บทที่ 3
ผลการวิจัย

3.1 ผลการศึกษา

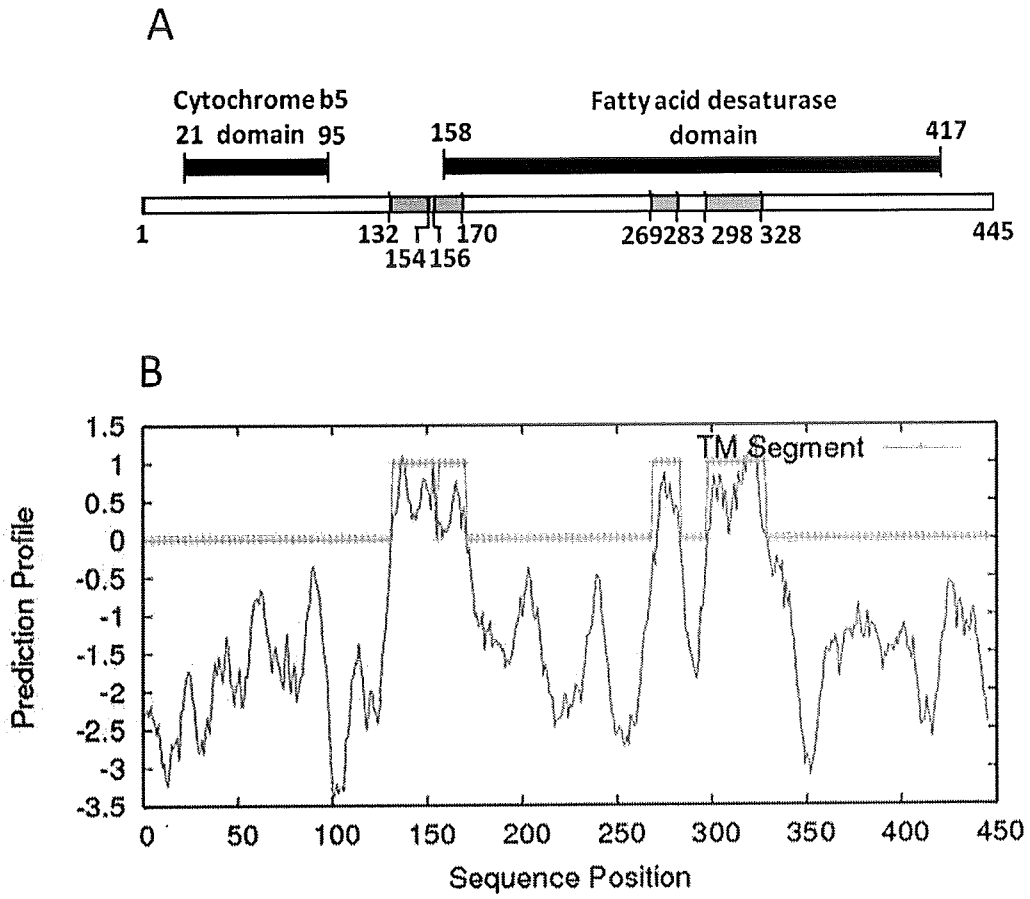
การทดลองที่ 1 การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูงในอาร์ทีเมีย

จากการโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับเอ็นไซม์ในกระบวนการสร้างกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูงในอาร์ทีเมีย โดยได้ทำการโคลนยีน *fads 2* ที่สร้างเอ็นไซม์ delta-6 desaturase โดยใช้ไพรเมอร์ที่สามารถเข้าไปจับกับบริเวณต่าง ๆ ของยีน หลายบริเวณ ได้ผลผลิตของ PCR น้อยมาก และเมื่อทำการโคลนผลผลิต PCR เพื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ก็ยังไม่ได้ชิ้นส่วนของยีนที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่น่าจะเป็นยีน *fads 2* แต่อย่างใด และเมื่อทำการโคลนยีนอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในอาร์ทีเมียได้แก่ ยีนที่สร้างเอ็นไซม์ delta-3 desaturase, delta-4 desaturase และ delta-5 desaturase ก็ไม่สามารถโคลนยีนดังกล่าวได้ ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้จึงได้ไปทำการโคลนยีน *fads 2* ที่สร้างเอ็นไซม์ delta-6 desaturase จากปลาน้ำจืด เพื่อนำมาใช้การเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในอาร์ทีเมียแทน

การศึกษาครั้งนี้ได้นำเอารีคอมบีแนนท์ยีสต์ (RY) ที่ได้มีการนำพลาสมิด pGal-onifads 2 ซึ่งมียีน *Onifads 2* เชื่อมต่อกับโปรโมเตอร์ GAL 1 ของยีสต์ ซึ่ง RY นี้จะสามารถสร้างเอ็นไซม์ delta-6 desaturase ได้เมื่อได้รับการเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลกาแลคโตส ก่อนที่จะมีการนำรีคอมบีแนนท์ยีสต์ไปใช้ในเลี้ยงอาร์ทีเมียเพื่อเปลี่ยนองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย จะมีการศึกษาโครงสร้างของยีน *oniFads2*

โครงสร้างของยีน *oniFads2* (GenBank accession no. KF268464) ประกอบด้วยส่วนที่แปรรหัสเป็นกรดอะมิโน 1338 คู่เบส ที่แปรรหัสเป็นกรดอะมิโนได้ 445 ตัว โปรตีนที่ได้จากการแปลรหัสมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 51.49 กิโลดาลตัน และมีค่า isoelectric point ที่ pH 6.43 โปรตีน Onifads 2 ประกอบด้วยส่วนของ cytochrome b5 (กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 21 ถึง 95) และส่วนของ and fatty acid desaturase domains were predicted (กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 157 ถึง 417) (ภาพที่ 3.1) ภาพที่ 3.1 แสดงการวิเคราะห์ hydrophobicity ของโปรตีน Onifads 2 ซึ่งประกอบด้วย transmembrane domains 4 แห่ง ภาพที่ 3.2 แสดงกลุ่มกรดอะมิโน HPGG ที่เป็นกลุ่มกรดอะมิโนของ cytochrome b5-like heme binding motif (กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 54 ถึง 57) ในบริเวณ cytochrome b5 domain (ภาพที่ 3.2). ภายในบริเวณ fatty acid desaturase domain มีกลุ่มกรดอะมิโนที่เป็นหมู่กรดอะมิโนอนุรักษ์สำหรับ histidine-rich boxes (HDFGH, HFRHH, QIEHH) การเปรียบเทียบความคล้ายคลึงของโปรตีน OniFads2 กับ โปรตีน Fads2 ของปลาชนิดอื่น ๆ จะมีความคล้ายคลึงอยู่ในช่วง 72.6%–80.9% (ภาพที่ 3.2) เมื่อเปรียบเทียบความ

คล้ายคลึงของส่วน cytochrome b5 domain ของโปรตีน Onifads 2 กับ โปรตีน fads 2 ในปลาอื่น จะมีความคล้ายคลึงอยู่ในช่วง



ภาพที่ 3.1 การวิเคราะห์โครงสร้างของโปรตีน Onifads 2 ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ delta-6 desaturase ของปลานิล

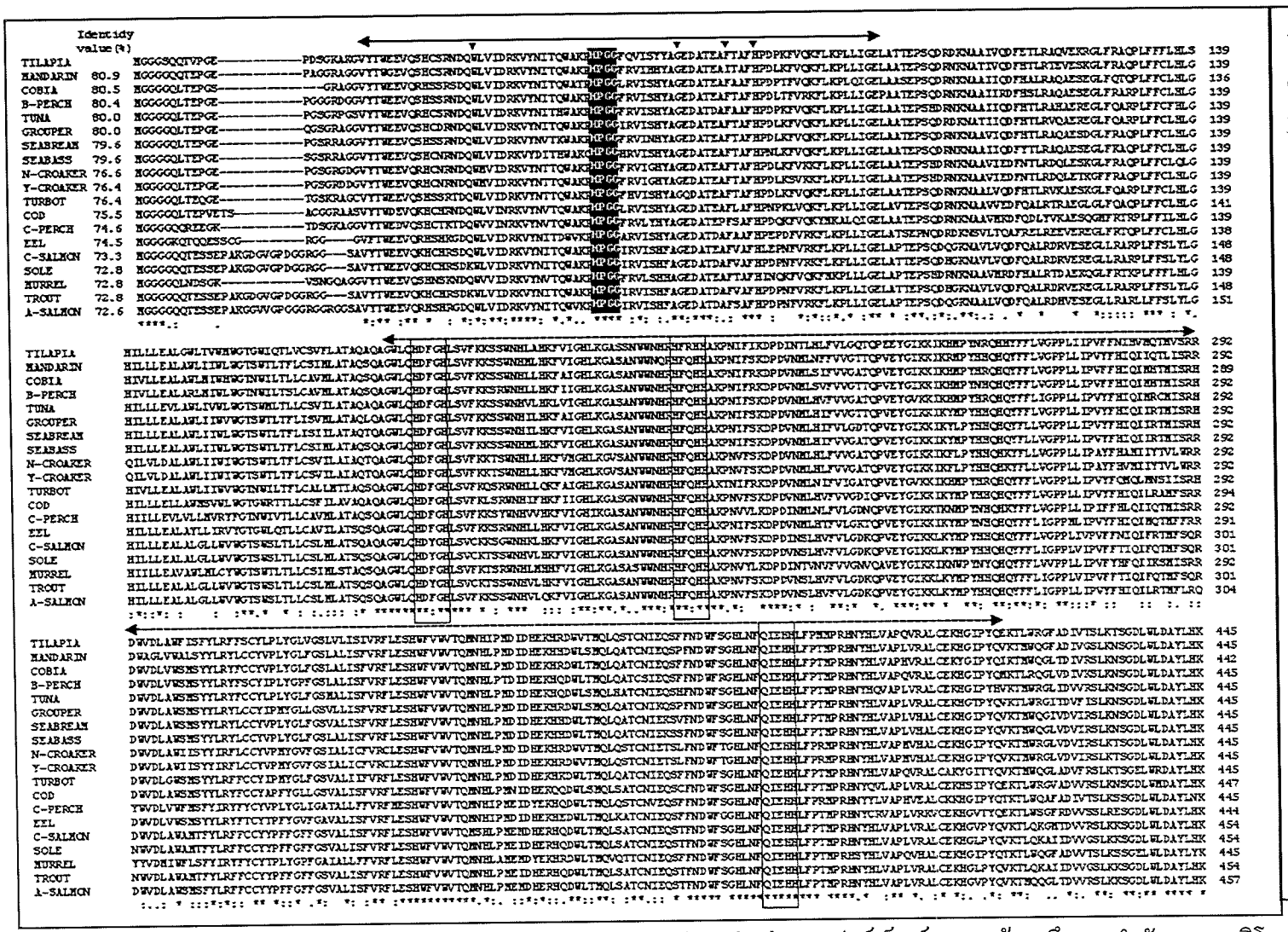
A) การวิเคราะห์โครงสร้างของโปรตีน Onifads 2 โดยใช้โปรแกรม Introproscan

B) การวิเคราะห์ hydrophobicity โดยใช้โปรแกรม SVMtm Transmembrane Domian Predictor พบว่าโปรตีน Onifads 2 ประกอบด้วยบริเวณ hydrophobic 3 บริเวณ และ บริเวณ transmembrane membrane 4 แห่ง

76%–93% และความคล้ายคลึงของส่วน fatty acid desaturase domain ของโปรตีน Onifads 2 กับ โปรตีน fads 2 ในปลาอื่น จะมีความคล้ายคลึงอยู่ในช่วง 73%–83%

