รายงานวิจัย

ประจำปี 2553

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ

Fatty Acids from some Sponges and Symbiosis Marine Bacteria.

ภายใต้แผนงานวิจัยเรื่อง

การค้นหาและพัฒนาสารตัวยาจากน่านน้ำไทย

ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติผ่านงบประมาณ
แผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2553
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ

ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

จากการหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำทะเลบริเวณเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานีโดยเก็บตัวอย่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2553 สกัดหาปริมาณไขมันรวมด้วยวิธีของ Bligh & Dyer ทำการแยกกลุ่มของไขมันในตัวอย่างฟองน้ำด้วยเทคนิค Solidphase extraction (SPE) จากนั้นหาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วย GC/FID ผลการศึกษาพบปริมาณไขมันรวมอยู่ในช่วง 0.21-1.01 % (wet wt.) ปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่าง*Cacospongia* sp.(TAN-E-03) (order Dictyoceratida). องค์ประกอบของไขมันที่พบมากที่สุดเป็นชนิด neutral lipid .(39.78-69.10% total lipid) โดยคุณลักษณะกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว SFAs พบกรดไขมัน palmitic acid; C16:0 ในไขมันกลุ่ม neutral lipids (6.22-38.97%TFA), phospholipids (7.21-20.02%TFA) และใน glycolipids (10.35-30.73%TFA) และกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน Eicosapentaenoic acid, EPA (20:5n3, 5.39% ใน phospholipids) และ Docosahexsaenoic acid, DHA (22:6n3, 2.60% ใน neutral lipids) พบในตัวอย่างฟองน้ำ *Cervicornia cuspidifera* (TAN-D-01) (order Hadromerida) ส่วนในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำมีคุณลักษณะของกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ในปริมาณร้อยละ 0.33-91.25 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด โดยพบองค์ประกอบหลักของกรดไขมันเป็น vaccenic acid (C18:1n7), palmitoleic acid (C16:1n7), palmitic acid (C16:0) และ C18:1n7 เป็นกรดไขมันที่ตรวจพบปริมาณสูงสุด ร้อยละ 91.25 ของกรดไขมันโดยรวม จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเรื่องเวลาในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียพบว่าการเลี้ยงเชื้อที่ 72-96 ชั่วโมงให้ปริมาณไขมันโดยรวมมากที่สุด และพบว่าปัจจัยของเวลาไม่มีผลต่อชนิดของกรดไขมัน

Fatty Acids from some Sponges and Symbiosis Marine Bacteria.

Piyawan Srivilas

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

Abstract

In this study, qualitative and quantitative analyses of fatty acids were investigated in marine sponges collected from Ko Samui, Suratthani province during January to February 2010. The total lipids were extracted by the Bligh&Dyer method and they were classified by Solid phase extraction technique (SPE). Fatty acid compositions were analyzed by GC/FID. The results showed that total lipids were 0.21-1.01 % (wet wt.) with the highest value in *Cacospongia* sp. (TAN-E-03) (order Dictyoceratida). Major component of the lipids was neutral lipid (39.78-69.10%of total lipids). The characteristics of fatty acids in marine sponges were saturated fatty acids SFAs including palmitic acid (C16:0) in neutral lipids (6.22-38.97%TFA), phospholipids (7.21-20.02%TFA) and glycolipids (10.35-30.73%TFA). Essential fatty acids for aquatic larvae, Eicosapentaenoic acid, EPA (20:5n3, 5.39% of phospholipids) and Docosahexsaenoic acid, DHA (22:6n3, 2.60% of neutral lipids) were found in *Cervicornia cuspidifera* (TAN-D-01) (order Hadromerida). The characteristics of fatty acids in marine microorganisms isolated from sponges were monounsaturated fatty acids, MUFAs (0.33-91.25% TFA). Major component of the fatty acids were vaccenic acid (C18:1n7), palmitoleic acid (C16:1n7) and palmitic acid (C16:0). The C18:1n7 was the highest fatty acid found in the amount of 91.25%(% TFA). The study of time effect on bacterial culture showed that bacterial culture for 72 -96 hrs. gave the highest total lipids and there was no effect on fatty acid compositions.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติผ่านงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยบูรพาประจำปี 2553 ซึ่งคณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณเป็นอย่างมาก ตลอดจนเจ้าหน้าที่สถาบันวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่มีส่วนช่วยทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

สารบัญตาราง

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ

Fatty Acids from Sponges and Symbiosis Marine Bacteria

บทนำ

ฟองน้ำเป็นสิ่งมีชีวิตที่เก่าแก่ที่สุดของพวกสัตว์หลายเซลสามารถดำรงชีวิตอยู่มาเป็นเวลายาวนานได้โดยที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างน้อยมาก ที่เป็นเช่นนี้เพราะฟองน้ำได้สร้างกลไกป้องกันตัวเองอย่างมีประสิทธิภาพโดยการผลิตสารพิษหรือสารเคมีอื่นๆเพื่อที่จะขับไล่หรือยับยั้งอันตรายจากผู้ล่าหรือพวก parasites ต่างๆ หรือแย่งชิงพื้นที่ที่จะเกาะติดกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ โดยสารเคมีที่ฟองน้ำผลิตมาเพื่อปกป้องตัวเองนี้ถูกเชื่อว่ามีส่วนที่วิวัฒนาการไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติที่น่าสนใจโดยเฉพาะสารกลุ่มไขมันซึ่งมีรายงานกล่าวว่ากรดไขมันจากฟองน้ำทะเลจะมีความหลากหลายและมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ (Mishra et al.,2009) ปัจจุบันการศึกษาเรื่องกรดไขมันมีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากมีการนำไปใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น อาหาร ยารักษาโรค หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ทำให้มีการศึกษาหาแหล่งของกรดไขมันจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ กรดไขมันที่ทำการศึกษาส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวเพราะกรดไขมันกลุ่มนี้มีบทบาทต่อสุขภาพอนามัยต่อสิ่งมีชีวิต และอัตราการอยู่รอดของสัตว์น้ำวัยอ่อน จากการศึกษาพบว่าแหล่งไขมันจากอาหารทะเลโดยเฉพาะปลาทะเลและสัตว์ทะเลชั้นสูงอื่นๆ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำพวกสาหร่าย แพลงก์ตอนพืช มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 (Omega-3-polyunsaturated fatty acid) โดยเฉพาะกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid หรือ EPA (C20:5n3) และกรดไขมัน Docosahexaenoic acid หรือ DHA (C22:6n3) กรดไขมันทั้งสองชนิดนี้เป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญและความต้องการเป็นอย่างมาก

แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์เป็นแหล่งอาหารมีชีวิตเบื้องต้นของสัตว์น้ำวัยอ่อน (Brown, *et al*.,1997; Raymond and John,1994) องค์ประกอบคุณค่าทางอาหารที่ให้สัตว์น้ำกินมีบทบาทอย่างมากในการเพิ่มการรอดตายและการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยเฉพาะกรดไขมัน ซึ่งกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ได้แก่ ecosapentaenoic acid และ docosahexaenoic acid เนื่องจากสัตว์น้ำวัยอ่อนบางชนิดไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นได้จะต้องได้รับจากการกินอาหารเท่านั้น (สุพิศ, 2535) มีรายงานการวิจัยมากมายเกี่ยวกับคุณค่าทางอาหารของแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ที่นิยมใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารที่แตกต่างกันไป (Volkman *et al.*,1989; Brown, *et al.*, 1997) แต่มีรายงานการวิจัยไม่มากทางด้านการเพาะเลี้ยงที่กล่าวถึงการนำแบคทีเรียมาเป็นอาหารสัตว์น้ำหรือแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น ลูกหอยวัยอ่อน อาร์ทีเมีย เป็นต้น (Brown *et al.*, 1996; Leonardo and Lucas, 2000; Intriago and Jones, 1993) ในต่างประเทศมีการเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Fulks and Main,1991) พบว่าสามารถทำให้ลดต้นทุนการผลิตได้ แต่เนื่องจากยีสต์ขาดกรดไขมันที่จำเป็น

สำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ทำให้โรติเฟอร์และสัตว์น้ำวัยอ่อนมีอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตต่ำกว่าเลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืช

มีรายงานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับ สิ่งมีชีวิตจากทะเลเช่น ฟองน้ำ กัลปังหา ปะการัง เป็นแหล่งผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติทั้งในด้านเภสัชกรรม สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และกรดไขมัน (Burkholder,1966; Halstead,1968; Bergquist *et al.*,1984) จากการวิจัยพบว่าภายในฟองน้ำประกอบด้วยแบคทีเรียหลายชนิดมีปริมาณถึง 40 เปอร์เซ็นต์ (Vacelet,1975; Wilkinson,1978.a,b) และจากการค้นพบความสัมพันธ์ระหว่างเคโมออโตโทรฟิคแบคทีเรีย(Chemoautotrophic bacteria) และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Cavanaugh *et* al.,1981) ได้นำไปสู่ความสำคัญของแบคทีเรียต่อชนิดและปริมาณสารอาหาร (Cavanaugh *et al.,* 1983)

จากความสัมพันธ์ระหว่างฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำที่พึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน มีรายงานการวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของแบคทีเรียชนิดต่างๆที่อาศัยในฟองน้ำที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Nair and simidu,1987; ชุติวรรณ และ Simidu,2530; Shigemori *et al.*, 1992; Imamura *et al.*,1993; Dechsakulwatana,1994) แต่รายงานด้านกรดไขมันส่วนมากเป็นการวิเคราะห์เพื่อใช้เป็นดัชนีทางชีววิทยาของแบคทีเรียที่อาศัยกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆในทะเล (Carballeira and Mayra,2001; Shirasaka *et al.*,1995; Zhukova *et al.*, 1992; Nichol and Tom, 2002) หรือการวิจัยเกี่ยวกับกรดไขมันกับแหล่งสารอาหารที่แบคทีเรียต้องการ (Barbara and James,2003; Rosa *et al.,* 2003; Nichols, 2003)

การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่อเป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนและแพลงก์ตอนสัตว์ต้องใช้แรงงานและพื้นที่ในการผลิตมาก ตลอดจนใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยง ทำให้เป็นอุปสรรคในการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยง จากรายงานการวิจัยในฟองน้ำ (Carballeira and Mayra, 2001) พบว่ากรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำมีหลายประเภท ประกอบกับจำนวนแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำมีจำนวนหลากหลายชนิดที่มีขนาดต่างกัน จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาเป็นอาหารหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อใช้เป็นแหล่งกรดไขมันอีกแหล่งหนึ่งของสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือแพลงก์ตอนสัตว์บางชนิดที่กินอาหารโดยวิธีการกรอง เนื่องจากแบคทีเรียสามารถเก็บไว้ได้ในระยะเวลานานและขยายได้จำนวนมากในเวลาอันสั้น จึงสามารถลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือแพลงก์ตอนสัตว์ เพื่อทดแทนการเลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืช ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงอาหารมีชีวิตอีกทางหนึ่ง ทั้งนี้รายงานวิจัยกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำในประเทศไทยยังมีการวิจัยอยู่น้อยมาก และการวิจัยไม่ได้กล่าวถึงหรือเน้นการนำแบคทีเรียที่มีกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน ไปทดสอบกับสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือแพลงก์ตอนสัตว์ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเห็นว่าการได้ข้อมูลของกรดไขมันที่มีความจำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนในตัวอย่างฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำน่าจะเป็นทางเลือกใหม่สำหรับอุตสาหกรรมรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำทะเล

2 เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันใน เชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ

3. เพื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดไขมันที่มีในฟองน้ำและในแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ

ขอบเขตของโครงการวิจัย

วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล บริเวณอ่าวไทยภาคตะวันตก และในแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำ ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟฟี (GC-FID)

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ฟองน้ำ (Sponges)

