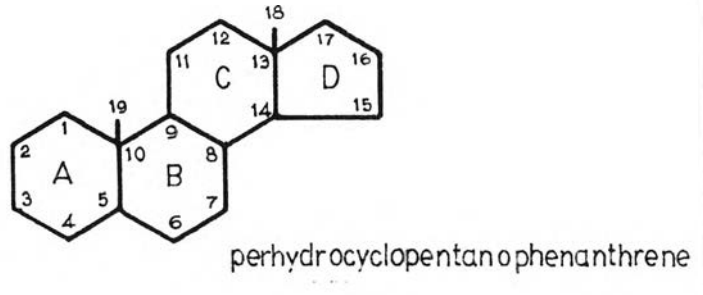
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

กรดน้ำดี (bile acid) เป็นส่วนประกอบส่วนหนึ่งของน้ำดี (bile) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นสารประกอบประเภทสเตียรอยด์ (steroid) ซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็นเปอร์ไฮโดรไซคลอเพนทาโนฟีแนนทรีน (perhydrocyclopentanophenanthrene)

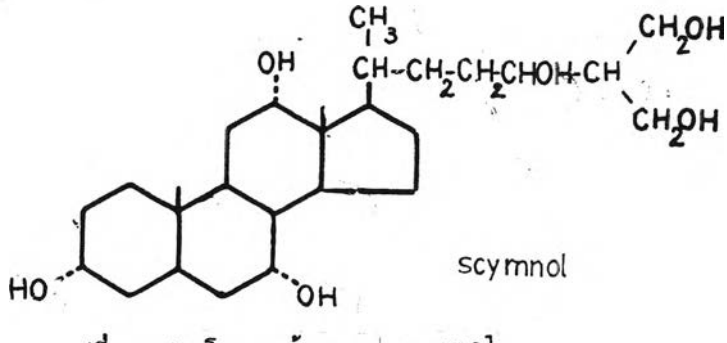


รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของเปอร์ไฮโดรไซคลอเพนทาโนฟีแนนทรีน

พบในสัตว์มีกระดูกสันหลังเช่น ปลา สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

กรดน้ำดีแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1) <u>สารประกอบที่อยู่ในรูปของแอลกอฮอล</u> (bile alcohols) พบในปลา และสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ ประกอบด้วยคาร์บอน 27-28 อะตอม และหมู่ไฮดรอกซี ตั้งแต่ 4 หมู่ขึ้นไป ซึ่งอาจมี 1 หรือมากกว่า 1 หมู่ เป็นแอลกอฮอล์ปฐมภูมิ (primary alcohol) ตัวอย่างของสารประกอบกลุ่มนี้ได้แก่ scymnol ซึ่งพบในปลา



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างของ scymnol

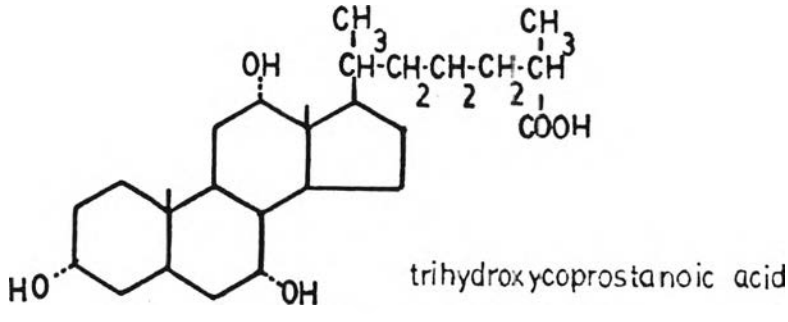
สารประกอบในรูปแอลกอฮอลนี้เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูรัส (sulfurus, HSO_4^-) จะได้เกลือน้ำดี (bile salts) ที่อยู่ในรูปของแอลกอฮอลซัลเฟต (alcohol sulfate) ซึ่งเป็นรูปที่พบโดยทั่วไป

