บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยเฉพาะสัตว์น้ำกร่อย จะต้องใช้อาหารมีชีวิต (live feed) อาหารมีชีวิตที่นิยมใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำกร่อย โดยเฉพาะลูกกุ้งทะเลก็คือ อาร์ทีเมีย เนื่องจากการเตรียมอาร์ทีเมียทำได้ง่ายและ สะดวก แต่ปัญหาที่พบก็คือ อาร์ทีเมียมีคุณค่าทางอาหารไม่ครบตามที่กุ้งทะเลวัยอ่อนต้องการ คือจะขาดกรดไขมันที่จำเป็น ได้แก่ arachidonic acid (AA, 20:4n6), docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n3) และ eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n3) จึงได้มีการทำให้อาร์ทีเมียมีคุณค่าทางอาหารสูงขึ้น (enriched artemia) โดยการนำเอาน้ำมันปลาทะเลที่มีกรดไขมันเหล่านี้ในปริมาณสูง มาตีให้แตกตัวในน้ำเป็นเม็ดเล็ก ๆ เพื่อให้อาร์ทีเมียกินเป็นอาหาร ทำให้อาร์ทีเมียมีองค์ประกอบของ EPA และ DHA สูงขึ้น มีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสมในการนำไปอนุบาลลูกสัตว์น้ำทะเลวัยอ่อนมากขึ้น

น้ำมันปลาได้จากผลพลอยได้ของปลาทะเลหลายชนิด เป็นแหล่งของไขมันที่อุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นโดยเฉพาะกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3(Omega3:Ω3) ปัจจุบันได้มีการนำน้ำมันปลามาผลิตเป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพสำหรับมนุษย์ การบริโภคน้ำมันปลาอาจเสี่ยงต่อการได้รับสารปนเนื้อนของโลหะหนัก น้ำมันปลาที่ควรนำมาบริโภคจะต้องเป็นน้ำมันปลาที่ที่ผ่านกระบวนการผลิตที่ได้มาตรฐาน เพื่อไม่มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัว Ω3 สูงไม่ไม่มีสิ่งปนเปื้อน กระแสความนิยมในการบริโภคน้ำมันปลา กอปรกับการนำน้ำมันปลามาใช้ในอุตสาหกรรมผลิตสัตว์โดยเฉพาะการผลิตสัตว์น้ำ และวิกฤตการณ์พลังงานที่ส่งผลทำให้ทรัพยากรประมงมีราคาสูงกขึ้น และความเสื่อมโทรพของสภาพแวดล้อมทางทะเล ทำให้ปริมาณการผลิตน้ำมันปลาของโลกลดลง และน้ำมันปลามีราคาสูงขึ้น ดังนั้นการหาแหล่งน้ำมันปลาทางเลือกอื่น ๆ โดยเฉพาะน้ำมันปลาที่จะสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์น้ำจึงเป็นสิ่งที่ควรจะวิจัยและพัฒนาเป็นอย่างยิ่ง

กลไกการผลิตกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) เกิดจากการทำงานของเอ็นไซม์หลายชนิด โดยปฏิกิริยาขั้นต้นของการผลิตกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง จะเกิดจากการเอ็นไซม์ delta-6 desaturase เปลี่ยน linoleic acid (C18:2n6) เป็น gamma-linolenic acid (C18:3n6) และเปลี่ยน alpha-linolenic acid (C18:3n3) เป็น stearidonic acid (C18:4n3) ซึ่งในสัตว์มีกระดูกสันหลังหลายชนิดมีความสามารถในการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงนี้ได้มาก หรือน้อย แตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิด ปลาทะเลบางชนิดไม่สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงนี้ได้ในระดับที่เพียงพอ จึงจำเป็นต้องได้รับจากการบริโภค การศึกษาการทำงานของของเอ็นไซม์ในกระบวนการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงนี้ในอาร์ทีเมียจึงเป็นสิ่งที่ควรดำเนิน เพื่อเป็นการพัฒนาการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของอาร์ทีเมียให้มีคุณค่าที่

เหมาะสมในการเป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงจะใช้เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ในการสำรวจการทำงานของเอ็นไซม์ delta-6 desaturase ที่ทำงานในกระบวนการขั้นต้นของการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง และพัฒนาวิธีการที่จะให้อาร์ทีเมียใช้ประโยชน์จากน้ำมันแหล่งอื่น ๆ แทนน้ำมันปลา แล้วยังมีมีคุณค่าทางโภชนะใกล้เคียงกับการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยน้ำมันปลา เพื่อประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพของอาร์ทีเมียในการเป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป

การตรวจเอกสารวิชาการ

อาร์ทีเมีย หรือ ไรทะเล หรือ ไรน้ำเค็ม หรือ ไรสีน้ำตาล (Brine shrimp) (*Artemia sp.*) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง จัดอยู่ในพวก crustacean ลำตัวเป็นข้อปล้อง แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว (head) มี 6 ปล้อง ส่วนอก (thorax) มี 11 ปล้อง ส่วนท้อง (abdomen) มี 8 ปล้อง อาร์ทีเมียโตเต็มวัยเพศผู้มีขนาดเล็กว่าเพศเมีย เพศผู้ (ขนาดเมื่อโตเต็มวัยประมาณ 8-10 มิลลิเมตร) มีหนวดคู่ที่ 2 ขนาดใหญ่และมีรูปร่างคล้ายตะขอเพื่อเกาะจับอาร์ทีเมียเพศเมีย และบริเวณปล้องแรกของส่วนท้องเพศผู้จะอวัยวะเพศผู้ 1 คู่ อาร์ทีเมียเพศเมีย (ขนาดเมื่อโตเต็มวัยประมาณ 10-12 มิลลิเมตร) จะมีหนวดที่คู่ที่ 2 ขนาดเล็ก และบริเวณปล้องแรกของช่องท้องจะเป็นบริเวณที่เก็บตัวอ่อนหรือไข่ อาร์ทีเมียมีหลายสายพันธุ์ สามารถสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ (sexually reproducing species; bisexual species) และแบบไม่อาศัยเพศ (parthenogenesis) (FAO [http://www.fao.org/fisery/culturedspecies/Artemia_spp/en], 2013)

อาร์ทีเมียจัดเป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่นิยมใช้เป็นอาหารในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จัดเป็นอาหารหลักของการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ ได้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการอนุบาลสัตว์น้ำเศรษฐกิจและสัตว์น้ำสวยงาม อาร์ทีเมียได้ถูกนำมาใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยเฉพาะในกุ้งทะเล (80-85 เปอร์เซนต์) (FAO [http://www.fao.org/fisery/culturedspecies/ Artemia_spp/en], 2013) เช่น ใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งทะเล (*Peneaus monodon, P. indicus, P. Chinenesis*) (Xu et al., 1993; Immanuel et a., 2001) ลูกปลาทะเล (Sargent et al., 1997; Cho et al., 2001) ทั้งนี้เนื่องจากอาร์ทีเมียสามารถเก็บอยู่ในรูปไข่แห้ง (cyst) ที่คงสภาพมีชีวิตได้นาน เมื่อต้องการนำมาใช้ ก็เพียงแต่นำมาเพาะในน้ำเค็ม สามารถฟักออกเป็นตัวในระยะเวลาสั้น จึงนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำได้สะดวก การจัดการทำได้ง่าย การเก็บรักษาทำได้สะดวก ดังนั้นคุณค่าทางโภชนการของอาร์ทีเมียจึงเป็นสิ่งสำคัญที่นำไปสู่การผลิตลูกพันธุ์สัตว์น้ำเค็มวัยอ่อนคุณภาพดี

