



บทที่ 1

บทนำ

พืชเป็นแหล่งที่มาของสารสำคัญแหล่งใหญ่ของโลกทั้งสารปฐมภูมิและทุติยภูมิที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของมนุษย์ ในปัจจุบันพบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยเฉพาะสารสกัดจากพืชอย่างกว้างขวางทั้งในด้านการค้นหาสารใหม่ และการทดสอบการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือการใช้เป็นองค์ประกอบสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอางและยา จะเห็นว่าแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารที่นำมาใช้ประโยชน์โดยมากมักมาจากพืช แต่เมื่อมนุษย์มีความต้องการเพิ่มมากขึ้นจนพืชไม่สามารถผลิตได้ทันตามความต้องการ การสังเคราะห์ หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจึงเกิดขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสามารถทำได้ทั้งการใช้กระบวนการทางเคมี (chemical conversion) และกระบวนการทางชีวภาพที่เรียกว่าไบโอทรานส์ฟอร์มเมชัน (Biotransformation)

ไบโอทรานส์ฟอร์มเมชันเป็นกระบวนการทางชีวภาพที่นิยมใช้ในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เช่น เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เนื่องจากพบว่าการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาบางชนิด โดยเฉพาะปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation reaction) โดยการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) ในโครงสร้างของสารเทอร์พีนอยด์โดยวิธีทางเคมีนั้นทำได้ยากต้องใช้ปฏิกิริยาหลายขั้นตอนและมีความจำเพาะต่ำ แต่ด้วยกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์มเมชันโดยอาศัยจุลินทรีย์พบว่าสามารถเติมหมู่ไฮดรอกซิลลงในโครงสร้างของสารเทอร์พีนอยด์บางชนิดได้ โดยมีข้อดีคือเนื่องจากพบว่ากระบวนการทางเคมีบางปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ยาก ต้องอาศัยวิธีการหลายขั้นตอนหรือใช้ปฏิกิริยารุนแรงมีความจำเพาะมากในการเกิดปฏิกิริยา และบางปฏิกิริยาก็ไม่สามารถสังเคราะห์ได้ด้วยวิธีการทางเคมี แต่กระบวนการทางชีวภาพสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาขึ้นได้ภายใต้ภาวะที่ไม่รุนแรงและมีความจำเพาะในการเกิดปฏิกิริยาสูงกว่า ไม่ว่าจะเป็นความจำเพาะต่อตำแหน่งที่จะเกิดปฏิกิริยา (Regiospecificity) หรือจำเพาะต่อสเตอริโอเคมีของโครงสร้างสารตั้งต้น (stereospecificity) ในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารบางชนิดด้วย เราสามารถนำเอากระบวนการทางชีวภาพนี้มาประยุกต์ให้เกิดประโยชน์เพื่อทดแทนกระบวนการทางเคมีได้นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้ไบโอทรานส์ฟอร์มเมชันในการผลิตสารที่มีราคาแพงและหายาก จากสารที่มีราคาถูกหรือสามารถพบได้ทั่วไปในปริมาณมาก ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ α -pinene ให้กลายเป็น verbenone (Agrawal และ Joseph, 2000) ซึ่งเป็นสารแต่งกลิ่นรสที่มีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมอาหารและมีราคาสูงเมื่อเทียบกับ α -pinene

สารเทอร์พีนอยด์เป็นสารที่เกิดจากการจับกันของหน่วยไอโซพรีนในลักษณะต่างๆ โดยสามารถพบได้หลายรูปแบบ เช่น ไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ แลคโตน หรือออกไซด์ อาจเป็นได้ทั้งของแข็งและของเหลว มีทั้งโมเลกุลเล็กและโมเลกุลใหญ่ เช่น โมโนเทอร์พีนอยด์ (monoterpenoid) เซสควิเทอร์พีนอยด์ (sesquiterpenoid) ไดเทอร์พีนอยด์ (diterpenoid) ไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoid) สารเทอร์พีนอยด์เป็นสารที่พบได้ในธรรมชาติ โดยเฉพาะในพืชชั้นสูง ในส่วนของเซสควิเทอร์พีนอยด์เป็นกลุ่มของสารเทอร์พีนอยด์ที่พบมากที่สุด และเป็นกลุ่มที่ถูกรายงานว่า มีทั้งเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือเป็นสารที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ทั้งอาหาร เครื่องสำอาง และยา เช่น nootkatone นอกจากนี้จะมีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงแล้ว ยังเป็นสารที่ใช้ในการปรุงแต่งรสชาติของอาหารอีกด้วย (Hassane และคณะ, 2000) จึงมีผู้สนใจศึกษาสารชนิดนี้ทั้งในด้านการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวภาพ การนำมาดัดแปลงเพื่อเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือการพบสารใหม่เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ทางเทคโนโลยีชีวภาพต่อไป