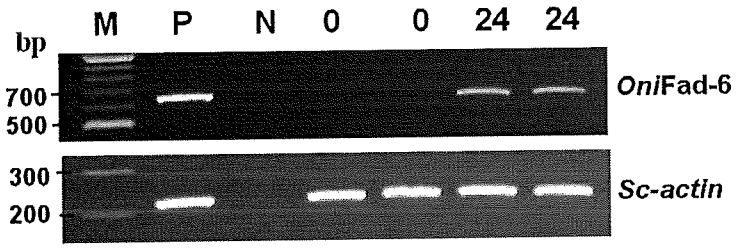
การวิเคราะห์การแสดงออกของรีคอมบีแนนท์ยีสต์ด้วยวิธี Reverse transcription PCR (RT-PCR) (ภาพที่ 3.3) ก่อนการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *onifads 2* ได้ทำการวิเคราะห์คุณภาพของ cDNA ที่เตรียมได้ โดยทำการวิเคราะห์การแสดงออกของ ยีนอ้างอิง (reference gene) ได้แก่การวิเคราะห์การแสดงออกของ mRNA ของยีน β-actin พบว่า RY ในระยะก่อนที่จะมีการเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลกาแลคโตส และหลังจากเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลกาแลคโตสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีการแสดงออกของยีนอ้างอิง (reference gene) โดยมีการผลิต mRNA ของยีน β-actin ในระดับที่ใกล้เคียง และเมื่อวิเคราห์การแสดงออกของยีน *onifads 2* พบว่ารีคอมบีแนนท์ยีสต์ (RY) ก่อนที่จะมีการเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลกาแลคโตสไม่มีการผลิต mRNA ของยีน *onifads 2* ในขณะที่ RY ที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้แสดงออกด้วยน้ำตาลกาแลคโตสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีการผลิต mRNA ของยีน *onifads 2*

การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน RY ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน เปรียบเทียบกับ RY เลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำตาลกาแลคโตสเป็นแหล่งพลังงาน แสดงดังตารางที่ 3.1 พบว่า RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลกาแลคโตสมีปริมาณไขมันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยที่ RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสมีปริมาณไขมัน เท่ากับ 4.82 ± 0.59 mg g^{-1} และ RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกาแลคโตสมีปริมาณไขมัน เท่ากับ 5.63 ± 0.28 mg g^{-1} และพบองค์ประกอบกรดไขมันหลักของ 4 ชนิด ได้แก่ C16:0, C16:1n-7, C18:0 และ C18:1n-9 ใน RY ที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลทั้ง 2 ชนิด และพบว่ากรดไขมัน C18:2n6 และ C18:3n3 มีปริมาณต่ำ ทั้งใน RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลกาแลคโตส จะเห็นได้ว่าปริมาณกรดไขมัน C18:3n6 ใน RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลกาแลคโตสมีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่จะสังเกตได้ว่าปริมาณกรดไขมัน C18:3n6 ใน RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกาแลคโตสมีปริมาณสูงกว่าปริมาณ C18:3n6 ใน RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคส นอกจากนี้พบว่า RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาล กาแลคโตส มี C18:4n3 สูงกว่า C18:4n3 ใน RY ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)



กล่องสีดำแสดง cytochrome b5-like heme-binding motif กล่องสีขาวแสดงบริเวณที่มีกรดอะมิโน Histidine มาก (histidine rich areas) ลูกศรสีดำแสดง cytochrome b5 domain และลูกศรเส้นประแสดง fatty acid desaturase domain เครื่องหมาย (*), (:) และ (.) แสดงว่ากรดอะมิโนที่เปรียบเทียบมีความคล้ายคลึงกันทั้งหมด, มีความคล้ายคลึงกันสูง และ มีความคล้ายคลึงกันน้อยตามลำดับ

ภาพที่ 3.2 การเปรียบเทียบโปรตีน OniFads 2 กับโปรตีน Fads 2 ของปลาชนิดต่าง ๆ เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโนของ Onifads กับ Fads ของปลาแต่ละชนิดแสดงดังตัวเลขหน้าลำดับกรดอะมิโนของปลาแต่ละชนิด



ภาพที่ 3.3 การวิเคราะห์การแสดงออกของรีคอมบีแนนท์ยีสต์ด้วยวิธี Reverse transcription PCR (RT-PCR) รีคอมบีแนนท์ยีสต์ (RY) ก่อนที่จะมีการเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลกาแลคโตส (0) ไม่มีการผลิต mRNA ของยีน *onifads 2* ในขณะที่ RY ที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้แสดงออกด้วยน้ำตาลกาแลคโตสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24) มีการผลิต mRNA ของยีน *onifads 2* การวิเคราะห์คุณภาพของ cDNA ที่เตรียมได้ โดยทำการวิเคราะห์การแสดงออกของ ยีน β-actin พบว่า RY ในระยะก่อนที่จะมีการเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลกาแลคโตส (0) และหลังจากเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลกาแลคโตสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24) มีการแสดงออกของ ของยีน β-actin ในระดับที่ใกล้เคียง

M คือดีเอ็นเอเครื่องหมายบอกขนาด

P คือ ปฏิกิริยา PCR ที่มีการใส่พลาสมิดที่มียีน *onifads 2* (positive control)

N คือ ปฏิกิริยา PCR ที่ไม่มีการใส่น้ำกลั่นแทนการใส่ดีเอ็นเอ (negative control)

0 คือ ปฏิกิริยา PCR ที่มีการใส่ cDNA ของ RY ก่อนที่จะได้รับการเหนี่ยวน้ำด้วยน้ำตาลกาแลคโตส

24 คือ ปฏิกิริยา PCR ที่มีการใส่ cDNA ของ RY ที่ได้รับการเหนี่ยวน้ำด้วยน้ำตาลกาแลคโตสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของกรดไขมันของรีคอมบีแนนท์ยีสต์ (RY) (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

อาหารเลี้ยงเชื้อ	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2n6	C18:3n6	C18:3n3	C18:4n3
Glucose Sc-Ura	252.49 ± 34.25	310.10 ± 22.36	70.35 ± 5.67	213.09 ± 23.39	7.10 ± 0.47	0.36 ± 0.11	1.00 ± 0.20	0.32 ± 0.09[a]
Galactose Sc-Ura	197.24 ± 6.56	353.79 ± 31.49	51.48 ± 1.57	225.23 ± 11.20	8.04 ± 0.27	0.55 ± 0.08	1.27 ± 0.22	15.32 ± 0.60[b]

Glucose Sc-Ura คือ RY ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใส่น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน

Galactose Sc-Ura คือ RY ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใส่น้ำตาลกาแลคโตสเป็นแหล่งพลังงาน

การทดลองที่ 2 การนำเอารีคอมบีแนนท์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีพลาสมิดเวกเตอร์ที่มียีน *fads 2* ที่สามารถผลิตเอ็นไซม์ delta-6 desaturase จากปลานิล มาเลี้ยงอาร์ทีเมียร่วมกับน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูง เพื่อศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย

2.1 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย

การศึกษาครั้งนี้ได้นำยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับความหนาแน่นต่าง ๆ ได้แก่ 5 x 10^3, 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ไปเลี้ยงอาร์ทีเมียเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ผลแสดงดังตารางที่ 3.2-3.4

ที่ระยะเวลาการเลี้ยงอาร์ทีเมียที่ 12 และ 18 ชั่วโมง พบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์มีกรดไขมัน C18:1n9 สูงกว่าอาร์ทีเมียที่ได้รับยีสต์ปกติ (กลุ่มควบคุม) ที่ทุกระดับความหนาแน่น และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ทุกระดับความหนาแน่นมีกรดไขมันกลุ่ม n6 ได้แก่ C18:2n6, C18:3n6, C20:3n6 และ C20:4n6 สูงกว่าอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุม และยังพบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ทุกระดับความหนาแน่นมีกรดไขมันกลุ่ม n3 ได้แก่ C18:3n3, C18:4n3, C20:3n3, C20:5n3 สูงกว่าอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุม โดยที่สามารถพบ C22:6n3ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ทุกระดับความหนาแน่น แต่ไม่พบในอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีกรดไขมัน C20:0, C20:1, C20:2, C22:0, C22:1n9, C22:2, C24:0 และ C24:1 สูงกว่าอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยยีสต์ปกติความหนาแน่นเท่ากัน อย่างไรก็ตามปริมาณกรดไขมันเหล่านี้ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์รีคอมบีแนนท์และยีสต์ปกติที่ระดับความหนาแน่นของยีสต์ที่ระดับอื่นไม่แตกต่างกันมากนัก

ที่ระยะเวลาการเลี้ยงอาร์ทีเมียที่ 24 ชั่วโมง พบว่า กรดไขมัน C18:1n9 ของอาร์ทีเมียทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับกรดไขมันในกลุ่ม n6 พบว่า C18:2n6 และ C20:3n6 ของอาร์ทีเมียทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มี C18:3n6 สูงกว่าอาร์ทีเมียที่ได้รับยีสต์ปกติ (กลุ่มควบคุม) และสำหรับกรดไขมันในกลุ่ม n3 พบว่า C18:3n3, C18:4n3, C20:3n3 และ C20:5n3 ของอาร์ทีเมียทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังสามารถพบ C22:6n3 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ทุกระดับความหนาแน่น แต่ไม่พบในอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุม

ที่ระยะเวลาการเลี้ยงที่ 24 ชั่วโมงนี้ กลับพบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีกรดไขมัน C20:0, C20:1, C20:2, C22:0, C22:1n9, C22:2, C24:0 และ C24:1 ต่ำกว่าอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยยีสต์ปกติความหนาแน่นเท่ากัน ในขณะที่ปริมาณ

กรดไขมันเหล่านี้ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์รัคอมบีแนนท์และยีสต์ปกติที่ระดับความหนาแน่นของยีสต์ที่ระดับอื่นไม่แตกต่างกันมากนัก

เมื่อทำการเปรียบเทียบสัดส่วนของกรดไขมันระหว่าง C18:2n6 และ C18:3n6 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตามลำดับของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase (ภาพที่ 3.4) พบว่าสัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์มีแนวโน้มจะสูงกว่า สัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 ในอาร์ทีเมียในกลุ่มควบคุม และพบว่าในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีค่าสัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 สูงกว่าอาร์ทีเมียในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อทำการเปรียบเทียบสัดส่วนของกรดไขมันระหว่าง C18:3n3 และ C18:3n3 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตามลำดับของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase (ภาพที่ 3.5) พบว่าสัดส่วนของ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์มีแนวโน้มจะสูงกว่า สัดส่วนของ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ในอาร์ทีเมียในกลุ่มควบคุม และพบว่าในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง มีค่าสัดส่วนของ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 สูงกว่าอาร์ทีเมียในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3.2 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	5×10^3	5×10^4	5×10^5	5×10^3	5×10^4	5×10^5
C18:1n9	33.48 ± 1.60 ^{a}	47.08 ± 2.06 ^{c}	40.27 ± 4.73 ^{b}	51.95 ± 4.23 ^{cd}	78.96 ± 4.02 ^{d}	54.14 ± 3.97 ^{c}
C18:2n6	10.11 ± 1.92 ^{a}	13.28 ± 1.83 ^{ab}	10.97 ± 1.04 ^{a}	16.58 ± 3.15 ^{b}	21.39 ± 2.94 ^{c}	15.37 ± 1.46 ^{b}
C18:3n6	0.58 ± 0.05 ^{a}	0.88 ± 0.09 ^{bc}	0.67 ± 0.10 ^{ab}	0.97 ± 0.09 ^{c}	1.59 ± 0.17 ^{d}	1.94 ± 0.29 ^{e}
C20:3n6	2.45 ± 0.12 ^{a}	3.90 ± 0.56 ^{c}	3.60 ± 0.99 ^{c}	3.17 ± 0.15 ^{b}	4.29 ± 0.17 ^{d}	4.37 ± 0.50 ^{d}
C20:4n6	1.53 ± 0.07 ^{a}	2.54 ± 0.36 ^{b}	1.79 ± 0.31 ^{a}	2.43 ± 0.12 ^{b}	3.26 ± 0.13 ^{c}	3.77 ± 0.45 ^{d}
C18:3n3	36.82 ± 7.31 ^{a}	49.36 ± 4.60 ^{ab}	38.44 ± 3.03 ^{a}	62.92 ± 12.50 ^{b}	84.22 ± 7.85 ^{c}	59.31 ± 4.67 ^{b}
C18:4n3	5.20 ± 0.96 ^{a}	7.68 ± 1.42 ^{ab}	5.20 ± 0.96 ^{a}	9.10 ± 1.68 ^{b}	13.39 ± 2.47 ^{c}	9.84 ± 1.82 ^{b}
C20:3n3	0.28 ± 0.01	0.40 ± 0.06	nd	0.32 ± 0.02	1.23 ± 0.05	0.98 ± 0.12
C20:5n3	3.48 ± 0.17 ^{a}	5.63 ± 0.81 ^{b}	5.83 ± 1.00 ^{b}	5.29 ± 0.26 ^{b}	7.16 ± 0.29 ^{c}	5.67 ± 0.67 ^{b}
C22:6n3	nd	nd	nd	0.10 ± 0.00	0.20 ± 0.01	0.34 ± 0.04