การอนุบาลสัตว์น้ำเค็มวัยอ่อนหลายชนิด จำเป็นต้องใช้อาหารมีชีวิต (live feed) ถึงแม้ว่าในธรรมชาติอาร์ทีเมียจะไม่ได้เป็นอาหารของสัตว์น้ำเค็มเหล่านี้ก็ตาม คุณค่าทางโภชนะของอาร์ทีเมียในระยะนอเพลียส (Nauplii) และระยะโตเต็มวัย (Adults) แสดงดังตารางที่ 1.1 ในการอนุบาลสัตว์น้ำเค็มวัยอ่อนโดยส่วนใหญ่จะใช้ตัวอ่อนของอาร์ทีเมีย (*Artemia* nauplii) เพราะสะดวกในการจัดการ ได้แก่ ปัญหาที่มักจะพบก็คือ *Artemia* nauplii ยังมีคุณค่าทางโภนาการไม่ครบตามความต้องการของสัตว์น้ำเค็มวัยอ่อน เพราะขาดกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid, PUFA) (Navarro et al., 1992) ซึ่งจัดเป็นกรดไขมันที่จำเป็น (essential fatty acid; EFA) ในสัตว์น้ำเค็มวัยอ่อน จะเห็นได้ว่าอาร์ทีเมียที่ต่างสายพันธุ์ยังมีความผันแปรของ eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5n3) ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่จำเป็น โดยเฉพาะกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และ

ปลาทะเลวัยอ่อน เนื่องจากสัตว์น้ำวัยอ่อนเหล่านี้ต้องการกรดไขมันชนิดนี้ในการดำรงชีวิตให้เป็นปกติ เพราะ PUFA เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของ เซลล์เมมเบรน ใช้ในการพัฒนาการการมองเห็น การพัฒนาระบบประสาทให้เป็นปกติ และนำไปใช้ผลิต eicosanoid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนที่สำคัญหลายชนิด (Bell and Dick, 1993; Watanabe, 1993; Watanabe and Kiron, 1994; Bell et al., 1995; Deering et al., 1997)

ตารางที่ 1.1 คุณค่าทางโภชนาการ (ค่าเฉลี่ย (%) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของอาร์ทีเมียในระยะนอเพลียสและระยะตัวเต็มวัย

คุณค่าทางโภชนะ	นอเพลียส (Nauplii)	ตัวเต็มวัย (Adult)
โปรตีน	52.2 ± 8.8	56.4 ± 5.6
ไขมัน	18.9 ± 4.5	11.8 ± 5.0
เถ้า	9.7 ± 4.6	17.4 ± 6.3
คาร์โบไฮเดรต	14.8 ± 4.8	12.1 ± 4.4

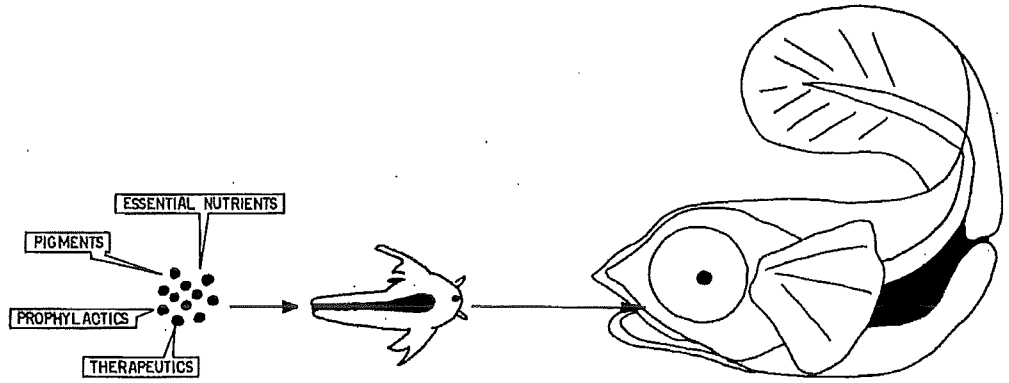
(Leger et al., 1986 อ้างโดย Leger et al., 1987)

ตารางที่ 1.2 ความผันแปรขององค์ประกอบเปอร์เซนต์ eicosapentaenoic acid [EPA (C20:5n3) ในอาร์ทีเมียสายพันธุ์ต่าง

สายพันธุ์อาร์ทีเมีย	ประมาณ EPA (C20:5n3) (% area)
San Francisco Bay	0.3 – 13.3
Brazil	3.5 – 10.6
China	1.3 – 15.4
Canada	5.2 – 9.5
Utah –southern arm	2.7 – 3.6
- northern arm	0.3 – 0.4

(Leger et al., 1986 อ้างโดย Leger et al., 1987)

ถึงแม้ว่าอาร์ทีเมียมีหลายชนิดหลายสายพันธุ์ที่สามารถนำมาใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนได้ แต่อาร์ทีเมียส่วนใหญ่ยังมีคุณค่าทางอาหารไม่ครบตามความต้องการของสัตว์น้ำเด็มวัยอ่อน นอกจากนี้สัตว์น้ำวัยอ่อนแต่ละชนิดอาจจะมีความต้องการสารอาหารที่จำเป็นบางชนิดที่แตกต่างกัน และการที่จะนำสารอาหารที่จำเป็นเหล่านี้ให้สัตว์น้ำวัยอ่อนกินโดยตรงทำได้ยาก เพราะสัตว์น้ำวัยอ่อนไม่ยอมกินยาหรือสารอาหารต่าง ๆ เหล่านี้โดยตรง จึงได้มีการทำ enriched artemia คือการทำให้อาร์ทีเมียมีคุณค่าทางอาหารเพิ่มขึ้น ก่อนที่จะนำไปอนุบาลลูกกุ้งทะเล และปลาทะเล เนื่องจากอาร์ทีเมียเป็นสัตว์น้ำที่กรองกินอาหารจากมวลน้ำ (filter feeder) กล่าวคือจะกินสิ่งแขวนลอยทุกอย่างในน้ำที่มีขนาดเล็กกว่าช่องปาก อาร์ทีเมียจึงเป็นตัวนำพา (carrier) ในการนำสารอาหารที่จำเป็น รงควัตถุ (ในกรณีของปลาสวยงาม) วิตามินและ/หรือสารที่กินเพื่อป้องกันโรค (porphylactic) ยา เข้าสู่ร่างกายของสัตว์น้ำวัยอ่อน (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1.1 การใช้อาร์ทีเมียเป็นตัวนำพา (carrier) ในการนำสารอาหารที่จำเป็น (essential nutrient) รงควัตถุ สารอาหารที่ป้องกันโรค หรือ ยา เข้าสู่สัตว์น้ำวัยอ่อน
ที่มา : Leger et al., 1987