$$R\text{-}OH + HO\text{-}SO_3^- \longrightarrow RO\text{-}SO_3^- + H_2O$$

bile alcohol — bile salt

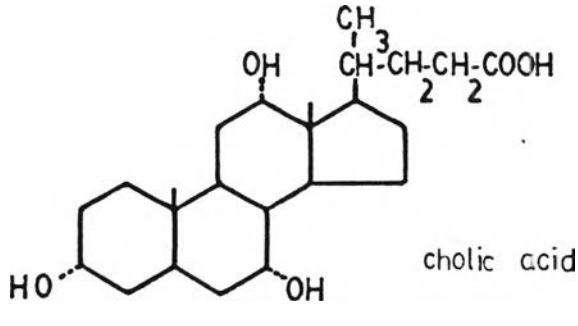
2) <u>สารประกอบที่อยู่ในรูปกรดหรือที่เรียกว่ากรดน้ำดี</u> (bile acids) แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ตามจำนวนคาร์บอนคือ

2.1 พวกที่มีคาร์บอน 27-28 อะตอม เช่น 3α, 7α, 12α-trihydroxy-coprostanoic acid



<u>รูปที่ 3</u> สูตรโครงสร้างของ 3α,7α,12α-trihydroxycoprostanoic acid

2.2 พวกที่มีคาร์บอน 24 อะตอม เช่น กรดโคลิก (cholic acid)



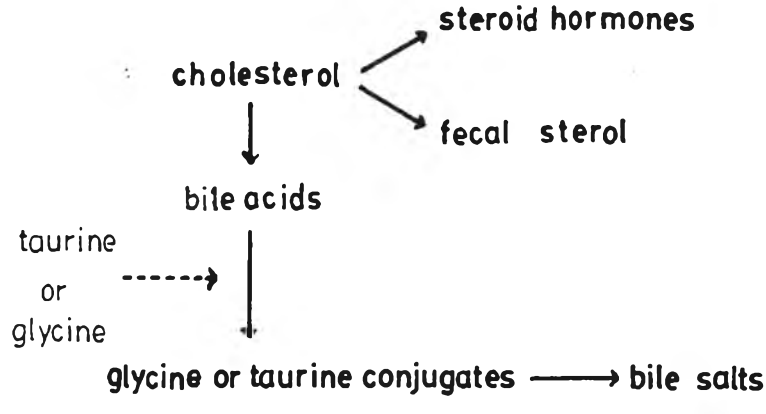
<u>รูปที่ 4</u> สูตรโครงสร้างของกรดโคลิก

กรดน้ำดีประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซี (carboxyl group) ที่ปลายด้านหนึ่งของโมเลกุล มักจะจับต่อกับไกลซีน (glycine) หรือทอรีน (taurine) ด้วยพันธะเอไมด์ (amide linkage) (4) เป็นไกลซีนคอนจูเกต (glycine conjugate) หรือทอรีนคอนจูเกต (taurine conjugate) ตามลำดับ

$$\underset{\text{bile acid}}{R\text{-}COOH} + \underset{\text{glycine}}{NH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH} \longrightarrow \underset{\text{glycine conjugate}}{RCO\text{-}NH\text{-}CH_2\text{-}COOH} + H_2O$$

$$\underset{\text{bile acid}}{R\text{-}COOH} + \underset{\text{taurine}}{NH_2\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}SO_3^-} \longrightarrow \underset{\text{taurine conjugate}}{RCO\text{-}NH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}SO_3^-} + H_2O$$