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	5×10^3	5×10^4	5×10^5	5×10^3	5×10^4	5×10^5
C20:0	0.45 ± 0.08^{a}	0.59 ± 0.11^{a}	0.66 ± 0.12^{a}	0.47 ± 0.09^{a}	1.34 ± 0.25^{c}	0.98 ± 0.18^{b}
C20:1	1.26 ± 0.06^{a}	1.82 ± 0.26^{b}	1.61 ± 0.28^{ab}	2.23 ± 0.11^{c}	3.88 ± 0.16^{d}	2.27 ± 0.27^{c}
C20:2	0.68 ± 0.03^{a}	0.99 ± 0.14^{b}	0.68 ± 0.12^{a}	0.81 ± 0.04^{ab}	2.19 ± 0.09^{c}	1.60 ± 0.19^{d}
C22:0	0.33 ± 0.02	0.66 ± 0.09	nd	0.51 ± 0.02	0.59 ± 0.02	1.33 ± 0.16
C22:1n9	0.37 ± 0.02	0.13 ± 0.02	nd	0.16 ± 0.01	0.24 ± 0.01	1.59 ± 0.19
C22:2	0.41 ± 0.02^{d}	0.02 ± 0.00^{a}	0.31 ± 0.05^{c}	0.20 ± 0.01^{b}	0.08 ± 0.00^{a}	0.64 ± 0.08^{e}
C24:0	nd	0.10 ± 0.01	nd	0.05 ± 0.00	0.20 ± 0.01	0.65 ± 0.08
C24:1	nd	nd	nd	0.17 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.62 ± 0.07
% lipid	10.54 ± 1.25	10.01 ± 1.85	10.97 ± 1.49	9.86 ± 1.84	10.46 ± 1.90	9.23 ± 1.76

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.3 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 18 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	5×10^3	5×10^4	5×10^5	5×10^3	5×10^4	5×10^5
C18:1n9	38.24 ± 2.21^{b}	47.61 ± 5.59^{c}	42.69 ± 2.47^{bc}	20.97 ± 1.54^{a}	100.49 ± 5.12^{e}	60.05 ± 5.38^{d}
C18:2n6	9.90 ± 0.94^{b}	13.11 ± 1.39^{bc}	11.10 ± 1.68^{b}	5.40 ± 0.51^{a}	30.00 ± 3.18^{d}	16.11 ± 2.44^{c}
C18:3n6	0.91 ± 0.14^{bc}	0.73 ± 0.11^{b}	0.67 ± 0.09^{b}	0.33 ± 0.05^{a}	2.01 ± 0.30^{d}	1.07 ± 0.15^{c}
C20:3n6	3.76 ± 0.18^{a}	4.12 ± 0.17^{a}	3.46 ± 0.39^{a}	3.19 ± 0.13^{a}	6.71 ± 0.55^{b}	3.78 ± 0.45^{a}
C20:4n6	0.89 ± 0.04^{a}	2.15 ± 0.09^{b}	1.91 ± 0.21^{b}	0.94 ± 0.09^{a}	4.73 ± 0.39^{d}	3.58 ± 0.42^{c}
C18:3n3	36.43 ± 2.87^{b}	46.58 ± 2.86^{c}	46.39 ± 4.85^{c}	22.12 ± 1.74^{a}	107.28 ± 6.59^{e}	72.65 ± 7.60^{d}
C18:4n3	5.21 ± 0.96^{a}	6.76 ± 1.25^{ab}	6.51 ± 1.20^{ab}	3.16 ± 0.58^{a}	21.89 ± 4.05^{c}	10.00 ± 1.85^{b}
C20:3n3	nd	0.37 ± 0.02	0.36 ± 0.04	0.14 ± 0.01	0.79 ± 0.06	0.47 ± 0.06
C20:5n3	2.54 ± 0.12^{a}	5.54 ± 0.22^{bc}	4.66 ± 0.52^{b}	2.30 ± 0.22^{a}	9.64 ± 0.79^{d}	5.89 ± 0.70^{c}
C22:6n3	nd	nd	nd	0.01 ± 0.00	0.59 ± 0.05	0.36 ± 0.04

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.3 **(ต่อ)**

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	**5×10^3**	**5×10^4**	**5×10^5**	**5×10^3**	**5×10^4**	**5×10^5**
C20:0	0.44 ± 0.08	1.50 ± 0.28	0.86 ± 0.16	0.43 ± 0.08	2.20 ± 0.41	1.27 ± 0.23
C20:1	1.18 ± 0.06^{ab}	1.68 ± 0.07^{c}	1.46 ± 0.16^{bc}	0.76 ± 0.07^{a}	4.80 ± 0.39^{e}	3.42 ± 0.41^{d}
C20:2	nd	0.93 ± 0.04	0.86 ± 0.10	0.34 ± 0.03	2.80 ± 0.09	1.08 ± 0.13
C22:0	nd	1.01 ± 0.04	0.66 ± 0.07	0.28 ± 0.03	1.56 ± 0.13	0.61 ± 0.07
C22:1n9	nd	nd	nd	0.06 ± 0.01	0.31 ± 0.03	0.92 ± 0.11
C22:2	nd	nd	nd	0.02 ± 0.00	0.45 ± 0.04	0.61 ± 0.07
C24:0	nd	nd	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.49 ± 0.06
C24:1	nd	nd	nd	0.03 ± 0.00	0.88 ± 0.07	0.69 ± 0.08
% lipid	9.83 ± 1.18	9.33 ± 1.75	10.24 ± 1.40	9.19 ± 1.73	9.75 ± 1.80	8.60 ± 1.66

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.4 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

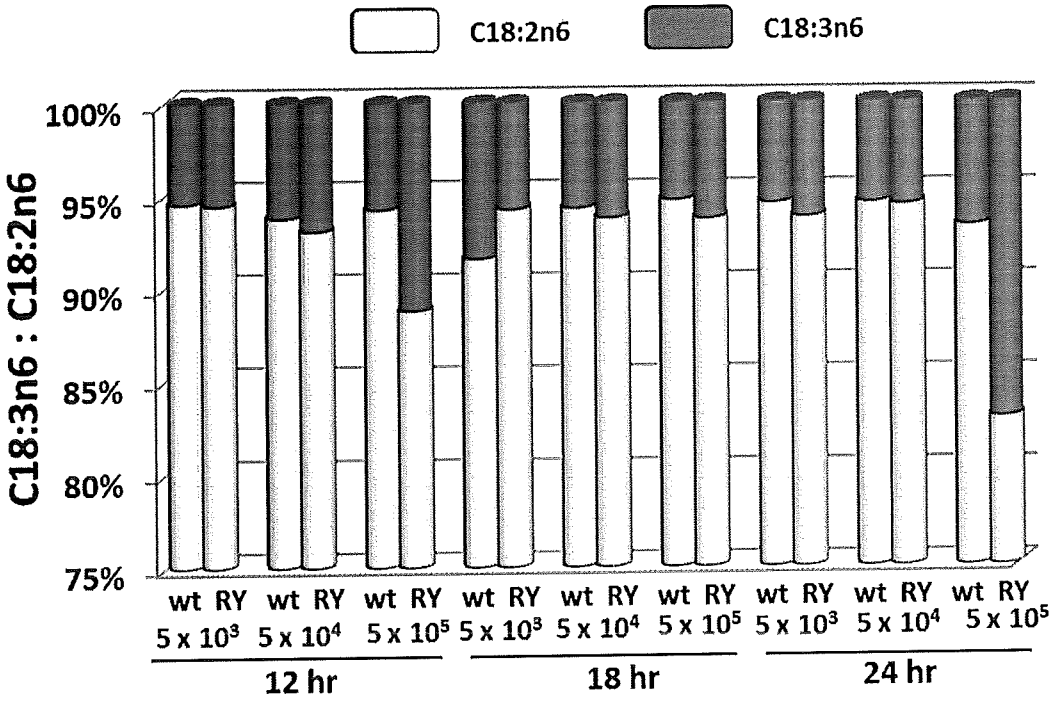
กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	5×10^3	5×10^4	5×10^5	5×10^3	5×10^4	5×10^5
C18:1n9	29.10 ± 1.68^{b}	41.04 ± 1.96^{c}	47.91 ± 2.09^{d}	20.99 ± 1.88^{a}	49.87 ± 4.06^{d}	39.36 ± 3.52^{c}
C18:2n6	7.13 ± 1.08^{a}	11.31 ± 1.68^{b}	12.67 ± 1.74^{b}	5.45 ± 0.82^{a}	13.78 ± 2.04^{b}	11.15 ± 1.53^{b}
C18:3n6	0.41 ± 0.06^{a}	0.65 ± 0.06^{b}	0.91 ± 0.10^{c}	0.36 ± 0.05^{a}	0.81 ± 0.08^{bc}	2.29 ± 0.24^{d}
C20:3n6	3.32 ± 0.32^{b}	4.46 ± 0.36^{c}	5.06 ± 0.24^{d}	3.16 ± 0.23^{ab}	3.11 ± 0.37^{ab}	2.65 ± 0.30^{a}
C20:4n6	1.52 ± 0.15^{ab}	2.08 ± 0.17^{bc}	2.27 ± 0.11^{c}	1.24 ± 0.18^{a}	5.24 ± 0.62^{e}	4.24 ± 0.47^{d}
C18:3n3	28.86 ± 3.02^{ab}	37.41 ± 7.43^{ab}	41.78 ± 3.90^{b}	23.79 ± 2.49^{a}	82.34 ± 16.35^{c}	39.78 ± 3.71^{b}
C18:4n3	4.19 ± 0.77^{ab}	6.07 ± 1.12^{bc}	7.53 ± 139^{c}	3.18 ± 0.59^{a}	14.05 ± 2.60^{d}	8.00 ± 1.48^{c}
C20:3n3	0.30 ± 0.03^{c}	0.42 ± 0.03^{d}	0.46 ± 0.02^{d}	0.15 ± 0.02^{a}	0.33 ± 0.04^{c}	0.23 ± 0.03^{b}
C20:5n3	4.30 ± 0.41^{b}	5.89 ± 0.48^{c}	6.71 ± 0.32^{d}	2.33 ± 0.33^{a}	6.10 ± 0.07^{d}	4.02 ± 0.45^{b}
C22:6n3	nd	nd	nd	nd	0.16 ± 0.02	1.40 ± 0.16