ฟองน้ำ (phylum Porifera) จัดอยู่ในจำพวกสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และเป็นสิ่งมีชีวิตที่เก่าแก่ที่สุดของพวกสัตว์หลายเซลซึ่งมีมาเมื่อประมาณ 700-800 ล้านปี สามารถพบฟองน้ำได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำทะเล แต่ส่วนใหญ่พบว่าจะเป็นฟองน้ำทะเล โดยที่ 95% ของฟองน้ำทั้งหมดจะเป็นฟองน้ำใน class demospongiae ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความหลากหลายทางชีวภาพมากที่สุด (Hooper, 1997) ฟองน้ำมีส่วนสำคัญต่อชีวมวลของระบบนิเวศวิทยาทางทะเล เพราะฟองน้ำสามารถปรับตัวได้เป็นอย่างดีไม่ว่าจะเป็นทางด้านการสืบพันธุ์ และทางด้านสรีรวิทยา ฟองน้ำเป็นสัตว์ประเภทที่กรองกินอาหาร (filter feeding) ลำตัวของฟองน้ำจะมีรูพรุนเล็กๆซึ่งเป็นช่องทางเข้าของน้ำ โดยจะนำออกซิเจนและอาหารเข้าภายในร่างกาย โดยทั่วไปฟองน้ำจะอยู่ติดกับที่ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ และฟองน้ำไม่มีอวัยวะพวกแขน ขา กล้ามเนื้อ ศีรษะ และช่องกระเพาะอาหาร อีกทั้งฟองน้ำมีรูปร่างที่ค่อนข้างอ่อนนุ่ม ไม่มีหนามแหลมหรือเปลือกห่อหุ้มร่างกาย แต่ฟองน้ำก็ยังสามารถดำรงชีวิตอยู่มาเป็นเวลายาวนานได้โดยที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างน้อยมาก ที่เป็นเช่นนี้เพราะฟองน้ำได้สร้างกลไกป้องกันตัวเองอย่างมีประสิทธิภาพโดยการผลิตสารพิษหรือสารเคมีอื่นๆ เพื่อที่จะขับไล่หรือยับยั้งอันตรายจากผู้ล่าหรือพวก parasites ต่างๆ หรือแย่งชิงพื้นที่ที่จะเกาะติดกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ โดยสารเคมีที่ฟองน้ำผลิตมาเพื่อปกป้องตัวเองนี้ถูกเชื่อว่ามีส่วนที่วิวัฒนาการไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรคได้ เนื่องจากสารเคมีที่ฟองน้ำผลิตขึ้นมานี้จะต้องใช้ป้องกันผู้ล่าที่มีหลากหลายประเภท ดังนั้นจึงทำให้สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากฟองน้ำทะเลหลายตัวมีฤทธิ์ในการตรวจสอบทางเภสัชวิทยาที่สูงเกินกว่าที่จะนำมาใช้เป็นยาได้

โดยตรง จึงทำให้สารที่ได้จากทะเลส่วนใหญ่ยังอยู่ในขั้นตอนการทดสอบและการพัฒนาทางเภสัชวิทยา ซึ่งต้องใช้เวลานานในกระบวนการพัฒนา

การจัดหมวดหมู่ฟองน้ำ

ฟองน้ำจัดจำแนกตามลักษณะของโครงสร้างเป็น 4 class คือ

Class 1 Calcipongiae (Calcarea) เรียกว่า ฟองน้ำแคลคาเรีย เนื่องจากเป็นฟองน้ำที่มีสปิคูลที่เป็นสารประกอบหินปูน

Class 2 Hyalospongiae (Hexactinellida) มีชื่อเรียกทั่วไปว่า ฟองน้ำแก้ว (glass sponge) ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตอยู่ในทะเลลึกประมาณ 500-15,00 เมตร และมีสมมาตรรัศมี มีลักษณะรูปร่างคล้ายแจกันหรือกรวย มักเกาะกับพื้นโคลนโดยก้านหรือรากที่เป็นสปิคูล (root spicules)

Class 3 Demospongiae มีฟองน้ำประมาณร้อยละ 95 ของฟองน้ำทั้งหมดในไฟลัมส่วนใหญ่ เป็นฟองน้ำขนาดใหญ่ สปิคูลเป็นซิลิกอนที่ไม่เป็นหกแฉก

Class 4 Sclerospongiae มีฟองน้ำน้อยชนิด ฝังตัวอยู่ตามรอยแยกของแนวปะการัง จึงมักเรียกว่า ฟองน้ำปะการัง (coralline sponge) ทางเดินน้ำแบบลิวโคนอยด์ มีสปิคูลเป็นสารซิลิกอนและมีสปันจินและมีสปันจินและมีชั้นของหินปูนเป็นโครงสร้างบาง ๆหุ้มตัว

รายละเอียดเกี่ยวกับแบคทีเรียทะเล

แบคทีเรียทะเลแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ แบคทีเรียที่ถูกพัดพามาจากแหล่งอื่นและแบคทีเรียที่มีถิ่นกำเนิดในทะเลในบริเวณนั้น ๆ แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้อาศัยอยู่ที่ผิวน้ำ ในชั้นของน้ำ ตะกอนดิน และอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ เช่น *Psudomonas insolita* พบอยู่ในฟองน้ำคลาสเดโมสปองเจีย (class demospongiae) ชนิด *Halichondria panacea* แบคทีเรียบางชนิดอาศัยอยู่ในลำไส้และทางเดินอาหารของสัตว์ทะเล เช่น *Clostridium welchii, C. sporogenes, C. tetani* พบในทางเดินอาหารของปลา ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ทำให้ปลาได้รับสารอาหารในการเจริญเติบโต (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534)

ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียทะเล

แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทะเลส่วนมากเป็นพวกทนเกลือ (halophilic microorganisms) ต้องการโซเดียมคลอไรด์ 2.5-4 เปอร์เซ็นต์ ในการเจริญเติบโต และจะไม่เจริญหรือเจริญได้น้อยมากในอาหารที่ไม่มีเกลือ ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียทะเลคือ 3.5 เปอร์เซ็นต์ (Rheinheimer, 1985) แบคทีเรียที่พบในทะเลส่วนมากเคลื่อนที่ได้เพราะมีแฟลกเจลลัม แต่ไม่สร้างสปอร์ ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ได้ทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) มีน้อยชนิดที่ชอบอาศัยในที่ไม่มีออกซิเจน (obligate anaerobe) ส่วนมากเป็นพวกที่มีรงควัตถุและเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ปัจจัยควบคุมการแพร่กระจายของแบคทีเรียทะเลคือ ปริมาณสารอาหาร ความเค็ม ความลึก และความเป็นกรด-เบส เป็นต้น

ประโยชน์ของแบคทีเรียทะเล

แบคทีเรียทะเลมีประโยชน์ต่อระบบนิเวศทางทะเล ช่วยให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุ ทำให้แหล่งน้ำอุดมสมบูรณ์ เป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน และแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสร้างสาร ซึ่งมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาทางเภสัชวิทยา สารที่สร้างจากแบคทีเรียเรียกว่า สารเมตาบอไรต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

ไขมัน (Lipid)

คือสารชีวโมเลกุลประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน โมเลกุลของไขมันประกอบด้วยกรีเซอรีน 1 โมเลกุล และกรดไขมัน 3 โมเลกุล ซึ่งอาจเป็นกรดไขมันชนิดเดียวกันหรือต่างกันได้ ไขมันมีหลายชนิด แล้วแต่ชนิดของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบ ไขมันในอาหารประกอบด้วย ไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) เป็นส่วนใหญ่ และ โคเลสเตอรอล (Cholesterol) เป็นส่วนน้อย ไตรกลีเซอไรด์เมื่ออยู่ในรูปของแข็งที่อุณหภูมิห้องปกติจะเรียกว่าไขมัน(Fat) หากเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องปกติจะเรียกว่าน้ำมัน(Oil)

ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) เป็นไขมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันสามโมเลกุลรวมตัวกับกลีเซอรอล หนึ่งโมเลกุล เป็นโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำ เป็นพลังงานสะสมในสัตว์ และใช้สะสมใต้ผิวหนังเพื่อรักษาอุณหภูมิของร่างกาย

ฟอสโฟลิปิดหรือกลีเซอโรฟอสโฟลิพิด เป็นไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มต่างๆในสิ่งมีชีวิต โครงสร้างคล้ายไตรกลีเซอไรด์ แต่มีกรดไขมันเพียงสองโมเลกุล โดยอีกตำแหน่งหนึ่งจะมีหมู่ฟอสเฟตมาเกาะและจะมีสารอื่นมาเกาะที่หมู่ฟอสเฟตอีกต่อหนึ่งซึ่งเป็นการกำหนดชนิดของฟอสโฟลิปิด เช่น โคลีน (choline) หรือ เซอรีน (serine) ซึ่งชนิดของกรดไขมันในฟอสโฟลิปิด (Phospholipid fatty acids; PLFAs) ใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ทำหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสารระหว่างภายนอกและภายในเซลล์ รูปแบบของกรดไขมันที่มาจากฟอสโฟลิปิดของเยื่อหุ้มเซลล์สามารถบอกถึงจำนวนต่อหน่วยพื้นที่ลักษณะกลุ่มและความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กได้ (microbial biomass, microbial community structure, microbial diversity)

กรดไขมัน

กรดไขมันเป็นกรดอินทรีย์ ที่เป็นส่วนประกอบในร่างกายของสิ่งมีชีวิต มีการนำไปใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น ยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ทำให้มีการศึกษาหาแหล่งของกรดไขมันจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ กรดไขมันที่ทำการศึกษาส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมันชนิดที่ไม่

อิ่มตัวเพราะกรดไขมันกลุ่มนี้มีบทบาทต่อสุขภาพอนามัย และอัตราการอยู่รอดของสัตว์น้ำวัยอ่อน จากการศึกษาพบว่าแหล่งไขมันจากอาหารทะเลโดยเฉพาะปลาทะเลและสัตว์ทะเลชั้นสูงอื่นๆ รวมทั้งสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำพวกสาหร่าย และแพลงก์ตอนพืช มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 โดยเฉพาะกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (EPA) และกรดไขมัน Docosahexaenoic acid (DHA) กรดไขมันทั้งสองชนิดนี้มีความสำคัญและความต้องการเป็นอย่างมาก

กรดไขมันโอเมกา-3 (ω-3 หรือ omega-3) เป็นกลุ่มของกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัวสูง เป็นหนึ่งในกรดไขมันจำเป็น (Essential Fatty acid) ที่ร่างกายมนุษย์ขาดไม่ได้ ซึ่งเป็นโครงสร้างไขมันสำคัญในสมองและจอประสาทตาในสูตรโครงสร้างโมเลกุลจะมีพันธะคู่อยู่ไม่น้อยกว่า 3 แห่ง โดยพันธะคู่แรกจะอยู่ที่ตำแหน่งของคาร์บอนตัวที่ 3 นับจากปลายโมเลกุลด้านที่มีกลุ่มเมธิล (methyl group) เข้าไป ส่วนพันธะคู่ต่อไปจะอยู่ตรงตำแหน่งคาร์บอนถัดไปครั้งละ 3 ตำแหน่ง สารสำคัญในตัวมันมี 2 ตัว คือ Eicosopentaenoic (EPA) และ Docosahexaenoic (DHA)

กรดไขมันโอเมกา-3 มีบทบาทสำคัญต่อโครงสร้างและการทำงานของสมอง ตับ และระบบประสาทเกี่ยวกับการพัฒนาเรียนรู้ รวมทั้งเกี่ยวกับเรตินาในการมองเห็น นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อโภชนาการและสุขภาพของคนเรา เช่น ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอล และไตรเอธิลกลีเซอรอล (triethylglycerol) ในพลาสมา ควบคุมระดับไลโปโปรตีน (lipoprotien) และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและหน้าที่ของเกล็ดเลือด จึงมีแนวโน้มก่อให้เกิดผลดีในการลดอันตรายของโรคทางเดินหายใจ โรคไขมันในเส้นเลือด โรคหัวใจและโรคซึมเศร้า โอเมกา-3 พบมากในปลาทะเล และ ปลาน้ำจืดบางชนิด

