บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

การเจริญของ *Schizochytrium* 3 สายพันธุ์

จากการศึกษาการเจริญของ *Schizochytrium* 3 สายพันธุ์ที่อุณหภูมิและความเค็มที่แตกต่างกัน 3 ระดับ พบว่าอุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อการเจริญของ *Schizochytrium* 3 สายพันธุ์กล่าวคือ

Schizochytrium mangrovei BUCARA 021 มีการเจริญดีที่สุดแตกต่างกันในแต่ละอุณหภูมิและความเค็ม เมื่อเปรียบเทียบทั้งอุณหภูมิและความเค็ม 3 ระดับ พบว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 เจริญดีที่สุด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน (22.58 กรัมต่อลิตร) รองลงมาคือ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน (19.49 กรัมต่อลิตร) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน และมีมวลชีวภาพต่ำที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน (14.49 กรัมต่อลิตร) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน แต่เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่เลี้ยงเพียง 4 วัน จะพบว่าอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน (17.79 กรัมต่อลิตร) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 6)

ส่วน *Schizochytrium limacinum* BUCACD 032 เจริญได้ดีสุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 5 ส่วนในพันส่วน (19.38 กรัมต่อลิตร) รองลงมาคือ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน (19.97 กรัมต่อลิตร) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน และมีค่าต่ำสุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน เท่ากับอยู่ 8.60 กรัมต่อลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน แต่เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่เลี้ยงเพียง 4 วัน พบว่าอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. limacinum* BUCACD 032 คือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน (13.89 กรัมต่อลิตร) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 9)

จากการศึกษาพบว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญได้ที่อุณหภูมิและความเค็มเดียวกัน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bajpai et al. (1991a) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของ *Thraustochytrium aureum* ATCC34304 คือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน โดยมีมวลชีวภาพเท่ากับ 3.8 กรัมต่อลิตร Li and Ward (1994) พบว่า *Thraustochytrium* spp. มีมวลชีวภาพเท่ากับ 9.7-10.3 กรัมต่อลิตร สำหรับ *Thraustochytrium* spp. และ *Schizochytrium* spp. มีมวลชีวภาพ

1.2-5.0 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วนเช่นกัน (Singh et al., 1996) เมื่อเปรียบเทียบมวลชีวภาพระหว่างทรอสโทคิทริดสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วในข้างต้นกับ *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 พบว่าทรอสโทคิทริดสายพันธุ์ข้างต้นมีมวลชีวภาพต่ำกว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 (17.79 กรัมต่อลิตร และ13.89 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ที่ศึกษาครั้งนี้ ขณะที่ Kamlangdee and Fan (2003) พบว่า *Schizochytrium* spp. (N-2, N-5, N-6 และ N-9) มีอุณหภูมิที่เหมาะสม 25 องศาเซลเซียส ส่วนความเค็มสามารถเจริญได้ดีในช่วงตั้งแต่ 20-30 ส่วนในพันส่วน จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญภายใต้ความเค็มที่แตกต่างกัน ซึ่งขัดแย้งกับ Vashniac (1960) ที่รายงานว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อความเค็มในการเจริญ อย่างไรก็ตามอุณหภูมิน้ำบริเวณที่เก็บตัวอย่างเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มทรอสโทคิทริด (Bowles, 1997) โดยทั่วไปอุณหภูมิน้ำบริเวณป่าชายเลนในเขตร้อนพบว่ามีอุณหภูมิและความเค็มอยู่ในช่วงกว้างคือ อุณหภูมิ 25.0-32.3 องศาเซลเซียสและความเค็ม 20.0-32.3 ส่วนในพันส่วน (เสาวภา อังสุภานิช, เทพฤทธิ์ พะยัติ และวราภรณ์ เรืองรัตน์, 2547) ซึ่งสอดคล้องกับอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน)

สภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทคิทริดขึ้นอยู่กับสภาพภูมิประเทศ (เขตแอนตาร์กติก เขตอบอุ่น และเขตร้อน) จากการศึกษาทรอสโทคิทริดสายพันธุ์ในเขตแอนตาร์กติกพบว่าเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 4-9 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 17 องศาเซลเซียส (Bahnweg, 1979) ส่วนสายพันธุ์ในเขตอบอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมของทรอสโทคิทริดคือ อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 20-35 ส่วนในพันส่วน และเจริญได้เล็กน้อยที่ 10 องศาเซลเซียส (Jones & Harrison, 1976) สำหรับ Bowles et al. (1999) รายงานว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญของทรอสโทคิทริด โดยสายพันธุ์ที่แยกได้จากบริเวณกึ่งเขตร้อนสามารถผลิตมวลชีวภาพได้สูงสุด (710-3,140 มิลลิกรัมต่อลิตร) รองลงมาคือสายพันธุ์เขตอบอุ่น และมีมวลชีวภาพต่ำสุดในเขตหนาว (30-1,587 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 113-673 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) และจากการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษา *Schizochytrium* 3 สายพันธุ์ ที่พบในเขตร้อนพบว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 เจริญได้ดีที่ระดับความเค็มในช่วงกว้าง 5 -25 ส่วนในพันส่วนและอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 25 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ *S. limacinum* BUCACD 032 เจริญได้ดีที่ความเค็มอยู่ในช่วงกว้างเช่นกันคือความเค็ม 5 -25 ส่วนในพันส่วน แต่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิอยู่ใน

ช่วงกว้างกว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 คือ 15-25 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา *Thraustochytrium* sp. และ *Ulkenia* sp. พบว่าอุณหภูมิเหมาะสมคือ 25 องศาเซลเซียส ส่วน *Schizochytrium* sp. สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิและความเค็มในช่วงกว้าง โดยที่มวลชีวภาพไม่มีความแตกต่างกัน (Fan et al., 2001) ส่วน *Schizochytrium mangrovei* (KF-2, KF-7 และ KF-12), *Thraustochytrium striatum* KF-9 และ *Ulkenia* sp. KF13 สามารถเจริญได้ดีที่ความเค็มในช่วงกว้างตั้งแต่ 7.5-30 ส่วนในพันส่วน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เช่นกัน (Fan et al., 2002)

สำหรับ *Schizochytrium* sp.1 BUCAAA 093 เจริญได้ดีสุดที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน (7.06 กรัมต่อลิตร) รองลงมาคือ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน (4.09 กรัมต่อลิตร) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน และมีค่าต่ำสุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน (3.85 กรัมต่อลิตร) แต่เมื่อพิจารณาเวลาที่เลี้ยงเพียง 4 วัน พบว่าอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Schizochytrium* sp.1 BUCAAA 093 คืออุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม15 ส่วนในพันส่วน (5.32 กรัมต่อลิตร) (ภาคผนวกค ตารางที่ 10-12) ซึ่งสอดคล้องกับสายพันธุ์ *Schizochytrium* sp. KF-1 เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 วัน มีอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมอยู่ในช่วงกว้างคือ อุณหภูมิ 15-25 องศาเซลเซียส และความเค็ม 7.5-22.5 ส่วนในพันส่วน (Fan et al., 2002) และสอดคล้องกับสภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทคิทริดเขตอบอุ่น Goldstein (1963) พบว่า *Thraustochytrium* spp. เจริญดีที่อุณหภูมิตั้งแต่ 12-25 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 20-35 ส่วนในพันส่วน แต่แตกต่างจาก *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 ที่ศึกษาในครั้งนี้และแตกต่างจากสภาวะทั่วไปของจุลินทรีย์ทรอสโทคิทริดที่พบบริเวณป่าชายเลนเขตร้อน โดยทรอสโทคิทริดที่พบในเขตร้อนจะมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญคือที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็มทั่วไปของน้ำบริเวณป่าชายเลน (Yokochi et al., 1998; Fan et al., 2000; Fan et al., 2001)

โดยความเค็มของน้ำบริเวณป่าชายเลนมีค่าอยู่ในช่วงกว้างตั้งแต่ 0-30 ส่วนในพันส่วน (สนิท อักษรแก้ว, 2532; ศิริวรรณ จิระวัฒนะภัณฑ์, พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูรณ์ และสนิท อักษรแก้ว, 2547) เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มทรอสโทคิทริดเป็นจุลินทรีย์ที่พบบริเวณป่าชายเลน จึงสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำขึ้น-ลงในสภาพแวดล้อมของป่าชายเลนได้ดี โดยเฉพาะ *Schizochytrium* spp. ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พบมากสุดในบริเวณป่าชายเลน (Jaritkhuan et al., 2004; Jaritkhuan et al., 2005) สามารถเจริญได้ดีที่ความเค็มในช่วงกว้างตั้งแต่ 5-35 ส่วนในพันส่วน โดยความเค็มที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 20-30 ส่วนในพันส่วน สอดคล้องกับความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญของทรอสโทคิทริดสายพันธุ์ *S. mangrovei* BUCARA 021, *S. limacinum* BUCACD 032

