3. อภิปรายผลการวิจัย

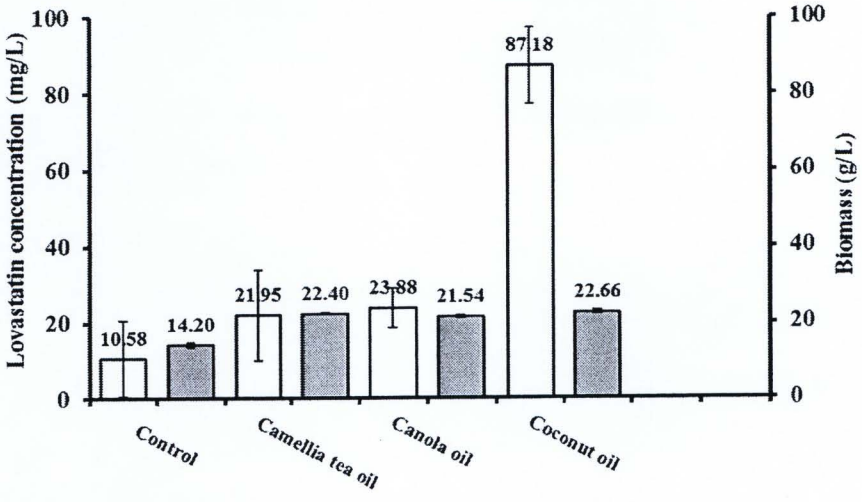
3.1 การศึกษาผลของการใช้น้ำมันพืชชนิดต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอนเสริมต่อการผลิต lovastatin

แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนในอาหารเหลว เป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสาร secondary metabolite ของเชื้อรา ดังนั้นการเลือกชนิดและสัดส่วนของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนในอาหารเหลวมีส่วนสำคัญต่อกระบวนการผลิต lovastatin ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนเป็นตัวควบคุมการผลิตสาร secondary metabolite ของเชื้อรา [8] ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจน lactose เป็นแหล่งคาร์บอนหลัก (sole carbon source) และน้ำมันพืชชนิดต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอนเสริม (supplementary carbon source) โดยการทดลองควบคุม (control) ใช้ yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจน และ lactose เป็นแหล่งคาร์บอนหลัก ผลการศึกษาเปรียบเทียบการใช้น้ำมันพืชชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1 %w/v กับปริมาณ lovastatin ที่เกิดขึ้นและปริมาณ biomass มีดังนี้ การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ชุด โดยน้ำมันเมล็ดชา น้ำมันคาโนลา และน้ำมันมะพร้าว แสดงในรูป 4 น้ำมันข้าวโพด น้ำมันมะกอก น้ำมันปาล์มโอเลอิน และน้ำมันรำข้าว แสดงในรูป 5 และน้ำมันเมล็ดดอกคำฝอย น้ำมันงา น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน แสดงในรูป 6