ชนิดของกรดไขมันโอเมก้า-3

ชื่อสามัญ	ชื่อลิพิด	ชื่อเคมี
n/a	16:3 (*n*−3)	*all-cis*-7,10,13-hexadecatrienoic acid
α-Linolenic acid (ALA)	18:3 (*n*−3)	*all-cis*-9,12,15-octadecatrienoic acid
Stearidonic acid (STD)	18:4 (*n*−3)	*all-cis*-6,9,12,15-octadecatetraenoic acid
Eicosatrienoic acid (ETE)	20:3 (*n*−3)	*all-cis*-11,14,17-eicosatrienoic acid
Eicosatetraenoic acid (ETA)	20:4 (*n*−3)	*all-cis*-8,11,14,17-eicosatetraenoic acid
Eicosapentaenoic acid (EPA)	20:5 (*n*−3)	*all-cis*-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid
Docosapentaenoic acid (DPA), Clupanodonic acid	22:5 (*n*−3)	*all-cis*-7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid
Docosahexaenoic acid (DHA)	22:6 (*n*−3)	*all-cis*-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid
Tetracosapentaenoic acid	24:5 (*n*−3)	*all-cis*-9,12,15,18,21-docosahexaenoic acid
Tetracosahexaenoic acid (Nisinic acid)	24:6 (*n*−3)	*all-cis*-6,9,12,15,18,21-tetracosenoic acid

มีการศึกษาวิจัยในเรื่องกรดไขมันในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น สิ่งมีชีวิตที่นำมาศึกษามีทั้งพืช สัตว์และจุลินทรีย์ โดยพบองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างที่ศึกษาโดยส่วนมากมีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ C16-18 ตัว กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), และ linolenic acid (C18:3) เป็นต้น (วิเชษฐ์ ลีลามานิตย์, 2540) ในการศึกษาปริมาณกรดไขมันที่พบในจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆนั้นจะพบกรดไขมันต่างชนิดมากน้อยแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ โดยมีรายงานว่าจุลินทรีย์พวกโปรคารีโอต ได้แก่ แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรียและพวกยูคารีโอต ได้แก่รา โปรโตซัว และสาหร่าย จะมีองค์ประกอบของกรดไขมันต่างกัน โดยแบคทีเรียต่าง ๆ นั้นจะพบว่ามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว oleic acid (C18:1) อยู่เป็นจำนวนมากและในแบคทีเรียบางชนิดจะพบ EPA ประกอบอยู่ด้วย (Dennis, 1993)

กรดไขมันนอกจากมีประโยชน์ด้านการแพทย์แล้ว ยังมีประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานด้านการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย โดยใช้องค์ประกอบกรดไขมันเป็นตัวจำแนก (พนิดา พงศ์ภาณุมาพร, 2543) การใช้องค์ประกอบกรดไขมันในการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์นั้น มีใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งในเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา และยังมีประโยชน์ในการแยกความแตกต่างของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ที่คล้ายกันมากออกจากกันได้

จากการศึกษาของ Manjari และคณะในปี 2009 พบองค์ประกอบกรดไขมันจากไขมันที่สกัดจากฟองน้ำทะเล Fasciospongia cavernosa (Schmidt) ที่เก็บจากอ่าว Bengal (Orisca Coast) เป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน(PUFAs) 30.79% กรดไขมันชนิด SFAs 33.05%, branch SFAs 9.30%, MUFAs 18.07% และตัวที่พบได้แก่ C18:2n6 =11.14%, 18:3n3 =1.99%, 20:3n6 =2.03%, 20:4n3= 0.5% และจากการศึกษาศักยภาพของฟองน้ำและสาหร่ายด้าน marine biotechnology (Rene H. Wijffels,2007) ผู้วิจัยกล่าวว่าฟองน้ำมีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีศักยภาพสามารถนำมาพัฒนาเป็นยาได้แม้ว่าจะมีปัญหาขาดแคลนตัวอย่าง แต่ก็มีงานวิจัยที่จะแก้ปัญหานี้ เช่น การทำ metagenomics, genome fragments. และจากการศึกษาของ Sree, 2001 ที่ทำการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในฟองน้ำทะเล 17 ชนิด จากชายฝั่ง Orissa coast พบกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและชนิดไม่อิ่มตัว และในตัวอย่างฟองน้ำ*Plakina monolopha*, *Callpsponge* sp. มีฤทธิ์ยับยั้งจุลชีพ พบกรดไขมัน oleic acid ถึง ร้อยละ 40 และจากการศึกษาของ Genin E.,et al (2008) ที่ทำการศึกษาชนิดของไขมันใน phospholipids จากฟองน้ำทะเล 22 species 19 genera 15 families ที่เก็บจากสถานที่ที่แตกต่างกันบริเวณ East Atlantic, North Atlantic และ South-West Pacific, Mediterranean sea, Red sea, Arabian –Persian Gulf พบไขมันในตัวอย่างฟองน้ำส่วนใหญ่เป็น Phosphatidyl ethanolamine (PE), Phosphatidylcholine (PC).

จากความสัมพันธ์ระหว่างฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำซึ่งเป็นความสัมพันธ์ที่ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์งานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดนี้ เช่น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เป็นต้น จาก

ประสิทธิภาพของฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำทางด้านเภสัชภัณฑ์ ทำให้เกิดสิ่งที่น่าสนใจในด้านการนำมาใช้ประโยชน์ทางการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์เพื่อลดต้นทุนการเพาะเลี้ยง กล่าวคือเมื่อสกัดสารจากฟองน้ำธรรมชาติ และจากแบคทีเรียที่อาศัยในฟองน้ำแล้วทราบถึงชนิดและปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน และแบคทีเรียใดที่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ดี โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่ม PUFA เช่น 20:5 n-3และ 22:6 n-3 เป็นต้น ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปเป็นประโยชน์ด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดอื่นเช่น โรติเฟอร์ หรือลูกหอยวัยอ่อน ซึ่งการนำไปใช้อาจเป็นการเลี้ยงด้วยแบคทีเรียชนิดเดียวหรือเลี้ยงเสริมกับอาหารชนิดอื่น

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษากรดไขมันในแบคทีเรียและการนำแบคทีเรียไปใช้ประโยชน์มาการเพาะเลี้ยง ซึ่งผลการศึกษามีความหลากหลายแตกต่างกันดังนี้

Brown *et al* 1996 ศึกษาองค์ประกอบคุณค่าทางอาหารของแบคทีเรียทะเล 7 ชนิด ได้แก่ *Aeromonas* sp. ACM 4771 *Derxia* sp. ACM 4771 *Derxia* sp. ACM 4772 *Derxia* sp. ACM 4773 *Methylophilus methylotrophus* NCIB 10515 *Pseudomonas testosteroni* ACM 4768 *Pseudomonas testosteroni* ACM 4769 *Pseudomonas* sp. ACM 4770 และยีสต์ 6 ชนิด *Debaryomyces hansenii* ' ACM 4784 *Dipodascus capitatus* ACM 4779 *Dipodascus* sp. ACM 4780 *Dipodascus* sp. 4778 *Dipodascus* sp. ACM 4781 *Dipodascus sp.* ACM 4782 เพื่อใช้เป็นอาหารของลูกหอยวัยอ่อน โดยเปรียบเทียบผลกับยีสต์ 2 ชนิดที่ใช้กันทั่วไปคือ *Candida utilis* ACM 4774 *Saccharomyces cerevisiae* ACM 4775 ผลการศึกษาพบว่าทั้งยีสต์และแบคทีเรียมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก(25-49 % น้ำหนักแห้ง) มีไขมันเป็นองค์ประกอบ 2.5-11 5 % น้ำหนักแห้ง) และทั้งยีสต์และแบคทีเรียไม่มี กรดไขมัน 20:5 n-3 และ 22:6 n3 ซึ่ง Brown ได้สรุปว่าสามารถนำยีสต์และแบคทีเรียมาใช้เป็นอาหารได้โดยนำมาเป็นส่วนผสมของอาหารที่ให้

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

Intriago and Jone, 1993 ทดลองเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยอาหารที่มีแบคทีเรีย *Flexibacter* 18 mg/l เป็นส่วนผสมร่วมกับครอเลสเตอรอล 100μg/l และ 500μg/l และเลี้ยงร่วมกับ 5 cells/μl of *Rhodomonas* (0.25, 0.5,2.5mg/l) เปรียบเทียบกับเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีแบคทีเรียFlexibacterเป็นส่วนผสม ได้แก่10 cells/μl แพลงก์ตอนพืช (0.50mg/l), 20 cells/μl แพลงก์ตอนพืช (1.0mg/l), 50 cells/μl แพลงก์ตอนพืช (2.50 mg/l), 100 cells/μl แพลงก์ตอนพืช (5.00mg/l) และเปรียบเทียบกับ

การเลี้ยงด้วยแบคทีเรีย Flexibacter strain Inp3 18 mg/l อย่างเดียว พบว่าสามารถเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยแบคทีเรีย Flexibacter strain Inp3 อย่างเดียวได้โดยที่ได้อัตราการรอดตายมีความแตกต่างกันเล็กน้อย แต่น้ำหนักแห้งและความยาวแตกต่างกัน อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรีย Flexibacter ร่วมกับแพลงก์ตอนพืช 50 cells/μl มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรีย Flexibacter ร่วมกับแพลงก์ตอนพืช 100 cells/μl 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 แต่ไม่ทุกชนิดที่สามารถผลิตกรดไขมันได้

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

Shirasakawa *et al*, 1995 ศึกษาเชื้อ *Shewanella putrefaciens, Marinomonas comunis, Enterobacter agglomerans, Pseudomonas fluorescens*, ในลำไส้ปลาทะเลพบว่าเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตกรดไขมันชนิด Furan-ring

Doumenq *et al,* 1999 ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม ได้แก่ชนิดแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ ระยะการเจริญเติบโตและการให้และไม่ให้ออกซิเจนต่อองค์ประกอบกรดไขมันของเชื้อแบคทีเรีย denitrifying marine , *Pseudomonas nautica* strain IP 617 โดยใช้ n-eicosane, Sodium acetate และ rich medium เป็นแหล่งคาร์บอน และควบคุมอุณหภูมิที่ 13°C,20°C และ 30°C ผลการศึกษาสามารถแบ่งตามลำดับความสำคัญต่อการผลิตกรดไขมันดังนี้ แหล่งคาร์บอน> อุณหภูมิ> ระยะการเจริญเติบโต≥ออกซิเจน> ความแตกต่างระหว่างแหล่งคาร์บอน n-eicosane (nC20) กับอีก 2 ชนิด คือมีทั้งกรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันแบบมีกิ่งก้าน (20:1 n-9, 20:0) และ10 methyl branched series) ส่วนผลของอุณหภูมิต่อ *Pseudomonas nautica* strain IP 617 พบว่ามีกระบวนการ acyl chain length thermoregulation ของกรดไขมัน monounsaturated ซึ่งเป็นกรด

ไขมันหลัก ซึ่งมีผลให้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นมีผลต่ออัตราส่วนของ $\sum$C18:1/$\sum$ 16:1 เพิ่มขึ้น ส่วนผลของระยะการเจริญเติบโตและการให้ออกซิเจนไม่มีความแตกต่างกันต่อการผลิตกรดไขมัน

ในการวิจัยนี้มุ่งเน้นที่ศึกษาชนิดของไขมัน และองค์ประกอบกรดไขมันที่อยู่ในฟองน้ำทะเลและภายในเซลล์ของแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล ซึ่งรูปแบบของไขมันและกรดไขมันที่ได้อาจใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการช่วยจำแนกชนิดชองเชื้อแบคทีเรีย และนำไปพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณมาก อันจะเป็นทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. 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
สารมาตรฐานเปรียบเทียบ (reference material)	Supelco, USA
Menhaden oil	
Solidphase extraction (SPE)	Agela Cleanert
แก๊สฮีเลียม	
แก๊สไฮโดรเจน	
แก๊สไนโตรเจน	
Air zreo	

เครื่องมือและอุปกรณ์

Gas Chromatograph	Hewlett Packard รุ่น HP 5890 series II
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	
Hot air oven	Yamato, Japan
คอลัมน์กรดไขมัน	Restex
กรวยแยกขนาด 2000 ml, 100 ml	
ขวดลดปริมาตร	
หลอดลดปริมาตร	

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างฟองน้ำทะเลในเขตพื้นจังหวัดสุราษฎร์ธานี ตั้งแต่เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2553 นำตัวอย่างแช่ในตู้แช่แข็ง เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

การเตรียมตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก Folch, 1959, Brigh and dyer,1957)