อาร์ทีเมียส่วนใหญ่มีปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นจำพวกกรดไขมันในกลุ่ม PUFA ต่ำ ได้แก่ arachidonic acid (AA, 20:4n6), docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n3) และ eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n3) ได้มีการนำเอาน้ำมันปลาต่าง ๆ ที่มีกรดไขมันในกลุ่ม PUFA สูง มาปั่นให้แตกตัวเป็นเม็ดเล็กในน้ำ (emulsion) แล้วนำไปเลี้ยงอาร์ทีเมีย อาร์ทีเมียจะกรองกินเม็ดน้ำมันเหล่านี้เข้าไปในตัว ทำให้มีปริมาณ PUFA สูงขึ้นในตัวอาร์ทีเมีย (Southgat and Lou, 1995; McEvoy et al., 1996; Navarro et al., 1999) ดังตารางที่ 1.2 Immanuel และคณะ (2004) พบว่าเมื่ออาร์ทีเมียได้รับการเสริมน้ำมันตับปลาเข้าไป จะมี PUFA สูงขึ้น และมี กรดไขมันที่อิ่มตัว (Saturated fatty acid) ลดลง และ Martins และคณะ (2006) พบว่าเมื่อนำอาร์ทีเมียไปเลี้ยงด้วยกรดไขมันที่อิ่มตัวจะมีปริมาณกรดไขมันที่อิ่มมตัวในร่างกายเพิ่มขึ้น และเมื่อนำอาร์ทีเมียไปเลี้ยงด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง (Higly unsaturated fatty acid; HUFA) อาร์ทีเมียจะมีปริมาณ HUFA สูงขึ้น และมีปริมาณ HUFA-ω3 เพิ่มสูงขึ้น โดยมี C20:5n3 และ C20:6n3 สูงกว่าอาร์ทีเมียที่ไม่ได้เสริม HUFA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 1.3) จากข้อมูลดังกล่าวนี้ชี้ให้เห็นว่าเมื่อนำอาร์ทีเมียไปเลี้ยงในสารอาหารชนิดใด จะส่งผลให้อาร์ทีเมียมีสารอาหารนั้นในตัวอาร์ทีเมียเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อนำอาร์ทีเมียนั้นไปเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน ก็จะเป็นการให้อาร์ทีเมียเป็นตัวนำพาสารอาหารนั้นเข้าสู่สัตว์น้ำวัยอ่อน

นอกจากการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของอาร์ทีเมียด้วยการเลี้ยงอาร์ทีเมียในน้ำที่มีอิมัลชั่นของ น้ำมันปลา ยังมีการศึกษาการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของอาร์ทีเมียด้วยการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยแพลงก์ตอนพืชหลายชนิดที่มีส่วนประกอบของ PUFA (Volkman et al., 1989; Vazhappilly and Chen, 1998; Chakraborty et al., 2007) เพื่อนำไปใช้อนุบาลลูกกุ้งทะเลและลูกปลาทะเล ได้มีรายงานการศึกษาการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยแพลงก์ตอนพืช *Chlorella salina*, *Chaetoceros calcitrans*, *Nannochloropsis salina* และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ผลการศึกษาพบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วย *N. salina* มีองค์ประกอบของ arachidonic acid (AA; C20:4ω6), EPA และ DHA สูงที่สุด คือเท่ากับ 9.50 %, 25.80 % และ 4.18 % ตามลำดับ และพบว่าปริมาณ PUFA ของอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วย *N. salina* เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมงปริมาณสูงที่สุด และลดลงเมื่อเลี้ยงต่อเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยองค์ประกอบของกรดไขมันของอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วย *N. salina* แสดงดังตารางที่ 1.4 (Chakraborty et al., 2007)

ตารางที่ 1.3 องค์ประกอบของกรดไขมัน PUFA ในอาร์ทีเมียระยะ Nauplii ที่เลี้ยงด้วยน้ำมันชนิดต่าง ๆ (enriched artemia)

เอกสารอ้างอิง/ชนิดของน้ำมัน	ระดับน้ำมันที่เสริม	Total SFA	Total MUFA	Total PUFA	C18:2n6	C18:3n3	C20:4n3	C20:5n3	C22:5n3	C22:6n3
Immanuel et al. (2001; 2004) / *Odonus niger* liver oil	หน่วย : area percent FAME (โดยน้ำหนักแห้ง)*									
	O. niger liver oil	47.05	30.41	22.54	12.87	0.21	2.66	2.86	1.64	2.3
	0 %	29.34	30.23	31.03	8.90	17.24	1.90	2.45	0.24	0.3
	1 %	31.00	28.60	32.10	8.76	18.7	1.16	2.75	0.16	0.6
	2 %	28.40	30.10	37.40	8.87	20.4	2.12	4.32	0.46	1.23
	3 %	23.04	29.06	44.18	10.14	22.9	3.31	5.10	0.83	1.9
	4 %	26.50	26.30	39.60	9.50	19.8	3.60	4.65	1.05	0.95
Martins et al., 2006	หน่วย : g / 100 g total fatty acids									
	artemia	25.5^{c}	25.7^{a}	8.2^{a}	4.3^{a}	21.1^{a}	0.2	2.2^{b}	nd	0.2^{b}
	Artemia + SFA 300 mg L^{-1}	77.1^{a}	6.3^{c}	2.0^{b}	0.9^{b}	5.4^{b}	0	0.4^{c}	nd	0.6^{ab}
	Artemia + HUFA 300 mg L^{-1}	59.7^{b}	9.7^{b}	7.9^{a}	1.0^{b}	7.9^{b}	0.2	3.8^{a}	nd	2.2^{a}

SFA = saturated fatty acid, MUFA = monounsaturated fatty acid, PUFA = polyunsaturated fatty acid, HUFA = highly unsaturated fatty acid

ตารางที่ 1.4 องค์ประกอบของกรดไขมัน (% ของกรดไขมันทั้งหมด) ของอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืช *N. salina* เป็นระยะเวลา 8 และ 24 ชั่วโมง

กรดไขมัน	*N. salina*	อาร์ทีเมียก่อนเลี้ยงแพลงก์ตอน	อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วย *N. salina*	
			8 ชั่วโมง	18 ชั่วโมง
C14:0	0.39	0.32	0.68	3.25
C15:0	3.10	0.21	1.10	1.69
C16:0	21.0	8.07	8.34	10.06
C18:0	0.94	4.91	2.24	2.30
ΣSFA	25.43	13.51	12.36	17.3
C16:1n7	20.10	9.62	5.08	4.11
C16:1n9	Nd	16.30	9.98	8.45
C18:1n7	0.50	2.21	3.65	3.80
C18:1n9	9.40	24.26	25.72	31.29
ΣMUFA	30.00	52.39	44.43	47.65
C16:2n4	0.05	nd	0.82	0.92
C16:3n4	0.05	0.41	0.88	0.56
C16:3n6	0.31	8.08	9.82	5.41
C18:2n6	2.10	8.50	0.38	0.25
C18:3n6	nd	0.32	0.67	0.75
C18:3n3	0.40	4.10	5.19	5.26
C18:4n3	0.15	0.85	1.65	1.51
C18:4n6	0.32	0.18	0.46	0.38
C20:4n6	9.50	2.30	14.15	13.0
C20:5n3	25.80	3.18	8.05	4.28
C22:5n3	0.35	0.05	0.01	0.01
C22:6n3	4.18	0.10	1.85	0.45
ΣPUFA	43.21	28.07	43.93	32.78
Σn3: Σn6	2.52	0.43	0.66	0.58

