

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยน 20-Hydroxyecdysone จากการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนสารตั้งต้น 20-Hydroxyecdysone ในอาหารเหลว BEM พบว่าเชื้อรา *Aspergillus clavatus* สามารถเปลี่ยน 20-Hydroxyecdysone เป็น Rubrosterone ได้ภายใน 24 ชั่วโมง โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์และที่ผนังเซลล์ เมื่อศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนสารตั้งต้น 20-Hydroxyecdysone โดยเชื้อ *Aspergillus clavatus* ด้วยการวางแผนแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ พบว่าความเป็นกรดค่าเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ BEM อยู่ในช่วง 6-7 ให้ค่า Rubrosterone ได้สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 และเมื่อศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ BEM ที่เหมาะสมต่อปริมาณ Rubrosterone ที่ได้ ด้วยวิธีการประเมินพื้นผิวการตอบสนองด้วยแผนการทดลองแบบ Box-Behnken ซึ่งมีพารามิเตอร์ที่ศึกษา 4 พารามิเตอร์ คือ กลูโคส (X_1) เปปโติน (X_2) สารสกัดจากยีสต์ (X_3) และสารสกัดจากเนื้อ (X_4) ด้วยสมการความสัมพันธ์อันดับที่ 2 ได้สมการ $Y = 0.24986 X_1 + 0.96115 X_2 + 0.19902 X_3 - 0.34955 X_4 - 0.01588 X_1^2 - 0.41064 X_2^2 - 0.30936$ โดยองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม คือ ปริมาณ กลูโคสเป็น 7 กรัม เปปโตินเป็น 1.1660 กรัม สารสกัดจากยีสต์เป็น 1.5 กรัม และสารสกัดจากเนื้อเป็น 0.5 กรัมต่อลิตร จะได้ปริมาณ Rubrosterone จากสมการเท่ากับ 1.3475 กรัมต่อลิตร ส่วนสาร 8-hydroxyquinoline และสาร 1-10-phenanthroline เป็นสารที่ยับยั้งเอนไซม์ในการเปลี่ยนสารตั้งต้น 20-Hydroxyecdysone ในขณะที่เปรียบเทียบการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ พบว่าเซลล์ที่นำกลับมาใช้ใหม่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะคงความสามารถในการเปลี่ยนสารตั้งต้น 20-hydroxyecdysone ในรอบที่สองได้ไม่แตกต่างจากรอบแรก

The aim of this research was to determine optimal factors and conditions for microbial biotransformation of 20-hydroxyecdysone. *Aspergillus clavatus* was able to convert 20-hydroxyecdysone to rubrosterone in BEM liquid medium by using its enzymes at the cell wall and intracellular enzymes. In this study, the optimal initial pH was determined by completely randomized design. The suitable initial pH range for rubrosterone production was between 6-7 ($p < 0.05$).

Response surface methodology (RSM), was used to optimize the rubrosterone production by Box-Behnken design of four factors, including glucose (X_1) peptone(X_2) yeast extract (X_3) and beef extract (X_4) in BEM liquid medium which yielded largest amount of rubrosterone (Y). A three-level, four-variable design was adopted. Multiple regression analysis showed that relationships between response and independent variables could be represented by second order equation : $Y = 0.24986 X_1 + 0.96115 X_2 + 0.19902 X_3 - 0.34955 X_4 - 0.01588 X_1^2 - 0.41064 X_2^2 - 0.30936$. Therefore, the estimated optimal compositions of the medium for rubrosterone production was as follows : glucose 7 g/l peptone 1.1660 g/l yeast extract 1.5 g/l and beef extract 0.5 g/l with the response value prediction for rubrosterone production of 1.3475 g/l. 8-hydroxyquinoline and 1-10-phenanthroline were enzyme inhibited for biotransformation of 20-hydroxyecdysone to rubrosterone. Recycle of *Aspergillus clavatus* for biotransformation of 20-hydroxyecdysone, there was no difference in 20-hydroxyecdysone conversion between the cell in the first and second cycles.