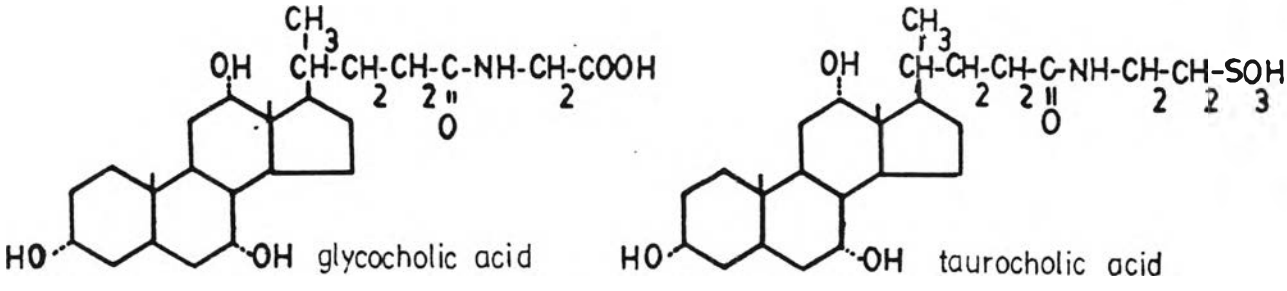
ในสัตว์ทั่วไป โคเลสเตอรอล (cholesterol) จะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้น (precursor) ในการสร้างฟีเคลสเตียรอล (fecal sterol) กรดน้ำดี และสเตียรอยด์ฮอร์โมน (steroid hormones) และกระบวนการสลาย (degradation) โคเลสเตอรอลที่สำคัญคือการเปลี่ยนรูปไปเป็นกรดน้ำดีชนิดต่าง ๆ ซึ่งมีความแตกต่างไปตามชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ



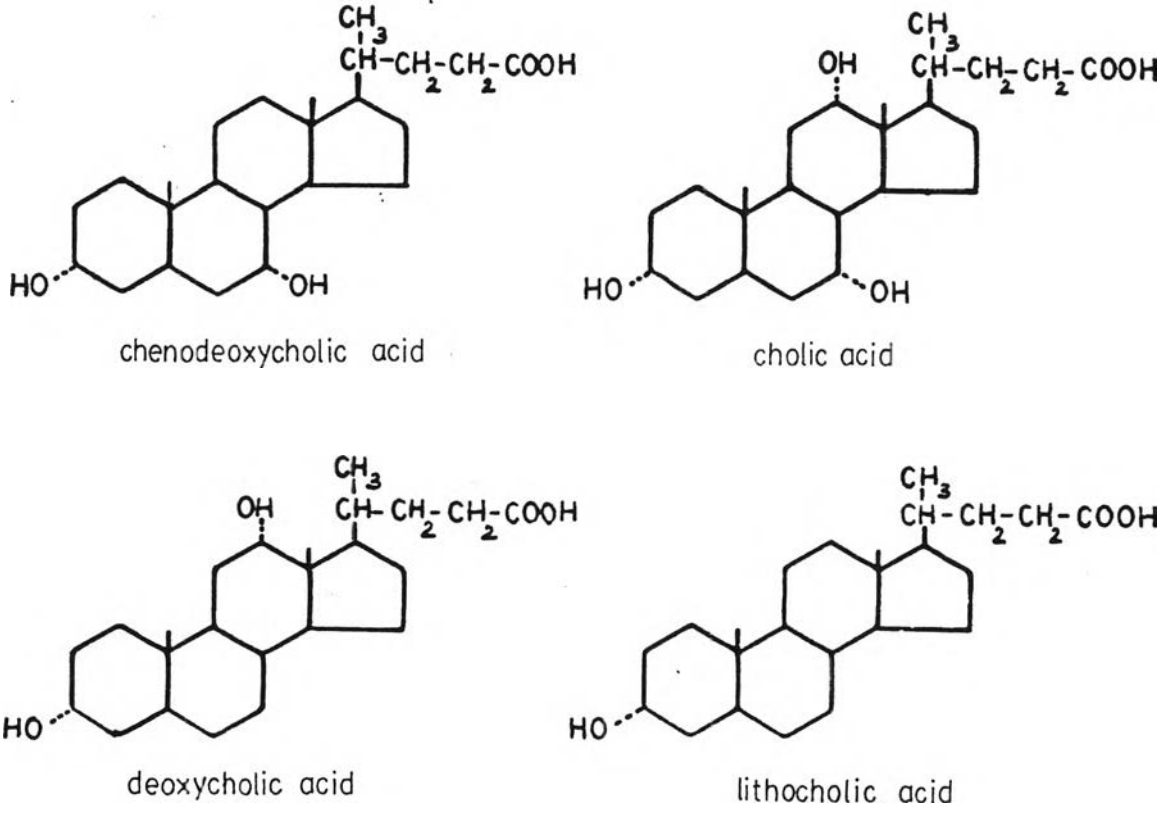
รูปที่ 5 การสร้างกรดน้ำดีจากโคเลสเตอรอลและการเปลี่ยนรูปจากกรดน้ำดีเป็นเกลือน้ำดี