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

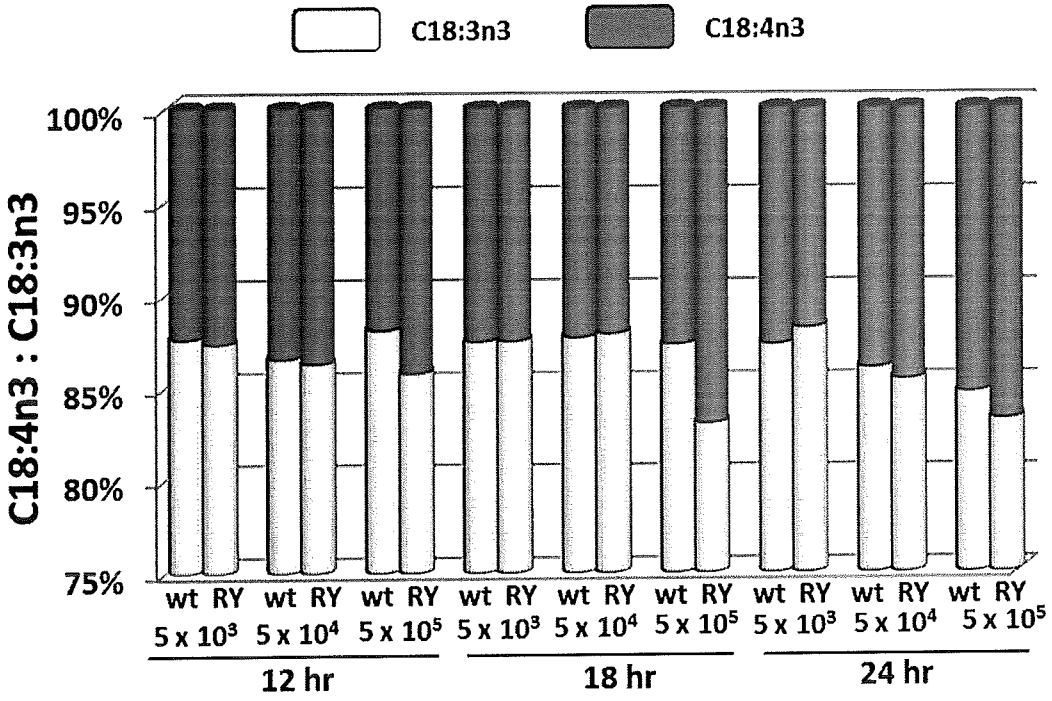
ตารางที่ 3.4 **(ต่อ)**

กรดไขมัน	**อาร์ทีเมีย + ยีสต์**			**อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์**		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	**5×10^3**	**5×10^4**	**5×10^5**	**5×10^3**	**5×10^4**	**5×10^5**
C20:0	0.58 ± 0.11^{abc}	0.81 ± 0.15^{cd}	1.01 ± 0.19^{d}	0.44 ± 0.08^{a}	0.71 ± 0.13^{bc}	0.47 ± 0.09^{ab}
C20:1	1.18 ± 0.11^{b}	1.60 ± 0.13^{d}	1.79 ± 0.09^{c}	0.84 ± 0.12^{a}	1.70 ± 0.20^{c}	1.16 ± 0.13^{b}
C20:2	0.72 ± 0.07^{b}	1.03 ± 0.08^{cd}	1.10 ± 0.05^{d}	0.41 ± 0.06^{a}	0.94 ± 0.11^{c}	0.64 ± 0.07^{b}
C22:0	0.58 ± 0.06	0.92 ± 0.08	0.90 ± 0.04	0.28 ± 0.04	1.17 ± 0.14	0.26 ± 0.03
C22:1n9	nd	nd	0.39 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.89 ± 0.11	1.04 ± 0.12
C22:2	nd	nd	0.76 ± 0.04	1.18 ± 0.17	0.54 ± 0.06	0.59 ± 0.07
C24:0	0.04 ± 0.00	0.16 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.09 ± 0.01	0.35 ± 0.04	nd
C24:1	nd	nd	0.71 ± 0.03	0.35 ± 0.05	0.46 ± 0.05	0.49 ± 0.05
% lipid	7.66 ± 1.01	7.24 ± 1.51	8.02 ± 1.20	7.12 ± 1.49	7.60 ± 1.55	6.61 ± 1.43

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน



ภาพที่ 3.4 สัดส่วนของกรดไขมันระหว่าง C18:3n6 ต่อ C18:2n6 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตามลำดับของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์ปกติ (wt) และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ (RY) ที่ระดับความหนาแน่น 5×10^3, 5×10^4 และ 5×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 3.5 สัดส่วนของกรดไขมันระหว่าง C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตามลำดับของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์ปกติ (wt) และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ (RY) ที่ระดับความหนาแน่น 5 x 10^3, 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง

2.2 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยน้ำมันลินินหรือน้ำมันปลาต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วย**น้ำมันลินินหรือน้ำมันปลา** เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ผลแสดงดังตารางที่ 3.5-3.7

ที่ระยะเวลาการเลี้ยงอาร์ทีเมียที่ 12ชั่วโมง พบว่าอาร์ทีเมียที่ไม่ได้รับน้ำมันอะไรเลยมีกรดไขมัน C18:1n9 สูงกว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมัยปลาและน้ำมันลินิน แต่เมื่อเวลาผ่านไปเป็น 18 และ 24 ชั่วโมง พบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันลินิมีกรดไขมัน C18:1n9 สูงขึ้น

อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันลินินจะมีกรดไขมัน C18:2n6 และ C18:3n3 สูงกว่าอาร์ทีเมียในกลุ่มทดลองอื่น ๆ และจะเห็นได้ว่าอาร์เมียที่ได้รับน้ำมันลินินเป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง จะมีกรดไขมัน C18:2n6 สูงขึ้น และมีปริมาณลดลงที่ระยะเวลาการเลี้ยง 24 ชั่วโมง อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันลินินมีกรดไขมัน C18:3n3 ในปริมาณสูงกว่าอาร์ทีเมียในกลุ่มอื่นทุกช่วงเวลาที่ทำการวิเคราะห์ในการทดลอง นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันลินินทุกช่วงระยะเวลาการทดลอง มีค่าสัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 และ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับอาร์ทีเมียที่ไม่ได้รับน้ำมันอะไรเลย ในขณะที่อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันปลามีค่าสัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 และ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอาร์ทีเมียที่ไม่ได้รับน้ำมันอะไรเลย (ภาพที่ 3.6-3.7)

อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันปลามีกรดไขมัน C20:5n3 และ C22:6n3 สูงกว่าอาร์ทีเมียกลุ่มอื่น ๆ ตลอดระยะเวลาทดลอง (ตารางที่ 3.5-3.7)

กรดไขมันอื่น ๆ ได้แก่ C20:3n6, C20:4n6, C20:3n3, C20:0, C20:1, C20:2, C22:0, C22:1n9, C22:2, C24:0 และ C24:1ไม่แตกต่างกันมากนักระหว่างอาร์ทีเมียในกลุ่มควบคุม อาร์ทีเมียที่ได้รับน้ำมันปลา และอาร์ทีเมียที่ได้รับน้ำมันลินิน ในแต่ละช่วงระยะเวลาการทดลองต่าง ๆ (ตารางที่ 3.5-3.7)

ตารางที่ 3.5 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยน้ำมันลินินหรือน้ำมันปลาต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

กรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	อาร์ทีเมีย	อาร์ทีเมีย + น้ำมันปลา	อาร์ทีเมีย + น้ำมันลินิน
C18:1n9	81.23 ± 1.20 ^{c}	46.86 ± 2.32 ^{a}	58.20 ± 2.31 ^{b}
C18:2n6	21.70 ± 2.37 ^{b}	10.70 ± 1.17 ^{a}	36.96 ± 4.04 ^{c}
C18:3n6	1.31 ± 0.12 ^{c}	0.83 ± 0.09 ^{b}	0.60 ± 0.09 ^{a}
C20:3n6	4.88 ± 0.55 ^{b}	5.63 ± 0.54 ^{b}	1.49 ± 0.12 ^{a}
C20:4n6	3.27 ± 0.37 ^{b}	1.91 ± 0.18 ^{a}	2.31 ± 0.19 ^{a}
C18:3n3	87.77 ± 17.43 ^{b}	34.40 ± 3.20 ^{a}	115.70 ± 9.11 ^{b}
C18:4n3	11.77 ± 2.17 ^{c}	7.68 ± 1.42 ^{b}	4.37 ± 0.81 ^{a}
C20:3n3	0.47 ± 0.05 ^{b}	0.75 ± 0.07 ^{c}	0.17 ± 0.01 ^{a}
C20:5n3	7.26 ± 0.82 ^{b}	96.62 ± 9.29 ^{c}	0.84 ± 0.07 ^{a}
C22:6n3	0.08 ± 0.01 ^{b}	30.11 ± 2.90 ^{c}	0.05 ± 0.00 ^{a}
C20:0	1.18 ± 0.22 ^{b}	0.69 ± 0.13 ^{a}	0.50 ± 0.09 ^{a}
C20:1	2.51 ± 0.28 ^{b}	3.28 ± 0.32 ^{c}	1.30 ± 0.11 ^{a}
C20:2	1.19 ± 0.13 ^{b}	1.25 ± 0.12 ^{b}	0.78 ± 0.06 ^{a}
C22:0	0.91 ± 0.10 ^{b}	0.50 ± 0.05 ^{a}	2.45 ± 0.20 ^{c}
C22:1n9	0.21 ± 0.02 ^{a}	0.50 ± 0.05 ^{c}	0.34 ± 0.03 ^{b}
C22:2	0.03 ± 0.00 ^{a}	0.02 ± 0.00 ^{a}	0.08 ± 0.01 ^{b}
C24:0	0.17 ± 0.02 ^{a}	0.41 ± 0.04 ^{b}	0.15 ± 0.01 ^{a}
C24:1	0.10 ± 0.01 ^{b}	0.43 ± 0.04 ^{c}	0.04 ± 0.00 ^{a}
% lipid	8.80 ± 1.34	9.61 ± 1.81	9.59 ± 1.32

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.6 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยน้ำมันลินินหรือน้ำมันปลาต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 18 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

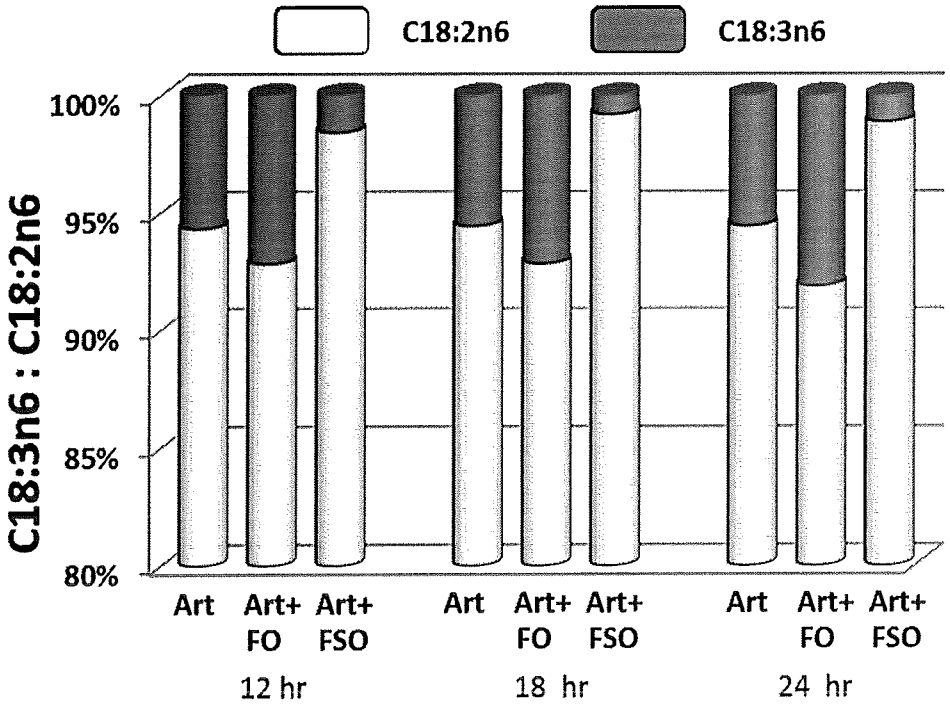
กรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	อาร์ทีเมีย	อาร์ทีเมีย + น้ำมันปลา	อาร์ทีเมีย + น้ำมันลินิน
C18:1n9	75.78 ± 3.00 ^{b}	62.18 ± 0.92 ^{a}	81.14 ± 6.67 ^{b}
C18:2n6	21.15 ± 2.31 ^{a}	13.32 ± 1.46 ^{a}	75.00 ± 8.20 ^{b}
C18:3n6	1.25 ± 0.19 ^{b}	1.03 ± 0.15 ^{b}	0.62 ± 0.09 ^{a}
C20:3n6	5.33 ± 0.26 ^{b}	7.50 ± 1.07 ^{c}	1.08 ± 0.18 ^{a}
C20:4n6	3.62 ± 0.17 ^{c}	2.33 ± 0.33 ^{b}	1.83 ± 0.31 ^{a}
C18:3n3	88.21 ± 6.95 ^{b}	47.99 ± 2.95 ^{a}	136.83 ± 14.31 ^{c}
C18:4n3	11.88 ± 2.19 ^{b}	10.42 ± 1.93 ^{b}	3.88 ± 0.72 ^{a}
C20:3n3	0.50 ± 0.02 ^{b}	1.07 ± 0.15 ^{c}	0.15 ± 0.03 ^{a}
C20:5n3	8.02 ± 0.39 ^{a}	100.03 ± 14.32 ^{b}	1.90 ± 0.33 ^{a}
C22:6n3	0.04 ± 0.00 ^{a}	46.76 ± 6.70 ^{b}	0.06 ± 0.01 ^{a}
C20:0	0.82 ± 0.15 ^{a}	1.24 ± 0.23 ^{b}	0.74 ± 0.14 ^{a}
C20:1	2.59 ± 0.12 ^{b}	5.05 ± 0.72 ^{c}	1.32 ± 0.23 ^{a}
C20:2	1.28 ± 0.06 ^{b}	1.69 ± 0.24 ^{c}	0.63 ± 0.11 ^{a}
C22:0	0.75 ± 0.04 ^{ab}	0.84 ± 0.12 ^{b}	0.61 ± 0.10 ^{a}
C22:1n9	0.18 ± 0.01 ^{a}	0.84 ± 0.12 ^{c}	0.39 ± 0.07 ^{b}
C22:2	0.08 ± 0.00 ^{b}	0.05 ± 0.01 ^{a}	0.19 ± 0.03 ^{c}
C24:0	0.17 ± 0.01 ^{a}	0.12 ± 0.02 ^{a}	0.34 ± 0.06 ^{b}
C24:1	0.07 ± 0.00 ^{a}	0.82 ± 0.12 ^{b}	0.02 ± 0.00 ^{a}
% lipid	8.19 ± 1.27	8.95 ± 1.71	8.93 ± 1.24

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ภายในแถวเดียวกัน

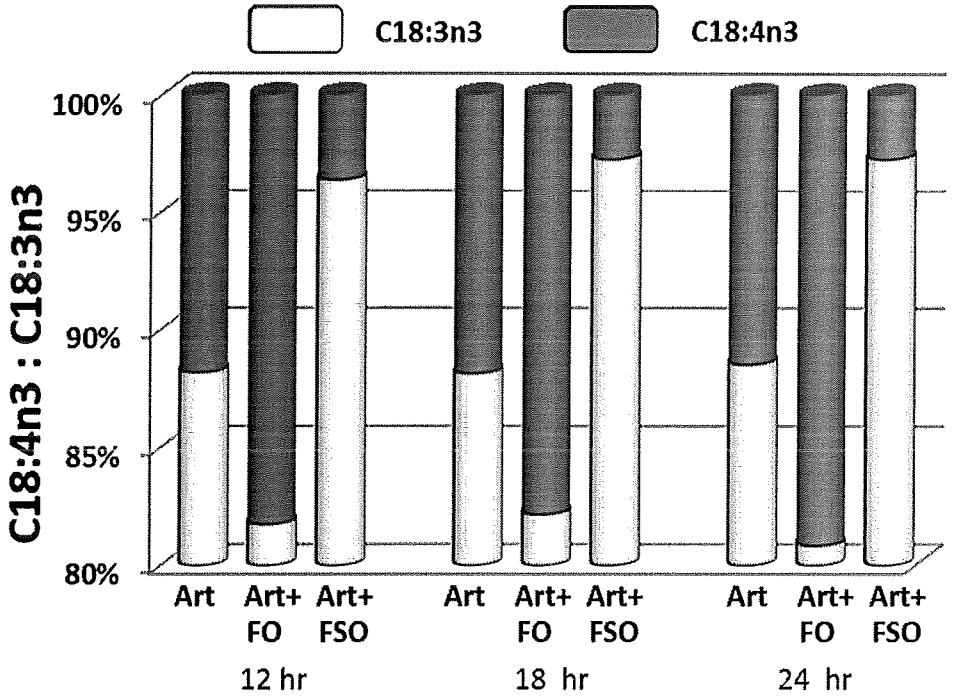
ตารางที่ 3.7 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยน้ำมันลินินหรือน้ำมันปลาต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

กรดไขมัน (มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	อาร์ทีเมีย	อาร์ทีเมีย + น้ำมันปลา	อาร์ทีเมีย + น้ำมันลินิน
C18:1n9	60.54 ± 4.98 ^{b}	49.40 ± 0.73 ^{a}	72.58 ± 3.59 ^{c}
C18:2n6	15.24 ± 1.67 ^{a}	9.84 ± 1.08 ^{a}	49.79 ± 5.44 ^{b}
C18:3n6	0.90 ± 0.12 ^{b}	0.87 ± 0.08 ^{b}	0.57 ± 0.06 ^{a}
C20:3n6	5.07 ± 0.25 ^{b}	7.51 ± 0.30 ^{c}	1.20 ± 0.13 ^{a}
C20:4n6	3.04 ± 0.15 ^{b}	1.54 ± 0.06 ^{a}	1.83 ± 0.21 ^{a}
C18:3n3	69.55 ± 7.27 ^{b}	41.44 ± 8.23 ^{a}	136.91 ± 12.75 ^{c}
C18:4n3	9.02 ± 1.67 ^{b}	9.82 ± 1.81 ^{b}	3.86 ± 0.71 ^{a}
C20:3n3	0.47 ± 0.02 ^{b}	1.10 ± 0.04 ^{c}	0.17 ± 0.02 ^{a}
C20:5n3	7.28 ± 0.35 ^{b}	101.73 ± 4.11 ^{c}	2.02 ± 0.23 ^{a}
C22:6n3	0.19 ± 0.01 ^{a}	59.47 ± 2.40 ^{b}	0.05 ± 0.01 ^{a}
C20:0	0.70 ± 0.13 ^{a}	1.44 ± 0.27 ^{b}	0.59 ± 0.11 ^{a}
C20:1	2.15 ± 0.10 ^{b}	4.69 ± 0.19 ^{c}	1.24 ± 0.14 ^{a}
C20:2	1.18 ± 0.06 ^{b}	1.55 ± 0.06 ^{c}	0.63 ± 0.07 ^{a}
C22:0	0.63 ± 0.03 ^{b}	1.12 ± 0.05 ^{c}	0.42 ± 0.05 ^{a}
C22:1n9	0.15 ± 0.01 ^{a}	0.92 ± 0.04 ^{b}	0.15 ± 0.02 ^{a}
C22:2	0.03 ± 0.00 ^{a}	0.08 ± 0.00 ^{b}	0.10 ± 0.01 ^{c}
C24:0	0.17 ± 0.01 ^{b}	0.09 ± 0.00 ^{a}	0.20 ± 0.02 ^{b}
C24:1	0.54 ± 0.03 ^{b}	1.06 ± 0.04 ^{c}	0.04 ± 0.00 ^{a}
% lipid	6.25 ± 1.09	6.91 ± 1.47	6.90 ± 1.07

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน



ภาพที่ 3.6 สัดส่วนของกรดไขมันระหว่าง C18:3n6 ต่อ C18:2n6 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตามลำดับของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase ในอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับน้ำมัน) (Art) อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันปลา (Art+FO) และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงน้ำมันลินิน (Art+FSO) ที่ระยะเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 3.7 สัดส่วนของกรดไขมันระหว่าง C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตามลำดับของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase ในอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับน้ำมัน) (Art) อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันปลา (Art+FO) และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงน้ำมันลินิน (Art+FSO) ที่ระยะเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง

2.3 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ร่วมกับน้ำมันลินินต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย

การศึกษาครั้งนี้ได้นำยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับความหนาแน่นต่าง ๆ ได้แก่ 5 x 10^3, 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มาเลี้ยงอาร์ทีเมียร่วมกับน้ำมันลินิน เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ผลแสดงดังตารางที่ 3.8-3.10

ที่ระยะเวลาการเลี้ยงอาร์ทีเมียที่ 12และ 18 ชั่วโมง พบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ทุกระดับความหนาแน่นร่วมกับน้ำมันลินิน มีกรดไขมัน C18:3n6 และ C18:4n3 สูงกว่ากรดไขมันดังกล่าวในอาร์ทีเมียที่ได้รับยีสต์ปกติ (กลุ่มควบคุม) ร่วมกับน้ำมันลินิน แต่กลับพบว่าที่ระยะเวลาการเลี้ยง 24 ชั่วโมง ระดับกรดไขมัน C18:3n6 และ C18:4n3 ไม่แตกต่างกันมากนักในอาร์ทีเมียที่ได้รับน้ำมันลินินร่วมกับรีคอมบีแนนท์ยีสต์และยีสต์ปกติ

นอกจากนี้พบว่า พบว่าสัดส่วนของ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 12 และ 18 ชั่วโมง สูงกว่าสัดส่วนของ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ในอาร์ทีเมียในกลุ่มควบคุม และสัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 12 และ 18 ชั่วโมง มีแนวโน้มไปในทางเดียวกับสัดส่วนของ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ที่กล่าวข้างต้น (ภาพที่ 3.8-3.9)

ที่ระยะเวลา 12 และ 18 ชั่วโมง อาร์ทีเมียที่ได้รับน้ำมันลินินร่วมกับรีคอมบีแนนท์ยีสต์มีกรดไขมัน C20:5n3 สูงกว่าอาร์ทีเมียที่ได้รับยีสต์ปกติร่วมกับน้ำมันลินิน อย่างไรก็ตามกรดไขมัน C20:5n3 มีค่าลดลงที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงของการเลี้ยงอาร์ทีเมีย นอกจากนี้สามารถพบปริมาณกรดไขมัน C22:6n3 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ร่วมกับน้ำมันลินิน ในขณะที่ไม่สามารถตรวจพบค่ากรดไขมัน C22:6n3 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์ปกติร่วมกับน้ำมันลินิน (ตารางที่ 3.8-3.10)

กรดไขมันอื่น ๆ ได้แก่ C20:3n6, C20:4n6, C20:3n3, C20:0, C20:1, C20:2, C22:0, C22:1n9, C22:2, C24:0 และ C24:1ไม่แตกต่างกันมากนักระหว่างอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์หรือยีสต์ปกติร่วมกับน้ำมันลินิน (ตารางที่ 3.8-3.10)

ตารางที่ 3.8 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ร่วมกับน้ำมันลินินต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์ + น้ำมันลินิน			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์ + น้ำมันลินิน		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	5×10^3	5×10^4	5×10^5	5×10^3	5×10^4	5×10^5
C18:1n9	40.77 ± 1.95^{a}	90.27 ± 3.94^{d}	51.35 ± 6.03^{b}	75.56 ± 3.61^{c}	56.98 ± 2.49^{b}	85.29 ± 10.01^{d}
C18:2n6	29.54 ± 5.61^{a}	58.14 ± 8.00^{b}	31.80 ± 3.02^{a}	49.57 ± 9.41^{b}	33.19 ± 4.57^{a}	58.11 ± 5.52^{b}
C18:3n6	0.20 ± 0.02^{a}	0.75 ± 0.08^{e}	0.32 ± 0.05^{b}	0.70 ± 0.07^{de}	0.60 ± 0.06^{cd}	0.52 ± 0.08^{c}
C20:3n6	0.84 ± 0.08^{a}	1.56 ± 0.13^{cd}	0.81 ± 0.04^{a}	1.76 ± 0.08^{d}	1.49 ± 0.21^{c}	1.25 ± 0.15^{b}
C20:4n6	1.46 ± 0.14^{a}	2.76 ± 0.22^{c}	1.49 ± 0.07^{a}	2.58 ± 0.12^{c}	2.08 ± 0.30^{b}	2.11 ± 0.25^{b}
C18:3n3	103.29 ± 10.42^{a}	185.66 ± 33.47^{c}	132.76 ± 23.93^{bc}	135.03 ± 11.03^{bc}	101.58 ± 8.29^{a}	163.18 ± 13.32^{bc}
C18:4n3	0.05 ± 0.01^{a}	1.36 ± 0.25^{b}	2.52 ± 0.47^{c}	5.59 ± 1.03^{e}	4.54 ± 0.84^{de}	3.94 ± 0.73^{d}
C20:3n3	0.14 ± 0.01^{b}	0.24 ± 0.02^{d}	0.11 ± 0.01^{a}	0.22 ± 0.01^{d}	0.19 ± 0.03^{c}	0.15 ± 0.02^{b}
C20:5n3	1.45 ± 0.14^{d}	2.46 ± 0.20^{b}	1.33 ± 0.06^{a}	2.94 ± 0.14^{c}	2.49 ± 0.36^{b}	2.19 ± 0.26^{b}
C22:6n3	nd	nd	nd	nd	0.16 ± 0.01	0.28 ± 0.03