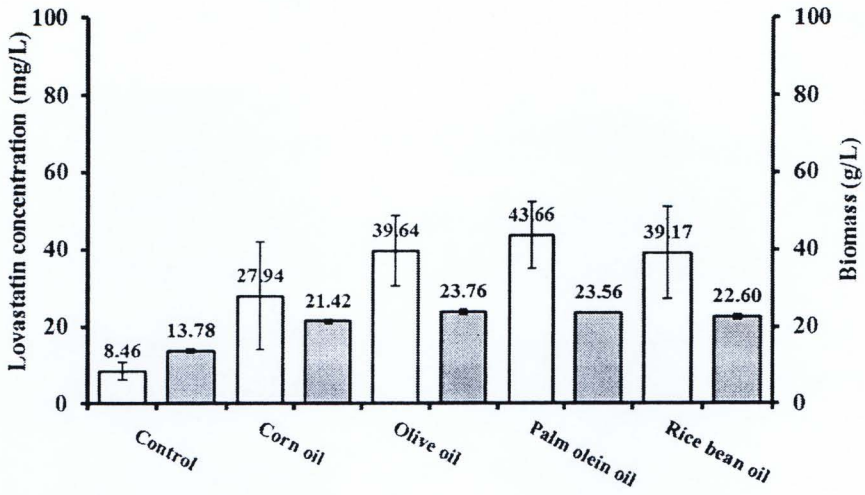
จากการศึกษาผลของน้ำมันพืชทั้ง 11 ชนิด พบว่าน้ำมันมะพร้าวให้ปริมาณ lovastatin สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ใช้น้ำมันชนิดอื่นๆ และการทดลองควบคุม โดยมี lovastatin เกิดขึ้น 87.18 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนน้ำมันถั่วเหลืองให้ปริมาณ lovastatin เท่ากับ 53.87 มิลลิกรัมต่อลิตร ในส่วนน้ำมันงาให้ปริมาณ lovastatin ต่ำสุด (16.72 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งสอดคล้องกันกับการศึกษาของ Sripalakit และคณะ [20] ในส่วนของการทดลองควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันพืชจะให้ค่าเฉลี่ยของการผลิต lovastatin เท่ากับ 9.39 มิลลิกรัมต่อลิตร (อยู่ในช่วง 8.46-10.58 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยรวมแล้วน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลืองให้ผลผลิตสูงกว่าการทดลองควบคุมถึง 8.2 และ 5.9 เท่า ตามลำดับ ดังนั้นน้ำมันพืช 2 ชนิดดังกล่าวจึงถูกเลือกในสำหรับการศึกษาต่อไป ในส่วนปริมาณ biomass ที่เกิดขึ้น พบว่าการทดลองที่เติมน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ลงในอาหารเหลวจะให้ปริมาณ biomass ใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 20.40-23.76 กรัมต่อลิตร (ค่าเฉลี่ย 21.95 กรัมต่อลิตร) ซึ่งมีน้ำหนักมากกว่าการทดลองควบคุมซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 12.42-14.20 กรัมต่อลิตร (ค่าเฉลี่ย 13.47 กรัมต่อลิตร)

ผลการทดลองดังกล่าวจึงมีความสอดคล้องกับการศึกษาเกี่ยวกับการเติมน้ำมันพืชลงในอาหารเหลวในการเพิ่มผลผลิตของยาหลายชนิด เช่น erythromycin [14], tetracycline [15], cephamycin C [16], clavulanic acid [17], gentamicin [18] และ cephalosporin C [19] เป็นต้น เมื่อ

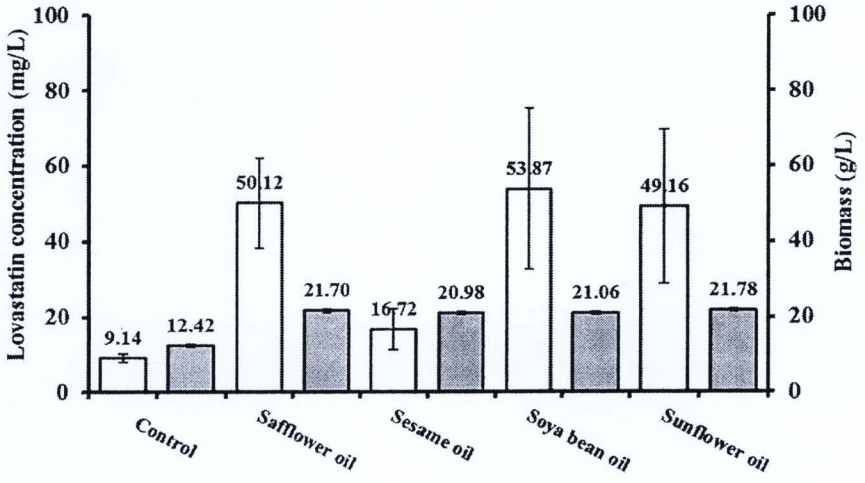
เปรียบเทียบชนิดของน้ำมันพืชที่ใช้ในการศึกษา พบว่าน้ำมันถั่วเหลืองเป็นน้ำมันพืชที่เหมาะสำหรับเติมลงในอาหารเหลว เนื่องจากสามารถทำให้มีปริมาณ secondary metabolite หลายชนิดในระดับสูง [12-18] อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานที่กล่าวว่าสารประกอบชนิดใดในน้ำมันพืชที่มีผลต่อการผลิตเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิต lovastatin การศึกษาต่อไปควรจะศึกษาผลของชนิดของกรดไขมัน (fatty acid) และสารประกอบอื่นๆ ที่มีในน้ำมันพืช การศึกษาในปี 2010 โดย Sorrentino และคณะ [21] พบว่าการเสริมกรดไขมัน linoleic acid ลงในอาหารเหลวช่วยให้ปริมาณ lovastatin สูงขึ้น ซึ่งกลไลเกี่ยวข้องกับยีนของการผลิต lovastatin