SFA = saturated fatty acid, ΣMUFA = ผลรวมของ monounsaturated fatty acid, ΣPUFA = ผลรวมของ polyunsaturated fatty acid, Σn3: Σn6 = ผลรวมของกรดไขมัน ω3 ต่อ ผลรวมของกรดไขมัน ω6 (Chakraborty et al., 2007)

องค์ประกอบของกรดไขมันบางชนิดในอาร์ทีเมียที่ได้รับอิมัลชันของน้ำมันปลา จะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการอดอาหารอาร์ทีเมีย แสดงให้เห็นว่าอาร์ทีเมียได้นำกรดไขมันที่ได้รับไปใช้ประโยชน์ Coutteau และ Mourente (1997) ได้ศึกษาโดยการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยน้ำมันปลา 2 ชนิด คือ อิมัลชัน triacylglycerols (ICES 30/4/C/3) และ fatty acid ethyl ester (ICES 30/4/C/EE) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอิมัลชันของน้ำมันปลาทั้ง 2 ชนิดมีไขมันสูงขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของไขมันนั้นมาจากการสะสม neutral lipid ชนิด triacylglycerol แล้วจึงทำการอดอาหารอาร์ทีเมียเป็นระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง และพบว่าอาร์ที่เมียที่อดอาหารเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ได้มีการใช้ประโยชน์ของ neutral lipid ชนิด triacylglycerol เนื่องจากพบว่าปริมาณ neutral lipid ชนิด triacylglycerol ลดลง 27-30 % และพบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันปลาทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณ ω3-HUFA เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยเพิ่มขึ้นจาก 6.3 % (8.2 มิลลิลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) เป็น 20.4 % และ 21.8 % (40.4 และ 43.2 มิลลิลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) และในระหว่างการอดอาหารของอาร์ทีเมีย อาร์ทีเมียมีการใช้ C18:4n3, C22:5n3 และ C22:6n3 แต่พบว่าปริมาณของ C18:0, C20:4n6 และ C20:5n3 ไม่เปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 1.5)

การศึกษาการใช้ประโยชน์ของไขมันที่ได้รับจากการ enrichment โดยการให้ fatty acid ethyl esters ที่มีการติดฉลากสารรังสี เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการอดอาหารอีก 24 ชั่วโมง พบว่า อาร์ทีเมียมาสมารถเปลี่ยน fatty acid ethyl esters เป็น triacylglycerols และอาร์ทีเมียเปลี่ยน triacylglycerols โดยการนำไปใช้ในกระบวนการ catabolism เป็นกรดไขมันในโครงสร้างของเซลล์เมมเบรน นอกจากนี้พบว่าเมื่อให้อาร์ทีเมียได้รับ [U-^{14}C]C22:6n3 อาร์ทีเมียสามารถเปลี่ยน C22:6n3 เป็น C20:5n3 (Navarro et al., 1999) ยังมีรายงานเมตาบอลิซึมของกรดไขมันในอาร์ทีเมียเพิ่มเติม โดยได้มีการรายงานว่าอาร์ทีเมียที่ได้มีการอดอาหารนาน 24 ชั่วโมง มีปริมาณ DHA ลดลง โดยเปลี่ยน DHA เป็น EPA และโดยการนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและการใช้เป็นแหล่งพลังงาน และอุณหภูมิน้ำต่ำจะลดการลดต่ำลงของกรดไขมันที่จำเป็น และได้มีการแนะนำการนำ อาร์ทีเมียที่มีการ enrichment ไปใช้ประโยชน์สำหรับการอนุบาลลูกสัตว์น้ำ ว่าควรกระทำภายใน 24 ชั่วโมง และถ้าเป็นไปได้ควรนำ อาร์ทีเมียที่มีการ enrichment ไปใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำทันที (Estevez et al., 1998)

น้ำมันปลาซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีหลายพันธะคู่ (PUFA) น้ำมันปลามีส่วนประกอบสำคัญเป็นกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ได้แก่ EPA และ DHA การนำน้ำมันปลาหรือน้ำมันตับปลามาผสมกับน้ำเพื่อให้แตกตัวเป็นเม็ดน้ำมันขนาดเล็กเพื่อให้อาร์ทีเมียกินเป็นอาหารเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ เป็นวิธีการที่เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของอาร์ทีเมียได้อย่างแพร่หลาย ช่วยทำให้ลูกกุ้งทะเลวัยอ่อน และลูกปลาทะเลวัยอ่อนได้รับกรดไขมันที่จำเป็นมากขึ้น ส่งผลให้ทนทานต่อความเครียดที่เกิดจากความเค็มของน้ำไม่เหมาะสมได้ ลดอัตราการตายในระหว่างการอนุบาลได้ (Kraul et al., 1993; Rees et al., 1994; Citarasu et al., 1998; Immanuel et al., 2004; Martins et al., 2006) แม้ว่าการใช้วิธีดังกล่าวจะมีข้อควรระวัง เพราะอาจทำให้เกิดการออกซิเดชั่นของ PUFA (Hartvigsen et al., 2000) ทำให้อาร์ทีเมียได้รับสารพิษที่เกิดจากการออกซิเดชั่นของน้ำมันปลา เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำวัยอ่อนได้

ตารางที่ 1.5 องค์ประกอบของไขมันและกรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ของอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยอิมัลชันน้ำมันปลา และอดอาหารเป็นระยะเวลา 24 และ72 ชั่วโมง

