บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต solasodine จากมะเขือ *Solanum laciniatum* , Ait โดยวิธีเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งได้แก่การใช้เชื้อจุลินทรีย์ การใช้เอนไซม์ β-Galactosidase ในการ hydrolyse crude glycoalkaloid ที่สกัดจากมะเขือ โดยการแบ่งการศึกษาเป็น 2 ส่วนสำคัญคือ การใช้เชื้อจุลินทรีย์จากการสำรวจและเชื้อมาตรฐานมาทำการผลิต solasodine โดยวิธี shake flask และการใช้เอนไซม์ในการผลิต

จากการศึกษาพบว่าเชื้อ *Aspergillus niger* F104948 , *Penicillium* spp. F879402 และ *Cunninghamella echinulata* F1307942 ซึ่งได้จากการสำรวจจากดินในจังหวัดเชียงใหม่ และเชื้ออีก 1 ตัวที่ได้จาก ATCC คือ *Cunninghamella blakesleeana* ATCC86688 a และ b สามารถเปลี่ยนน้ำแช่ใบมะเขือและผลมะเขือให้กลายเป็น solasodine ได้ โดยพบว่าน้ำหมักมะเขือที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อจะพบปริมาณ solasodine ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับน้ำหมักผลมะเขือที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อนำน้ำสกัดผลมะเขือไปเตรียม liquid media และทำการหมักเลี้ยงเชื้อ พบว่า *Penicillium* spp. F879402 สามารถผลิต solasodine ได้สูงสุด ส่วน *Aspergillus niger* F104946 สามารถผลิต solasodine ได้มากกว่า *Aspergillus niger* F921945 นอกจากนี้การใช้เชื้อ *Penicillium* spp. F879402 มาทำการ hydrolyse crude glycoalkaloid ที่สกัดจากผลมะเขือพบว่าใน liquid media ที่ไม่เจือจาง crude glycoalkaloid และไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ มีปริมาณ solasodine สูงสุดในวันที่ 4 ของการทดลอง จากนั้นจะมีปริมาณลดลง และยังพบว่าการให้อากาศในขณะเพาะเลี้ยง *Penicillium* spp. F879402 ทำให้มีแนวโน้มในการผลิต solasodine ได้

จากการใช้เชื้อ *Penicillium* spp. F879402 มาทำการหมักเลี้ยงใน crude glycoalkaloid โดยวิธี shake flask พบว่า การหมักเลี้ยงในสารสกัดด้วยน้ำอย่างเดียวจะให้ปริมาณ soiasodine สูงที่สุด คือ 0.051% ในวันที่ 1 ของการหมัก ส่วนการหมักเลี้ยงใน liquid media ที่ผสม crude glycoalkaloid นั้นพบว่าการผสม crude glycoalkaloid ที่ความเข้มข้น 8 mg/ml ทำให้เชื้อมีอัตราการเจริญที่สูงที่สุด แต่เมื่อนำไปหมักเลี้ยงในอาหาร liquid media (LM) , Sabouraud Dextrose Broth (SDB) และ LM+SDB ที่ผสม crude glycoalkaloid 8 mg/ml กลับไม่พบว่ามีการผลิต solasodine แต่อย่างใด ส่วนการหมักเลี้ยง *Aspergillus* spp. F613810 ในอาหาร LM ที่ผสม crude glycoalkaloid นั้นพบว่า *Aspergillus* spp. F613810 ที่หมักในอาหาร LM ที่ผสม crude glycoalkaloid 15 mg/ml มีการผลิต solasodine ได้ในปริมาณ 0.07% และ 0.08% ในวันที่ 11 และ 14 ของการทดลองตามลำดับ

ส่วนการใช้เอนไซม์ β-Galactosidase มาทำการหมัก crude glycoalkaloid ที่อุณหภูมิห้อง และ 37°C ที่ pH 4 และ 4.5 ยังไม่พบว่ามีการผลิต solasodine เกิดขึ้นในตัวอย่างที่เก็บมาวิเคราะห์เป็นส่วนใหญ่ แต่ที่อุณหภูมิ 37°C พบว่า crude glycoalkaloid 1000 mg/ml ที่หมักด้วยเอนไซม์ β-Galactosidase 20 units (ปริมาณรวม 20 มล.) สามารถผลิต solasodine ได้ปริมาณ 0.00448%

การใช้เชื้อ *Penicillium* spp. F879402 และ *Aspergillus* spp. F613810 สามารถผลิต solasodine จาก crude glycoalkaloid ของผลมะเขือได้ yield เท่ากับ 0.2% และ 0.08 %ของ crude glycoalkaloid ตามลำดับ หรือคิดเป็น 0.061% และ 0.024% ของผลแห้ง และคิดเป็น 9.3%และ3.659% ของการผลิต solasodine โดยวิธีการทางเคมี ส่วนการใช้เอนไซม์ β-Galactosidase ในการผลิต solasodine นั้นยังสามารถผลิตได้ในปริมาณที่น้อยมาก คือได้เพียง 0.00448% ของ crude glycoalkaloid หรือคิดเป็น 0.6944% ของการผลิตโดยวิธีการทางเคมีเท่านั้น

Abstract

The objective of this study was to produce solasodine from *Solanum laciniatum*, Ait by biotechnology process using the microorganisms and enzyme to hydrolyse the extract of its fruits or leaves. This study was divided into 2 parts; the solasodine production by microorganism in shake flask and the fermentation by β-galactosidase enzyme.

The result showed that *Aspergillus niger* F104948 , *Penicillium* spp. F879402 and *Cunninghamella echinulata* F1307943 from soil in Chiang Mai and *Cunninghamella blakesleena* ATCC86688 a, b from ATCC could produced solasodine from aqueous extract of leaves and fruits. The yield of solasodine in non-sterile aqueous extract of its fruits did not differ from sterile aqueous extract. For the liquid media containing crude glycoalkaloid for the fermentation, the results showed that *Penicillium* spp. F879402 could produced the highest quantity of solasodine. However, *Aspergillus* spp. 104946´ could produced solasodine in higher amount than *Aspergillus* spp. F921945. Whereas, in the media containing non-sterille fruits extract glycoalkaloid, *Penicillium* spp. F879402 could produce the highest solasodine in day 4. After 4 days, the amount solasodine was decrease. Solasodine production by *Penicillium* spp. F879402 tended to increase in an aerobic condition.

In the fermentation of crude glycoalkaloid by using *Penicillium spp.* F879402, the results showed that, the aqueous extract yield the highest sosasodine concentration of 0.051% on the first day. Whereas, the liquid media containing 8 mg/ml of crude glycoalkaloid gave the highest growth rate of the microorganism. However, the fermentation of LM, SDB and LM+SDB containing 8 mg/ml of crude glycoalkaloid did not show solasodine production. Fermentation of LM containing 15mg/ml of crude glycoalkaloid showed 0.07% and 0.08% of solasodine production on day 11 and 14 respectively.

By using β- galactosidase enzyme, at 37°C, pH4 and 4.5, soiasodine production was observed at crude glycoalkaloid concentration of 1,000 mg and 20 units of β-galactosidase enzyme with the yield of 0.00448% (total volume 20 ml).

Penicilliums spp. F879402 and *Aspergillus* spp. F613810 could produce solasodine from berry extract with the yield of 0.20% and 0.08% of crude glycoalkaloid or 0.061% and 0.024% of dried fruits which were 9.30% and 3.659% of solasodine production by chemical hydrolysis. Production of solasodine by β - Galactosidase was still in small amount which was 0.00448% of crude glycoalkaloid or 0.6944% of chemical method.