เนื่องจากในถุงน้ำดี (gall bladder) ของมนุษย์มีสภาวะเป็นด่าง (พีเอช 7.5 - 8.0) กรดน้ำดีบางส่วนจึงปรากฏอยู่ในรูปของเกลือ (salts) เกลือน้ำดีนี้มีหน้าที่ช่วยในการกระจายตัว (emulsification) และการดูดซึมไขมันในลำไส้เล็ก กรดน้ำดีที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโคเลสเตอรอลโดยตรงเรียกว่า กรดน้ำดีปฐมภูมิ (primary bile acids) ได้แก่ กรดโคลิก (cholic acid, CA) และกรดคีโนดีออกซีโคลิก

(chenodeoxycholic acid, CDCA) กรดน้ำดีปฐมภูมิจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดน้ำดีทุติยภูมิ (secondary bile acids) โดยขบวนการของจุลชีพในลำไส้ ตัวอย่างของกรดน้ำดีทุติยภูมิได้แก่ กรดดีออกซีโคลิก (deoxycholic acid, DCA) และกรดลิโทโคลิก (lithocholic acid, LCA)



รูปที่ 6 ตัวอย่างสูตรโครงสร้างของกรดน้ำดี 2 ชนิดที่อยู่ในรูป ไกลซีนคอนจูเกต และทอรีนคอนจูเกต คือกรดไกลโคโคลิก และ กรดทอโรโคลิก

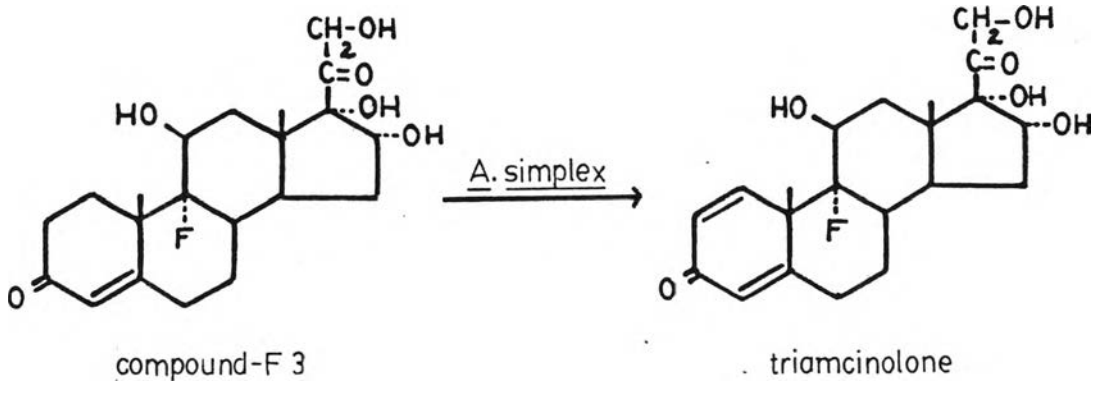


รูปที่ 7 สูตรโครงสร้างของกรดน้ำดีบางชนิดคือ กรดคีโนดีออกซีโคลิก กรดโคลิก กรดดีออกซีโคลิก และ กรดลิโทโคลิก