รูป 4 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ lovastatin (กราฟแท่งสีขาว) และน้ำหนักเชื้อราแห้ง (กราฟแท่งสีเทา) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* ATCC 20542 โดยใช้แหล่งคาร์บอนเสริมจากน้ำมันเมล็ดชา น้ำมันคาโนลา และน้ำมันมะพร้าว ความเข้มข้น 1 %w/v (Control = ไม่เติมน้ำมันพืช)



รูป 5 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ lovastatin (กราฟแท่งสีขาว) และน้ำหนักเชื้อราแห้ง (กราฟแท่งสีเทา) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* ATCC 20542 โดยใช้แหล่งคาร์บอนเสริมจากน้ำมันข้าวโพด น้ำมันมะกอก น้ำมันปาล์มโอเลอิน และน้ำมันรำข้าว ความเข้มข้น 1 %w/v (Control = ไม่เติมน้ำมันพืช)



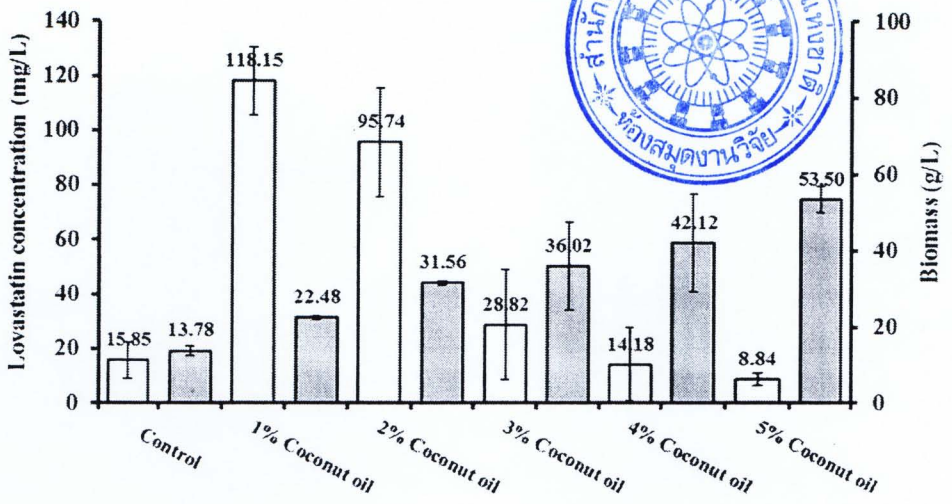
รูป 6 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ lovastatin (กราฟแท่งสีขาว) และน้ำหนักเชื้อราแห้ง (กราฟแท่งสีเทา) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* ATCC 20542 โดยใช้แหล่งคาร์บอนเสริมจากน้ำมันเมล็ดดอกคำฝอย น้ำมันงา น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน ความเข้มข้น 1 %w/v (Control = ไม่เติมน้ำมันพืช)

3.2 การศึกษาผลของการใช้น้ำมันพืชปริมาณต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอนเสริมต่อการผลิต lovastatin

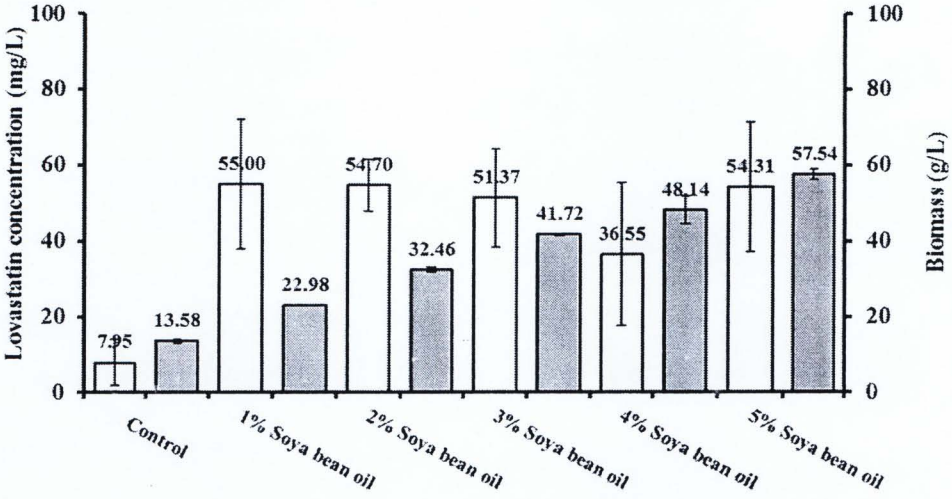
จากผลการศึกษาในการเลือกชนิดของน้ำมันพืชซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนเสริมที่ให้ผลผลิต lovastatin สูงคือน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง ผู้วิจัยได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลืองที่เติมลงในอาหารเหลว โดยศึกษาที่ความเข้มข้นดังนี้ คือ 1 2 3 4 และ 5 %w/v และเปรียบเทียบกับการทดลองควบคุม ดังแสดงในรูป 7 และ 8 สำหรับน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง ตามลำดับ