Pterocarpol เป็นสารเซสควิเทอร์พีนอยด์ที่มีโครงสร้างเป็น eudesmane (eudesmane-type sesquiterpenoid) มีรายงานว่า เป็นโครงสร้างที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพคือ มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อรา (Maatooq และ Hoffmann, 1996) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุพันธ์ที่มีฤทธิ์ เช่น santonin, argentone และ panellon (Maatooq และคณะ, 1996) รักษาโรคเกี่ยวกับสมอง (Asakura และคณะ, 2000) เป็นยาสำหรับแก้พิษของ organophosphorous รักษาโรคลมบ้าหมู (Chiou และคณะ, 1995) และรักษาแผลในกระเพาะอาหาร (Nogami และคณะ, 1996) ยังไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารนี้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

Valencene เป็นสารเซสควิเทอร์พีนอยด์ ที่มีโครงสร้างเป็น valencane (valencane-type sesquiterpenoid) มีลักษณะเป็นน้ำมันหอมระเหยที่พบมากในส้ม เป็นสารแต่งกลิ่นที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสาร nootkatone ซึ่งเป็นน้ำมันหอมระเหยอีกชนิดหนึ่งที่นิยมมากในอุตสาหกรรมอาหารและเป็นสารที่มีราคาแพง เนื่องจากตามธรรมชาติผลิตได้น้อย เคยมีรายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารนี้แต่ยังไม่เคยมีใครเปลี่ยนโดยอาศัย *Aspergillus niger*

ไบโอทรานส์ฟอร์มเมชันถูกใช้อย่างกว้างขวางเพื่อตอบสนองความต้องการไม่ว่าจะเป็นการค้นหารายใหม่ การหาสารมีฤทธิ์ หรือการทำให้สารมีคุณค่า ราคาเพิ่มขึ้น และยังเป็นการแก้ไขความจำเพาะของสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์ ในงานวิจัยนี้จะทำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารเซสควิเทอร์พีนอยด์ คือ pterocarpol และ valencene ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันคือมีลักษณะเป็นไซโคลเฮกเซนสองวงต่อกัน ด้วยเชื้อ *Aspergillus niger* ซึ่งเป็นราที่จัดอยู่ในชั้น Ascomycetes สาเหตุที่ใช้เชื้อรานี้ เนื่องจากมีรายงานว่าสามารถเปลี่ยน

โครงสร้างของสารเทอร์พีนอยด์บางชนิดได้ อีกทั้งยังเป็นจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงง่าย ควบคุมง่าย และต้องการสูตรอาหารที่ไม่ยุ่งยากนัก โดยทำการเลี้ยง *A. niger* บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบของสารเทอร์พีนอยด์ที่ต้องการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง โดยคาดหวังว่า *A. niger* สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารทั้งสองได้ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจเป็นสารใหม่ หรือสารที่จะนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป จากนั้นสกัดและทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณและพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีและสเปกโทรสโกปีตามลำดับ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ pterocarpol และ valencene ด้วยกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์มเมชันด้วย *Aspergillus niger*
2. วิเคราะห์หาปริมาณ ทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ และพิสูจน์เอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์มเมชันด้วย *Aspergillus niger*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้อนุพันธ์ของ pterocarpol และ valencene ซึ่งอาจเป็นสารชนิดใหม่ และ/หรือเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
2. เป็นแนวทางในการนำกระบวนการไบโอทรานส์ฟอร์มเมชันด้วย *Aspergillus niger* มาประยุกต์ในการเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีของสารเทอร์พีนอยด์ชนิดอื่นๆต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย