/nutritional_tools/fats.shtml
- Mackenzie, D.A., Carter, A.T., Wongwathanarat, P., Eagles, J., Salt, J. and Archer, D.B. (2002). A third fatty acid Δ^9 - desaturases from *Mortierella alpine* with a different substrate specificity to ole 1 p and ole 2 p. *Microbiology* 148, 1725 - 1735.
- Man Cai, Xiao-Yang Zhi, Shu-Kun Tang, Yu-Qin Zhang, ,Li-Hua Xu and Wen-Jun Li
Streptomonospora halophila sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a hypersaline soil.
 2008. INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY (IJSEM),vol 8(7) p.1556-1560.
- Martina, T., Laurence, M. and Marjeta, S. (2004). Salt - induced changes in lipid composition and membrane fluidity of halophilic yeast - like melanized fungi. *Extremophiles*, 53 - 61.
- Mei, Li., Guang, Lei Liu., Zhe, Chi., and Zhen, Ming Chi., (2010). Single cell oil

production from hydrolysate of cassava starch by marine - derived yeast

Rhodotorula mucilaginosa TJY15a. *biomass and bioenergy*, 34, 101 - 107.

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

Michael Goodfellow , Roselyn Brown , Lina Ahmed , Wasu Pathom-aree , Alan T. Bull , Amanda L. Jones , James E. M. Stach , Tiago Domingues Zucchi , Lixin Zhang and Jian Wang. 2012
Verrucospora fiedleri sp. nov., an actinomycete isolated from a fjord sediment which synthesizes proximicins Antonie van Leeuwenhoek published online: 31 October 2012

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

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

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

Oliver E., McGillicuddy F., Phillips C., Sinead Toomey and Helen M. Roche. 2010. The role of inflammation and macrophage accumulation in the development of obesity-induced type 2 diabetes mellitus and the possible therapeutic effects of long-chain n-3 PUFA. *Proceedings of the Nutrition Society*. 69, 232-243.

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

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

Shirasakawa, N., Nishi, K. and Shimizu, S. 1995. Occurrence of a furan fatty acid in marine bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta* 1258. 225-227

Sinéad Lordan, R. Paul Ross, and Catherine Stanton. 2011. Marine Bioactives as Functional Food

Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases *Mar Drugs*; 9(6): 1056–1100.

SM Pimentel-Elardo, M. Scheuermayer, S. Kozytska and U. Hentschel. 2009. *Streptomyces axinellae* sp. nov., isolated from the Mediterranean sponge *Axinella polypoides* (Porifera)

INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY
MICROBIOLOGY (IJSEM).

Sobolevskaya, M.; Shevchenko, L.; Moiseenko, O.; Afiyatullo, Sh. PUB. DATE May 2012 Fatty-acid compositions of marine isolates of the actinobacteria *Nocardiopsis umidischolae* KMM 7036 and *Streptomyces* sp. KMM 7210 *Chemistry of Natural Compounds*; May Vol. 48 Issue 2, p299

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

Srivibool, R. and Jarikhuan, S 2007. Marine Yeast: A New Alternative Source for highly unsaturated fatty acid. Fervaap KKU. ac.th.

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

Yasuda, K., and N. Taga. 1980. A mass-culture method for *Artemia salina* using bacteria as food. *Mer*
Zar, J. H. (1999). *Biostatistical Analysis*. 4th editions. Prentice - Hall, New Jersey, USA. 123.

Zelles, L. (1997). Phospholipid fatty acid profiles in selected member of soil
microbial communities. *Chemosphere*, 35 (1), 275 - 218.

ภาคผนวก ก

การถ่ายทอดองค์ความรู้และการนำผลงานไปเผยแพร่

ทางโครงการได้ถ่ายทอดองค์ความรู้แก่นิสิตนักศึกษาที่สนใจ และได้ใช้องค์ความรู้จากการศึกษาครั้งนี้ในการทำปัญหาพิเศษ ได้ผลิตบัณฑิตและนักวิจัยรุ่นใหม่ และบุคลากรที่อยู่ในโครงการได้เป็นที่ปรึกษา และที่ปรึกษาร่วม ดังนี้

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

52031241 นางสาวอัญชัญ ชนบุญรุ่งเรือง

52031254 นางสาวอมรรัตน์ อุดรไชย

เรื่อง การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ BS 6-2 ที่แยกได้จากน้ำทะเลในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่มีความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

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

อาจารย์ที่ปรึกษา: ดร. จารุพันธ์ ประทุมยศ;

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: อาจารย์ ดร. กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และดร. จันทร์จรัส วัฒนะโชติ

จำนวน 142 หน้า

และนำผลงานเสนอในรูปแบบการตีพิมพ์ในที่ประชุมแบบต่อเนื่อง ที่การประชุม

International Conference on Microbial Taxonomy, Basic and Applied Microbiology

เรื่อง PUFAs in Marine Yeast Isolated from Coastal Water, Thailand.