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.8 (ต่อ)

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์ + น้ำมันลินิน			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์ + น้ำมันลินิน		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	5×10^3	5×10^4	5×10^5	5×10^3	5×10^4	5×10^5
C20:0	0.43 ± 0.08^{a}	0.98 ± 0.18^{c}	0.47 ± 0.09^{a}	0.75 ± 0.14^{b}	0.50 ± 0.09^{a}	0.64 ± 0.12^{ab}
C20:1	1.04 ± 0.10^{a}	2.07 ± 0.17^{d}	0.96 ± 0.05^{a}	1.65 ± 0.08^{c}	1.30 ± 0.19^{b}	1.48 ± 0.18^{bc}
C20:2	0.51 ± 0.05^{a}	0.99 ± 0.08^{c}	0.52 ± 0.02^{a}	0.81 ± 0.04^{b}	0.70 ± 0.10^{b}	0.69 ± 0.08^{b}
C22:0	0.32 ± 0.03^{a}	0.76 ± 0.06^{d}	0.31 ± 0.01^{a}	0.50 ± 0.02^{bc}	0.44 ± 0.06^{b}	0.54 ± 0.06^{c}
C22:1n9	0.09 ± 0.01^{a}	0.24 ± 0.02^{e}	0.13 ± 0.01^{b}	0.18 ± 0.01^{cd}	0.15 ± 0.02^{bc}	0.20 ± 0.02^{d}
C22:2	1.21 ± 0.12	0.91 ± 0.07	nd	0.08 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.14 ± 0.02
C24:0	nd	0.35 ± 0.03	nd	0.18 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.22 ± 0.03
C24:1	nd	nd	nd	0.04 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
% lipid	9.60 ± 1.05	10.89 ± 1.01	10.43 ± 1.02	10.69 ± 1.16	10.90 ± 1.54	9.54 ± 1.30

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.9 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ร่วมกับน้ำมันลินินต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 18 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์ + น้ำมันลินิน			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์ + น้ำมันลินิน		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	5×10^3	5×10^4	5×10^5	5×10^3	5×10^4	5×10^5
C18:1n9	62.27 ± 3.60^{b}	71.51 ± 8.40^{b}	39.49 ± 2.00^{a}	73.26 ± 4.24^{b}	108.51 ± 12.74^{c}	74.40 ± 4.30^{b}
C18:2n6	40.74 ± 3.87^{b}	45.60 ± 4.84^{b}	25.06 ± 3.79^{a}	56.64 ± 5.38^{c}	77.53 ± 8.22^{d}	47.46 ± 7.18^{bc}
C18:3n6	0.26 ± 0.04^{ab}	0.44 ± 0.07^{c}	0.20 ± 0.03^{a}	0.39 ± 0.06^{bc}	0.82 ± 0.12^{e}	0.65 ± 0.09^{d}
C20:3n6	1.10 ± 0.16^{b}	1.33 ± 0.23^{c}	0.57 ± 0.03^{a}	0.94 ± 0.05^{b}	1.94 ± 0.08^{d}	1.49 ± 0.10^{c}
C20:4n6	1.82 ± 0.26^{bc}	1.85 ± 0.32^{c}	1.20 ± 0.06^{a}	1.49 ± 0.07^{bc}	3.02 ± 0.12^{e}	2.19 ± 0.15^{d}
C18:3n3	115.64 ± 6.59^{a}	117.97 ± 21.27^{a}	125.80 ± 19.28^{a}	158.90 ± 12.97^{b}	202.89 ± 16.57^{c}	144.71 ± 11.82^{ab}
C18:4n3	0.12 ± 0.02^{a}	2.60 ± 0.48^{bc}	1.40 ± 0.26^{b}	2.82 ± 0.52^{c}	6.09 ± 1.13^{d}	5.46 ± 1.01^{d}
C20:3n3	0.16 ± 0.02^{b}	0.29 ± 0.05^{d}	0.08 ± 0.00^{a}	0.13 ± 0.01^{b}	0.24 ± 0.01^{c}	0.21 ± 0.01^{c}
C20:5n3	1.69 ± 0.24^{b}	1.65 ± 0.28^{b}	0.97 ± 0.05^{a}	1.62 ± 0.08^{c}	3.27 ± 0.13^{d}	2.61 ± 0.17^{c}
C22:6n3	nd	nd	nd	0.06 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.14 ± 0.01

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.9 **(ต่อ)**

กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์ + น้ำมันลินิน			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์ + น้ำมันลินิน		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	**5×10^3**	**5×10^4**	**5×10^5**	**5×10^3**	**5×10^4**	**5×10^5**
C20:0	0.72 ± 0.13^{bc}	0.69 ± 0.13^{bc}	0.39 ± 0.07^{a}	0.54 ± 0.10^{ab}	0.79 ± 0.15^{d}	0.54 ± 0.10^{ab}
C20:1	1.42 ± 0.20^{b}	1.73 ± 0.30^{c}	0.79 ± 0.08^{a}	1.17 ± 0.06^{b}	1.92 ± 0.08^{c}	1.38 ± 0.09^{b}
C20:2	0.68 ± 0.10^{bc}	0.89 ± 0.15^{c}	0.45 ± 0.02^{a}	0.55 ± 0.03^{ab}	1.00 ± 0.04^{d}	0.70 ± 0.05^{c}
C22:0	0.57 ± 0.08^{cd}	0.48 ± 0.08^{bc}	0.32 ± 0.02^{a}	0.55 ± 0.03^{cd}	0.61 ± 0.02^{e}	0.43 ± 0.03^{b}
C22:1n9	0.16 ± 0.02^{b}	0.23 ± 0.04^{cd}	0.07 ± 0.00^{a}	0.19 ± 0.01^{d}	0.26 ± 0.01^{d}	0.22 ± 0.01^{c}
C22:2	0.66 ± 0.09	0.29 ± 0.05	nd	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.01
C24:0	0.25 ± 0.04	nd	nd	0.27 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.17 ± 0.01
C24:1	nd	nd	nd	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00
% lipid	8.94 ± 0.99	10.16 ± 0.95	9.73 ± 0.97	9.97 ± 1.10	10.17 ± 1.45	8.88 ± 1.23

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

ตารางที่ 3.10 ผลของการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์หรือรีคอมบีแนนท์ยีสต์ร่วมกับน้ำมันลินินต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

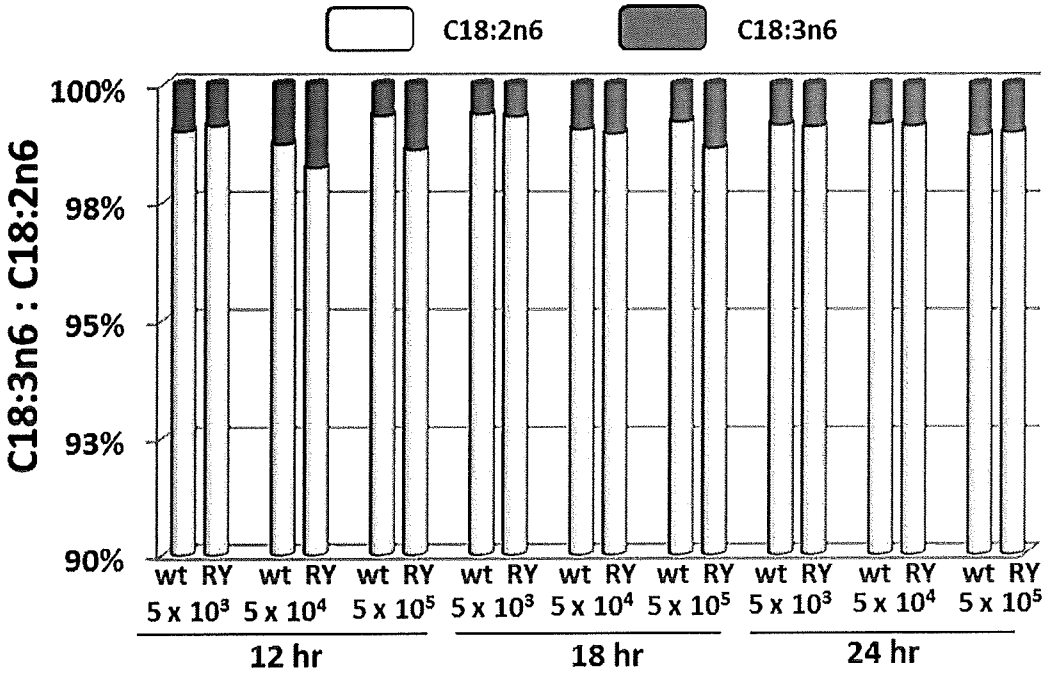
กรดไขมัน	อาร์ทีเมีย + ยีสต์ + น้ำมันลินิน			อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์ + น้ำมันลินิน		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	5×10^3	5×10^4	5×10^5	5×10^3	5×10^4	5×10^5
C18:1n9	65.11 ± 3.77^{bc}	61.88 ± 2.95^{ab}	70.41 ± 3.56^{cd}	67.75 ± 3.92^{bcd}	58.02 ± 2.77^{a}	73.32 ± 3.20^{d}
C18:2n6	45.16 ± 6.90	43.00 ± 6.38	45.26 ± 6.23	45.67 ± 6.90	43.11 ± 6.39	50.73 ± 6.98
C18:3n6	0.39 ± 0.05^{a}	0.36 ± 0.03^{a}	0.49 ± 0.05^{bc}	0.41 ± 0.06^{ab}	0.38 ± 0.04^{a}	0.52 ± 0.05^{d}
C20:3n6	0.79 ± 0.03^{a}	1.05 ± 0.12^{bc}	1.17 ± 0.11^{c}	1.15 ± 0.11^{c}	0.95 ± 0.08^{ab}	1.01 ± 0.11^{bc}
C20:4n6	1.44 ± 0.06^{b}	1.58 ± 0.18^{b}	2.22 ± 0.21^{c}	1.04 ± 0.10^{a}	1.70 ± 0.14^{b}	1.70 ± 0.19^{b}
C18:3n3	141.76 ± 25.56	119.10 ± 21.47	142.15 ± 15.08	131.13 ± 10.71	114.00 ± 9.31	147.30 ± 12.03
C18:4n3	1.04 ± 0.19^{a}	2.21 ± 0.41^{b}	2.59 ± 0.48^{bc}	3.05 ± 0.56^{bc}	2.72 ± 0.50^{bc}	3.33 ± 0.62^{d}
C20:3n3	0.11 ± 0.00^{a}	0.21 ± 0.02^{d}	0.17 ± 0.02^{c}	0.14 ± 0.01^{bc}	0.12 ± 0.01^{a}	0.13 ± 0.01^{ab}
C20:5n3	1.16 ± 0.05^{a}	1.38 ± 0.16^{a}	1.77 ± 0.17^{b}	1.97 ± 0.19^{b}	1.68 ± 0.14^{b}	1.74 ± 0.19^{b}
C22:6n3	nd	nd	nd	0.03 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.05 ± 0.01