นำตัวอย่างฟองน้ำแช่แข็งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง คัดแยกสิ่งปนเปื้อนออก จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนัก หั่นตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปปั่นละเอียดด้วยเครื่อง Homogenizer ใช้ตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม:เมทธานอล (2:1) (สัดส่วน10:1 สารละลาย:ตัวอย่าง)

เทสารละลายส่วนใสกรองผ่านกระดาษกรอง No. 1 เติมสารละลาย 0.88% KCl (1/4 ส่วนของสิ่งสกัด) เขย่าตั้งให้แยกชั้น นำสารละลายส่วนล่างกรองผ่านโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ

ทำการลดประมาตรสารที่สกัดโดยชุดระเหย (rotary evapatory) ชั่งน้ำหนักหาปริมาณไขมันรวม (total fat)

วิธีการเตรียมเชื้อจากตัวอย่างฟองน้ำทะเล

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำทะเล

1. เก็บตัวอย่างฟองน้ำ โดยนักดำน้ำแบบ scuba diving โดยตัดส่วนของฟองน้ำเก็บใส่ถุงที่ปิดสนิทพร้อมติดกระดาษบันทึกข้อมูล
2. ทำการตัดเนื้อเยื่อฟองน้ำเพื่อชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 5 กรัมแล้วล้างฟองน้ำเพื่อกำจัดสิ่งเจือปนออกด้วยน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อ
3. ทำการบดเนื้อเยื่อฟองน้ำ โดยใส่น้ำทะเลที่ฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 5 มิลลิลิตร หรือในอัตราส่วน 1:1 บดจนละเอียด
4. ดูดส่วนที่เป็นน้ำที่ได้จากการบดมา 1 มิลลิลิตร นำมาเจือจางแบบอนุกรมให้ได้ 10-1, 10-2, 10-3 และ10-4 ในน้ำทะเลฆ่าเชื้อ
5. ดูดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10-3 และ 10-4 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell agar แล้วเกลี่ยกระจายบนพื้นหน้าอาหารให้ทั่ว (ทำ 2 ซ้ำ)
6. จากนั้นนำเชื้อไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 3-5 วัน ตรวจดูผล โดยนับจำนวนโคโลนีทั้ง 2 ซ้ำ
7. เลือกโคโลนีที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันในแต่ละจานเพาะเชื้อของแต่ละตัวอย่างฟองน้ำ
8. นำโคโลนีที่เลือกมาทำให้บริสุทธ์ (Purification) โดยเขี่ยเชื้อจากโคโลนีนั้นลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 1-2 วัน เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์เก็บรักษาสายพันธุ์ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium ที่มีปริมาณของวุ้น 0.3 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้

1. เมื่อได้เชื้อจากตอนที่ 1 แล้วนำมาเลี้ยงเพิ่มจำนวนโดยเขี่ยเชื้อที่ต้องการลงในอาหาร Modified Zobell medium ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24ชั่วโมง

2. ถ่ายเชื้อลงในอาหาร Modified Zobell medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง

4. ถ่ายเชื้อลงในอาหาร Modified Zobell medium ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่าง 1, 2, 3, 4, 5, 6,7 และ 8 วัน

ขั้นตอนการเก็บเซลล์

1. นำเชื้อที่เลี้ยงไปผ่านการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง High Speed Refrigerated Centrifuge ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

2. นำส่วนของเซลล์ล้างด้วยโซเดียมคลอไรด์ (NaCl 0.85%)

3.นำเซลล์ที่ได้ชั่งหาน้ำหนัก และนำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันต่อไป

อาหารที่ใช้

Modified Zobell medium มีองค์ประกอบดังนี้

Proteose peptone No.3 (DIFCO)	1 กรัม
Yeast extract (MERCK)	1 กรัม
Phytone (BBL)	0.5 กรัม
Sodium thiosulfate	0.2 กรัม
Sodium sulfite	0.05 กรัม
Ferric citrate	1 มิลลิลิตร
น้ำทะเล	900 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

ปรับ pH 7.5-7.6

การแยก class ไขมัน (เทคนิค Solid phase extraction; SPE(**http://www.cyberlipid.org/fraction**)

เตรียม Solid phase extraction (SPE column) บรรจุด้วยซิลิกาเจลขนาด 500 mg/6 ml นำตัวอย่างไขมันปริมาณ 1 ml. ใส่ในคอลัมน์จากนั้นชะด้วยคลอโรฟอร์ม10 ml, อะซิโตน:เมทานอล(9:1) 10 ml. และ เมทานอล 15 ml. เพื่อแยก class ของ neutral lipids, glycolipids และ phospholipids ตามลำดับ ทำการลดปริมาตร จากนั้นชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณเป็นร้อยละของไขมันในแต่ละส่วน/ปริมาณไขมันรวม

การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมัน

การศึกษาหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำครั้งนี้วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันจำนวน 18 ชนิด ได้แก่ C14:0, C16:0, C16:1n7, C16:2n4, C16:3n4, C18:0, C18:1n9, C18:1n7, C18:2n6, C18:3n4, C18:3n3, C18:4n3, C20:1n9, C20:4n6, C20:4n3, C20:5n3, C22:5n3, C22:6n3 ในการวิเคราะห์กรดไขมันในตัวอย่างจะเติม Heneicosanoic acid (C17:0) เป็น internal standard เตรียมโดยชั่งสารมา 0.01 กรัม ละลายด้วยเฮกเซน ปรับปริมาตรเป็น 100 มล เวลาใช้งานนำมา 1 มล เติมลงในทุกตัวอย่างในขั้นตอนการทำ methylation

การวิเคราะห์กรดไขมัน (ดัดแปลงจากวิธี Bligh&Dyer, 1959)

นำตัวอย่างไขมัน ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม:เมทธานอล 4 มล.

การทำ methylation

-นำตัวอย่างไขมัน 1 มล บรรจุในหลอดทดลองเติมสารละลาย 2% กรดซัลฟูริคในเมทธานอล 10 มล เติม internal standard 1 มล นำไปใส่ตู้อบ 80^{o}C เป็นเวลา 4 ชม. ตั้งทิ้งให้เย็น

-เติม 5 มล 5% โซเดียมคลอไรด์ เติมเฮกเซน 5 มล เขย่าตั้งให้แยกชั้น เก็บชั้นเฮกเซน สกัดซ้ำอีกครั้ง รวมส่วนของเฮกเซนไว้ด้วยกัน

-เติม 40 มล 2% โปตัสเซียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต เขย่าล้างตั้งให้แยกชั้น เก็บส่วนของเฮกเซน (ชั้นบน) กรองผ่านโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ นำสารที่ได้ไปลดปริมาตรด้วยชุดระเหยและแก๊สไนโตรเจน

-เติมเฮกเซน 1 มล ลงในสิ่งสกัด นำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟ

การแยกและการตรวจวัด

สำหรับการวิเคราะห์หาชนิดของกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำ ใช้การเปรียบเทียบเวลาที่พีคของสารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์เทียบกับเวลาของสารมาตรฐานซึ่งทราบแล้วว่าแต่ละพีคเป็นสารมาตรฐานชนิดใด ส่วนการหาปริมาณของกรดไขมัน ทำโดยใช้การเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างกับพื้นที่ทั้งหมดการคำนวณ %กรดไขมันตามสูตร

%กรดไขมัน = 100 x พื้นที่ใต้พีคของกรดไขมัน / A

A= พื้นที่ใต้พีคกรดไขมันทั้งหมด – (พื้นที่ใต้พีคเฮกเซน+พื้นที่ใต้พีค BHT + พื้นที่ใต้พีค internal standard)

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (Hewlett Packard 5890 series II)

คอลัมน์	Famewax
	ขนาด 30 m. x 0.25 mm. x 0.25 μm. (length x id x film thickness)

แก๊สเคลื่อนที่	แก๊สฮีเลียม อัตราการไหล 1.3 มล/นาที
อุณหภูมิเตาอบ	120 $^{\circ}$C 0.5 min
	120° C $\longrightarrow$ 195° C (5 min, 18° C/min)
	195° C $\longrightarrow$ 205° C (7 min, 3° C/min)
	205° C $\longrightarrow$ 220° C (10 min, 8° C/min)
อุณหภูมิช่องฉีดสาร	250° C
อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด	250° C
เครื่องตรวจวัด	ชนิด Flame Ionizertion Detecter (FID)
ชนิดการฉีด	split 10:1
ปริมาตรที่ฉีด	1 μl

การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์กรดไขมัน

ทำการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดไขมันของสารมาตรฐานเปรียบเทียบ (Reference material) PUFA No.3 จาก Menhaden oil ตามขบวนการที่วิเคราะห์สารตัวอย่างได้ผล แสดงดัง ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Quality control data of fatty acid from Menhaden oil (n=3)

Fatty acid	Area Percent (%) reference material	Area Percent (%) from this study	% recovery
Myristic, C14:0	8.2	7.71	94.02
Palmitic, C16:0	15.4	15.53	100.84
Stearic, C18:0	2.8	2.96	105.71
Oleic, C18:1	6.8	7.19	105.73
Stearidonic, C18:4n3	3.8	3.71	97.63
EPA, C20:5n3	15.9	15.7	98.74
7,10,13,16,19-docosapentaenoic, C22:5n3	2.3	2.21	96.09
DHA, C22:6n3	10.7	10.87	101.59

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณหมู่เกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตั้งแต่เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2553 คิดเป็นตัวอย่างฟองน้ำทะเลทั้งหมด 6 ตัวอย่าง จำแนกออกได้เป็น 3 order ได้แก่ order Hadromerida จำนวน 2 ตัวอย่าง order Dictyocerafida 3 ตัวอย่าง order Haplosclerida 1 ตัวอย่าง รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายชื่อฟองน้ำและจุดเก็บตัวอย่าง

Code	Order	Scientific name	Date	Collection site	Depth (m)
MUS-A-01	Hadromerida	*Spheciospongia congenera* (Ridley, 1884)	31 มค 53	เกาะมัดสุ่มทิศเหนือ หมู่เกาะสมุย	1.5-3
MUS-B-10	Dictyoceratida	*Ircinia mutans* (Wilson, 1925)	1 กพ 53	เกาะมัดสุ่มทิศตะวันตกเฉียงเหนือ หน้าแพเลี้ยงมุกเดิม หมู่เกาะสมุย	1.5-8.2
MUS-B-11	Dictyoceratida	*Ircinia mutans* (Wilson, 1925)	1 กพ 53	เกาะมัดสุ่มทิศตะวันตกเฉียงเหนือ หน้าแพเลี้ยงมุกเดิม หมู่เกาะสมุย	1.5-8.2
TAN-A-01	Haplosclerida	*Haliclona (Gellius) cymaeformis* Esper, 1794	29 มค 53	เกาะแตนทิศตะวันตก หมู่เกาะสมุย	1.5-2
TAN-D-01	Hadromerida	*Cervicornia cuspidifera* (Lamarck, 1815)	30 มค 53	อ่าวออก เกาะแตนทิศตะวันออก หมู่เกาะสมุย	1.5-2
TAN-E-03	Dictyoceratida	*Cacospongia*sp.	2 กพ 53	อ่าวหัวไทร เกาะแตนทิศเหนือ หมู่เกาะสมุย	8-13

ปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล

จากการหาปริมาณไขมัน จากตัวอย่างฟองน้ำทะเลจำนวน 6 ตัวอย่าง พบปริมาณไขมันโดยรวม (Crude lipids) มีค่าอยู่ในช่วง 0.21-1.01 % น้ำหนักสด ตัวอย่างฟองน้ำ order Dictyoceratida พบปริมาณไขมันที่สูงในทุกพื้นที่ โดยปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่าง *Cacospongia* sp. (TAN-E-03) ที่เก็บจากอ่าวหัวไทร เกาะแตนทิศเหนือ หมู่เกาะสมุย ความลึก 8-13 เมตร ผล

การศึกษาพบว่าปริมาณไขมันขึ้นอยู่กับชนิดตัวอย่าง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ผ่านมาที่พบปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกสูงสุดในตัวอย่างฟองน้ำ *Hyrtics erecta* order Dictyoceratida เช่นกัน (ร้อยละ 1.76) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 3