Kosa Hotel Khon Kaen, Thailand.๒๕๐-๒๕๖

การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ BS 6-2 ที่แยกได้จากน้ำทะเล
ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

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

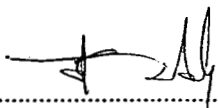
นางสาวอัญชัญ ธนบุญรุ่งเรือง
นางสาวอมรรัตน์ อุดรไชย

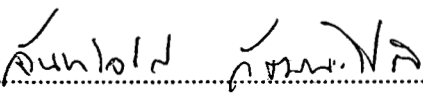
ปัญหาพิเศษทางเทคโนโลยีชีวภาพฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ปีการศึกษา 2555

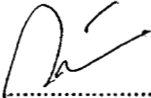
ลิขสิทธิ์เป็นของภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะกรรมการสอบได้พิจารณาปัญหาพิเศษทางเทคโนโลยีชีวภาพฉบับนี้แล้วเห็นสมควรรับเป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาได้

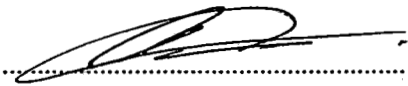
คณะกรรมการสอบ


.....ประธานกรรมการ
(ดร. จารุพันธ์ ประทุมยศ)


.....กรรมการ
(ดร. จันทรจรัส วัฒนะโชติ)


.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร. กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์)

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอนุมัติให้รับปัญหาพิเศษทางเทคโนโลยีชีวภาพฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา


.....
(อาจารย์ ดร. ชัยวิน เพชรเลิศ)
(รักษาการแทนหัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ)
วันที่ ๑๘ เดือน พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๖๖

สาขาวิชา: เทคโนโลยีชีวภาพ; วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คำสำคัญ : กรดไขมัน/ ยีสต์/ กากขานอ้อย/ ความเค็ม

52031241 นางสาวอัญชัญ ธนบุญรุ่งเรือง; 52031254 นางสาวอมรรัตน์ อุดรไชย

การศึกษาค้นคว้าประกอบของกรดไขมันในยีสต์ BS 6-2 ที่แยกได้จากน้ำทะเล

ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

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

อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. จารุพันธ์ ประทุมยศ; อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: อาจารย์ ดร. กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และดร. จันทรจิรัส วัฒนะโชติ

จำนวน 142 หน้า ปีการศึกษา 2555

ยีสต์ BS 6-2 เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการแหล่งน้ำตาลความเข้มข้นสูง เจริญเติบโตเร็วในระยะเวลาอันสั้นและสามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำ ในการศึกษาปัญหาพิเศษครั้งนี้ทำการเลี้ยงยีสต์ BS 6-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ระดับความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตกรดไขมันเป็นระยะเวลา 216 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าเชื้อยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 25 และ 30 พีพีที มีการเจริญสูงสุดในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 72 ชั่วโมง และมีจำนวนเซลล์เท่ากับ 2.45×10^8 และ 1.95×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่มีความเค็ม 35 พีพีที มีการเจริญสูงสุดในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 120 ชั่วโมง และมีจำนวนเซลล์เท่ากับ 2.20×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในการศึกษาการผลิตกรดไขมันของยีสต์ BS 6-2 ในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 72 และ 120 ชั่วโมงในทุกระดับความเค็ม พบว่ายีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารกากขานอ้อยที่ระดับความเค็ม 25 พีพีที ซึ่งพบว่ามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) สูงสุด และยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารกากขานอ้อยที่ระดับความเค็ม 35 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่ำสุด นอกจากนี้ การเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงจากที่ 72 ชั่วโมงเป็นที่ 120 ชั่วโมง กรดไขมันไม่อิ่มตัวเหล่านี้ไม่เพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเค็ม 25 - 30 พีพีที ทั้งนี้ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบมีแนวทางเดียวกัน คือ กรดไขมันโอเลอิก (Oleic acid, C18:1n9) มากกว่าร้อยละ 40 ของกรดไขมันทั้งหมด กรดไขมันปาล์มิติก (Palmitic acid, C16:0) มากกว่าร้อยละ 23 ของกรดไขมันทั้งหมด และพบกรดไขมันไลโนเลอิก (Linoleic acid, C18:2n6) มากกว่าร้อยละ 15 ของกรดไขมันทั้งหมด

MAJOR: Biotechnology; B.Sc. (Biotechnology)

KEYWORDS : Fatty acid/ Yeast/ Sugarcane bagasse/ Salinity

52031241 Oanchan Thanaboonrungrueng; 52031254 Amonrat Autarachai

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

ADVISOR : Jarunan Pratoomyot, Ph.D.; CO-ADVISOR: Krongchan Ratanapradit, Ph.D. and Junjarus Wattanachote, Ph.D.