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย ก่อนเลี้ยง น้ำมันปลา	อิมัลชัน triacylglycerols (ICES 30/4/C/3)			อิมัลชัน fatty acid ethyl ester (ICES30/4/C/EE)		
		เลี้ยง 24 ชั่วโมง	อาอาหาร 24 ชั่โมง	อาอาหาร 72 ชั่โมง	เลี้ยง 24 ชั่วโมง	อาอาหาร 24 ชั่โมง	อาอาหาร 72 ชั่โมง
Total lipid	200.4 ± 0.5	281.7 ± 13.6	267.6 ± 0.2	239.4 ± 2.3	286.9 ± 12.4	283.4 ± 3.5	249.9 ± 14.1
Total neutral lipid	129.3 ± 2.3	129.3 ± 2.3	207.2 ± 4.9	165.3 ± 5.6	214.9 ± 5.9	205.0 ± 5.5	175.0 ± 1.9
Neutral –Triacylglyderol	82.1 ± 2.2	82.1 ± 2.2	158.2 ± 3.8	110.5 ± 4.9	157.7 ± 6.0	152.8 ± 3.6	115.0 ± 1.0
C18:2n6	7.2^{d}	9.9^{b}	8.8^{bcd}	7.9^{cd}	12.3^{a}	11.9^{a}	9.2^{bc}
C18:3n3	34.7^{a}	30.5^{ab}	27.6^{bc}	25.0^{cd}	27.5^{bc}	27.1^{bc}	21.0^{d}
C18:4n3	4.7^{a}	2.9^{b}	2.3^{b}	1.5^{cd}	2.5^{b}	2.2^{bc}	1.0^{d}
C20:4n6	1.0^{b}	3.4^{a}	3.4^{a}	3.5^{a}	1.3^{b}	1.4^{b}	1.2^{b}
C20:5n3	7.1^{b}	16.8^{a}	17.2^{a}	18.6^{a}	17.8^{a}	17.3^{a}	17.3^{a}
C22:5n3	0.0^{c}	1.4^{ab}	1.0^{abc}	0.7^{bc}	2.0^{a}	1.8^{a}	1.2^{ab}
C22:6n3	0.2^{d}	21.0^{a}	15.2^{b}	8.7^{c}	22.3^{a}	15.1^{b}	7.9^{c}
ΣSFA	25.5^{cd}	34.8^{a}	32.0^{ab}	28.7^{bc}	27.8^{bc}	26.4^{cd}	22.4^{d}
ΣMUFA	47.9^{c}	61.0^{c}	57.0^{c}	51.7^{c}	96.2^{a}	95.5^{a}	75.6^{b}
$\Sigma\omega$6-PUFA	8.7^{d}	15.5^{a}	14.0^{ab}	12.2^{bc}	14.5^{ab}	13.7^{ab}	10.9^{cd}
$\Sigma\omega$3-PUFA	47.5^{c}	73.8^{a}	64.6^{ab}	55.0^{bc}	73.2^{a}	64.6^{ab}	49.0^{c}

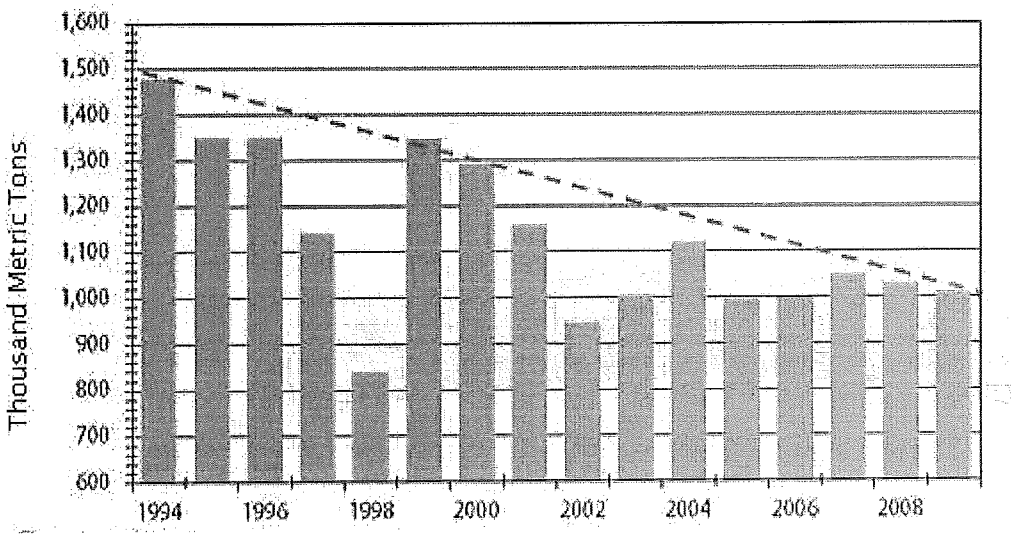
ΣSFA = ผลรวมของ saturated fatty acid, ΣMUFA = ผลรวมของ monounsaturated fatty acid, $\Sigma\omega$6-PUFA = ผลรวมของ ω6-polyunsaturated fatty acid, $\Sigma\omega$3-PUFA = ผลรวมของ ω3-polyunsaturated fatty acid (Coutteau and Mourente, 1997)

ในปัจจุบันน้ำมันปลาจัดเป็นอาหารที่เสริมสุขภาพ มีความนิยมบริโภคมากขึ้น ในขณะที่ผลผลิตน้ำมันปลาของโลกมีแนวโน้มลดลง (FAO/WHO, 2011; http://www.globefish.org/fish-oil-february-2010.html) จึงส่งผลให้น้ำมันปลามีแนวโน้มราคาสูงขึ้น (ภาพที่ 1) ซึ่งจะส่งผลต่อต้นทุนการผลิตสัตว์น้ำ ดังนั้นการหาแหล่งน้ำมันอื่น หรือการนำเทคโนโลยีอื่น ๆ มาร่วมด้วยเพื่อปรับปรุงคุณภาพของน้ำมันพืช ให้ใกล้เคียงน้ำมันปลา เพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพอาร์ทีเมียให้มีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อการอนุบาลลูกสัตว์น้ำทะเล จึงเป็นสิ่งที่ควรวิจัยและพัฒนาอย่างยิ่ง

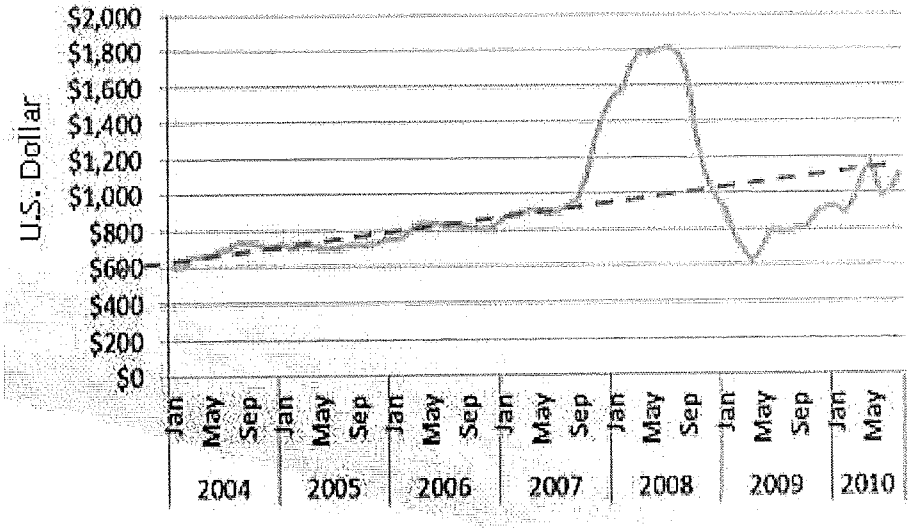
กระบวนการผลิตกรดไขมันในกลุ่ม PUFA ประกอบไปด้วยขั้นตอนต่าง ๆ โดยมีเอนไซม์ต่าง ๆ เข้ามาเกี่ยวข้อง กระบวนการนี้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม เป็นกรดไขมันในกลุ่ม ω -6 และและกลุ่ม ω -3 ซึ่งมีกรดไขมันสารตั้งต้นคือ Linoleic acid (C18:2n6) และ α-Linolenic acid (C18:3n3) ตามลำดับ กระบวนการสังเคราะห์ในกลุ่ม ω -6 เริ่มจากเอ็นไซม์ delta 6-desaturase จะเปลี่ยน Linoleic acid (C18:2n6) เป็น gamma-linolenic acid (GLA; (C18:3n6)) ต่อจากนั้นจะเข้าสู่ปฏิกิริยาการต่อสายยาว (elongation system) ซึ่งจะมีการเติมคาร์บอนเข้าไป 2 ตัว ทำให้เกิดสังเคราะห์ dihomo grama -linolenic acid (DGLA; C20:3n6) ต่อจากนั้นมีการเพิ่มพันธะคู่โดย delta 5-desaturase เปลี่ยน C20:3n6 เป็น arachidonic acid (AA; C20:4n6) แล้วจึงเข้าสู่ปฏิกิริยาการต่อสายยาว (elongase system) ซึ่งจะมีการเติมคาร์บอนเข้าไป 2 ตัว เปลี่ยนเป็น adrenic acid (C22:4n6) และมีการเติมคาร์บอนเข้าไปอีก 2 ตัว ทำให้เกิดสังเคราะห์ ω6-tetracosatetraenoic acid (C24:4n6)