และสายพันธุ์ *Schizochytrium*sp.1 BUCACD093 ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 5-25 ส่วนในพันส่วน นอกจากนี้ยังพบว่า *Schizochytrium* spp. สามารถปรับตัวได้ดีกว่า *Thraustochytrium* spp. และ *Ulkenia* spp. (Fan et al., 2000; Fan et al., 2002; Kamlangdee and Fan, 2003) อย่างไรก็ตาม Yokochi et al. (1998) พบว่า *S. limacinum* SR21 สามารถเจริญได้ดีที่ความเค็มในช่วง 50-200 เปอร์เซ็นต์ของน้ำทะเลเทียม แตกต่างจาก *Thraustochytrium aureum* ที่ไม่สามารถเจริญได้ที่ความเค็ม 0 และ 200 เปอร์เซ็นต์ของน้ำทะเลเทียม (Iida, 1996) เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Thraustochytrium aureum* และ *Thraustochytrium roseum* (Bajpai et al., 1991a; Li & Ward, 1994) ซึ่งเหมาะสมต่อสายพันธุ์ *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 เช่นกัน

นอกจากนั้นยังพบว่า *Thraustochytrium aureum* และ *Schizochytrium aggregatum* สามารถเจริญได้แม้ความเค็มต่ำกว่า 1 ส่วนในพันส่วน แต่ไม่สามารถเจริญได้ในอาหารที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น เนื่องจากในน้ำมีปริมาณเกลือแร่ไม่เพียงพอ โดยในน้ำทะเลจะมีแร่ธาตุหลัก ๆ คือโซเดียม แคลเซียม โปแตสเซียม และแมกนีเซียม ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญของทรอสโทคิทริด โซเดียมไอออนเป็นธาตุหลักที่ทรอสโทคิทริดต้องการในปริมาณสูง ช่วยให้เอกโตพลาสมิกเน็ทยึดเกาะและแทรกซึมลงสู่ซับสเตรทได้ง่าย รวมทั้งมีผลทำให้ทรอสโทคิทริดเจริญดีขึ้น แต่การขาดโปแตสเซียมไอออน เป็นอีกสาเหตุที่ทำให้การเจริญของทรอสโทคิทริดลดลง นอกจากนี้ยังพบว่า ไม่สามารถใช้โปแตสเซียมไอออนมาแทนโซเดียมไอออนได้ (Bahnweg, 1979; วรพจน์ สุนทรสุข, 2541) จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า *Schizochytrium* ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญได้ที่อุณหภูมิและความเค็มแตกต่างกัน นอกจากปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแล้ว ความแตกต่างทางชีวภาพของเชื้อยังมีผลต่อการผลิตมวลชีวภาพอีกด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3 สภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิและความเค็มของทรอสโทคิทริดสายพันธุ์ต่าง ๆ

Species	Optimum Temperature (^{0}C)	Optimum Salinity (ppt)	Medium (g/L)	Biomass (g/L)	DHA in biomass (mg/g)	DHAyields (mg/L)	References
Antarctic species							
Thraustochytrium antarcticum	4-9	15-30	tryptone 4 g : yeast extract 2 g				Bahnweg (1979)
Thraustochytrium kerguelensis	4-9	20-30					
Thraustochytrium rossii	4-9	15-20					
Temperate species							
- *Thraustochytrium kinnei*	20-30	28-35	yeast extract 1 g : peptone 1 g				Bremer (1974)
- *Thraustochytrium aureum*	25-30	35-49					
- *Thraustochytrium visurgense*	20-30	21-49					
- *Thraustochytrium striatum*	20-30	1-49					
- *Thraustochytrium roseum*	25-30	21-42					
- *Schizochytrium aggregatum*	20-30	21-49					
Althornia crouchii	30	30-35	yeast extract 1 g : peptone 1 g				Alderman and Jones (1971)
Thraustchytrium aureum	20-25	20-35					Goldstein (1963)
Thraustochytrium motivum	12-25	25-35					
Thraustochytrium roseum	25-30	25-35					
Thrautochytrium multirudimental	15-25	25-35					