142 P. Academic Year 2012.

The marine yeast BS 6-2 is a microorganism that requires high sugar concentrations; in culture, it can grow rapidly in a short period of time; and, can produce essential polyunsaturated fatty acids that can be used by aquatic animals. In the present study, the marine yeast BS 6-2 was cultured in a range of sugarcane bagasse media adjusted to salinities of 25, 30 and 35 ppt. to investigate its growth and fatty acid composition over a culture period of 216 hours. The results showed that the yeast BS 6-2 had the maximum growth in the 25 ppt. and 30 ppt. after 72 hours when the number of cells in each culture was determined to be 2.45×10^8 and 1.95×10^8 cells/mL respectively. The yeast BS 6-2 cultures maintained at 35 ppt., however, had the highest growth after 120 hours with the number of cells 2.20×10^8 cells/mL. In addition to determining growth, the fatty acid composition of each yeast culture was determined after 72 and 120 hours growth. The yeast BS 6-2 culture containing 25 ppt. salt, produced the highest percentage of polyunsaturated fatty acid, particularly linoleic acid, whilst the yeast cultured at 35 ppt. had the lowest percentage content of polyunsaturated fatty acid. Moreover, increasing the culture period from 72 to 120 hours did not change the polyunsaturated fatty acid content of the cultures containing 25 and 30 ppt. salt. The results indicate that the fatty acid composition of all the yeast BS 6-2 cultures was similar with over 40% of the total fatty acid content being oleic acid, more than 23% was palmitic acid and over 15% of the total fatty acid content was linoleic acid.

PT-062

PUFAs in Marine Yeasts Isolated from Coastal Water, Thailand

*Janjarus Watanachote, Nisa Siranonthana, Rawiwan Watanadilok and Rattanaorn
Srivibool*

Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi 20131 THAILAND

Corresponding Author : Janjarus Watanachote

E-mail : janjarus@bims.buu.ac.th

Abstract

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

Keywords: fatty acids, marine yeast

Introduction

Yeasts are unicellular fungi. Budding yeasts are true fungi of the phylum Ascomycetes, class Saccharomycetes (also called Hemiascomycetes). The true yeasts are separated into one main order Saccharomycetales. Yeasts are characterized by a wide dispersion of natural habitats in common on plant leaves and flowers, soil and salt water. Yeasts are also found in seawater, the most commonly found are *Candida*, *Torulopsis*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, and *Rhodotorula* (Atlas and Bartha, 1981). At present, marine yeast can be used for rotifer feeding to increase growth and nutrition in food chains. The addition of marine yeasts to rotifer feeding could enhance birth rate and overall production of rotifers in the culture system (James

et al., 2004). One important reason that marine yeasts could be used for feeding is that some of them could produce high unsaturated fatty acids which can increase growth and birth rate in marine organisms. Further more, in nutrition important omega-3 fatty acids are: α -linolenic acid (ALA), eicosapentaenoic acid (EPA), and docosahexaenoic acid (DHA). These fatty acids are also known to have a high nutritional value in the diet of many economically important mariculture species, increasing the overall health and growth as well as the disease resistance in juvenile (Selvameenal L. et al., 2009). Consequently, the investigations of fatty acids from marine yeasts are of interesting because they can be developed as nutritional supplements, pharmaceuticals or other applications.

Experimental and Methods

Isolation and cultivation of yeasts

Water samples were collected from Bangsaen, Chonburi. Fifteen milliliters of each seawater sample were filtered through cellulose nitrate filter paper of 0.2 μ m in diameter. Then placed the filter papers on yeast extract-malt extract (YM) agar plates and incubated at 30°C for 2 days. The yeast colonies appeared on the filter papers were purified on yeast extract-malt extract agar and were kept at 4°C for some morphological, biochemical studies and for fatty acids analysis. Wet weight of each strain was prepared by culturing the yeast for 120 h in YM medium broth, 100 rpm reciprocal shaken at 32°C. Cells were collected by centrifugation and washed twice in distilled water.

Fatty acid analysis

The fatty acids were analyzed by the method of Bligh and Dyer (1959). Fatty acids methyl esters were prepared by acid-catalyzed transmethylation. Separation and identification were analyzed by GC/FID equipped with a FAME WAX. Fatty acids were identified by comparison with known standard mixtures (PUFA no.3 cat. 47085-U, Supelco, USA) and quantified by area percent of total fatty acids.