จากการแยกชนิดของไขมัน (lipid class) ในตัวอย่างฟองน้ำทะเลด้วย SPE column ออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ neutral lipids, glycolipids และ phospholipids พบว่า neutral lipids เป็นไขมันหลักที่พบในตัวอย่างฟองน้ำทะเล ในปริมาณร้อยละ 39.78-69.10 รองลงมาเป็น phospholipids ร้อยละ 7.23-31.11 และglycolipids ร้อยละ 7.91-15.77 ของ ปริมาณไขมันทั้งหมด รายละเอียดแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Barnathan et al, 2003 ที่พบว่า neutral lipids เป็นกลุ่มไขมันหลักที่พบในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Cinachyrella* ที่เก็บจากทะเลแดงประเทศ Saudi Arabian และจากการศึกษาของ Denis et al. ในปี 2009 ทำการศึกษาชนิดของไขมันและกรดไขมันจากฟองน้ำ *Polymastia penicillus* ที่เก็บจากตะวันออกเฉียงเหนือแอตแลนติกประเทศฝรั่งเศส พบปริมาณไขมันทั้งหมดร้อยละ 5.3 น้ำหนักแห้ง และพบ phospholipids ร้อยละ 29.6 ของปริมาณไขมันทั้งหมด

ตารางที่ 3 ปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล

Scientific name	นน. สด (g)	% crude lipid	Neutral lipids	Glycolipids	Phospholipids
Spheciospongia congenera (Ridley, 1884) (MUS-A-01)	200	0.21	69.10	7.91	20.60
Ircinia mutans (Wilson, 1925) (MUS-B-10)	250	0.90	53.24	15.02	25.94
Ircinia mutans (Wilson, 1925 (MUS-B-11)	200	0.63	59.82	13.36	18.09
Haliclona (Gellius) cymaeformis Esper, 1794 (TAN-A-01)	200	0.34	39.78	12.44	31.11
Cervicornia cuspidifera (Lamarck, 1815) (TAN-D-01)	200	0.58	73.16	15.77	7.23
Cacospongia sp. (TAN-E-03)	200	1.01	68.78	15.77	14.44

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำทะเล

จากการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่าง neutral lipids, glycolipids และ phospholipids ของฟองน้ำทะเล พบชนิดกรดไขมันสูงสุดใน neutral lipid จำนวน 12 ชนิด รองลงมาเป็นไขมันกลุ่ม phospholipids โดยคุณลักษณะกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว SFAs: palmitic acid; C16:0 ในไขมันกลุ่ม neutral lipids (6.22-38.97%TFA), phospholipids 7.21-20.02%TFA, glycolipids 10.35-30.73 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Denis et al. ในปี 2009 ที่ทำการศึกษาชนิดกรดไขมันจากฟองน้ำ *Polymastia penicillus* พบ palmitic acid; C16:0 (14.3%TFA) เป็นองค์ประกอบหลักของกรดไขมันใน phospholipids เช่นกัน ส่วนกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) พบกรดไขมัน C20:4n6,C18:2n6 ในปริมาณที่สูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่น องค์ประกอบหลักของกรดไขมันมีความแตกต่างกันตามชนิดของฟองน้ำ รายละเอียดแสดงในตารางที่ 4-6

Order Hadromerida

ฟองน้ำ *Spheciospongia congenera* (Mus-A-01) และ *Cervicornia cuspidifera* (TAN-D-01) คุณลักษณะกรดไขมันเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) พบกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ร้อยละ 9.35-46.98, กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ร้อยละ nd-7.54 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) ร้อยละ nd-52.57 ของปริมาณกรดไขมันโดยรวมและพบองค์ประกอบหลักของกรดไขมันเป็น C16:0, C18:0, C18:1n9, C20:4n6 C18:2n6 และตรวจพบกรดไขมัน EPA สูงสุดในไขมันกลุ่ม phospholipids ร้อยละ 5.39 ของปริมาณกรดไขมันโดยรวม เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมาในตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก มีคุณลักษณะกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน โดยพบกรดไขมันชนิดอิ่มตัวร้อยละ 8.78-21.09 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวร้อยละ 3.33-14.22 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนร้อยละ 6.69- 32.53 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด พบองค์ประกอบหลักของกรดไขมันเป็น C16:0, C22:6n3, C16:1n7 และ C20:5n3 และกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน Eicosapentaenoic acid (C20:5n3; EPA) ปริมาณสูงสุด ร้อยละ4.25 และ11.85 ในชั้น phospholipids และชั้น neutral lipid ตามลำดับ ใน ตัวอย่างฟองน้ำ *Spirastrella* sp และ Docosahexaenoic acid (C22:6n3; DHA) พบปริมาณสูงสุดร้อยละ3.44 และ 24.35 ในชั้น phospholipids และชั้น neutral lipid ตามลำดับ ในตัวอย่างฟองน้ำ *Spirastrella solida*

Order Dictyoceratida

ฟองน้ำ *Ircinia mutans* (MUS-B-10, MUS-B-11) และ *Cacospongia* sp. (TAN-E-03) พบคุณลักษณะกรดไขมันเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) พบกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ร้อยละ 10.39-21.83, กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ร้อยละ nd-8.99 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) ร้อยละ nd-13.28 ของปริมาณกรดไขมันโดยรวมและพบองค์ประกอบหลักของ

กรดไขมันเป็น C16:0, C18:0, C16:2n4 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมาในตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวเช่นกัน โดยพบกรดไขมันชนิดอิ่มตัวร้อยละ 8.27-35.9 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวร้อยละ 4.49-9.21 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนร้อยละ 0.85- 13.01 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด ปริมาณกรดไขมันสูงสุดพบในตัวอย่าง *Dysidea arenaria* และพบองค์ประกอบหลักของกรดไขมันเป็น C16:0,C22:6n3 และC20:5n3 โดยกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน Eicosapentaenoic acid (C20:5n3; EPA) และDocosahexaenoic acid (C22:6n3; DHA) พบปริมาณสูงสุดร้อยละ 1.65, 3.30 และร้อยละ 11.36, ร้อยละ 6.06 ในไขมัน phospholipids และ neutral lipid ตามลำดับ ในตัวอย่างฟองน้ำ *Dysidea arenaria* แต่การศึกษาในครั้งนี้พบกรดไขมัน EPA, DHA เพียงร้อยละ 1.03-1.50, 1.59-2.34

Order Haplosclerida

ฟองน้ำ *Haliclona (Gellius) cymaeformis* (TAN-A-01) พบคุณลักษณะกรดไขมันเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) พบกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ร้อยละ 13.80-40.94, กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ร้อยละ 9.39-13.15 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) ร้อยละ 4.14-13.86 ของปริมาณกรดไขมันโดยรวมและพบองค์ประกอบหลักของกรดไขมันเป็น C16:0, C16:1n7, C20:4n6 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมาในตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก พบคุณลักษณะกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัวเช่นกัน โดยพบกรดไขมันชนิดอิ่มตัวร้อยละ 8.43-30.93 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว(MUFAs) ร้อยละ 4.45-22.84 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนร้อยละ 1.58- 25.61 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด พบองค์ประกอบหลักของกรดไขมันเป็น C16:0, C22:6n3 และ C18:1n9 และกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำวัยอ่อน Docosahexaenoic acid (C22:6n3; DHA) ปริมาณสูงสุดร้อยละ 11.18 และ 15.75 ในไขมันชั้น phospholipids และ neutral lipid ตามลำดับ ในตัวอย่างฟองน้ำ *Haliclona (Rhizoniera)* sp. และพบกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (C20:5n3; EPA) สูงสุด ในไขมันชั้น neutral lipids ของฟองน้ำ *Chalinula* sp. ปริมาณร้อยละ 3.47 และ และร้อยละ 3.26 ในชั้นไขมันชั้น phospholipid ของตัว อย่างตัวอย่างฟองน้ำ *Callyspongia* (*Euplacella*) *joubini* แต่การศึกษาในครั้งนี้พบกรดไขมัน EPA เพียงร้อยละ 1.41-1.84 และตรวจไม่พบกรดไขมัน DHA

ตารางที่ 4 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในชั้นไขมันตัวอย่างฟองน้ำทะเล

	Spheciospongia congenera (Mus-A-01)			*Cervicornia cuspidifera* (TAN-D-01)		
สาร	F1	F2	F3	F1	F2	F3
C14:0	1.89±0.09	nd	nd	2.97±0.29	6.35±0.45	nd
C16:0	18.25±2.30	29.40±0.52	9.35±0.29	38.97±0.23	23.45±0.45	20.02±0.74
C16:1n7	2.72±0.30	nd	nd	0.68±0.08	nd	nd
C16:2n4	nd	nd	nd	0.95±0.25	nd	nd
C16:3n4	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C18:0	6.22±0.96	nd	nd	5.04±0.17	nd	7.32±0.18
C18:1n9	2.06±0.29	nd	nd	9.12±0.32	7.63±0.02	nd
C18:1n7	2.75±0.26	nd	nd	0.24±0.05	nd	nd
C18:2n6	nd	nd	nd	15.29±0.76	9.55±0.81	5.34±1.05
C18:3n4	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	0.28±0.01	nd	nd
C18:4n3	3.04±0.65	nd	nd	1.14±0.11	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	18.01±2.43	nd	52.57±0.76	0.41±0.00	nd	4.99±0.07
C20:4n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	2.51±0.86	nd	nd	1.44±0.05	nd	5.39±0.36
C22:5n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	2.60±0.37	nd	nd
SFAs	26.36	29.40	9.35	46.98	29.80	27.34
MUFAs	7.54	nd	nd	10.04	7.63	nd
PUFAs	23.56	nd	52.57	21.83	9.55	15.72

F1= neutral lipid F2=glycolipid F3=phospholipids

ตารางที่ 5 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในชั้นไขมันตัวอย่างฟองน้ำทะเล

	Haliclona (Gellius) cymaeformis (TAN-A-01)			*Ircinia mutans* (Mus-B-10)		
สาร	F1	F2	F3	F1	F2	F3
C14:0	3.95±0.21	10.21±0.37	nd	1.85±0.06	3.51±0.28	2.06 ±0.37
C16:0	18.88±0.77	30.73±1.02	13.80±1.23	10.59±0.85	12.26±1.37	8.85±1.66
C16:1n7	7.51±0.08	4.96±0.23	9.04±0.29	1.29±0.16	nd	0.42±0.07
C16:2n4	5.83±0.44	nd	nd	5.23±0.34	nd	nd
C16:3n4	nd	nd	nd	0.82±0.06	nd	nd
C18:0	2.58±0.31	nd	nd	4.39±0.36	6.05±0.17	8.34±0.98
C18:1n9	2.21±0.17	4.43±0.10	nd	0.61±0.05	nd	nd
C18:1n7	2.51±0.25	nd	4.11±0.17	2.86±0.21	nd	2.25±0.25
C18:2n6	0.86±0.19	nd	nd	nd	nd	nd
C18:3n4	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	1.84±0.15	nd	nd	1.06±0.04	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	3.91±0.37	2.30±0.16	4.54±0.28	1.20±0.25	nd	0.97±0.01
C20:4n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	1.41±0.06	1.84±0.10	nd	1.50±0.08	nd	1.15±0.18
C22:5n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	2.34±0.06	nd	1.76±0.49
SFAs	25.40	40.94	13.80	16.83	21.83	19.25
MUFAs	9.71	9.39	13.15	4.76	nd	2.67
PUFAs	13.86	4.14	4.54	12.15	nd	3.88

F1= neutral lipid F2=glycolipid F3=phospholipids

ตารางที่ 6 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในชั้นไขมันของฟองน้ำทะเล

	*Cacospongia*sp.(TAN-E-03)			*Ircinia mutans* (Mus-B-11)		
สาร	F1	F2	F3	F1	F2	F3
C14:0	3.19±0.35	nd	3.74±0.19	2.08±0.30	3.63±0.00	3.59±0.95
C16:0	6.22±0.04	13.27±0.51	7.96±0.23	12.04±0.43	10.35±0.18	7.21±0.02
C16:1n7	2.58±0.00	nd	nd	1.82±0.36	nd	nd
C16:2n4	5.17±0.12	nd	nd	8.32±1.63	nd	nd
C16:3n4	nd	nd	nd	1.31±0.20	nd	nd
C18:0	0.98±0.07	nd	4.56±0.11	6.36±0.72	6.93±0.17	6.24±0.22
C18:1n9	nd	nd	nd	0.52±0.06		nd
C18:1n7	2.50±0.21	nd	8.99±0.09	2.87±0.34	2.14±0.10	nd
C18:2n6	1.83±0.22	nd	nd	nd	nd	nd
C18:3n4	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	0.97±0.21	nd	nd	0.77±0.40	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	0.83±0.03	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	1.03±0.06	nd	1.59±0.38
C22:5n3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	1.03±0.28	nd	nd
SFAs	10.39	13.27	16.25	20.48	20.92	17.04
MUFAs	5.08	nd	8.99	5.21	2.14	nd
PUFAs	7.97	nd	nd	13.28	nd	1.59