สำหรับปฏิกิริยาของการสังเคราะห์กรดไขมันในกลุ่ม ω -3 (ภาพที่ 2) เป็นดังนี้ เอ็นไซม์ delta 6-desaturase จะเปลี่ยน α-Linolenic acid (C18:3n3) เป็น stearidonic acid (STA; (C18:4n3) ต่อจากนั้นจะมีการเติมคาร์บอนเข้าไป 2 ตัวในกระบวนการ elongation system ซึ่งจะมีการเติมคาร์บอนเข้าไป 2 ตัว ทำให้เกิดสังเคราะห์ eicosatetraenoic acid (ETA; C20:4n3) หลังจากนั้นเอ็นไซม์ delta 5-desaturase จะเปลี่ยน C20:4n3 ได้เป็น eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5n3) ต่อจากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการ elongation โดยมีการเติมคาร์บอนเข้าไป 2 ตัว เปลี่ยนเป็น ω3-docosapentaenoic acid (DPA; C22:5n3) และ DPA จะถูกเติมพันธะคู่ด้วยเอนไซม์ delta 4-desaturase ทำให้ได้ docohexaenoic acid (DHA; C22:6n3) (Sprecher, 2000; Pereira et al. 2003; Horrobin, 1993) ซึ่งเอ็นไซม์เหล่านี้จะมีน้อยมาก หรือทำงานได้น้อยในปลาและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงทำให้ปลาและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่สามารถผลิต PUFA ได้เอง จึงต้องได้รับจากอาหารที่มีส่วนประกอบของ PUFA

(ก)

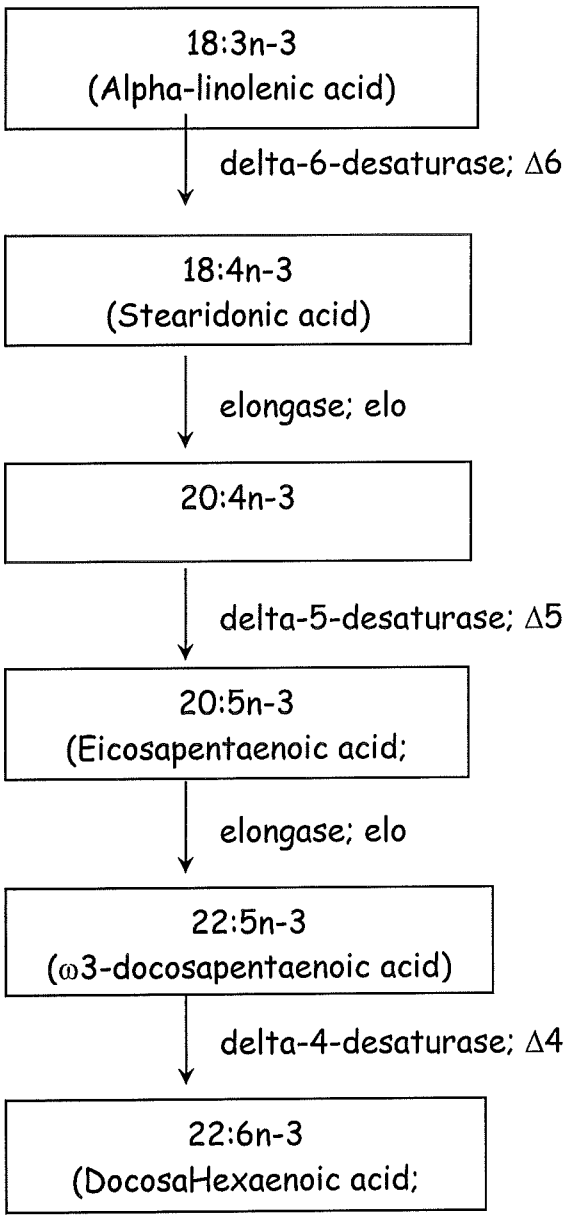


(ข)



ภาพที่ 1.2 สภาวะน้ำมันปลาของโลก (ก) ผลผลิตน้ำมันปลาของโลกที่มีแนวโน้มลดลง (ข) ราคาน้ำมันปลาเฉลี่ย (ประเทศเนเธอร์แลนด์) มีแนวโน้มสูงขึ้น

ที่มา: http://www.faqs.org/sec-filings/110110/OMEGA-PROTEIN-CORP_8-K/g134825ex99_1s11gbgd.jpg



ภาพที่ 1.3 เอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเปลี่ยนกรดไขมัน 18:3n-3 เป็น EPA และ DHA

ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีในการตัดต่อดีเอ็นเอ ได้นำไปสู่การศึกษาถึงยีนที่ทำหน้าที่ในการสร้างเอนไซม์เหล่านี้ในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ เช่น ได้มีการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากลำไส้ปลาแมคเคอเรล เชื้อดังกล่าวนี้มีความใกล้เคียงกับเชื้อจุลินทรีย์ *Shewanella putrefaciens* ซึ่งมีคุณลักษณะในการสร้าง EPA ได้สูงถึง 24-40 % ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้ได้มีการนำเอาชิ้นส่วนของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง EPA ถ่ายเข้าสู่แบคทีเรีย *Escherichia coli* พบว่ามีการผลิต EPA ใน *E. coli* (Yazawa, 1996)