Molecular identification of yeast

Isolation of DNA for Polymerase Chain Reaction (PCR)

Isolation of DNA was carried out by boiling of cells with lysis buffer according to the methods of Manitis et al. (1982) with slight modification. A loop full of yeast cells was transferred to 1.5 ml microtube. The 100 μ l of lysis buffer was added. Cell

suspensions were boiled in water bath or metal block bath for 15 min. After boiling, 100 µl of 2.5 M potassium acetate (pH 7.5) was added and placed on ice for 1 hr, and centrifuged at 14,000 rpm for 5 min. Supernatant was extracted twice with 100 µl of chloroform:isoamyl alcohol (24:1 v/v). DNA was precipitated with isopropanol, placed at 20°C for 10 min and centrifuged at 15,000 rpm for 15 min. DNA pellet was rinsed with 70% and 90% ethanol and then dried up (15-30 min at room temperature). The dried DNA was dissolved in 30 µl milli Q water.

Polymerase Chain Reaction (PCR) for D1/D2 domain of 26S rDNA

The divergent D1/D2 domain of 26S rDNA was amplified with primers NL-1 (59- GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG-39) and NL4 (59-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-39) (Kurtzman and Robnett, 1998). Amplification was carried out in 100 µl reaction mixture conditioning 100 ng of genomic DNA, 2.5 U of Taq polymerase, 20 mM of each dNTP, 40 mM of each primer, 10 mM Tris-HCl and 1.5 mM MgCl₂ (Qiagen kit). The reaction was pre-denatured at 94°C for 5 min, then repeated for 30 PCR cycles with denaturation at 94°C for 1 min, annealing at 55°C for 1 min and extension at 72°C for 2.5 min and then followed by the final extension at 72°C for 10 min. The amplified DNA was purified with QIAquick PCR Purification Kit according to the manufacturer's instruction. Visualization of the purified amplified DNA was performed by electrophoresis using 0.8% agarose gel in 1X TBE buffer and stained with ethidium bromide (8x10⁻⁵ µg/ml) and observed under UV illuminator.

D1/D2 domain of 26S rDNA sequencing. The nucleotide sequences of D1/D2 domain of 26S rDNA were directly determined using PCR products according to Kurtzman and Robnett (1998) with slight modification. Cycle sequencing of the D1/D2 domain was employed with forward primer NL1 (59-GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG-39), and reverse primer, NL4 (59-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-39), by ABI Prism™ BigDye™ Terminator Cycle Sequence Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Stafford, USA) according to the manufacturer's instruction.

Results and Discussion

The fatty acid compositions of two isolated from marine yeasts were SFAs (26.73-33.56 %TFA (total fatty acid), MUFAs (22.02-35.95 %TFA) and (29.82-31.42 %TFA). The predominant fatty acids were C16:0, C18:1n9, C18:2n6 and C18:3n3. In this study, EPA (C20:5n3) and DHA (22:6n3) were not detected while the two major series of PUFAs (n6 and n3); C18:2n6 and C18:3n3 were detected as shown in Table 1. In seawater, marine yeasts may not be found normally as

phytoplanktons or zooplanktons, but some species of yeasts could be isolated in our study. However, many species of yeasts may be allochthonous terrestrial forms and could be frequently found in marine water (Atlas and Bartha, 1981). In generally, most fatty acids in marine yeast were monounsaturated fatty acids. In our study, PUFAs in marine yeasts were found in high amount of linoleic acid and linolenic acids which related to Zelles' study (Zelles, 1997). On different media, different species of yeasts produced different kinds of fatty acids in different amount (Srivibool and Jaritkhuan, 2007). Linoleic acid is an essential fatty acid, called omega-6 fatty acid, which can be precursor of γ -linolenic acid, arachidonic acid and docosatetraenoic acid. It is essential dietary requirement for all mammals. α -linolenic acid (ALA), is an essential 18:3n-3 or omega-3 fatty acid. ALA is primary used by the body in the synthesis of eicosapentaenoic acid (EPA; 20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3), two fatty acid that play a vital role in many metabolic and cell signaling process. The high content of linoleic acid and linolenic acid in cells of yeast BS1-2 and yeast BS 6-2 could be very beneficial for aquaculture when the yeasts were used as food for marine zooplanktons to feed fish larvae. Kang et al. (2006) also reported that *Debaryomyces hansenii* and *Candida austromarina* were used in culturing *Moina macrocopa* to feed fish larvae. Therefore, if the fish had fatty acid desaturase and fatty acid elongase (Zheng et al., 2009) in liver, ALA in marine yeasts could be very useful one.