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Optimum Temperature (^{0}C)	Optimum Salinity (ppt)	Medium (g/L)	Biomass (g/L)	DHA in biomass (mg/g)	DHAyields (mg/L)	References
Tropical/ Subtropical species							
Schizochytrium mangrovei KF-6	25	15	Glucose 10g : yeast extract 10g	15.2	203.0	3,094.0	Fan et al. (2000)
			Waste media : Okara power	-	7.3	54.9	
			4 days (50ml)				
Schizochytrium sp. N-1	25	15-25	glucose 60g : yeast extract 10g	11.3	174.9		Kamlangdee, N. and Fan,
Schizochytrium sp. N-2	25	20-30	52hr. (50ml)	13.2	203.6		K. W. (2003)
Schizochytrium sp. N-5	25	20-30		12.5	186.1		
Schizochytrium sp. N-6	25	25-30		11.6	171.3		
Schizochytrium sp. N-9	25	25-30		10.8	157.9		
Schizochytrium sp. KF-1	15-25	7.5-22.5	glucose 10g : yeast extract 10g				Fan et al. (2002)
Schizochytrium mangrovei			: peptone 1g				
- KF-2	25	22.5-30	4 days (50 ml)				
- KF-7	25	22.5-30					
- KF-12	20-25	7.5-30					
Thraustochytrium striatum KF-9	25	15-30					
Ulkenia sp. KF13	25	15-30					

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Optimum Temperature (^{0}C)	Optimum Salinity (ppt)	Medium (g/L)	Biomass (g/L)	DHA in biomass (mg/g)	DHAyields (mg/L)	References
Tropical/ Subtropical species							
Schizochytrium sp. KF-1	25	15	glucose 10g : yeast extract 10g	4.6	37.0	170.5	Fan et al. (2001)
Schizochytrium mangrovei			52hr 50ml				
- KF-2	25	15		13.3	208.8	2,778.9	
- KF-4	25	15		8.8	174.9	1,536.1	
- KF-5	25	15		7.9	147.6	1,153.2	
- KF-6	25	15		13.5	204.3	2,762.0	
- KF-7	25	15		6.6	118.1	747.7	
- KF-14	25	15		8.1	185.2	1,809.5	
Thraustochytrium striatum KF-9	25	15		0.9	16.0	13.6	
Ulkenia sp. KF13	25	15		4.7	5.5	26.3	
Schizochytrium limacinum *SR21*	25	50-200% seawater	glucose 30g : yeast extract 10g		32.5		Yokochi et al. (1998)
			5 days 50ml		(% total fatty acids)		
*Thraustochytrium aureum*ATCC34304	25	25	basal medium 7	3.8	70.4	269.6	Bajpai et al. (1991a)
			supplemented 2% glucose				
			6 days 50ml				

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Optimum Temperature (^{0}C)	Optimum Salinity (ppt)	Medium (g/L)	Biomass (g/L)	DHA in biomass (mg/g)	DHAyields (mg/L)	References
Tropical/ Subtropical species							
Thraustochytrium aureum ATCC34304	28	25	basal medium supplemented 2%and 0.2% yeast extract 6 days 50ml		43.1 (% of total fatty acids)		Bajpai et al. (1991b)
Thraustochytrium sp. 20890	25	25	Glucose 20g: $(NH_4)2SO_4$ 0.2g	1.2			
Thraustochytrium sp. 20891	25	25	Na-glutamate 2g	1.9			Singh et al. (1996)
Thraustochytrium sp. 20892	25	25	5 days (5oml.)	2.7			
Schizochytrium sp. 20888	25	25		2.6			
Schizochytrium sp. 20889	25	25		5.0			
*Thraustochytrium aureum*ATCC34304	25	25	Starch 25g: $(NH_4)2SO_4$ 0.2g :	9.7	3.55 (%w/w)		Li and Ward. (1994)
*Thraustochytrium roseum*ATCC28210	25	25	Yeast extract 2g: Na-glutamate 2g	10.1	6.40 (%w/w)		
*Thraustochytrium striatum*ATCC24473	25	25		10.3	0.15 (%w/w)		
Thraustochytrids			glucose 5g : yeast extract 2g:				Bowles et al. (1999)
- *Cold temperture*	25	25	peptone 2g	0.113-0.67	35.9 (% of total fatty acids)		
- *Cool temperture*	25	25	3 days (50ml.)	0.030-1.59	13.7 (% of total fatty acids)		
- Sub-tropical	25	25		0.710-3.14	16.6 (% of total fatty acids)		