เป็นที่ทราบกันแล้วว่ากรดน้ำดีในธรรมชาติบางชนิดเช่น CDCA และ UDCA ใช้ในการรักษาโรคนิ่วในถุงน้ำดีชนิดที่เกิดจากโคเลสเตอรอลได้ (5,6) โดย CDCA และ UDCA สามารถชักนำให้เกิดการละลายของโคเลสเตอรอลในก้อนนิ่วได้ โดยมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกันเมื่อใช้รักษาในมนุษย์ (7) CDCA และ UDCA ที่ใช้กันในปัจจุบันผลิตโดยขบวนการทางเคมีซึ่งประกอบด้วยปฏิกิริยาหลายขั้นตอนโดยใช้กรดโคลิก (CA) เป็นสารตั้งต้นและได้ผลผลิตค่อนข้างต่ำทำให้สารมีราคาแพง (8,9) จึงได้มีผู้พยายามที่จะหาวิธีการผลิตอื่น ๆ ที่สะดวกและได้ผลผลิตสูงขึ้น นอกจากนั้นจากการที่ต่อมาพบว่า CDCA มีผลข้างเคียงในการใช้รักษาโดยมีรายงานว่าเป็นพิษต่อตับในสัตว์ทดลองหลายชนิด (6) จึงทำให้เกิดความต้องการกรดน้ำดีชนิดใหม่ ๆ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการละลายก้อนนิ่วและขณะเดียวกันก็มีความปลอดภัยในการใช้รักษาด้วย

<u>การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบประเภทสเตียรอยด์โดยจุลชีพ</u>

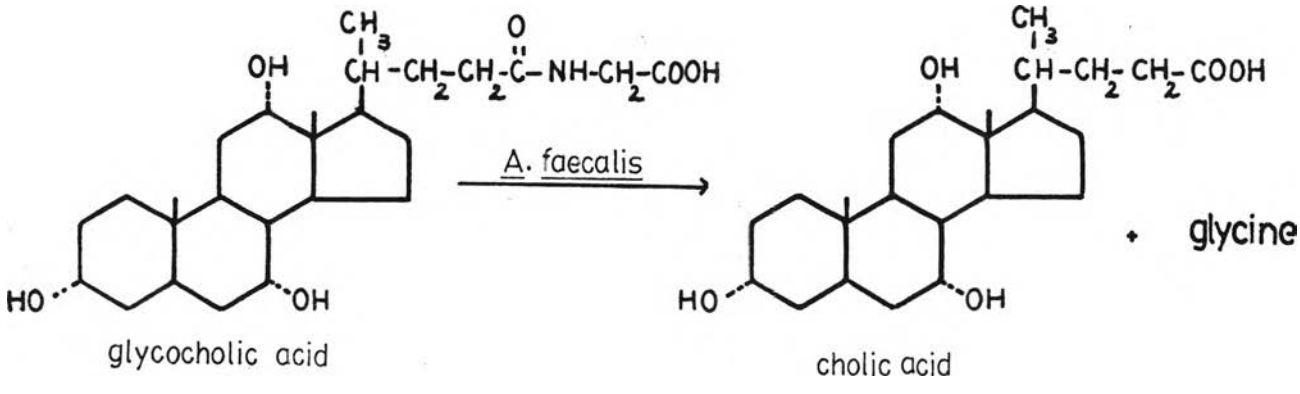
ตั้งแต่ Murray และ Peterson ได้พบปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซีบนโมเลกุลของโปรเจสเตอโรน (progesterone) โดยเชื้อราในปี ค.ศ. 1952 (10) ก็ได้มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบประเภทสเตียรอยด์โดยจุลชีพกันอย่างกว้างขวาง ทำให้ได้สารที่มีประโยชน์ ตัวอย่างเช่นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ ketosteroids ไปเป็น triamcinolone โดยเชื้อ <u>Arthrobacter simplex</u> (15) ดังแสดงในรูปที่ 8