Results from BLAST analysis:

The sequences of D1/D2 domain of 26S rDNA of the yeast BS1-2 and BS6-2 were compared by BLASTn homology search of NCBI-National Center for Biotechnology Information. It was found that yeast BS1-2 was resemble to *Pichia kudriavzevii* type strain CBS 5147^T at 99.81 % similarity and yeast BS6-2 was closest to *Pichia jadinii* type strain CBS 1600^T at 99.13 % similarity, in which the latter may be new strain as there were 5 different nucleotides in the pairwise comparison. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

Table 1 Fatty acids compositions in marine yeasts BS 6-2 and BS 1-2 (%TFA)

Fatty acid	Yeast	
	BS 6-2	BS 1-2
C14:0	3.17 ±0.11	1.97±0.46
C16:0	24.05±0.65	21.56±1.53
C16:1n7	nd	10.96±0.64
C16:2n4	nd	0.22±0.03
C16:3n4	nd	0.34±0.00
C18:0	6.34±0.13	3.19±0.40
C18:1n9	22.02±1.32	24.40±1.40
C18:1n7	nd	0.60±0.10
C18:2n6	23.90±0.94	17.71±0.62
C18:3n4	nd	nd
C18:3n3	5.92±0.05	13.15±0.42
C18:4n3	nd	nd
C20:1n9	nd	nd
C20:4n6	nd	nd
C20:4n3	nd	nd
C20:5n3	nd	nd
C22:5n3	nd	nd
C22:6n3	nd	nd
other	14.61	5.90
SFAs	33.56	26.73
MUFAs	22.02	35.95
PUFAs	29.82	31.42

Conclusions

In this study, the two major series of PUFAs (n6 and n3); Linoleic Acid (LA; C18:2n6) and Alpha Linolenic (ALA;C18:3n3) were detected in predominant which these FAs are the precursor of omega-3 and omega-6. These essential fatty acids are also known to have a high nutritional value in the diet of many economically important marine animals, increasing the overall health and growth as well as the disease resistance in juvenile. Consequently, these marine yeasts should be developed as nutritional supplements, pharmaceuticals or other applications in the future.

Acknowledgments

Thanks for the financial assistance of government budget for this research work and thanks for The Institute of Marine Science, Burapha University for all facility.

References

- Atlas, R. M. and Bartha, R. (1981). Microbial Biology: Fundamentals and Applications. Addison-Wesley Publishing Company. London. pp. 560.
- Bligh, E. G. and W.J. Dyer. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemical and Physiology. 37(8): 911-917.
- James, C. M., Dias, P. And Salman, E. (2004). The use of marine yeast (*Candida* sp.) and bakers' yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in combination with *Chlorella* sp. for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. J. Hydrobiologia. 147: 263-268.
- Kang, c., Park, H., Kim, M. And Lee, W. (2006). Use of marine yeasts as an available diet for mass cultures of *Moina macrocopa*. Aquaculture Research. 37: 1227-1237.
- Kurtzman, C. P. and Robnett, C. J. (1998b) Identification and phylogeny of ascomycetous yeast from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. Antonie van Leeuwenhoek. 73: 331-371
- Manitis, T., E.F. Fritsch, and J. Sambrook. (1982). Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor laboratory: Cold Spring Harbor, New York U.S.A.
- Selvameenal L, Radhakrishnan M.and Balagurunathan R. (2009). Antibiotic pigment from desert soil actinomycetes; biological activity, purification and chemical screening. Indian Journal of Pharmaceutical 71(5): 499-504.
- Srivibool, R. and Jaritkhuan, S. (2007). Marine yeast: A new alternative source for highly unsaturated fatty acids. The 2nd International Conference on "Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products" p 4-3.
- Zelles, L. (1997). Phospholipid fatty acid profiles in selected member of soil microbial communities. Chemosphere. 35: 275-281.

Zheng, X., Ding, Z., Xu, Y., Monroig, O., Morais, S., and Tocher, R. (2009).
Physiological roles of fatty acyl desaturases and elongases in marine fish:
Characterisation of cDNAs of fatty acyl $\Delta 6$ desaturase and elov15 elongase of
cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture. 290:122-131.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar)

ชั่ง PDA 9.75 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนเดือดนาน 1 นาที ทิ้งให้พออุ่น ปิเปิดใส่ภาชนะเลี้ยงเชื้อ (Plate) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในตู้ปลอดเชื้อ ทิ้งไว้ให้เย็น แข็งตัว

1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ YM medium

ชั่ง Yeast extract 0.39 กรัม

ชั่ง Malt extract 0.39 กรัม

ชั่ง Peptone 0.65 กรัม

ชั่ง Glucose 1.30 กรัม

ชั่ง Agar 1.95 กรัม

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

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อย

อาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อย กรองกากขานอ้อยก่อนเข้าเครื่องความดันอัตโนมัติ (สูตรกากขานอ้อยต่อน้ำทะเลเทียมที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที ในอัตราส่วน 1:10)