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species	Optimum Temperature (^{0}C)	Optimum Salinity (ppt)	Medium (g/L)	Biomass (g/L)	DHA in biomass (mg/g)	DHAyields (mg/L)	References
Tropical/ Subtropical species							
- *Schizochytrium mangrovei* (BUCAA021)	25	15	4 days 100ml	17.67	115.16	2,070.59	This study
- *Schizochytrium limacinum* (BUCAA032)	25	25	6 days 100ml	18.21	144.71	2,647.51	
- *Schizochytrium* sp.1 (BUCAA093)	15	25	4 days 100ml	4.82	13.85	68.21	
			Glucose 60 g : yeast extract 10g				

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การผลิตกรดไขมันดีเอชเอของ *Schizochytrium* 3 สายพันธุ์

จากการศึกษาการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงของ *Schizochytrium* 3 สายพันธุ์ที่อุณหภูมิและความเค็มที่แตกต่างกัน 3 ระดับ พบว่าอุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อผลิตกรดไขมัน ดีเอชเอของ *Schizochytrium* ทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่แตกต่างกันกล่าวคือ

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและความเค็มต่อปริมาณกรดไขมันดีเอชเอของ *Schizochytrium mangrovei* BUCARA 021 มีการผลิตกรดไขมันดีเอชเอดีที่สุดแตกต่างกันในแต่ละอุณหภูมิและความเค็ม เมื่อเปรียบเทียบความเค็ม 3 ระดับพบว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน จะเห็นว่าที่ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน มีปริมาณดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 115.16 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (2,070.59 มิลลิกรัมต่อลิตร) รองลงมาคือ 25 ส่วนในพันส่วน 105.24 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (1,847.73 มิลลิกรัมต่อลิตร) และต่ำสุดที่ 5 ส่วนในพันส่วน 75.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (1,376.02 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อพิจารณาผลของความเค็มที่อุณหภูมิ 15 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่ามีการสะสมปริมาณดีเอชเอที่แตกต่างกัน (ภาคผนวก ง ตารางที่ 14-15)

ส่วน *Schizochytrium limacinum* BUCACD 032 เมื่อเปรียบเทียบความเค็ม 3 ระดับที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน จะเห็นว่าที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน มีปริมาณดีเอชเอสูงสุด 145.50 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ 15 ส่วนในพันส่วน และต่ำสุดที่ 5 ส่วนในพันส่วน (138.97 และ 97.83 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ขณะที่ผลผลิตดีเอชเอมีค่าสูงสุด เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 6 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะเห็นว่าที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน มีผลผลิตดีเอชเอสูงสุด 2647.51 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 15 ส่วนในพันส่วน และต่ำสุดที่ 5 ส่วนในพันส่วน (2091.59 และ 1650.84 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อพิจารณาผลของความเค็มที่อุณหภูมิ 15 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่ามีการสะสมปริมาณและผลผลิตดีเอชเอแตกต่างกัน (ภาคผนวก ง ตารางที่ 16-17) จะเห็นว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 มีปริมาณดีเอชเอสูงใกล้เคียงกัน โดยอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความเค็ม 15 และ 25 ส่วนในพันส่วน ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน แสดงให้เห็นว่าความเค็มมีผลต่อการสะสมดีเอชเอ ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Alison (2000) ที่รายงานว่าความเค็มไม่มีผลต่อระดับไขมันและปริมาณดีเอชเอ อย่างไรก็ตาม Bowles (1997) พบว่าทรอสโทคิทริดสายพันธุ์ MP3 เมื่อความเค็มเปลี่ยนแปลงมีผลต่อปริมาณดีเอชเอเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยที่ความเค็ม 5 ส่วนในพันส่วน สามารถผลิตดีเอชเอได้สูงสุด ในขณะที่ความเค็มอื่น ๆ มีปริมาณดีเอชเอไม่มีความแตกต่างกัน จากรายงานเกี่ยวกับอุณหภูมิที่มีต่อ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงของจุลินทรีย์กลุ่มทรอสโทคิทริดพบว่าเมื่ออุณหภูมิลดลงส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มสูงขึ้น (Yongmanichi & Ward, 1989; Bajpai et al., 1991b) แต่เนื่องจาก *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 เป็นจุลินทรีย์ที่พบในเขตร้อน อุณหภูมิที่พบต่ำสุดคือ 25.0 องศาเซลเซียส (เสาวภา อังสุภานิช, เทพฤทธิ์ พะยัติ และวราภรณ์ เรืองรัตน์, 2547; สนิท อักษรแก้ว, 2532) จึงทำให้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตดีเอชเอของ *Schizochytrium* ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดย *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 ผลิตดีเอชเอได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ 15 และ 35 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับการศึกษาทรอสโทคิทริดเมื่อนำเลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันเช่น อุณหภูมิและความเค็มส่งผลต่อการผลิตกรดไขมันในเซลล์ได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน (Li & Ward, 1994; Yaguchi et al., 1997; Bowles et al., 1999) และ Yongmanichi and Ward (1989) รายงานว่าอุณหภูมิมีผลต่อการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิลดลง

สภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิและความเค็มต่อปริมาณกรดไขมันดีเอชเอของ *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 สอดคล้องกับการศึกษาของ Bajpai et al. (1991a) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตดีเอชเอของ *T. aureum* ATCC 34304 คือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วนเท่ากับ 70.4 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (269.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วน Singh et al. (1996) ศึกษาทรอสโทคิทริด 5 สายพันธุ์ โดย *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892 มีปริมาณดีเอชเอสูงสุด 25.3 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (67.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) ขณะที่ *Thraustochytrium* sp. ATCC 20890 ไม่สามารถผลิตดีเอชเอได้ สำหรับ *T. roseum* ATCC 28210 และ *S. limacinum* SR21 มีผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 640 และ 276.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Li & Ward, 1994; Yokochi et al.,1998) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาครั้งนี้พบว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 และ *S. limacinum* BUCACD 032 มีดีเอชเอสูงกว่าสายพันธุ์ที่กล่าวมาข้างต้น (115.16 และ 144.71 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) แต่มีปริมาณสูงกว่าสายพันธุ์ *Schizochytrium* sp.1 BUCAAA 093 (13.85มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) นอกจากนี้ยังพบว่าทรอสโทคิทริดหลายสายพันธุ์สามารถผลิตดีเอชเอได้สูงกว่า *Schizochytrium* ทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้เช่น การศึกษาของ Kamlangdee and Fan (2003) พบว่า *Schizochytrium* sp.ทั้ง 5 สายพันธุ์ มีการสะสมกรดไขมันดีเอชเอในปริมาณสูง มีค่าอยู่ในช่วง 157.9-203.6 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยสายพันธุ์ N-2 มีปริมาณกรดไขมันดีเอชสูงสุด (203.6 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) สอดคล้องกับการทดลอง Fan et al. (2001) ที่พบว่า

Schizochytrium sp. KF-2 ผลิตดีเอชเอได้สูงสุด 208.8 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (2,778.9 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน และ *S. mangrovei* KF-6 สามารถผลิตดีเอชเอได้สูงถึง 203 มิลลิกรัมต่อกรัม (3,094 mg/L) เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน (Fan et al., 2000)

