

สารบัญ

| | หน้า |
|----------------------|------|
| สารบัญ | (1) |
| สารบัญตาราง | (2) |
| สารบัญภาพ | (3) |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 2 |
| การตรวจเอกสาร | 3 |
| อุปกรณ์และวิธีการ | 29 |
| ผลและวิจารณ์ | 40 |
| สรุป | 95 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง | 100 |
| ภาคผนวก | 109 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|--|------|
| 1 | ส่วนประกอบที่ใช้ในครีมีให้ความชุ่มชื้น | 4 |
| 2 | องค์ประกอบของลิปิดที่พบในต่อมไขมันและไขผิวหนังของมนุษย์ | 7 |
| 3 | ปริมาณสควอลีนในไขมันและน้ำมันบางชนิด | 10 |
| 4 | องค์ประกอบของกรดไขมันหลักและสควอลีนที่พบในน้ำมันอะมาเรนต์ | 11 |
| 5 | ตัวอย่าง สถานที่เก็บ และยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างต่าง ๆ | 41 |
| 6 | การสะสมสควอลีนของยีสต์ 248 ไอโซเลต ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YPD ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บรรจุในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มในตู้บ่มแบบเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเซลล์มาสกัดไขมันและตรวจหาสควอลีนด้วย Thin-layer chromatography | 43 |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | หน้า |
|--------|---|
| 1 | โครงสร้างทางเคมีของสควอลีน 3 |
| 2 | วิธีการสังเคราะห์เออร์โกสเตอรอลในยีสต์ 13 |
| 3 | โครงสร้างทางเคมีของเทอร์บินาฟีน 23 |
| 4 | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ squalene epoxidase โดยเทอร์บินาฟีนใน <i>S. cerevisiae</i> 24 |
| 5 | ผลการวิเคราะห์สควอลีนที่สะสมของยีสต์บางไอโซเลต โดยวิธี Thin-layer chromatography (TLC) บนแผ่นซิลิกาเจล 60F ₂₅₄ ที่ใช้เฮกเซนเป็น developing solvent และตรวจหาสควอลีนโดยแช่ในสารละลายผสมของกรดซัลฟูริกเข้มข้น น้ำ และเมทานอล (อัตราส่วน 1:1:18 โดยปริมาตร) แล้วนำไปอบที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (ก) สควอลีนมาตรฐานความเข้มข้น 0.005 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) (Rf = 0.46) ให้จุดสีน้ำตาลเข้ม (+3) (ข) ไอโซเลตที่มีการสะสมสควอลีนระดับต่าง ๆ คือ SK12 (+3), SK108 (+2), SK37 (+3), SK14 (+1) และ SK81 (-) 42 |
| 6 | การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์ 30 ไอโซเลตที่ผ่านการคัดเลือกขั้นแรก ได้แก่ SK12, SK14, SK22, SK23, SK37, SK57, SK58, SK64, SK66, SK73, SK82, SK83, SK99, SK107, SK108, SK109, SK110, SK119, SK125, SK128, SK129, SK131, SK167, SK168, SK169, SK176, SK193, SK196, SK205, SK245 ยีสต์สายพันธุ์เดิม RV51 และสายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YPD ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น เท่ากับความขุ่น 0.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง 47 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|---|------|
| 7 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์เดิม RV51 (■) และสายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 (▲) เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 0.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส</p> | 51 |
| 8 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 2 (●), 3 (▲) และ 4 (■) เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.0 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส</p> | 55 |
| 9 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์เดิม RV51 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 2 (●), 3 (▲) และ 4 (■) เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.0 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส</p> | 56 |
| 10 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0 (○), 0.05 (▲), 0.10 (■), 0.15 (●) และ 0.20 (Δ) เปอร์เซ็นต์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.0 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส</p> | 59 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|---|------|
| 11 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ ยูเรีย 0 (○), 0.05 (▲), 0.10 (■), 0.15 (●), 0.20 (Δ) เปอร์เซ็นต์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.0 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส</p> | 60 |
| 12 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไคโทแซนเทียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต 0 (○), 0.05 (▲), 0.10 (■), 0.15 (●) และ 0.20 (Δ) เปอร์เซ็นต์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.0 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส</p> | 63 |
| 13 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไคโทแซนเทียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 4.5 (▲), 5.0 (■), 5.5 (●), 6.0 (◆), 6.5 (Δ) และไม่ปรับพีเอช (พีเอช 5.23) (○) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.0 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส</p> | 66 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|---|------|
| 14 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไคโทแซนเทียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 0.5 (▲), 1.0 (■), 1.5 (●) และ 2.0 (◆) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส</p> | 69 |
| 15 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไคโทแซนเทียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 25 (●), 28 (■) และ 30 (◆) องศาเซลเซียส</p> | 71 |
| 16 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไคโทแซนเทียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 5.0 โดยใช้อาหารปริมาตร 100 (▲), 150 (■), 200 (●) และ 250 (◆) มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส</p> | 73 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | เนื้อหา | หน้า |
|--------|--|------|
| 17 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) และการเจริญ (ค) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไคโทแซนเทียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 70 (▲), 100 (■), 130 (●) และ 160 (◆) รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส</p> | 76 |
| 18 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) การเจริญ (ค) และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (ง) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไคโทแซนเทียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ และเติมเทอร์บินาฟีน 0 (Δ), 2.5 (▲), 5 (●) และ 7.5 (◆) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พีเอช 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส</p> | 80 |
| 19 | <p>การผลิตสควอลีนของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 โดยไม่ได้แช่เยือกแข็งเซลล์ (ล้างเซลล์ทันที) และนำเซลล์พร้อมอาหารแช่เยือกแข็งทันทีที่ -20 องศาเซลเซียส โดยเซลล์ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวจากน้ำตาลที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไคโทแซนเทียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ และเติมเทอร์บินาฟีน 0, 2.5, 5 และ 7.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พีเอช 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ความเร็วการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ที่เวลา 42 ชั่วโมง</p> | 84 |

สารบัญญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|--|------|
| 20 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) การเจริญ และพีเอชอาหาร (ค) และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (ง) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 โดยไม่ได้แช่เยือกแข็งเซลล์ (ล้างเซลล์ทันที) และนำเซลล์พร้อมอาหารแช่เยือกแข็งทันทีที่ -20 องศาเซลเซียส โดยเซลล์ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบแบดจ์ในถังหมักแบบถังกวนขนาด 5 ลิตร ในอาหารเหลวจากน้ำตาลปริมาตร 3 ลิตรที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไดโทแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 5.0 ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ในระหว่างการเพาะเลี้ยงทำการกวนด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที และให้อากาศ 1 vvm อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส</p> | 88 |
| 21 | <p>การสะสมสควอลีนในเซลล์ (ก) การผลิตสควอลีน (ข) การเจริญ และพีเอชอาหาร (ค) และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (ง) ของยีสต์สายพันธุ์กลาย RV51-UV2-NTG2 โดยไม่ได้แช่เยือกแข็งเซลล์ (ล้างเซลล์ทันที) และนำเซลล์พร้อมอาหารแช่เยือกแข็งทันทีที่ -20 องศาเซลเซียส โดยเซลล์ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบแบดจ์ในถังหมักแบบถังกวนขนาด 5 ลิตร ในอาหารเหลวจากน้ำตาลปริมาตร 3 ลิตรที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ไดโทแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ และเติมเทอร์บินาฟีน 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พีเอช 5.0 ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเท่ากับความขุ่น 1.5 ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ในระหว่างการเพาะเลี้ยงทำการกวนด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที และให้อากาศ 1 vvm อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส</p> | 92 |