

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

กรดไขมันไม่อิ่มตัว (PUFAs) เช่น linoleic acid, arachidonic acid นับได้ว่าเป็นกรดไขมันที่จำเป็น (essential fatty acid) และมีความสำคัญต่อร่างกาย เนื่องจากกรดไขมันนี้บางชนิดเป็น ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้หรือสังเคราะห์ได้ในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการจำเป็นต้องได้รับเพิ่มเติมในรูปของอาหารชนิดต่างๆ ทั้งนี้กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (PUFAs) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดอะราคิโดนิก (Arachidonic acid) ก็ยังมีบทบาทสำคัญทั้งในทางการแพทย์และทางอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงได้ให้ความสำคัญต่อการศึกษานหาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้กรดอะราคิโดนิก (Arachidonic acid) ในปริมาณสูงพบว่า จุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตคือรา *Mortierella* sp. ซึ่งราในกลุ่มนี้เป็นรากลุ่มที่ดึงดูดความสนใจมากที่สุดเนื่องจากมีศักยภาพในการผลิตไขมันที่มีกรดไขมันสำคัญในสัดส่วนที่สูง จากการศึกษาที่ผ่านมาจะพบว่าปริมาณของกรดไขมันจำเป็น (EFAs) ที่มีการศึกษากันจะมีความแตกต่างกันมากขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ราในระหว่างชนิดของ *Mortierella* หรือระหว่างรา genus อื่นๆ ซึ่งพบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสัดส่วนของกรดไขมันแต่ละชนิดและปริมาณของไขมันทั้งหมดที่พบได้ในรามีอยู่มากมาย (Dyal และ Narine, 2005)

จากการศึกษาการเลี้ยงราโดยปรับปรุงการเพาะเลี้ยงและการเพิ่มสารอาหาร ในการเลี้ยง *Mortierella alpina* โดยทำการศึกษาปัจจัยที่เป็นพลวัต (dynamics) ได้แก่ ระยะเวลาต่างๆ ที่เชื้อราจะมีการเจริญเติบโต มีการสังเคราะห์ไขมันและ arachidonic acid เมื่อมีปริมาณกลูโคสเริ่มต้นที่แตกต่างกัน พบว่าการใช้อาหารที่มีกลูโคสในปริมาณต่ำจะดีสำหรับการเพาะเลี้ยงในระยะแรกๆ แต่เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในปริมาณที่ต่ำกว่า 10 กรัม/ลิตร ว่าจะหยุดการเจริญเติบโตเนื่องจากขาดพลังงานแต่การสะสมไขมันจะยังดำเนินต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัดส่วนของ arachidonic acid ที่พบในไขมันทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อกลูโคสหมดลงเพื่อที่จะได้ arachidonic acid ในปริมาณสูงอย่างต่อเนื่องจึงได้มีการนำระบบการเพาะเลี้ยงแบบ fed-batch เข้ามาใช้ โดยมีการป้อนอาหารกลูโคสและในเตรทที่ความเข้มข้น 50 และ 3 กรัม/ลิตรตามลำดับ เพื่อลดระยะ log phase จากนั้นเติมกลูโคสและในเตรท 20 และ 1.5 กรัม/ลิตร/วัน ใน

วันที่ 3, 4, และ 5 และในวันที่ 8 จะได้ arachidonic acid ในปริมาณสูงถึง 7.74 กรัม/ลิตร/วัน (Zhu et.al., 2006)

ซึ่งจากข้อมูลงานวิจัยต่างๆที่ผ่านมาทำให้เห็นว่ายังมีโอกาสอีกมากในการศึกษากระบวนการเพาะเลี้ยงราในกลุ่ม *Mortierella* sp. BCC2863 นี้เพื่อให้ได้ปริมาณชีวมวลและปริมาณกรดอะราคิโดนิกในปริมาณที่สูงขึ้น ในงานวิจัยนี้จะศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดอะราคิโดนิกในรา *Mortierella* sp. BCC2863 โดยศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยง ผลขององค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งในส่วนของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อใช้เป็นข้อมูลและแนวทางในการศึกษาในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

### 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงรา *Mortierella* sp. BCC2863 เพื่อผลิตกรดอะราคิโดนิก (arachidonic acid)

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ราในระดับขวด เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตและการสร้างกรดไขมันจากรา *Mortierella* sp. BCC2863 โดยในการศึกษานั้นจะมีการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการผลิตกรดอะราคิโดนิก โดยศึกษาถึงวิธีการในการเตรียมหัวเชื้อ ความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ศึกษาหาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน อีกทั้งศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

2. พัฒนาการเพาะเลี้ยงโดยทำการเพาะเลี้ยงในระดับถังหมักขนาดเล็ก เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ให้สูงขึ้น โดยเน้นการศึกษาผลของน้ำตาลกลูโคสต่อการเจริญเติบโตและการสร้างกรดอะราคิโดนิก