<u>รูปที่</u> 8 การเปลี่ยนโครงสร้างของ compound-F3 ไปเป็น triamcinolone โดย <u>A. simplex</u>

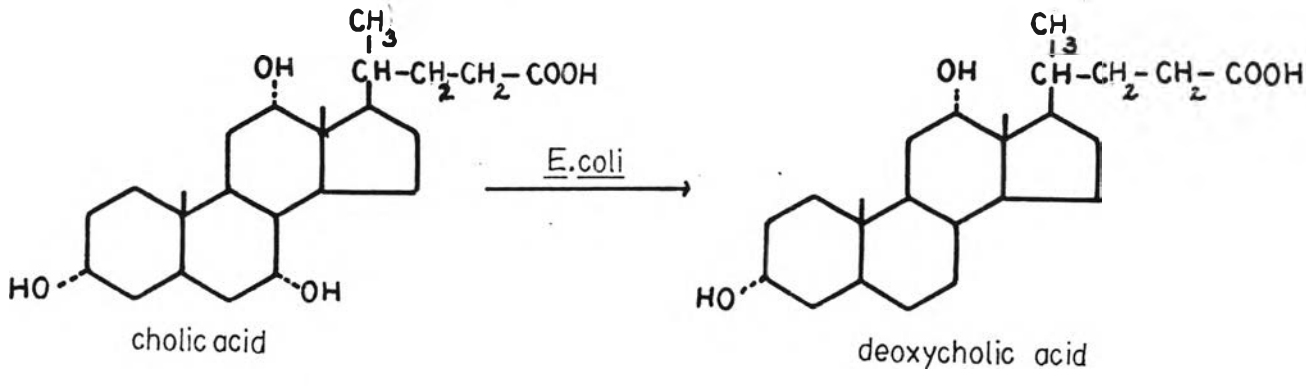
เนื่องจากกรดน้ำดีก็เป็นสารประกอบประเภทสเตียรอยด์ชนิดหนึ่ง จึงมีผู้สนใจศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยใช้จุลชีพกันมาก ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดน้ำดีโดยจุลชีพที่มีผู้รายงานไว้มีดังนี้

๑. ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ของกรดน้ำดีที่อยู่ในรูปคอนจูเกต เป็นปฏิกิริยาการแยกพันธะระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนโดยเอนไซม์ของจุลชีพ ตัวอย่างของปฏิกิริยานี้ได้แก่ การเปลี่ยนกรดไกลโคลิกไปเป็นกรดโคลิก และ ไกลซีน โดยเชื้อ Alcaligenes faecalis (2)



