

สุธิดา ตันติคำชน 2550: การผลิตสควอลีนโดยยีสต์ ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) สาขาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาควิชาจุลชีววิทยา ประชานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์สาวตรี ลิ้มทอง, Dr.Eng. 111 หน้า

จากตัวอย่าง ดิน ผลไม้ ยาง ไม้ ดอกไม้ เห็ด และมอส จำนวน 75 ตัวอย่าง แยกได้ยีสต์ 248 ไอโซเลต เมื่อนำมาคัดเลือกรวมพบว่ามี 30 ไอโซเลตที่สะสมสควอลีนภายในเซลล์ได้ จึงนำทุกไอโซเลต รวมทั้งยีสต์สายพันธุ์เดิม RV51 และสายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 ซึ่งเคยมีรายงานว่ามีการสะสมสควอลีนได้สูง (อุทัยพร, 2547) มาศึกษาปริมาณสควอลีนที่สะสมเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Yeast extract peptone dextrose พบว่า ยีสต์สายพันธุ์เดิม RV51 และสายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 สะสมสควอลีนได้สูงกว่าไอโซเลตที่แยกและคัดเลือกมาใหม่ มาก จึงคัดเลือกยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์มาศึกษาการสะสมสควอลีนเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีการสะสมสควอลีนปริมาณใกล้เคียงกัน จึงนำยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่ายีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ให้สควอลีนสูงสุดในอาหารจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ โดยยีสต์สายพันธุ์กลายให้สควอลีนที่ผลิตได้สูงกว่าสายพันธุ์เดิมมาก ดังนั้นในการศึกษาองค์ประกอบของอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสควอลีนเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตรและบ่มแบบเขย่า จึงใช้เฉพาะยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 และพบว่า อาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ โคโรเจนเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.5 ที่ 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเหมาะสมสำหรับการสะสมและการผลิตสควอลีน โดยยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 มีการสะสมสควอลีน 360.6 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และผลิตสควอลีนได้ 1,784.9 ไมโครกรัมต่อลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมเทออร์บินาฟีน 2.5 - 7.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลให้มีการสะสมสควอลีนภายในเซลล์เพิ่มขึ้น 5 - 10 เท่า ในขณะที่มีการผลิตสควอลีนเพิ่มขึ้น 5 เท่า ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า การนำเซลล์ที่เจริญอยู่ในอาหารเหลวจากน้ำตาลไปแช่เยือกแข็งทันทีที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง มีผลให้เซลล์สะสมสควอลีนได้สูงขึ้น โดยทำให้มีการผลิตสควอลีนเพิ่มขึ้น 3 - 4 เท่า สำหรับการผลิตสควอลีนของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงแบบแบดจ์ในถังหมักแบบถังกวนขนาด 5 ลิตรในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีองค์ประกอบอาหารและสภาวะที่ได้จากการศึกษาในพลาสติก ปริมาตร 3 ลิตร พบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมเทออร์บินาฟีน 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรแล้วแช่เยือกแข็งเซลล์ที่เจริญอยู่ในอาหารเหลวจากน้ำตาลทันทีที่ -20 องศาเซลเซียส ผลิตสควอลีนได้ 19,700.6 ไมโครกรัมต่อลิตร ที่เวลา 15 ชั่วโมง ในขณะที่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมเทออร์บินาฟีนแล้วแช่เยือกแข็งเซลล์แบบเดียวกัน ผลิตสควอลีนเพียง 3,741.4 ไมโครกรัมต่อลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง

สุธิดา ตันติคำชน  
ลายมือชื่อนิติศิต

  
ลายมือชื่อประธานกรรมการ

29 / 10 / 2550