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน

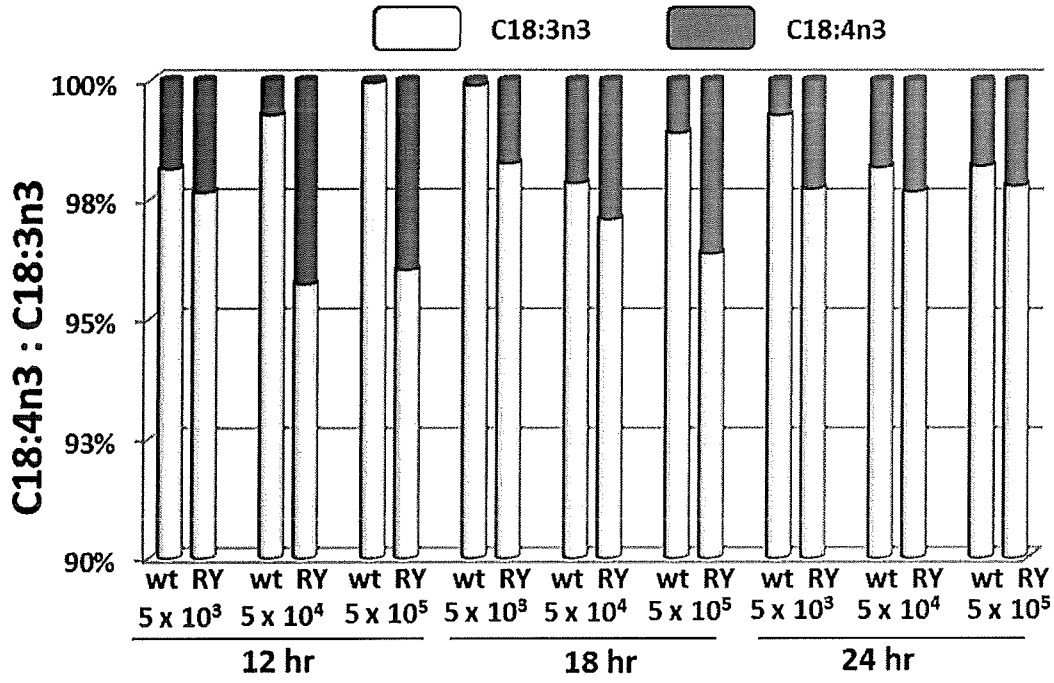
ตารางที่ 3.10 **(ต่อ)**

กรดไขมัน	**อาร์ทีเมีย + ยีสต์ + น้ำมันลินิน**			**อาร์ทีเมีย + รีคอมบีแนนท์ยีสต์ + น้ำมันลินิน**		
(มิลลิกรัมต่อกรัมไขมัน)	**5×10^3**	**5×10^4**	**5×10^5**	**5×10^3**	**5×10^4**	**5×10^5**
C20:0	0.68 ± 0.13	0.64 ± 0.12	0.73 ± 0.14	0.59 ± 0.11	0.53 ± 0.10	0.56 ± 0.10
C20:1	1.20 ± 0.05^{a}	1.38 ± 0.16^{a}	1.65 ± 0.15^{b}	1.37 ± 0.13^{a}	1.15 ± 0.09^{a}	1.20 ± 0.13^{a}
C20:2	0.56 ± 0.02^{a}	0.74 ± 0.08^{bc}	0.81 ± 0.08^{c}	0.65 ± 0.06^{ab}	0.60 ± 0.05^{a}	0.57 ± 0.06^{a}
C22:0	0.47 ± 0.02^{ab}	0.41 ± 0.05^{a}	0.62 ± 0.06^{c}	0.50 ± 0.05^{b}	0.46 ± 0.04^{ab}	0.44 ± 0.05^{ab}
C22:1n9	0.13 ± 0.01^{a}	0.14 ± 0.02^{ab}	0.16 ± 0.02^{c}	0.17 ± 0.02^{c}	0.15 ± 0.01^{bc}	0.16 ± 0.02^{bc}
C22:2	0.63 ± 0.03^{d}	0.23 ± 0.03^{c}	0.06 ± 0.01^{a}	0.13 ± 0.01^{b}	0.10 ± 0.01^{b}	0.11 ± 0.01^{b}
C24:0	0.23 ± 0.01	nd	0.32 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.19 ± 0.02
C24:1	nd	nd	nd	0.02 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.01
% lipid	6.90 ± 0.85	7.95 ± 0.82	7.58 ± 0.83	7.78 ± 0.94	7.96 ± 1.25	6.79 ± 1.0

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ภายในแถวเดียวกัน



ภาพที่ 3.8 สัดส่วนของกรดไขมันระหว่าง C18:3n6 ต่อ C18:2n6 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตามลำดับของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์ปกติ (wt) ร่วมกับน้ำมันลินิน และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ (RY) ร่วมกับน้ำมันลินิน ที่ระดับความหนาแน่น 5 x 10^3, 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 3.9 สัดส่วนของกรดไขมันระหว่าง C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตามลำดับของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์ปกติ (wt) ร่วมกับน้ำมันลินิน และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ (RY) ร่วมกับน้ำมันลินิน ที่ระดับความหนาแน่น 5 x 10^3, 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง

3.2 อภิปรายผลการศึกษา

การทดลองที่ 1 การโคลนยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูงในอาร์ทีเมีย

ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถโคลนยีน *fads 2* จากอาร์ทีเมียได้ ถึงแม้ว่าจะได้ทำการโคลนยีนโดยใช้ total RNA ทั้งที่สกัดได้จากอาร์ทีเมียที่ฟื้งฟักออกจากไข่และจากอาร์ที่เมียตัวเต็มวัย และใช้ไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบมาจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *fads 2* และได้ใช้ไพรเมอร์จำนวนหลายคู่ก็ตาม การที่ไม่สามารถโคลนยีน *fads 2* จากอาร์ทีเมีย โดยใช้ 3'RACE (3' Rapid amplification cDNA END) ได้นี้ อาจเป็นได้จาก 2 สาเหตุ คือ 1) อาร์ทีเมียมีระดับ mRNA ของ ยีน *fads 2* ต่ำ 2) อาร์ทีเมียไม่มียีน *fads 2* หรือมียีน *fads 2* แต่ทว่ายีน *fads 2* ไม่สามารถทำงานได้ เนื่องจากการศึกษานี้ทำการโคลนยีน *fads 2* โดยใช้ 3'RACE (3' Rapid amplification cDNA END) ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่สามารถโคลนยีนที่มีการแสดงออกในระดับต่ำ ดังนั้นควรมีการศึกษาการโคลนยีน *fads 2* โดยใช้วิธีการอื่น ๆ ต่อไป และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ในจีโนมของอาร์ทีเมีย จะทำให้ทราบว่าอาร์ทีเมียมียีน *fads 2* หรือไม่ และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมอาร์ทีเมีย อาจจะทำให้สามารถวิเคราะห์โครงสร้างของยีน *fads 2* อันจะทำให้เข้าใจถึงการแสดงออกของยีน *fads 2* ในอาร์ทีเมียได้

จากการที่ไม่สามารถโคลนยีน *fads 2* จากอาร์ทีเมียได้ ผู้วิจัยจึงได้ปรับการทดลองไปใช้ประโยชน์จากรีคอมบีแนนท์ยีสต์ ที่ได้จากการโคลนยีน oni*fads 2* จากปลานิล โดยก่อนที่จะนำเอารีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่มียีน oni*fads 2* มาใช้ในการเลี้ยงอาร์ทีเมียนั้นได้ทำการศึกษาโครงสร้างของยีน *onifads 2* 8]

การศึกษานี้ได้ใช้รีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่มียีน oni*fads 2* (GenBank accession number KF258464) ก่อนหน้าที่จะมีการรายงานลำดับนิวคลีโอไทด์ oni*fads 2* นี้ ได้มีการรายงานลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *fads* 2 ในปลานิล (XN_003440470 และ AB069727) โดยที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน oni*fads 2* (KF258464) ไม่เหมือน *fads* 2 ในปลานิล (XN_003440470 และ AB069727) เสียทีเดียว โดย oni*fads 2* (KF258464) มีลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนเหมือนกับ *fads* 2 (XN_003440470) เท่ากับ 99.1 % และ 99.6 % ตามลำดับ และ oni*fads 2* (KF258464) มีลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนเหมือนกับ *fads* 2 (AB069727) เท่ากับ 98.6 % และ 95.3 % ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ส่งผลถึงความแตกต่างของลำดับกรดอะมิโนด้วยเช่นเดียวกัน ยกตัวอย่างเช่น ในยีน *fads* 2 (AB069727) ที่มี C เพิ่มเข้ามาที่ระหว่างตำแหน่ง 1165 และ 1166 และมี G ที่หายไปที่ตำแหน่ง 1214 ทำให้ *fads* 2 (AB069727) และ oni*fads 2* (KF258464) มีลำดับกรดอะมิโนในบริเวณนิวคลีโอไทด์นี้แตกต่างกัน 14 ตัว การที่ยีน *fads* ของปลานิลที่มีการศึกษา

จากนักวิชาการในกลุ่มต่าง ๆ มีความแตกต่างกันแสดงถึง polymorphism ของยีน *fads* ซึ่งควรจะมีการศึกษาต่อว่า การที่ยีน *fads* ของปลานิลมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันนั้นจะส่งผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ delta-6 desaturase อย่างไร

ยีน oni*fads 2* มีโครงสร้างของยีนเช่นเดียวกับโครงสร้างยีน *fads* 2 ที่ได้มีการศึกษามาก่อน เช่น โปรตีน oni*fads 2* มีหมู่กรดอะมิโน HPGG ซึ่งเป็นหมู่อะมิโนอนุรักษ์ของ heme-binding motif ซึ่งอยู่ในบริเวณ cytochrome b5 superfamily domain (Na-Ranong et al., 2006; Sayanova et al., 1999) โดยที่บริเวณ cytochrome b5 เป็นบริเวณที่ทำหน้าที่เป็น heme-binding electron donor ในปฏิกิริยาการเพิ่มพันธะคู่ (Na-Ranong et al., 2006; Qiu et al., 2002; Sayanova et al., 1999) และ OniFads2 มี Y37(Trp_{37}), G66(Gly_{66}), F73(Phe_{73}), และ H77(His_{77}) ซึ่งเป็นหมู่อะมิโนที่อนุรักษ์ของ cytochrome b5 (Domergue et al., 2002) ที่บริเวณ fatty acid desaturase domain ของ OniFads2 มีหมู่อะมิโนอนุรักษ์ histidine-rich boxes I, II, และ III เป็น HDXGH, HFXHH, และ QIEHH ตามลำดับ ซึ่งจะคล้ายคลึงกับ Fads2 ในปลาหลายชนิด เช่น ปลาเรนโบว์เทร้า (*Oncorhynchus mykiss*) (Seiliez et al., 2001) ปลา gilthead seabream (*Sparus aurata)* (Seiliez et al., 2003) ปลาแอตแลนติกซาลมอน (*Salmo salar* L.) (Monroig et al., 2010; Zheng et al., 2005) ปลาแอตแลนติกซาลมอน (*Gadus morhua*) (Tocher et al., 2006) ปลาช่อนทะเล (*Rachycentron canadum*) (Zheng et al., 2009) ปลาEuropean sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) (Gonzalez-Rovira et al., 2009) ปลากระพงขาว (*Lates calcarifer*) (Mohd-Yusof et al., 2010) ปลา black seabream (*Acanthopagrus schlegeli*) (Kim et al., 2011) ปลา Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) (Morais et al., 2011) โดยหมู่ histidine-rich boxes จะอยู่ที่ผนังเซลล์เมมเบรน (membrane-bound desaturases) ซึ่งมีความสำคัญต่อการจับกับธาตุเหล็กในการทำงานของเอ็นไซม์ (Shanklin et al., 1994) ถึงแม้ว่า histidine-rich motifs จะเป็นหมู่อะมิโนอนุรักษ์ แต่ก็ยังพบว่าผันแปรของกรดอะมิโนในหมู่อนุรักษ์นี้ เช่น OniFads2 มีกรดอะมิ F(Phe) ใน histidine-rich motif (HDFGH) อันแรก ซึ่งจะเหมือนกันในปลาส่วนใหญ่ ยกเว้น ในปลา masu salmon (*Onchorhynchus masou*) ปลา sole (*Solea Senegalensis*) และปลาเรนโบว์เทร้า (Seiliez et al., 2001) ที่มี Y แทน นอกจากนี้พบว่า OniFads2 ในการศึกษานี้ มี R(Arg) แทนที่ Q(Gln) สำหรับใน histidine-rich motif (QIEHH) อันที่สาม จากผลการศึกษาทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่ายีน *oniFads2* มีโครงสร้างของยีน และมีความคล้ายคลึงในลำดับของกรดอะมิโน กับยีน *fads* 2 ในปลาอื่น ๆ สูง ดังนั้นยีน *oniFads2* ที่โคลนได้นี้น่าจะทำหน้าที่เช่นเดียวกับยีน *fads2* ในปลาอื่น ๆ