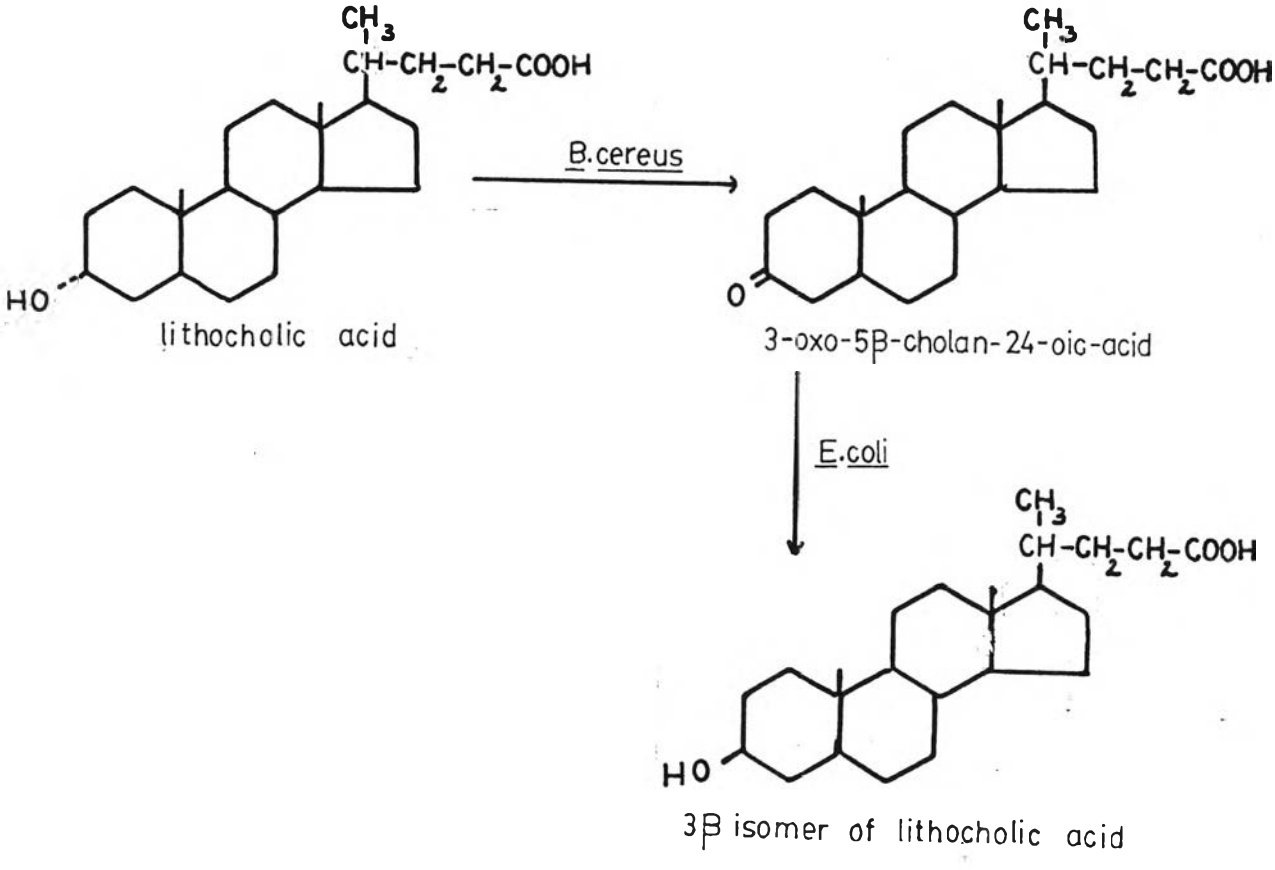
รูปที่ ๙ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของกรดไกลโคลิกโดยเชื้อ A. faecalis

๒. ดีไฮดรอกซิเลชัน (dehydroxylation) เป็นปฏิกิริยาการดึงหมู่ไฮดรอกซีออกจากโมเลกุลของกรดน้ำดี ที่พบมากที่สุดคือการดึงหมู่ไฮดรอกซีออกจากคาร์บอนที่ตำแหน่งที่ ๗ ของโมเลกุล ซึ่งเป็นปฏิกิริยาสำคัญที่ทำให้เกิดกรดน้ำดีทุติยภูมิ ตัวอย่างของปฏิกิริยาได้แก่ การเปลี่ยนกรดโคลิกไปเป็นกรดดีออกซีโคลิกโดย E. coli (2)