ชั่งกากขานอ้อย 100 กรัม ลงในบีกเกอร์ 3,000 มิลลิลิตร เติมน้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water) ที่มีความเค็ม 25 พีพีที กวนและบีบกากขานอ้อยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองกากขานอ้อยออก เทเฉพาะส่วนน้ำใส่ขวดฝาเกลียวขนาด 1,500 มิลลิลิตร ตวงอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อย 125 มิลลิลิตร ใส่ฟลาสก์รูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด ปิดปากฟลาสก์รูปชมพู่ จากนั้นนำเข้าเครื่องหม้อนึ่ง

ความดันออสโมติก ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (ทำซ้ำที่น้ำทะเลเทียม (Artificial sea water) ที่มีความเค็ม 30 และ 35 พีพีที ตามลำดับ)

2. การเตรียมน้ำทะเลเทียม (Artificial sea water) ที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 พีพีที

ตารางภาคผนวกที่ ข. 1 การเตรียมน้ำทะเลเทียม

สารเคมี	25 พีพีที(กรัม)	30 พีพีที(กรัม)	35 พีพีที(กรัม)
NaCl	20.24	24.29	28.33
MgSO ₄ 7H ₂ O	4.04	4.85	5.66
MgCl ₂ 6H ₂ O	2.91	3.49	4.07
CaCl ₂ 2H ₂ O)	0.98	1.17	1.37
KCl	0.64	0.77	0.90
NaHCO ₃	0.32	0.38	0.44
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	0.06	0.07	0.08
KH ₂ PO ₄	0.04	0.05	0.05

ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร และปรับ pH ที่ 7.4

ภาคผนวก ก

การคำนวณการวิเคราะห์

1. การคำนวณหาปริมาณความชื้น (Moisture)

ร้อยละของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง $D = (C - A) \times 100$

ร้อยละของน้ำหนักน้ำในตัวอย่างเปียก $E = (B \times 100) - D$

โดย A คือ น้ำหนัก Crucible เป่า (ก่อนอบ)

B คือ น้ำหนักตัวอย่างเปียก

C คือ น้ำหนักตัวอย่าง + น้ำหนัก Crucible เป่า (หลังอบ)

D คือ ร้อยละของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

E คือ ร้อยละของน้ำหนักน้ำในตัวอย่างปริมาณ

$$\text{ความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{100 - \{ (\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}) \times 100 \}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเปียก}}$$

2. การคำนวณหาปริมาณไขมันรวม (Crude fat)

น้ำหนักไขมัน = (น้ำหนักไขมัน + น้ำหนัก flask) - น้ำหนัก flask เป่า

$$\text{ปริมาณไขมันทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(แห้ง)}}$$

3. การจำแนกชนิดกรดไขมันและการคำนวณร้อยละกรดไขมัน

1) นำ Ret time ของกรดไขมันแต่ละชนิดของตัวอย่าง ที่แสดงผลจากเครื่อง GC มาเปรียบเทียบกับ Ret time ของสารมาตรฐานที่เวลาเดียวกัน (ดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ ข. 3)

การคำนวณร้อยละกรดไขมัน = $ASIN(\sqrt{CELL/100}) * 180/PI()$

หมายเหตุ : การคำนวณใช้ใน Microsoft Excel โดยกำหนดให้ CELL คือ Area

ในกราฟโครมาโทแกรมที่มา : (Sokal and Rohlf, 1995)

ตารางภาคผนวกที่ ค. 1 สารมาตรฐานกรดไขมัน (PUFA) NO. 3 Menhaden oil ที่แสดงผลจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

Ret Time	Area	Type	Width	Ret#	Amount%	Name
6.8	10.173	BV	0.042	1-R	0	C14:0
11.8	9.465	BB	0.072	1-R	0	C16:0
12.7	19.696	VB	0.073	1-R	0	C16:1n7
15.3	2.562	VV	0.087	1-R	0	C16:2n4
16.7	2.738	BV	0.075	1-R	0	C16:3n4
19.8	1.228	BB	0.072	1-R	0	C18:0
20.5	12.867	VV	0.078	1-R	0	C18:1n9
20.8	0.000	-	0.000	1-R	0	C18:1n7
22.2	2.645	BB	0.074	1-R	0	C18:2n6
23.1	0.522	BB	0.000	1-R	0	C18:3n4
23.6	0.459	BB	0.000	1-R	0	C18:3n3

24.5	0.863	BV	0.000	1-R	0	C18:4n3
25.0	2.757	BB	0.093	1-R	0	C20:1n9
26.5	5.246	BB	0.087	1-R	0	C20:4n6
29.7	2.336	VB	0.106	1-R	0	C20:4n3
36.5	1.286	BB	0.149	1-R	0	C20:5n3
40.3	2.185	BB	0.156	1-R	0	C22:5n3