ผลการศึกษานี้พบว่ารีคอมบีแนนท์ยีสต์มีการแสดงออกของยีน *oniFads2* เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาลกาแลคโตส และจะพบว่าองค์ประกอบของกรดไขมันส่วนใหญ่ในรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสหรืออาหารที่มีกาแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนไม่แตกต่างกัน คือ

C16:0, C16:1, C18:0, และ C18:1 ซึ่งเป็นกรดไขมันที่พบส่วนใหญ่ในรีคอมบีแนนท์ *S. cerevisiae* (Napier et al., 1998; Laoteng et al., 2000; Hsiao et al., 2007; Gonzalez-Rovira et al., 2009; Lu et al., 2009) รีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกาแลคโตสมีระดับ C18:4n3 สูงกว่ารีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า รีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกาแลคโตสมีการทำงานของเอ็นไซม์ delta-6 desaturase อย่างไรก็ตามปริมาณของ C18:2n6 ที่ไม่แตกต่างกันระหว่าง รีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกาแลคโตสหรือกลูโคส ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากปริมาณของ C18:2n6 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่มีน้อย จึงทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ C18:3n6 หรืออีกทางหนึ่งคือรีคอมบีแนนท์ยีสต์มีประสิทธิภาพการทำงานของ เอ็นไซม์ในปฏิกิริยา n6 ต่ำ ซึ่งควรมีการศึกษาเพื่อยืนยันผลของการทำงานของรีคอมบีแนนท์เอ็นไซม์เพิ่มเติม เช่นการใส่สารตั้งต้นลงไปในการเลี้ยงรีคอมบีแนนท์ยีสต์เพื่อดูประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นสารผลิตภัณฑ์

การทดลองที่ 2 การนำเอารีคอมบีแนนท์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีพลาสมิดเวกเตอร์ที่มียีน *fads 2* ที่สามารถผลิตเอ็นไซม์ delta-6 desaturase จากปลานิล มาเลี้ยงอาร์ทีเมียร่วมกับน้ำมันพืชที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูง เพื่อศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย

โดยทั่วไปแพลงก์ตอนสัตว์ (Zooplankton) ในธรรมชาติหลายชนิดมีองค์ประกอบของกรดไขมันในกลุ่ม HUFA ได้แก่ C20:5n3 และ C22:6n3 สูง เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารสัตว์น้ำทะเลวัยอ่อน (first-feeding marine animal) แต่มักมีปัญหาในเรื่องการจัดหา การเตรียม ซึ่งจะขึ้นกับฤดูกาล ทำให้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทะเลส่วนใหญ่มักจะใช้อาร์ทีเมีย เนื่องจากอาร์ทีเมียจะถูกทำให้อยู่ในรูปของซีสต์อบแห้ง (cyst) และสามารถนำมาเพาะฟักเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำทะเลได้อย่างสะดวก แต่อาร์ทีเมียมักจะมีกรดไขมันที่ในกลุ่ม HUFA ได้แก่ C20:5n3 และ C22:6n3 น้อย จึงต้องมีการเพิ่มองค์ประกอบของกรดไขมัน 2 ชนิดนี้ โดยการนำน้ำมันปลาที่มีกรดไขมัน 2 ชนิดนี้มาเลี้ยงอาร์ทีเมียหรือที่เรียกว่า enriched artemia ซึ่งน้ำมันปลามักมีราคาแพง ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาเทคนิคในการเพิ่มองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในอาร์ทีเมียเพื่อลดการใช้น้ำมันปลาจึงสิ่งที่ควรศึกษาเพื่อทำให้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทะเลมีต้นทุนลดลง ลดการใช้ทรัพยากรประมงที่ต้นทุนสูง และทรัพยากรประมงมีปริมาณลดน้อยลง

เอ็นไซม์ delta-6 deaturase เป็นเอ็นไซม์ตัวหนึ่งที่ทำงานในกระบวนการลดความอิ่มตัวของกรดไขมัน ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากเอ็นไซม์ delta-6 deaturase โดยใช้ในรูปของรีคอมบีแนนท์ยีสต์ เพื่อมาเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย หรือเพื่อลดความอิ่มตัว

ของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย จึงจัดเป็นก้าวแรกของการวิจัยและพัฒนาด้านองค์ประกอบของกรดไขมันอาร์ทีเมีย โดยการศึกษาครั้งนี้ในขั้นแรกได้ศึกษาถึงการทำงานของรีคอมบีแนนท์ยีสต์ต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย ต่อจากนั้นจึงเป็นการศึกษาถึงผลของการใช้รีคอมบีแนนท์ยีสต์ร่วมกับน้ำมันลินินซึ่งอุดมไปด้วยกรดไขมันที่เป็นสารตั้งต้นของกระบวนการสร้าง HUFA เพื่อศึกษาถึงการทำงานของเอ็นไซม์ delta-6 deaturase ของปลานิล ต่อการเปลี่ยนกรดไขมันในกระบวนการสร้าง HUFA เพื่อพัฒนาองค์ประกอบของกรดไขมันในอาร์ทีเมีย และนำไปสู่การพัฒนาอาร์ทีเมียให้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนที่มีคุณภาพดียิ่งขึ้นไป

ได้มีรายงานการศึกษาการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยยีสต์ พบว่าอาร์ทีเมียมีกรดไขมันในกลุ่ม monounsaturated fatty acid (MUFA) และ PUFA สูงขึ้น และมีกรดไขมันอิ่มตัวลดลง (Cho et al., 2001) อย่างไรก็ตาม Chrakraborty และคณะ (2007) รายงานว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์มี PUFA ลดลงโดยเริ่มลดตั้งแต่การเลี้ยงที่ชั่วโมงที่ 6 จึงถึง 24 ชั่วโมง และมี MUFA ลดลงที่ 24 ชั่วโมง ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์มี C18:1n9 และกรดไขมันในกลุ่ม n6 และ n3 ได้แก่ C18:2n6, C18:3n6, C20:3n6, C20:4n6, C18:3n3, C18:4n3, C20:3n3, C20:5n3 และกรดไขมัน C22:6n3 สูงกว่าอาร์ทีเมียกลุ่มควบคุมเลี้ยงด้วยยีสต์ปกติ และการเปรียบเทียบสัดส่วนของกรดไขมันสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ของเอ็นไซม์ delta 6 desaturase พบว่าสัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 และ สัดส่วนของ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์สูงกว่าค่าสัดส่วนดังกล่าวในอาร์ทีเมียในกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่ารีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่มีการทำงานของเอ็นไซม์ delta-6 desaturase สามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันในอาร์ทีเมียไปในทางที่เพิ่มองค์ประกอบของ PUFA ในอาร์ทีเมียได้ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงนี้ยังไม่มากพอที่จะทำให้อาร์ทีเมียมีคุณภาพดีพอที่จะเป็นอาหารสัตว์น้ำทะเลวัยอ่อนได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าเอ็นไซม์ delta-6 desaturase เพียงชนิดเดียวอาจไม่เพียงพอที่จะสร้าง HUFA ให้มากขึ้นได้ เนื่องจากในกระบวนกสร้าง HUFA ยังต้องการเอ็นไซม์ชนิดอื่น ๆ อีกมากทั้ง eleongase และ delta-5 desaturase ดังนั้นจึงต้องมีการวิจัยและพัฒนาต่อไป เช่นการสร้างรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่มีการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดอื่นในกรระบวนการสร้าง HUFA เพิ่มเติม

กรดไขมัน C20:5n3 และ C22:6n3 จัดเป็นกรดไขมันที่จำเป็น โดยเฉพาะ C22:6n3 ซึ่งมักไม่พบในอาร์ทีเมีย หรือพบในระดับน้อยมากในอาร์ทีเมีย (Rees et al., 1994; Southgate and Lou, 1995; Coutteau and Mourente, 1997; Han et al., 2000; Immanuel et al., 2001; 2004; Martin et al., 2006; Heydari and Akbary, 2011) และอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์พบว่ามีระดับของ C22:6n3 ลดลงในช่วงระยะเวลาที่เลี้ยงนานขึ้น (Chrakraborty et al., 2007) และไม่พบ C22:6n3 ในอาร์ทีเมียที่เลี้ยงยีสต์ (Cho et al., 2001; Lim et al., 2005) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยยีสต์ปกติไม่มี C22:6n3 ในขณะที่อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์สามารถตรวจพบ C22:6n3 ได้

โดยเฉพาะอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^5 ดังนั้นควรมีการศึกษาถึงว่าการเพิ่มระดับของรีคอมบีแนนท์ยีสต์หรือการเลี้ยงร่วมกับกรดไขมันที่เป็นสารตั้งต้นของกระบวนการสร้าง PUFA จะสามารถเพิ่ม C22:6n3 ให้มากขึ้นกว่าเดิมได้หรือไม่

ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่ได้มีการรายงานว่าการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยน้ำมันปลามีปริมาณ C20:5n3 และ C22:6n3 สูงขึ้นกว่า (Rees et al., 1994; Southgate and Lou, 1995; Coutteau and Mourente, 1997; Han et al., 2000; 2004; Martin et al., 2006; Heydari and Akbary, 2011) แต่ทว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันลินินไม่ผลต่อการเพิ่มขึ้นของ C20:5n3 และ C22:6n3 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาว่าอาร์ทีเมียไม่สามารถสร้างกรดไขมัน C22:6n3 ได้ (Estevez et al., 1998)

การศึกษาครั้งนี้พบว่าอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันลินินจะมีกรดไขมัน C18:2n6 และ C18:3n3 สูงขึ้นซึ่งส่งผลให้อาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยน้ำมันลินิน มีค่าสัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 และ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 ลดลง และรีคอมบีแนนท์ยีสต์ที่ระดับ 5 x 10^4 และ 5 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้ สัดส่วนของ C18:4n3 ต่อ C18:3n3 และสัดส่วนของ C18:3n6 ต่อ C18:2n6 เพิ่มสูงขึ้นได้ แต่กรดไขมันผลิตภัณฑ์ C18:4n3 และ C18:3n6 ยังมีค่าต่ำกว่าระดับของกรดไขมันทั้ง 2 ในอาร์ทีเมียที่ได้รับรีคอมบีแนนท์ยีสต์เพียงอย่างเดียว ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นไปได้ว่า ปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันลินินชนิดใดชนิดหนึ่งอาจมีผลต่อการขัดขวางการทำงานของเอ็นไซม์ delta-6 desaturase ได้มีการรายงานว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (C22:6n3) มีผลต่อการขัดขวางการแสดงออกของยีน delta-6 desaturase และ C20:5n3 มีผลต่อการขัดขวางการแสดงออกของยีน delta-5 desaturase (Martins, 2009; Sato et al., 2001) และ เอ็นไซม์ delta-6 desaturase มีปฏิกิริยาการทำงานทั้ง delta-6 desaturase และ delta-5 desaturase (Tanomman et al., 2013)