ในขณะที่ *Schizochytrium* sp.1 BUCAAA 093 มีการผลิตกรดไขมันดีเอชเอดีที่สุดแตกต่างกันในแต่ละอุณหภูมิและความเค็ม เมื่อเปรียบเทียบความเค็ม 3 ระดับที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน จะเห็นว่าที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน มีปริมาณดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 13.85 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (68.21 มิลลิกรัมต่อลิตร) รองลงมาคือ 5 ส่วนในพันส่วน 11.60 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (28.68 มิลลิกรัมต่อลิตร) และต่ำสุดที่ 15 ส่วนในพันส่วน 7.67 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (41.84 มิลลิกรัมต่อลิตร) (ภาคผนวก ง ตารางที่18-19) เมื่อพิจารณาผลของความเค็มที่อุณหภูมิ 15 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่ามีการสะสมปริมาณดีเอชเอที่แตกต่างกัน *Schizochytrium* sp.1 BUCAAA 093 มีปริมาณดีเอชเอสูงสุด 13.85 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (68.21 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน เป็นระยะเวลา 4 วัน Yongmanichai & Ward (1989) รายงานว่า อุณหภูมิมีผลต่อการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิลดลง สอดคล้องกับ *Schizochytrium* sp.1 มีปริมาณดีเอชเอสูงสุด ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เท่ากับ 13.85 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (24.73 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่า *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892 เท่ากับ 63.8 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิเดียวกัน (Singh et al., 1996) ส่วน Bajpai et al. (1991b) พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการสร้างกรดไขมันใน *T. aureum* ATCC34304 ถ้าเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำปริมาณดีเอชเอในเซลล์จะสูงกว่าเลี้ยงที่อุณหภูมิสูง จุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในระดับอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส จะสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวสูงกว่า จุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในอุณหภูมิปกติ ตัวอย่างเช่น *Thraustochytrium* spp. ผลิตดีเอชเอได้สูงสุดประมาณ 64 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ขณะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ผลิตดีเอชเอได้เพียง 18 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนั้นพบว่า *T. motivum* และ *T. multirudimental* ที่พบในเขตอบอุ่นมีอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสม อยู่ในช่วง 12-25 องศาเซลเซียส ที่ 15-25 ส่วนในพันส่วน (Goldstein, 1963)

นอกจากทรอสโทคิทริดแล้วยังมีรายงานที่เกี่ยวข้องกับอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณกรดไขมันในทรอสโทคิทริดพบว่าปริมาณดีเอชเอจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง Bajpai et al. (1991b) ขัดแย้งกับรายงานของ Nordeng et al. (2005) พบว่าการลดลงของออกซิเจนที่ละลายในน้ำส่งผลให้ปริมาณดีเอชเอในทรอสโทคิทริดเพิ่มสูงขึ้น และ Grima et al. (1992) พบว่า

อุณหภูมิมีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis galabana* โดยปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจะเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิสูง อย่างไรก็ตามแบคทีเรีย *Pseudomas* spp. และรา *Aspergillus niger* ไม่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวและอุณหภูมิในการเจริญ (Bhakoo & Herbert, 1980; Prill et al., 1935) ขณะที่ราบางชนิดเช่น *Mortierella ramanniana* และ *Entomophthora exitalis* พบว่าการลดลงของอุณหภูมิมีผลทำให้ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงเพิ่มสูงขึ้น สำหรับจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในที่อุณหภูมิสูงจะผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวได้น้อยมาก การที่อุณหภูมิลดต่ำลงมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของพันธะคู่ในกรดไขมัน (desaturation) เนื่องจากจุลินทรีย์มีความต้องการโมเลกุลของออกซิเจนเพื่อใช้ในขบวนการ desaturation ซึ่งเกี่ยวเนื่องกับการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง เพราะว่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ (Singh et al., 1996; Li & Word, 1996; Bowles et al., 1999) สอดคล้องกับการศึกษาของ Bowles et al. (1999) ศึกษาทรอสโทคิทริด 57 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่แยกได้จากบริเวณเขตหนาวจะมีปริมาณดีเอชเอสูงสุด (35.9 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือสายพันธุ์เขตร้อนและมีปริมาณต่ำที่สุดในสายพันธุ์เขตอบอุ่นเท่ากับ 16.6 และ 13.7 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ

แม้ว่ายังไม่มีรายงานที่อธิบายชัดเจนเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของระดับดีเอชเอในทรอสโทคิทริดที่เลี้ยงที่ความเค็มต่าง ๆ แต่พบว่าความเค็มมีผลต่อระดับกรดไขมันในแบคทีเรียเช่น *Planococus* spp. เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้น ปริมาณกรดไขมัน C15 : 0 และฟอสโฟลิปิดเพิ่มขึ้น (Miller, 1985 cited in Bowles, 1997) นอกจากนี้ยังพบว่าโซเดียมคลอไรด์มีหน้าที่ช่วยทำให้การแลกเปลี่ยนไอออนทั้งภายในและภายนอกเซลล์ของทรอสโทคิทริดดีขึ้น (Alison, 2000)