F1= neutral lipids F2=glycolipids F3=phospholipids

ปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย

จากการศึกษาในครั้งนี้หาปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย 17 ตัวอย่าง (จากตัวอย่างฟองน้ำ 4 ตัวอย่าง) พบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ 0.61-4.57 น้ำหนักสด โดยปริมาณสูงสุดพบในเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล *Cervicornia cuspidifera* (TAN-D-01) order Hadromerida ปริมาณต่ำสุดพบในตัวอย่างเชื้อแบค TAN-A-01-5 ที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Haliclona (Gellius) cymaeformis* Esper ใน order Haplosclerida เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในครั้งก่อนจากตัวอย่างฟองน้ำทะเล ที่เก็บจากจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด พบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ0.37- 10.12 น้ำหนักสด โดยค่าสูงสุดพบในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Coelocarteria singaporensis* ใน order Poecilosclerida และปริมาณต่ำสุดพบในตัวอย่างเชื้อ ที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Halichondria* sp. ใน order Halichondrida รายละเอียดดังตารางที่ 7

จากการศึกษาปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย Mus-A-01-7 คัดแยกจากฟองน้ำ *Spheciospongia congenera* (Mus-A-01) ที่เพาะเลี้ยงตั้งแต่ 1-8 วัน ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียล พบปริมาณไขมันมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.97-1.58 น้ำหนักสด โดยปริมาณไขมันจะเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 3-4 วัน (ร้อยละ1.57-1.58 น้ำหนักสด) จากนั้นปริมาณจะลดลงในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง รายละเอียดดังตารางที่ 8

ตารางที่ 7 ปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำทะเล

Code	นน. สด (g)	% crude fat	Code	นน. สด (g)	% crude fat
TAN-D-01-1	1.0607	1.14	Mus-A-01-1	4.7436	1.01
TAN-D-01-2	1.5765	2.35	Mus-A-01-4	2.2512	1.23
TAN-D-01-6	2.2787	1.96	Mus-A-01-7	3.2348	0.84
TAN-D-01-8	1.8403	4.57	Mus-A-01-12	3.9375	1.09
TAN-D-01-9	2.4725	1.03	TAN-A-01-2	2.2551	0.72
TAN-D-01-10	2.3796	1.57	TAN-A-01-3	2.4120	2.02
TAN-D-01-11	2.2910	3.93	TAN-A-01-5	4.7891	0.61
TAN-D-01-12	2.2789	1.63	TAN-A-01-6	1.8961	0.86
Mus-B-11-2y	4.0579	1.53			

ตารางที่ 8 ปริมาณไขมันในเชื้อแบคทีเรีย Mus-A-01-7 ที่เพาะเลี้ยงในเวลาที่แตกต่างกัน

ตัวอย่าง	ระยะเวลา	ปริมาณเชื้อ (กรัม)	ปริมาณไขมัน(%)
Mus-A-01-7	1 วัน	3.5786	0.99
Mus-A-01-7	2 วัน	3.7465	1.20
Mus-A-01-7	3 วัน	3.7799	1.58
Mus-A-01-7	4 วัน	3.3952	1.57
Mus-A-01-7	5 วัน	3.7350	1.29
Mus-A-01-7	6วัน	3.4329	1.30
Mus-A-01-7	7 วัน	3.5131	1.22
Mus-A-01-7	8 วัน	3.4515	0.97

ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย

จากตัวอย่างฟองน้ำทะเล 4 ตัวอย่าง นำมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 17 ตัวอย่าง พบคุณลักษณะของกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ในปริมาณร้อยละ 0.33-91.25 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด โดยพบองค์ประกอบหลักของกรดไขมันเป็นC16:1n7, C18:1n7, C16:2n4 และ C16:0 และพบกรดไขมัน C18:1n7 ในปริมาณที่สูงที่สุด (ร้อยละ 91.25) รายละเอียดดังตารางที่ 9-12 ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาที่พบคุณลักษณะของกรดไขมันจากเชื้อแบคที่เรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) และตรวจพบกรดไขมัน C18:2n6ในปริมาณที่สูงสุด

จากการศึกษาถึงปัจจัยเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Mus-A-01-7 เป็นเวลา 1-8 วัน ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียล ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ผลการศึกษาพบ C14:0, C16:0, C16:1n7 และ C16:2n4 เป็นองค์ประกอบหลักกรดไขมัน และมีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs: 1.19-2.94%TFA) โดยปริมาณของกรดไขมันที่ตรวจพบทั้ง 8 วันมีแนวโน้มที่ไม่แตกต่างกัน และไม่พบกรดไขมันที่จำเป็นในกลุ่มโอเมก้า 3 ดังนั้นปัจจัยเรื่องเวลาอาจไม่มีผลต่อองค์ประกอบกรดไขมัน รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 13-14 ซึ่งจากการศึกษาของ Kock และ Botha ในปี 1998 พบว่าเชื้อราหลายชนิดมีการสะสมไขมันระหว่างระยะ stationary และผลของช่วงอายุในการเจริญเติบโตต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในเชื้อราที่เจริญที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเซลล์มีอายุมากขึ้นสัดส่วนของ C18:2 และ C18:3 ในระยะ stationary phase ต่ำกว่าในระยะ early lag phase

ในขณะที่สัดส่วนของ C16:0 คงที่ในระยะ early lag phase จนถึงระยะ lag phase แล้วลดลงเมื่อเข้าสู่ stationary phase ซึ่งผู้วิจัยกล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของกรดไขมันอาจเป็นผลเนื่องมาจากเซลล์มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง ทำให้การสร้างไขมันแบบมีขั้วซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์เมมเบรนลดลงด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 9 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย

สาร	**TAN-D-01-1**	**TAN-D-01-2**	**TAN-D-01-6**	**TAN-D-01-8**
C14:0	1.67±0.11	0.25±0.01	0.14±0.02	nd
C16:0	8.92±0.05	12.93±0.05	1.13±0.10	3.11±0.07
C16:1n7	37.71±1.63	0.43±0.00	nd	0.58±0.01
C16:2n4	nd	nd	nd	nd
C16:3n4	nd	nd	nd	nd
C18:0	nd	nd	nd	nd
C18:1n9	0.38±0.08	1.38±0.04	4.37±0.07	0.62±0.04
C18:1n7	39.77±2.42	78.49±0.50	80.31±0.35	77.22±0.28
C18:2n6	nd	nd	nd	nd
C18:3n4	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	0.75±0.05	0.43±0.13	0.43±0.05	nd
C20:1n9	nd	nd	0.80±0.02	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	0.46±0.38	nd	nd	nd
SFAs	10.59	13.18	1.27	3.11
MUFAs	77.86	80.31	85.48	78.41
PUFAs	1.20	0.43	0.43	0.00

ตารางที่ 10 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย

สาร	TAN-D-01-9	TAN-D-01-10	TAN-D-01-11	TAN-D-01-12
C14:0	0.27±0.03	0.32±0.05	nd	nd
C16:0	2.69±0.02	3.21±0.02	9.73±0.14	1.50±0.04
C16:1n7	5.45±0.16	5.63±0.38	0.26±0.02	0.33±0.01
C16:2n4	nd	nd	nd	nd
C16:3n4	nd	nd	0.22±0.00	nd
C18:0	nd	nd	nd	nd
C18:1n9	0.96±1.25	1.91±0.12	2.21±0.05	nd
C18:1n7	84.84±4.81	80.21±2.27	81.00±0.41	nd
C18:2n6	nd	nd	nd	0.39±0.06
C18:3n4	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	0.38±0.31	0.49±0.33	0.39±0.02	0.58±0.19
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	nd
SFAs	2.96	3.53	9.73	1.50
MUFAs	91.25	87.75	83.47	0.33
PUFAs	0.38	0.49	0.39	0.97

ตารางที่ 11 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย

สาร	**Mus-A-01-1**	**Mus-A-01-4**	**Mus-A-01-7**	**Mus-A-01-12**
C14:0	1.85±0.21	2.53±0.26	2.13±0.05	3.94±0.35
C16:0	16.99±0.36	16.01±0.12	4.01±0.86	19.17±0.07
C16:1n7	46.29±0.72	nd	1.75±0.11	44.35±1.02
C16:2n4	0.82±0.05	3.92±0.24	2.10±0.07	0.62±0.01
C16:3n4	0.72±0.00	nd	nd	0.58±0.02
C18:0	1.26±0.04	3.37±0.38	0.68±0.04	0.68±0.01
C18:1n9	nd	nd	nd	nd
C18:1n7	25.96±0.99	nd	nd	22.26±1.14
C18:2n6	nd	nd	nd	nd
C18:3n4	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	0.28±0.01	1.57±0.29	0.64±0.15	0.36±0.02
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	1.72±0.08	nd
C22:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	nd
SFAs	20.09	21.91	6.82	23.79
MUFAs	72.25	0	1.75	44.35
PUFAs	1.82	5.49	2.36	1.57

ตารางที่ 12 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรีย

สาร	TAN-A-01-2	TAN-A-01-3	TAN-A-01-5	TAN-A-01-6	Mus -B-11-2y
C14:0	nd	nd	2.02±0.14	nd	4.29±0.13
C16:0	2.66±0.15	8.92±0.12	14.05±0.24	4.68±0.20	21.87±0.12
C16:1n7		0.34±0.01	49.72±0.65	nd	39.35±0.06
C16:2n4	2.51±0.09	1.41±0.15	1.24±0.15	3.21±0.55	nd
C16:3n4	nd	nd	0.47±0.00	nd	0.41±0.02
C18:0	3.83±0.25	1.92±0.01	0.73±0.01	3.51±0.23	1.53±0.03
C18:1n9	nd	nd	nd	nd	nd
C18:1n7	87.25±0.34	81.52±0.05	27.98±0.86	79.08±1.03	28.92±0.18
C18:2n6	nd	nd	nd	nd	nd
C18:3n4	nd	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	0.77±0.01	0.48±0.06	0.41±0.01	0.77±0.35	0.22±0.00
C20:1n9	nd	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd	0.21±0.01
C22:5n3	nd	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	nd	nd
SFAs	6.49	10.85	16.81	8.19	27.69
MUFAs	87.25	81.87	77.69	79.08	68.27
PUFAs	3.29	1.89	0.88	3.98	0.83

ตารางที่ 13 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในเวลาที่แตกต่างกัน

สาร	**Mus-A-01-7- 1 วัน**	**Mus-A-01-7- 2 วัน**	**Mus-A-01-7-3 วัน**	**Mus-A-01-7-4 วัน**
C14:0	1.33±0.00	0.93±0.11	0.75±0.03	0.74±0.01
C16:0	1.61±0.14	0.73±0.05	0.49±0.02	0.53±0.00
C16:1n7	0.47±0.02	0.72±0.01	0.60±0.00	0.96±0.05
C16:2n4	2.53±0.10	1.86±0.05	1.39±0.04	0.99±0.08
C16:3n4	nd	nd	nd	nd
C18:0	nd	nd	nd	nd
C18:1n9	nd	nd	nd	nd
C18:1n7	nd	nd	nd	nd
C18:2n6	nd	nd	nd	nd
C18:3n4	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	nd	nd	0.19±0.01	0.22±0.01
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	nd
SFAs	**2.94**	**1.66**	**1.24**	**1.27**
MUFAs	**0.47**	**0.72**	**0.60**	**0.96**
PUFAs	**2.53**	**1.86**	**1.58**	**1.21**

ตารางที่ 14 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในเวลาที่แตกต่างกัน