จากการศึกษาผลของน้ำมันมะพร้าวพบว่าปริมาณ lovastatin ที่เกิดขึ้นจะแปรผกผันกับความเข้มข้นของน้ำมัน คือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันมะพร้าวจะทำให้ปริมาณ lovastatin ลดลงตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้น 1 %w/v จะให้ปริมาณ lovastatin สูงสุด (118.15 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมพบว่าการเติมน้ำมันมะพร้าวทุกความเข้มข้นให้ปริมาณ lovastatin สูงกว่า สำหรับน้ำมันถั่วเหลือง พบว่าที่ความเข้มข้น 1-5 %w/v จะให้ปริมาณ lovastatin ที่แตกต่างกันคืออยู่ในช่วง 36.55-55.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่ความเข้มข้น 1 %w/v จะให้ปริมาณ lovastatin สูงสุด (55.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งผลการทดลองของน้ำมันถั่วเหลืองมีลักษณะเดียวกันกับการวิจัยที่คณะวิจัยได้เคยรายงานไว้ [20] แต่อย่างไรก็ตามการเติมน้ำมันจะให้ปริมาณมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองควบคุม ส่วนปริมาณ biomass ของทั้งการศึกษาในน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลืองจะแปรผันตามความเข้มข้นของน้ำมันพืช

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



รูป 7 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ lovastatin (กราฟแท่งสีขาว) และน้ำหนักเชื้อราแห้ง (กราฟแท่งสีเทา) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* ATCC 20542 โดยใช้แหล่งคาร์บอนเสริมจากน้ำมันมะพร้าว ความเข้มข้น 1-5 %w/v (Control = ไม่เติมน้ำมันพืช)



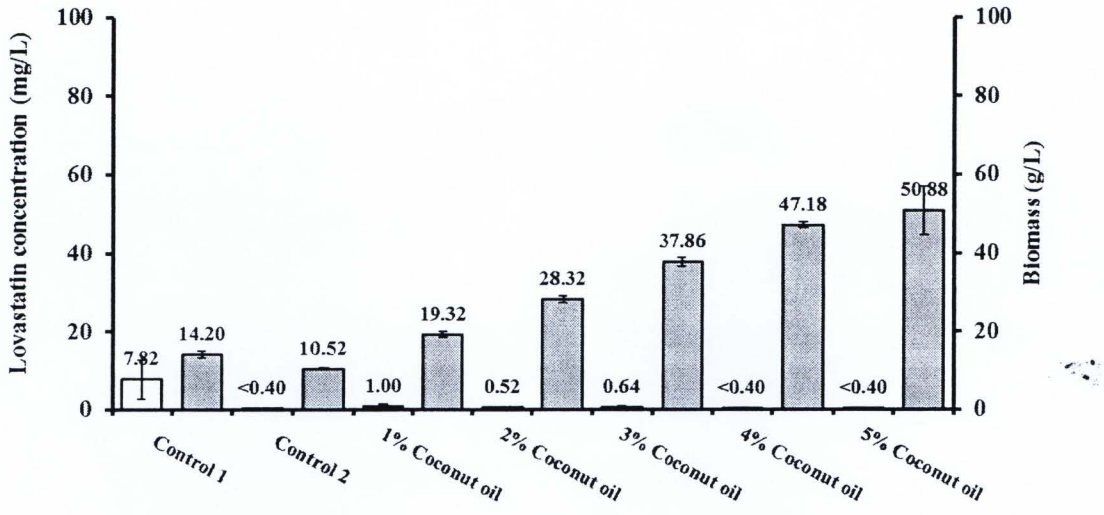
รูป 8 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ lovastatin (กราฟแท่งสีขาว) และน้ำหนักเชื้อราแห้ง (กราฟแท่งสีเทา) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* ATCC 20542 โดยใช้แหล่งคาร์บอนเสริมจากน้ำมันถั่วเหลือง ความเข้มข้น 1-5 %w/v (Control = ไม่เติมน้ำมันพืช)