ภาคผนวก ง

ตารางภาคผนวกที่ ง. 1 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวชนิด C14:0 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	0.64 ± 0.91	0.86 ± 1.22	2.30 ± 0.42
48	0.84 ± 1.19	0.79 ± 1.12	0.00 ± 0.00
72	0.71 ± 1.01	1.05 ± 0.38	0.44 ± 0.62
96	0.69 ± 0.98	0.92 ± 0.71	0.49 ± 0.69
120	0.56 ± 0.79	0.76 ± 0.28	0.59 ± 0.83
144	0.00 ± 0.00	0.22 ± 0.31	0.44 ± 0.62
168	0.00 ± 0.00	0.63 ± 0.90	0.00 ± 0.00
192	0.52 ± 0.73	0.00 ± 0.00	0.22 ± 0.31
216	1.87 ± 0.85	0.60 ± 0.84	0.29 ± 0.40

ตารางภาคผนวกที่ ง. 2 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวชนิด C16:0 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากชานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	22.16 ± 0.99	24.64 ± 3.15	31.94 ± 2.92
48	24.17 ± 3.10	26.10 ± 0.37	27.64 ± 3.34
72	24.25 ± 0.93	25.06 ± 0.82	30.00 ± 3.49
96	24.30 ± 1.48	25.94 ± 0.69	28.46 ± 3.27
120	23.07 ± 1.74^a	25.36 ± 0.51^{ab}	28.24 ± 0.00^b
144	23.13 ± 3.71	24.06 ± 0.25	25.69 ± 3.55
168	21.44 ± 0.11	25.16 ± 2.02	25.98 ± 4.43
192	21.54 ± 1.18	24.03 ± 0.95	22.61 ± 1.30
216	23.48 ± 0.04	21.71 ± 2.97	24.53 ± 0.67

หมายเหตุ : อักษร a, b และ c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ง. 3 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวชนิด C18:0 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	6.79 ± 0.50	7.06 ± 2.67	14.44 ± 3.45
48	5.69 ± 1.27	5.45 ± 0.24	5.87 ± 0.53
72	5.48 ± 0.20	4.67 ± 1.28	10.45 ± 5.43
96	5.21 ± 0.85	6.72 ± 2.00	5.29 ± 0.23
120	6.97 ± 3.36	6.08 ± 2.28	8.24 ± 1.66
144	4.99 ± 0.99	5.67 ± 3.41	4.77 ± 0.50
168	3.84 ± 0.06	7.22 ± 4.11	5.43 ± 3.06
192	5.74 ± 1.61	7.52 ± 4.34	3.98 ± 1.03
216	6.70 ± 0.75	5.26 ± 0.71	4.69 ± 1.78

ตารางภาคผนวกที่ ง. 4 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวทั้งหมด (SFA) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	29.59 ± 0.58^a	32.57 ± 4.60^a	48.68 ± 0.96^b
48	30.70 ± 3.02	32.34 ± 1.24	33.51 ± 3.88
72	30.44 ± 1.74	30.78 ± 1.72	40.89 ± 8.30
96	30.20 ± 1.60	33.58 ± 3.39	34.23 ± 2.35
120	30.60 ± 5.89^a	32.21 ± 2.05^a	37.06 ± 2.50^b
144	28.12 ± 2.72	29.95 ± 3.35	30.91 ± 3.43
168	25.28 ± 0.05	33.01 ± 7.02	31.41 ± 7.49
192	27.80 ± 3.52	31.55 ± 5.29	26.81 ± 2.02
216	32.05 ± 0.06	27.57 ± 3.10	29.51 ± 2.04

หมายเหตุ : อักษร a, b และ c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ง. 5 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิด C16:1n7 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	1.07 ± 1.52	0.86 ± 1.22	1.95 ± 2.75
48	1.77 ± 0.95	2.88 ± 0.90	2.97 ± 1.10
72	2.90 ± 0.93	3.94 ± 2.42	3.05 ± 1.20
96	3.47 ± 1.61	3.62 ± 0.62	4.20 ± 1.32
120	3.59 ± 0.21	3.60 ± 0.35	3.53 ± 1.66
144	3.28 ± 1.42	3.65 ± 0.55	4.22 ± 1.28
168	3.21 ± 0.96	3.52 ± 0.40	3.53 ± 0.38
192	2.87 ± 0.81	3.43 ± 0.14	3.39 ± 0.19
216	3.04 ± 0.81	2.94 ± 0.89	4.65 ± 1.52