เอ็นไซม์ delta6-desaturase เป็น membrane-bound desaturase ที่พบใน endoplasmic reticulum ของสัตว์ ในปลาน้ำจืดบางชนิด เช่น ปลาเทร้า ปลานิล ปลาไน ปลาม้าลาย สามารถเปลี่ยนกรดไขมันตั้งต้น C18 ไปเป็น EPA และ DHA ได้ ในขณะที่ปลาน้ำเค็มที่ได้ทำการศึกษาบางชนิด เช่น turbot และ seabream ไม่สามารถทำได้ (อ้างโดย Hastings et al., 2001) เป็นที่น่าสนใจว่าปลาม้าลายสามารถเปลี่ยนกรดไขมันตั้งต้น C18 ไปเป็น EPA และ DHA ได้ (Agaba et al., 2004) แต่เมื่อมีการสร้างปลาม้าลายจีเอ็มโอที่ได้รับการถ่ายยีน masu salmon delta6-desaturase-like gene ส่งผลทำให้ปลาม้าลายมีปริมาณ EPA และ DHA สูงขึ้น (Alimuddin et al., 2005) การทำงานของ delta6-desaturase ในสัตว์จะขึ้นกับอาหารที่ได้รับ อายุ และฮอร์โมน (Pereira et al., 2003; Nakamura et al., 2000) การศึกษาถึงลำดับเบส และลำดับกรดอะมิโนที่ได้จากการแปลรหัสของยีน Δ6-desaturase ในคนและในหนู พบว่าเอนไซม์นี้ประกอบด้วยกรดอะมิโน 444 ตัว และมีความตรงกัน 87 % ระหว่างลำดับของกรดอะมิโนของ Δ6-desaturase ของหนู mouse และคน (Cho et al., 1999; Sato et al., 2001) นอกจากนี้การเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของยีน *fads 2* ในปลากระดูกแข็งต่าง ๆ ตารางที่ 1.6 พบว่ายีน *fads 2* ของปลามีความคล้ายคลึงกันสูง 72 – 80 เปอร์เซ็นต์

สัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความหลากหลายของปริมาณ EPA และ DHA เป็นองค์ประกอบในตัว ซึ่งความหลากหลายนี้มีสาเหตุเนื่องมาจากอาหารที่กินและพันธุกรรมของการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนกรดไขมันตั้งต้น C18 ไปเป็น EPA และ DHA สัตว์น้ำบางชนิดที่มีการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ ก็จะสามารถผลิต EPA และ DHA ได้ การศึกษาวิจัยครั้งนี้จะทำการวิเคราะห์ mRNA ของยีน delta-6-desaturase ในอาร์ทีเมีย ว่ามีการทำงานได้หรือไม่ โดยการวิคราะห์ที่ระดับ transcription เพื่อทำการโคลน delta-6-desaturase like cDNA เส้นสมบูรณ์ของอาร์ทีเมีย เพื่อนำไปใช้ในการตัดต่อยีนเข้ากับพลาสมิดเวกเตอร์ เพื่อที่จะนำยีน *fads 2* นี้ไปใช้ประโยชน์ในการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในอาร์ทีเมีย อย่างไรก็ตามถ้าหากว่าพบว่าอาร์ทีเมียไม่มีการแสดงออกของยีน *fads 2* ที่สร้างเอ็นไซม์ delta6-desaturase งานวิจัยก็จะดำเนินการโคลนยีน *fads 2* จากปลานิลที่เป็นปลาน้ำจืด และนำไปใช้ในการสร้างรีคอมบีแนนท์ยีสต์ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมียให้มีปริมาณของ PUFA สูงขึ้น

ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อผลิตภัณฑ์อาหารอย่างกว้างขวาง และเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์และสัตว์ ปัจจุบันได้มีนำยีสต์มาใช้เป็นโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) ที่เป็นประโยชน์ต่ออาหารสัตว์เศรษฐกิจหลายชนิด เป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกคุณภาพดี นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นประโยชน์ด้านการเป็นสารเสริมชีวนะ (probiotic) ซึ่งก็คือจุลินทรีย์เสริมสุขภาพของ สัตว์เพื่อทำให้สัตว์มีภูมิต้านทานโรคสูงขึ้น จึงได้มีการศึกษาการใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ในแง่สารเสริมชีวนะในสัตว์ เศรษฐกิจหลายชนิด เนื่องจากเซลล์ของยีสต์มีองค์ประกอบของ

(β-glucans, mannan oligosaccharides, nucleic acids ซึ่งส่งผลให้ปลามีภูมิต้านทานโรคโดยเฉพาะภูมิต้านทานโรคแบบไม่จำเพาะเจาะจงสูงขึ้นยีสต์ยังเป็นประโยชน์ด้าน การเป็นสารเสริมชีวนะ (probiotic) ซึ่งก็คือจุลินทรีย์เสริมสุขภาพของสัตว์เพื่อทำให้สัตว์มีภูมิต้านทานโรคสูงขึ้น (Ortuno et al., 2002)

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นสูงเซลล์เดียวที่มีกลไกภายในเซลล์เช่นเดียวกับสัตว์ ยังมีคุณสมบัติในการนำมาใช้เป็นจุลินทรีย์เซลล์เจ้าบ้าน เพื่อผลิตโปรตีนที่สนใจซึ่งคงคุณสมบัติทางชีวภาพเหมือนโปรตีนธรรมชาติ โดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมมาตัดต่อยีนของโปรตีน และนำเข้าดีเอ็นเอพาหะเข้าไปในเซลล์ยีสต์ เพื่อยีสต์ผลิตโปรตีนที่ ต้องการให้มีปริมาณสูงขึ้นภายในระยะเวลาอันสั้น ได้มีการศึกษาการตัดต่อยีน delta-6 desaturase และ Elongase ของ ปลา cobia ในยีสต์ร. *cerevisiae* พบว่ายีสต์มีการแสดงออกของยีนทั้งสอง และเอ็นไซม์ที่ผลิตได้จากยีสต์สามารถทำงานได้ (Zheng et al., 2009) และให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของ Qiu et al. (2002) ที่ทำการศึกษาการทำงานของ ยีน delta 6 desaturase ของ borage ในยีสต์ *S. cerevisiae* และ Zank et al. (2002) ที่ได้ทำการศึกษาการทำงานของยีน elongase ของ มอส (*Physcomitrella patens*) ในยีสต์ รายงานการศึกษา (ตารางที่ 1.6) จะเป็นการสรุปการสร้างรีคอมบีแนนท์ยีสต์ *S. Cerevisiae* โดยใช้พลาสมิดในกลุ่ม p*YES* ซึ่งมี *GAL1* เป็นโปรโมเตอร์