3.3 การศึกษาผลของการใช้น้ำมันพืชเป็นแหล่งคาร์บอนหลักต่อการผลิต lovastatin

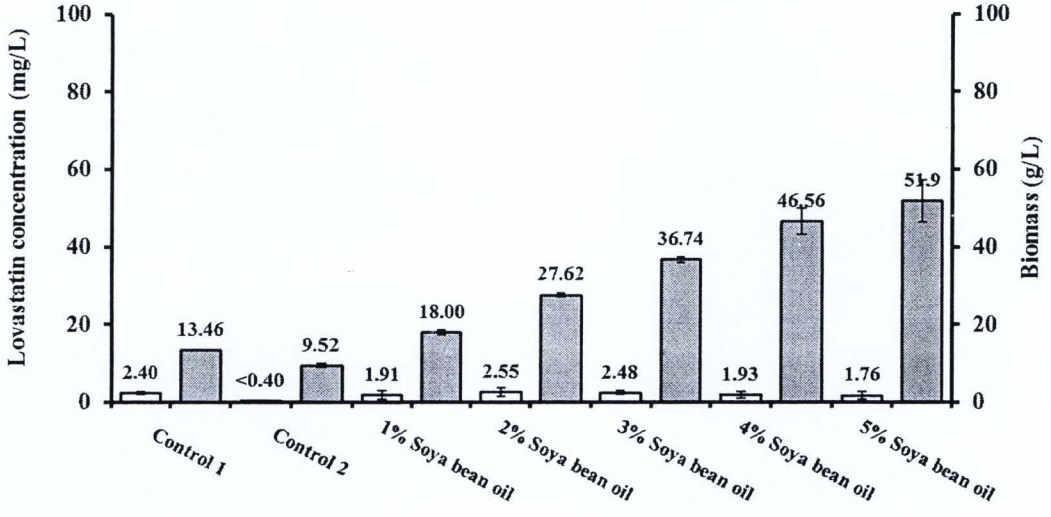
จากผลการศึกษาการใช้น้ำมันพืช 2 ชนิด คือน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง ทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนเสริม โดยมีแหล่งคาร์บอนหลักเป็น lactose สำหรับการศึกษานี้ ผู้วิจัยได้เปลี่ยนแหล่งคาร์บอนหลักโดยให้น้ำมันพืช 2 ชนิดดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก โดยไม่เติม lactose ลงให้อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ การเติมน้ำมันในครั้งนี้จะใช้ความเข้มข้น 1-5 %w/v ผลการทดลองแสดงในรูป 9 และ 10 สำหรับน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง ตามลำดับ

จากผลการศึกษาพบว่าการเติมน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนหลัก (ความเข้มข้น 1-5 %w/v) มีผลทำให้การผลิต lovastatin มีปริมาณลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่เติม lactose แต่ไม่เติมน้ำมันพืช (control 1) และการทดลองควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันพืชและ lactose (control 2) โดยมีปริมาณ lovastatin มีค่าน้อยกว่า 1.00 และ 2.55 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณ biomass ของการศึกษาทั้งในน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลืองจะแปรผันตามความเข้มข้นของน้ำมันพืชที่เติมลงไปในอาหารเหลว

เพราะฉะนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าน้ำมันพืชเหมาะสำหรับใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเสริมมากกว่าแหล่งคาร์บอนหลักในการเพิ่มผลผลิตของ lovastatin ซึ่งมีความสอดคล้องกับรายงานการศึกษาการใช้น้ำมันพืชเป็นแหล่งคาร์บอนเสริมในการผลิต tetracycline [15], cephamycin C [16] และ clavulanic acid [17] แต่อย่างไรก็ตามน้ำมันพืชสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนหลักได้ในการผลิต erythromycin [14], gentamicin [18] และ cephalosporin C [19]



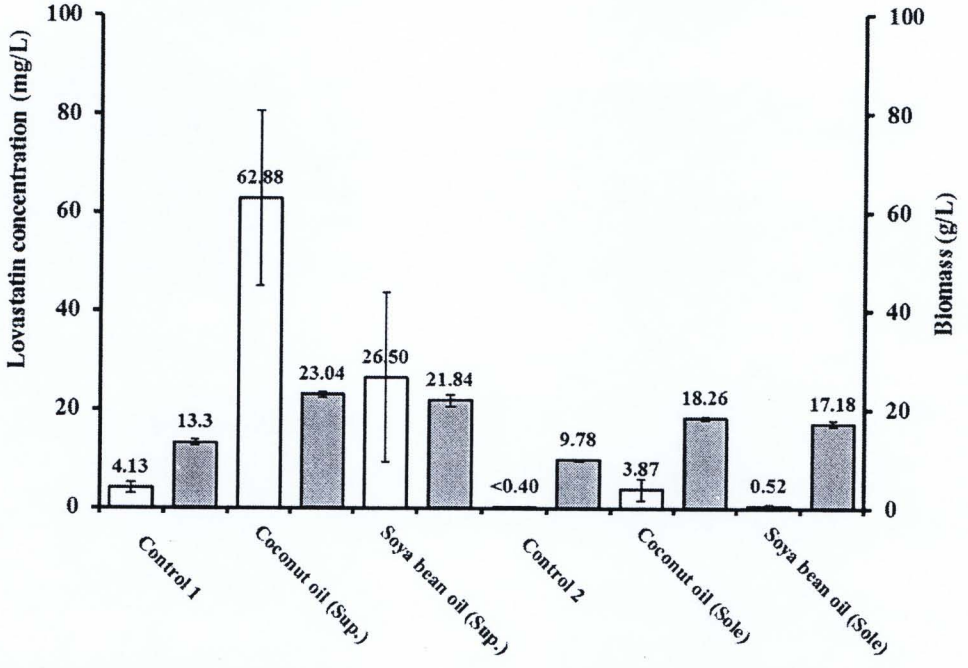
รูป 9 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ lovastatin (กราฟแท่งสีขาว) และน้ำหนักเชื้อราแห้ง (กราฟแท่งสีเทา) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* ATCC 20542 โดยใช้แหล่งคาร์บอนหลักจากน้ำมันมะพร้าว ความเข้มข้น 1-5 %w/v (Control 1 = ไม่เติมน้ำมันพืช, Control 2 = ไม่เติมน้ำมันพืชและ lactose)



รูป 10 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ lovastatin (กราฟแท่งสีขาว) และน้ำหนักเชื้อราแห้ง (กราฟแท่งสีเทา) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* ATCC 20542 โดยใช้แหล่งคาร์บอนหลักจากน้ำมันถั่วเหลือง ความเข้มข้น 1-5 %w/v (Control 1 = ไม่เติมน้ำมันพืช, Control 2 = ไม่เติมน้ำมันพืชและ lactose)

3.4 การศึกษาผลของการใช้น้ำมันพืชเป็นแหล่งคาร์บอนหลักและเสริมต่อการผลิต lovastatin

ผู้วิจัยได้ทำการเปรียบเทียบผลของการใช้น้ำมันพืชในการเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก และแหล่งคาร์บอนเสริมภายใต้การทดลองครั้งเดียวกัน โดยเปรียบเทียบกับการทดลองควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันพืช (control 1) และการทดลองควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันพืชและ lactose (control 2) ดังรูป 11 จากการศึกษาพบว่ากลุ่มการทดลองที่มีการเติม lactose และน้ำมันพืชจะได้ปริมาณ lovastatin สูงกว่ากลุ่มการทดลองที่เติมเพียงน้ำมันพืชอย่างเดียว รวมทั้งการเติมน้ำมันมะพร้าวจะได้ปริมาณ lovastatin สูงกว่าน้ำมันถั่วเหลือง ผลการทดลองดังกล่าวเป็นการยืนยันว่าการเติมน้ำมันพืชเป็นแหล่งคาร์บอนเสริมจาช่วยเพิ่มผลผลิต lovastatin ได้เป็นอย่างดี



รูป 11 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ lovastatin (กราฟแท่งสีขาว) และน้ำหนักเชื้อราแห้ง (กราฟแท่งสีเทา) ที่ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus terreus* ATCC 20542 โดยใช้แหล่งคาร์บอนหลัก (Sole) และแหล่งคาร์บอนเสริม (Sup.) จากน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลือง ความเข้มข้น 1 %w/v (Control 1 = ไม่เติมน้ำมันพืช, Control 2 = ไม่เติมน้ำมันพืชและ lactose)