ตารางภาคผนวกที่ ง. 6 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิด C18:1n9 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	44.32 ± 1.98 ^b	39.11 ± 1.67 ^{ab}	30.64 ± 4.76 ^a
48	47.40 ± 6.01	44.93 ± 6.38	42.38 ± 6.90
72	47.20 ± 6.35	44.86 ± 7.51	40.56 ± 9.61
96	46.32 ± 6.85	45.25 ± 6.50	43.93 ± 4.11
120	45.63 ± 3.74	46.72 ± 3.53	42.35 ± 1.66
144	47.59 ± 3.57	46.18 ± 5.32	45.44 ± 4.42
168	48.62 ± 2.85	44.43 ± 7.34	44.74 ± 5.98
192	46.26 ± 4.56	45.06 ± 5.49	47.34 ± 2.07
216	41.17 ± 0.60 ^a	44.52 ± 0.66 ^b	43.79 ± 0.37 ^b

หมายเหตุ : อักษร a, b และ c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ง. 7 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิด C20:1n9 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	4.29 ± 0.00	4.83 ± 0.49	1.30 ± 1.84
48	2.30 ± 0.14	1.44 ± 0.45	2.35 ± 0.21
72	1.45 ± 0.46	2.44 ± 1.88	0.55 ± 0.78
96	0.92 ± 1.30	0.99 ± 0.04	0.49 ± 0.69
120	1.42 ± 0.38	0.98 ± 0.03	0.59 ± 0.83
144	1.10 ± 0.27	0.89 ± 0.18	0.44 ± 0.62
168	0.49 ± 0.69	0.38 ± 0.53	0.49 ± 0.69
192	0.95 ± 0.12	0.50 ± 0.71	0.43 ± 0.61
216	1.16 ± 0.11	1.00 ± 0.27	0.46 ± 0.65

ตารางภาคผนวกที่ ง. 8 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวทั้งหมด (MUFA) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	49.68 ± 0.46 ^c	44.80 ± 0.04 ^b	33.88 ± 0.17 ^a
48	51.47 ± 4.92	49.25 ± 5.03	47.70 ± 5.58
72	51.91 ± 4.46	51.61 ± 2.68	44.16 ± 9.19
96	50.71 ± 3.93	49.85 ± 5.83	48.62 ± 3.49
120	50.64 ± 3.16	51.31 ± 3.21	46.47 ± 0.83
144	51.97 ± 1.88	50.72 ± 4.59	50.10 ± 3.76
168	52.31 ± 1.21	48.33 ± 7.48	48.76 ± 6.30
192	50.08 ± 3.88	48.99 ± 6.06	51.17 ± 2.49
216	45.37 ± 1.31	48.45 ± 0.50	48.90 ± 1.81

หมายเหตุ : อักษร a, b และ c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาพผนวกที่ ง. 9 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิด C18:2n6 ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	20.73 ± 1.03	22.63 ± 4.57	17.44 ± 0.79
48	17.83 ± 1.90	18.41 ± 3.79	18.79 ± 1.71
72	17.65 ± 2.72	17.60 ± 4.40	14.95 ± 0.90
96	19.09 ± 2.33	16.57 ± 2.44	17.14 ± 1.14
120	18.76 ± 2.73	16.48 ± 1.17	16.47 ± 1.66
144	19.91 ± 0.84	19.33 ± 1.23	19.00 ± 0.33
168	22.41 ± 1.26	18.66 ± 0.46	19.83 ± 1.19
192	22.12 ± 0.36 ^b	19.45 ± 0.77 ^a	22.02 ± 0.47 ^b
216	22.58 ± 1.24	23.98 ± 3.61	21.60 ± 0.24

หมายเหตุ : อักษร a, b และ c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาพผนวกที่ ง. 10 ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนทั้งหมด (PUFA) ในตัวอย่างเซลล์ยีสต์ BS 6-2 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็มแตกต่างกัน 3 ระดับ

เวลา (ชั่วโมง)	25 พีพีที	30 พีพีที	35 พีพีที
24	20.73 ± 1.03	22.63 ± 4.57	17.44 ± 0.79
48	17.83 ± 1.90	18.41 ± 3.79	18.79 ± 1.71
72	17.65 ± 2.72	17.60 ± 4.40	14.95 ± 0.90
96	19.09 ± 2.33	16.57 ± 2.44	17.14 ± 1.14
120	18.76 ± 2.73	16.48 ± 1.17	16.47 ± 1.66
144	19.91 ± 0.84	19.33 ± 1.23	19.00 ± 0.33
168	22.41 ± 1.26	18.66 ± 0.46	19.83 ± 1.19
192	22.12 ± 0.36 ^b	19.45 ± 0.77 ^a	22.02 ± 0.47 ^b
216	22.58 ± 1.24	23.98 ± 3.61	21.60 ± 0.24

หมายเหตุ : อักษร a, b และ c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95