สาร	Mus-A-01-7-5 วัน	Mus-A-01-7-6 วัน	Mus-A-01-7-7 วัน	Mus-A-01-7-8 วัน
C14:0	1.42±0.01	1.27±0.04	1.00±0.02	0.62±0.01
C16:0	0.50±0.02	0.49±0.02	0.59±0.03	0.57±0.01
C16:1n7	1.42±0.01	1.24±0.05	0.54±0.00	0.40±0.00
C16:2n4	0.85±0.01	0.56±0.02	0.78±0.02	0.82±0.01
C16:3n4	nd	nd	nd	nd
C18:0	nd	nd	nd	nd
C18:1n9	nd	nd	nd	nd
C18:1n7	nd	nd	nd	nd
C18:2n6	nd	nd	nd	nd
C18:3n4	nd	nd	nd	nd
C18:3n3	nd	nd	nd	nd
C18:4n3	nd	nd	nd	nd
C20:1n9	nd	nd	nd	nd
C20:4n6	nd	nd	nd	nd
C20:4n3	nd	nd	nd	nd
C20:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:5n3	nd	nd	nd	nd
C22:6n3	nd	nd	nd	nd
SFAs	1.92	1.76	1.60	1.19
MUFAs	1.42	1.24	0.54	0.40
PUFAs	0.85	0.56	0.78	0.82

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าชนิดและปริมาณกรดไขมันมีความแตกต่างกับตัวอย่างที่ศึกษามาก่อน โดยพบกรดไขมันชนิดจำเป็นกลุ่มโอเมก้า-3 (EPA, DHA) ต่ำกว่าตัวอย่างฟองน้ำทะเลที่เก็บจากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rod' kina et al. ในปี 2003 ที่พบกรดไขมันจำนวน 63 ชนิดในฟองน้ำทะเล Halichondria panacea จากประเทศญี่ปุ่น ซึ่งกรดไขมันที่พบส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บ่อนอะตอม 14-22 ซึ่งองค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในครั้งนี้มีความแตกต่างจากที่เคยทำมา ซึ่งผู้วิจัยกล่าวว่าสาเหตุที่ค่าแตกต่างกันเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล ทำให้องค์ประกอบสิ่งมีชีวิตที่ฟองน้ำบริโภคเข้าไปมีความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ De Rosa et al., (2006) ที่หาชนิดและปริมาณ sterols และองค์ประกอบกรดไขมันในฟองน้ำทะเล Geodia cydonium และฟองน้ำ *Tedania* sp. จาก Adriatic ที่เก็บจากสถานที่และเวลาเดียวกัน ผลการศึกษาพบกรดไขมันจำนวน 40 ชนิด และจากการศึกษาของ Nechev et al., 2004 ที่ทำการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันของฟองน้ำ Hymeniacidon sanguinea ที่เก็บจากเกาะ Canary พบกรดไขมันถึง 73 ชนิด ซึ่งในสามชนิดนั้นเป็นกรดไขมันชนิดใหม่ และผู้วิจัยรายงานว่าองค์ประกอบกรดไขมันมีความสำคัญต่อเซลล์เมมเบรน และขึ้นอยู่กับสภาวะของระบบนิเวศน์ อันได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ มลพิษต่าง ๆ เป็นต้น ถ้าสิ่งแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงมักจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบกรดไขมันด้วย และพบว่าองค์ประกอบหลักกรดไขมันคือ palmitic acid; C16:0 และจากการศึกษาของ Litchfield และคณะ ในปี 1976 ที่ทำการศึกษาองค์ประกอบกรดไขมันในฟองน้ำจาก class Demospongiae จำนวน 20 ชนิด พบว่าคุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวชนิดเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid; PUFAs) แต่จากการศึกษาของ Schreiber และคณะในปี 2006 ที่ศึกษากรดไขมันในฟองน้ำ calcareous จำนวน 29 ตัวอย่าง พบว่ากรดไขมันส่วนใหญ่เป็นชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัวชนิดเชิงเดี่ยว ชนิดC14-C20 และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวชนิดเชิงซ้อนชนิด C22

มีการศึกษาวิจัยในเรื่องกรดไขมันในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น สิ่งมีชีวิตที่นำมาศึกษามีทั้งพืช สัตว์และจุลินทรีย์ โดยพบองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างที่ศึกษาโดยส่วนมากมีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ C16-18 ตัว กรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0) และ linolenic acid (C18:3) เป็นต้น (วิเชษฐ์, 2539) ในการหาปริมาณกรดไขมันที่พบในจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นั้นจะพบกรดไขมันต่างชนิดมากน้อยแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ โดยมีรายงานว่าจุลินทรีย์พวกโปรคารีโอต ได้แก่ แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรีย และพวกยูคารีโอต ได้แก่ รา โปรโตซัว และสาหร่าย จะมีองค์ประกอบของกรดไขมันต่างกัน โดยแบคทีเรียต่าง ๆ นั้นจะพบว่ามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว oleic acid (C18:1) อยู่เป็นจำนวนมาก และในแบคทีเรียบางชนิดจะพบ EPA ประกอบอยู่ด้วย (Dennis, 1993)

ในการศึกษาครั้งนี้พบกรดไขมันpalmitic acid(C16:0), palmitoleic acid (C16:1n7) acid (C18:1n7) เป็นองค์ประกอบหลักของกรดไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ De Rosa et al., (2000) ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำ Dysidea fragilis บริเวณทะเลดำ ซึ่งตรวจคุณลักษณะเป็นเชื้อ *Pseudomonas/Alteromonas* พบองค์ประกอบกรดไขมันเป็น C14:1 (40.3%

ชั้น Neutral lipid, 37.8% ชั้น phospholipids) และ C16:0 (18.4%ชั้น Neutral lipid, 10.7%ชั้น phospholipids) ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด และจากการศึกษาของ Zheng และคณะในปี 2005 ที่ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียทะเลจากฟองน้ำ *Hymeniacidon perleve* จากเกาะ Nanji ชายฝั่งทะเลประเทศจีน เป็นเชื้อ *Pseudomonas* sp. พบกรดไขมันชนิดเลขคู่ร้อยละ 81.01 และเลขคี่ร้อยละ 17.49 เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวร้อยละ 53.90 และชนิดไม่อิ่มตัวร้อยละ44.60โดยมีองค์ประกอบหลักคือ C16:1(36.64%), C16:0(27.36%),C18:1, C18:0, C15:0, C14:0 โดยเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MA+G (marine agar+ glucose 1 g.) เป็นเวลา 6 วัน ใน bioreactor ที่ pH 7.2-7.4 ซึ่งผลที่ได้เหมือนกับที่เคยศึกษาในเชื้อ *Pseudomonas atlantica* และ *Pseudomonas putida* โดยผู้วิจัยกล่าวว่าองค์ประกอบกรดไขมันในแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนแปลงได้เมื่อเลี้ยงในสภาะที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเลพบเฉพาะกรดไขมัน C18:1n7 ในปริมาณที่สูง ไม่พบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-6 (AA; C18:2n6) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาอาจเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันระหว่างชายฝั่งทะเลอ่าวไทยด้านตะวันออกและชายฝั่งทะเลอ่าวไทยด้านตะวันตก จึงทำให้มีผลต่อรูปแบบและปริมาณของกรดไขมันในฟองน้ำและเชื้อแบคทีเรีย การศึกษาถึงระบบนิเวศน์ของบริเวณทั้งสองแห่ง อันได้แก่ ชนิดและปริมาณของแพลงก์ตอน คุณภาพน้ำ ความขุ่น ความเค็ม อุณหภูมิของน้ำ เป็นต้น ควรมีการศึกษาไปด้วยกันเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ที่สุด และจากการศึกษาพบกรดไขมันที่จำเป็นในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปริมาณที่น้อยมาก อาจเป็นเพราะว่าสภาวะการเลี้ยง หรืออาหารที่ใช้ในการทดลองไม่เหมาะสม จากการศึกษาครั้งนี้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified Zobell medium เป็นเวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียล ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ซึ่งจากการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโต และการผลิตกรดไขมันของ De Rosa และคณะในปี 2003 ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากฟองน้ำทะเล *Ircinia variabilis* ประเทศอิตาลี ความลึก 20 เมตร จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดลองได้แก่ microfeast extract(MF), Fish extract(ALI), Yeast extract(Y), และ Marine broth 2216 (MB) ได้เชื้อ 2 สายพันธุ์ พบกรดไขมัน C18:2n6 ในปริมาณสูงสุดในทุกอาหารเลี้ยงเชื้อ และพบกรดไขมันชนิด brance –odd-chain (C15-C17) ส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว และพบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เชื้อเจริญเติบโตได้ดีกว่า 18.5 องศาเซลเซียล อาหารเลี้ยงเชื้อที่ดีที่สุดคือ MF+ALI (Microfeast extract+fish extract) pH 7.6 37 องศาเซลเซียล 5 วัน ผู้วิจัยกล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงแหล่งคาร์บอนทำให้ membrane เซลไขมันของกรดไขมันในแบคทีเรียมีรูปแบบที่เปลี่ยนแปลง และรายงานยังกล่าวว่าในเชื้อแต่ละ genus มีองค์ประกอบกรดไขมันที่ต่างกัน ดังนั้นต้องมีการตรวจคุณลักษณะของเชื้อให้ถึงระดับ genus และจากการศึกษาผลของ culture media, incubation period และสัดส่วนของ C:N ที่มีต่อองค์ประกอบของเชื้อแบคทีเรีย ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล 8 ชนิด (Orissa, Bay of Bengal) ได้ 50 isolated จำแนกได้ 4 สายพันธุ์ พบแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* คัดแยกจากฟองน้ำ*Aurora globostellata* แล *Pseudomonas* spp. จากฟองน้ำ *Heteronema erecta* พบไขมันทั้งหมดร้อยละ16.9 และ 31.7 (dry biomass) พบว่าเมื่อเพิ่มสัดส่วนของ C:N ปริมาณไขมัน

จะเพิ่มเป็นร้อยละ 33.4 และ 42.7 ตามลำดับ พบกรดไขมัน C18:3n6 ร้อยละ4.5 และ 1.12 และ *Bacillus subtilis* ตรวจพบกรดไขมัน EPA ร้อยละ 3.8 (Patnayak and Sree, 2004) และจากการศึกษาผลของความเค็มและอุณหภูมิต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด DHA ของเชื้อ *Schizochytrium* spp. 3 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ใช้สูตรอาหารในการเลี้ยงคือ กลูโคสต่อยีสต์สกัด (6:1 %) เลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน ที่อุณหภูมิ 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียล และความเค็ม 5, 15 และ 25 ส่วนในพันส่วน ผลปรากฏว่า *Schizochytrium* BUCACD 302 มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอมากที่สุด โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตดีเอชเอคืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียล ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วนเป็นเวลา 6 วัน ส่วนสภาวะในการเลี้ยงเชื้ออีก 2 สายพันธุ์ก็มีความแตกต่างกันในด้านความเค็ม และเวลาในการเพาะเลี้ยง (ลลิตา, 2548)

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปัจจัยเรื่องเวลาอย่างเดียวไม่มีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมัน และจากการวิจัยต่าง ๆ ที่ผ่านมาพบว่า แหล่งอาหาร อุณหภูมิ ความเค็ม มีผลต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบกรดไขมันในเชื้อ การศึกษาวิจัยที่ต้องดำเนินการคือการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้ได้แหล่งกรดไขมันโอเมก้า-3(EPA,DHA)ต่อไป

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาชนิดและปริมาณกรดไขมันจากฟองน้ำจังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 6 ตัวอย่าง พบปริมาณไขมันโดยรวม มีค่าอยู่ในช่วง 0.21-1.01 % น้ำหนักสด โดยปริมาณไขมันสูงสุดพบในตัวอย่าง *Cacospongia* sp. (TAN-E-03) ที่เก็บจากอ่าวหัวไทร เกาะแตนทิศเหนือ หมู่เกาะสมุย จากการแยกชนิดของไขมัน (lipid class) ในตัวอย่างฟองน้ำทะเลด้วย SPE column ออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ neutral lipids, glycolipids และ phospholipids พบว่า neutral lipids เป็นไขมันหลักที่พบในตัวอย่างฟองน้ำทะเล ในปริมาณร้อยละ 39.78-69.10 รองลงมาเป็น phospholipids ร้อยละ 7.23-31.11 และglycolipids ร้อยละ 7.91-15.77 ของปริมาณไขมันทั้งหมด พบชนิดและปริมาณกรดไขมันสูงสุดใน neutral lipid รองลงมาเป็นไขมันกลุ่ม phospholipids พบองค์ประกอบหลักของกรดไขมันเป็น C16:0, C18:0, C18:1n9, C20:4n6 , C16:1n7, C16:2n4 C18:2n6 และคุณลักษณะกรดไขมันเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs)

ปริมาณไขมันในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย 17 ตัวอย่าง (จากตัวอย่างฟองน้ำ 4 ตัวอย่าง) พบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ 0.61-4.57 น้ำหนักสด โดยปริมาณสูงสุดพบในเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล *Cervicornia cuspidifera* (TAN-D-01) order Hadromerida ปริมาณต่ำสุดพบในตัวอย่างเชื้อแบค TAN-A-01-5 ที่คัดแยกจากฟองน้ำ *Haliclona (Gellius) cymaeformis* Esper ใน order Haplosclerida คุณลักษณะของกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs) ในปริมาณร้อยละ 0.33-91.25 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด พบ C16:1n7, C18:1n7, C16:2n4 และ C16:0 เป็นองค์ประกอบหลัก และพบกรดไขมัน C18:1n7 ในปริมาณที่สูงที่สุด (ร้อยละ 91.25) ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาที่พบคุณลักษณะของกรดไขมันจากเชื้อแบคที่เรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs) และตรวจพบกรดไขมัน C18:2n6ในปริมาณที่สูงสุด

จากการศึกษาถึงปัจจัยของเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Mus-A-01-7 เป็นเวลา 1-8 วัน พบ C14:0, C16:0, C16:1n7 และ C16:2n4 เป็นองค์ประกอบหลักกรดไขมัน และมีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs: 1.19-2.94%TFA) โดยปริมาณของกรดไขมันที่ตรวจพบทั้ง 8 วันมีแนวโน้มที่ไม่แตกต่างกัน และไม่พบกรดไขมันที่จำเป็นในกลุ่มโอเมก้า 3 ดังนั้นปัจจัยเรื่องเวลาอย่างเดียวอาจไม่มีผลต่อองค์ประกอบกรดไขมัน

เอกสารอ้างอิง

ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา และ Usio simidu. 2530. รายงานการศึกษาดูงาน ทุนองค์การส่งเสริมความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์แห่งประเทศญี่ปุ่น เสนอต่อ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

บัญญัติ สุขศรีงาม 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

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

ลลิตา เชาว์เรืองฤทธิ์. 2548. ผลของความเค็มและอุณหภูมิต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มสูงตัวชนิด ดีเอชเอ โดย *Schizochytrium* spp. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา. 98 หน้า

วิเชษฐ์ ลีลามานิตย์. 2539. เภสัชกรกับอาหารเพื่อสุขภาพและอาหารทางการแพทย์ พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.

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

Barbara, G.M. and Mitchell, J.G. 2003. Marine bacterial organisation around point-like sources of amoni acids. FEMS Microbiology Letters 43. 33-109.

Barnathan G. Genin E., Velosaotsy N. E., Koenprobst JM., Sultan Al-Lihaibi, Abdulmohsin Al-Sofyani, Nongonierma R. 2003. Phospholipid fatty acids and sterols of two *Cinachyrella* sponges from the Saudi Arabian Red Sea: comparison with *Cinachyrella* species from other origins. *Comparative Biochemistry and Physiology* part B 135 p.297-308.

Berge, J.P., Barnathan G. 2005. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds and economical aspects. *Adv Biochem Engin/Biotechnol* 96:49-125.

Bergquist. P. R., M.P.Lawson, A. Lawvis and R.C. Cambie. 1984. Fatty acid composition and the classification of the Porifera. Biochemical Systematics and Ecology,12(1), 63-84 pp.

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.

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 ad food for bivalve aquaculture Aquaculture 143. 341-360.

Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, G.A. Dunstan.1997. Nutritional properties of microalgae for maricuture. Aquaculture,151,315-331.

Burkholder, P.R., Pfister, R.M. and Leitz, F.H. 1966. Production of a pyrrole antibiotic by Marine bacterium. Applied Microbiology. 14, 649-653 pp.

Carballeira, N.M. and Pagan, M. 2001. New Methoxylated fatty acids from the caribbean sponge Callyspongia fallax. Journal of Natural product. 64. 620.623

Cavanaugh, C.1983. Symbiotic chemoautotrophic bacteriain marine invertebrates from sulphide habitats. Nature. 302, 58-61pp.

Cavanaugh, C,. Gardiner, S.L., Jones, M.L., Jannash, H.W. and Waterburg, J.B.1981. Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tubeworm Riftia pachyptila Jones: Possible chemoautoprophic symbionts. Science, 213. 340-342 pp.

Dechsakulwatana, C. 1994. Inhibitory Effect of Marine Bacteria on Barnacle lirvae. A dissertation submitted in partial fullfilment of the requirements for a Ph.D. The University of Tokyo, Tokyo, Japan. 120 p.

Dennis, J., Michael., J. Kurantz, and Raymond, K. 1993. Production of eicosapentaenoic acid by filamentous fungus Pythium irregulare. Applied Microbiology and biotechnology. 20(5):211-214.

Dennis, C., Collin W.G.,Breteche A.,Ruiz n.,Rabesaotra V.,Esnault B.W.,Kornprobst M.J.,Barnathan G.(2009). New-17-Methyl-13-Octadecenoic and 3,16-Docosadienoic Acids from the sponge Polymastia penicillus. *Lipids*. 44:655-663.

De Rosa, S.,Milone, A., Kujumvgie, A., Stefanov, K., Nechev, I., and Popov, S. 2000. Metabolites from a marine bacterium Pseudomonas/ Alteromonas, associated with the sponge Dysidea fragilis. *Comparative Biochemistry and Physiology* part B p.391-396.

De Rosa, S., Mitova M., Tommonaro G. 2003. Marine Bacteria associated with sponge as source of cyclic peptides. Biomolecular Engineering. 20: p. 311-316.

De Rosa, S., Seizova, K., Kamenarska, Z., Petrova, A.,Iodice, C., Stefanov, K., and Popov, S. 2006. Sterol and lipid composition of three Adriatic Sea sponges. *Z Naturforsch [C]* 61(1-2):129-134.

Doumenq, P., Acquaviva, M., Asia, L., Durbec, J.P., Dreau,Y.L., Mille,G. and Bertrand, J.C. 1999. Changes in fatty acids of *Pseudomonas nautica*, a marine denitrifying bacterium, in response to n- eicosane as carbon source and various culture conditions. FEMS Microbiology Letters 28. 151-161.

Fractionation of lipid extracts **http://www.cyberlipid.org/fraction** online เมื่อ 29 มีนาคม 2553.

Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanlet, G.H.,1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226, 497-509.

Fulks, W and Main KL. 1991 . The design and operation of commercial scale live feeds production systems. In Fulks W, Main KL.(eds), Rotifer and Microalgae Culture Systems. The Oceanic Institute, Honolulu, 3-52.

Genin E.et al. 2008. New trends in phospholipids class composition of marine spongees. Comparative Biochenistry and Physiology, part B. 427-431.

Halstead, B.W. 1968. Marine botixins, new foods and new drugs from the sea. In" Drugs from the sea, Freudenthl, H.D., ed, Marine Technology and society, Washington, D.C.,p.229-239.

Hooper, J.N.A. 1997. Sponge Guide: guide to sponge collection and identification. Old. Meseum: Australia, p. 21-49.

Imamura, N., Adachi, K., Nishijima, M. and Sano,H. 1993. Antibiotics produces by marine Bacteria. MBI Report. 1992. Marine Biotechnology Institute co., LTS, Tokyo. Japan. 78-87.

Intriago, Pablo and D.A. Jones, 1993. Bacteria as food for artemia. Aquaculture 113,115-127.

Kock,J.L.F., Botha, A. 1998. Chemical Fungi Texonomy America: Mareel Dekker,Inc.

Lehninger, A.L., Nelson, D.L., and Cox, M.M. 1993. Principle of Biochemistry. 2nd ed. New York.:

http://www.matichon.co.th/news online เมื่อ 29 มกราคม 2554.

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.

Litchfield, C., Greenberg, A. J.,Noto, G. and Morales, R.W. 1976. Unusually high levels of C_{24}-C_{30} fatty acids in sponges of the class demospongiae. *Biomedical and Life Sciences Springer Berlin / Heidelberg* 11(7): 567-570.

Luzia, L.A. Sampaio, G.R., Castellucci, C.M.N., and Elizabeth A.F.S. Torres. 2003. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. Food Chemistry. 83(1). p. 93-97.

Manjari Pravat Mishra, Sree Aginampudi, Acharya Madhusmita, Anurog Pratap Das.2009. Fatty acid profiles and antibacterial screening of lipid of sponge Fasciospongia cavernosa (Schmidt) collected from the bay of Bengal. Journal of the Serbian chemical Society. http://www doaj.org/ online เมื่อ 5 กุมภาพันธ์ 2553.

Nair,S. and Simidu, U. 1987. Distribution and significance of heterotrophic bacteria with antibacterial activity. Appl. Amd Environ. Miceobiol. 53(12), 2957-2962.

Nechev, J., Christie,WW., Robaina, R., De Diego, F., Popov, S., Stefanov, K. 2004. Chemical composition of the sponge Hymeniacidon sanguinea from the Canary Islands. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 137(2):365-374.

Nichols P.D., Holdsworth D.G., Volkman, J.K., Daintith, M. and Allanson, S. 1989. High Incorporation of Essential Fatty Acids by the Rotifer *Brachionus plicatilis* Fed on the Prymnesiophyte Algal *Palvova lutheri*. Aust.J.Mar.Freshwater Res. 40, 645-655.

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

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

Patnayak S., and Sree, A. 2004. Screening of bacterial associates of marine sponges for single cell oil and PUFA. Letters in Applied Microbiology. 40, p.358-363.

Pratoomyot J., Srivilas P., and Noiraksar T. 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. Songklanakarin J. Sci. Technol. 27(6):1179-1187

Raymond, M.G., and Maxey, J.E. 1994. Microalgal feeds for aquaculture. Journal of Applied Phycology. 6,131-141.

Rod kina, SA., Latyshev, NA., and Imbs, AB. 2003. Fatty acids from the sponge Halichondria panacea from the Sea of Japan. *Bioorg Khim* 29(4): 419-424.

Schreiber, A., Worheide, G., and Thiel, V. 2006. The fatty acids of calcareous sponges (Calcarea, Porifera). *Chem Phys Lipids* 143(1-2):29-37.

Shigemori, H., Bae, M.A., Yazawa, K., Sadaki,T. and Kobayashi, J. 1992. Aiternamide A, a new Tetracyclic Alkaloidfroma Bacterium Alteromonas sp. Asociated with the marine sponge Halichondria okadai. J.org. Chem. 57, 4317-4320.

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

Simidu, U and Ezura Y. 1988. Toxonomy of microorganisms with special reference to marine bacteria. Electrical and Chemical Assocication of Japan p. 24.

Vacelet, J. 1975. Etude en microscopic eletronoque de I' association entre bacteries et spongiaires du genre Verongia (Dictyo ceratida). J. Microscopic Biob. Cell. 23, 271-288

Volkman J.K., Jeffrey, S.W.,Nichols, P.D., Rogers, G.I. and Garland, C.D.1989. Fatty acid and Lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. J. Exp.Mar. Biol.Ecol.,128, 219-240.

Wijffels H.R. (2007). Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology. Trands in Biotechnology. Vol 26 no.1, 26-30. Online available 26 November 2007.

Wilkinson,C. 1978.a. Microbial association in sponges. I. Ecology, physiology and microbial populations of coral reef sponges. Marine Biology.30,301-314.

Wilkinson,C. 1978.b. Microbial association in sponges. II. Numerical analysis of sponge and water bacterial populations. Marine Biology. 49,169-147.

Zheng, L., Yan, X., Xu, J., Chen, H., and Lin, W. 2005. *Hymeniacidon perleve* Associated Bioactive Bacterium *Pseudomonas* sp. NJ6-3-1. Applied Biochemistry and Microbiology. 41(1): pp. 29-33.