ปริมาณดีเอชเอของ *S. mangrovei* BUCARA 021, *S. limacinum* BUCACD 032 และ *Schizochytrium* sp.1 BUCAAA 093 มีปริมาณที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากการสังเคราะห์และการสะสมกรดไขมันภายในเซลล์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย ๆ ประการ เช่น สภาวะในการเพาะเลี้ยงได้แก่ อุณหภูมิ และความเค็ม ชนิดของอาหาร และเชื้อแต่ละชนิด รวมถึงปริมาตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเป็นต้น ซึ่งล้วนแต่เป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้การสังเคราะห์และการสะสมของกรดไขมันในเซลล์มีปริมาณที่แตกต่างกัน (Li & Ward, 1994; Yaguchi et al., 1997 & Bowles et al., 1999) จากการศึกษาของ Bowles (1997) ที่รายงานว่าสายพันธุ์ G13 นำมาเลี้ยงด้วยปริมาตรอาหารที่ต่างกันคือ 0.5 ลิตร และ 1 ลิตร พบว่ามีมวลชีวภาพเท่ากับ 6.59 และ 4.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 0.0690 และ 0.0017 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ผลผลิตดีเอชเอที่ 0.5 ลิตร แตกต่างจากปริมาตร 1 ลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

($p<0.05$) แต่จากการศึกษาในครั้งนี้ปริมาตรของอาหารที่ใช้เลี้ยงคือปริมาณ 100 มิลลิลิตร จึงน่าจะมีการลดปริมาตรในการเลี้ยงลง เนื่องจากปริมาตรอาหารที่ต่ำลง ทำให้เกิดการผสมของอาหารและการละลายของออกซิเจนสูงขึ้น ช่วยให้การเจริญของทรอสโทคิทริดดีขึ้น ส่งผลต่อมวลชีวภาพและผลผลิตดีเอชเอสูงขึ้นตามไปด้วย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันดีเอชเอมีความสำคัญทางด้านโภชนาการ และสุขภาพของมนุษย์ เนื่องจากจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทคิทริดสามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง โดยเฉพาะดีเอชเอได้ในปริมาณสูง ทรอสโทคิทริดจึงเป็นทางเลือกใหม่ในการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงต่อไปในอนาคต ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นพื้นฐานที่สำคัญในการพัฒนาการเลี้ยงทรอสโทคิทริด เพื่อให้สามารถเจริญและผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง อันจะเป็นประโยชน์ในทางเภสัชศาสตร์และอุตสาหกรรมต่อไป

สรุปผลการวิจัย

1. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงของ *Schizochytrium mangrovei* BUCARA 021 คือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน เป็นระยะเวลา 4 วัน มีมวลชีวภาพเท่ากับ 17.67 กรัมต่อลิตร และปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 115.16 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 2,070.59 มิลลิกรัมต่อลิตร)

2. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงของ *Schizochytrium limacinum* BUCACD 032 คือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน เป็นระยะเวลา 6 วัน มีมวลชีวภาพเท่ากับ 18.21 กรัมต่อลิตร และปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 144.71 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 2,647.51 มิลลิกรัมต่อลิตร)

3. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงของ *Schizochytrium* sp.1 BUCAAA 093 คือ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน เป็นระยะเวลา 4 วัน มีมวลชีวภาพเท่ากับ 4.82 กรัมต่อลิตร และปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 13.85 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 68.21 มิลลิกรัมต่อลิตร)

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาเรื่องการเสริมวิตามิน (vitamin) และธาตุอาหารรองบางชนิด (trace element) ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตกรดไขมันดีเอชเอ

2. ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตกรดไขมันดีเอชเอในถังหมัก (fermentor)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. ควรศึกษาการนำน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร (food processing waste) มาเป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อลดต้นทุนการผลิต โดยทรอสโทคิทริดยังสามารถเจริญและผลิตกรดไขมันดีเอชเอได้ในปริมาณสูง

4. ควรศึกษาการนำทรอสโทคิทริดไปใช้เป็นแหล่งกรดไขมันเสริมในอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อเพิ่มปริมาณกรดไขมันดีเอชเอในสัตว์น้ำต่อไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University