ตารางที่ 1.6 ตารางเปรียบเทียบขนาดของ Coding Sequence (CDS) ของยีน delta 6 desturase ในปลาชนิดต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง	ชนิดปลา	CDS	จำนวนกรดอะมิโน	Cytochrome b_5	Fatty acid desaturase domain	% Identities
Morais et al. (2011)	Atlantic Bluefin tuna (*Thunnus thynnus*)	1,338 bp	445	21-95	158-417	89
Zheng et al. (2009)	Cobia(*Rachycentron canadum*)	1,329 bp	442	18-92	155-413	83
González-Rovira et al. (2009)	Sea bass (*Dicentrarchus labrax*)	1,338 bp	445	21-95	158-416	84
Tocher et al. (2006a)	Atlantic Cod (*Gadus morhua*)	1,344 bp	447	23-97	161-419	76
Zheng et al. (2004a)	Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)	1,365 bp	454	30-104	167-425	75
Zheng et al. (2004a)	Seabream (*Sparus aurata*)	1,338 bp	445	21-95	158-416	83
Zheng et al. (2004a)	Turbot (*Scophthalmus maximus*)	1,338 bp	445	21-95	158-416	82
Zheng et al. (2005b)	Atlantic salmon (*Salmo salar*)	1,365 bp	454	30-104	167-425	75
Gen bank XM_003440470	Nile tilapia (*O. niloticus*)	1,338 bp	445	21-95	158-417	99
Zheng et al. (2004a)	Common Carp (*Cyprinus carpio*)	1,335 bp	444	20-94	157-416	70
Hastings et al. (2001)	Zebrafish (*Danio rerio*)	1,590 bp	444	21-94	157-416	71

ตารางที่ 1.7 ผลการสร้างรีคอมบีแนนท์ยีสต์ในยีสต์ชนิด *S. cerevisiae* โดยเวกเตอร์ในกลุ่ม pYES และโปรโมเตอร์ *GAL1*

เอกสารอ้างอิง	ยีนที่นำมาสร้างรีคอมบีแนนท์ยีสต์		ผลการแสดงออกของยีน
	สิ่งมีชีวิต	ยีน	
Dyer et al. (2004)	*Aleurites fordii* (Tung)	Omega-3 desaturase (FAD3)	- รีคอมบีแนนท์ยีสต์มีการเปลี่ยน linoleic acid เป็น linolenic acid - อุณหภูมิมีผลการทำงานของเอ็นไซม์ของรีคอมบีแนนท์ยีสต์ - รีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่มียีน FAD3 ที่ได้จาก Tung มีการทำงานสูงกว่า FAD3 ที่ได้จาก rapeseed
Qiu et al. (2002)	*Borago officinalis* L.	Δ6 desaturase	ยีสต์มีการผลิตรีคอมบีแนนท์เอ็นไซม์ Δ6 desaturase และเอ็นไซม์ที่ผลิตได้สามารถเปลี่ยนกรดไขมัน 18:2(9,12) และ 18:3(9,12,15) ที่เติมลงไปในอาหาร เป็น 18:3(6,9,12) (6.13 %) และ 18:4(6,9,12,15) (5.72 %) ตามลำดับ
Kajiwara et al. (1996)	*Arabidopsis thaliana*	Δ-12 fatty acid desaturase gene	พบ overexpression ในรีคอมบีแนนท์ยีสต์ และทำให้รีคอมบีแนนท์ยีสต์มีความทนทานต่อเอธานอลระดับสูง (15 %) ได้มากกว่ายีสต์กลุ่มควบคุม (ไม่ใช่รีคอมบีแนนท์)
Meyer et al. (2004)	<u>สาหร่าย</u> *Ostreococcus tauri (ELO1)* *O. tauri (ELO2)* *Thalassiosira pseudomana (ELO1)* *T. pseudomana (ELO2)* ปลาเทร้า *Onchorhynchus mykiss* (ELO) *Xenopus laevis* (ELO) *Ciona intestinalis* (ELO)		การทำงานของเอ็นไซม์ elongase ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะกับกรดไขมันแต่ละชนิดแตกต่างกัน เอ็นไซม์ *ELO1* ที่ได้จากสาหร่ายมีความจำเพาะต่อ(Δ6-)C18-PUFA และ *ELO2* จะมีความจำเพาะต่อ และ (Δ5-)C20-PUFA เอ็นไซม์ elongase ที่ได้จาก *O. mykiss*, *X. laevis*, *C. intestinalis* สามารถทำงานได้กับกรดไขมันตั้งต้นทั้ง C18-PUFA และ C20-PUFA

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสำรวจการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์ delta-6-desaturase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนกรดไขมันตั้งต้น C18 ไปเป็น EPA และ DHA ในอาร์ทีเมียวัยอ่อน (artemia nauplii)
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในรีคอมบีแนนท์ยีสต์ (recombinant *Saccharomyces cerevisiae*) ที่สามารถสร้างเอนไซม์ delta-6-desaturase
3. เพื่อศึกษาผลของการนำน้ำมันพืช และ รีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ delta-6-desaturase ไปเลี้ยงในอาร์ทีเมีย ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย

ขอบเขตของการวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงการแสดงออกของยีนที่ผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต EPA และ DHA และศึกษาผลของการนำยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง มาแสดงออกในยีสต์ แล้วจึงประเมินการใช้ประโยชน์ของยีน โดยการเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของยีนในยีสต์ต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในอาร์ทีเมียที่ได้รับการเลี้ยงด้วยน้ำมันพืช

ขอบเขตของโครงการนี้จึงเป็นการโคลนยีนของเอ็นไซม์ที่ผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง โดยจะทำการโคลนยีน *fads 2* ที่ทำหน้าที่ในการสร้าง delta-6esaturase จากอาร์ทีเมีย แล้วจึงนำเอายีน *fads 2* ไปเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออก (expression) ในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อสร้างรีคอมบีแนนท์ยีสต์ (recombinant yeast) จากนั้นจึงจะนำเอารีคอมบีแนนท์ยีสต์ไปใช้ประโยชน์ในการเพิ่มองคประกอบของกรดไขมันที่จำเป็นในอาร์ทีเมีย โดยนำไปเลี้ยงอาร์ทีเมียร่วมกับน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 สูง ได้แก่ น้ำมัน flax seed ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ผลการสำรวจเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กรดไนมันไม่อิ่มตัวสูง ในอาร์ทีเมีย จะเป็นประโยชน์ในด้านการเป็นองค์ความรู้ในการวิจัยเชิงเปรียบเทียบ กับการแสดงออกของยีนในกระบวนการนี้ในสัตว์น้ำต่อไป และการนำเอายีนนี้มาเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออก (expression) ในยีสต์ โดยการผลิตรีคอมบีแนนท์ยีสต์ เป็นการผลิตผลิตภัณฑ์ที่อาจจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำต่อไป นอกจากนี้การนำเอาตรีคอมบีแนนท์ยีสต์มาเลี้ยงอาร์ทีเมียร่วมกับน้ำมันพืช เพื่อทดสอบการทำงานของเอ็นไซม์ delta-6 desaturase ในการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ยังเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงคุณภาพของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นในสัตว์น้ำทะเลวัยอ่อน จึงจะเป็นหระโยชน์ต่อการนำไปใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำทะเลวัยอ่อนต่อไป

ผลการวิจัยนี้จะถ่ายทอดไปสู่นักวิชาการและเกษตรกรที่อยู่ในกลุ่มธุรกิจการผลิตสัตว์น้ำ โดยเฉพาะสัตว์น้ำทะเล โดยการนำไปประชุมวิชาการทั้งที่จัดในประเทศและการประชุมวิชาการในระดับนานาชาติ รวมทั้งการนำไปเขียนผลงานเพื่อเผยแพร่ในวารสารวิชาการทางด้านเทคโนโลยีประมง