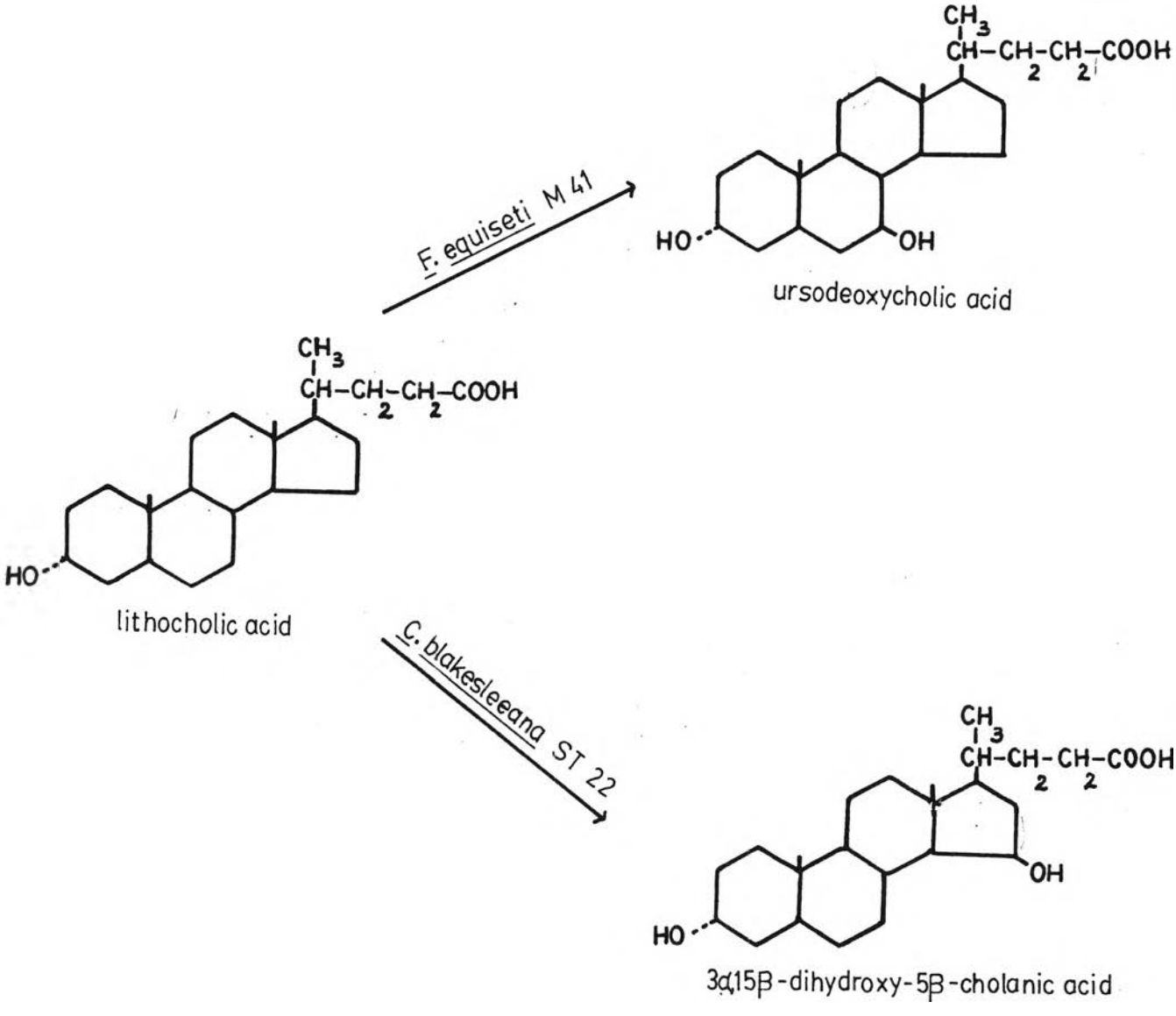
รูปที่ ๑๐ ปฏิกิริยาดีไฮดรอกซิเลชันของกรดโคลิกโดย E.coli

3. <u>ออกซิเดชันและรีดักชัน</u>(oxidation and reduction) ได้แก่ การเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซีเป็นหมู่คีโตน (ketone group) หรือเปลี่ยนหมู่คีโตนเป็นหมู่ไฮดรอกซี ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนกรดลิโทโคลิกไปเป็น 3-oxo-5β-cholan-24-oic acid โดย <u>Bacillus cereus</u> และการเปลี่ยน 3-oxo-5β-cholanic-24-oic acid ไปเป็น 3β ไอโซเมอร์ (isomer) ของกรดลิโทโคลิก โดย <u>E.coli</u> (2)



<u>รูปที่</u> 11 ปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของกรดลิโทโคลิกโดย <u>B.cereus</u> และ <u>E.coli</u>

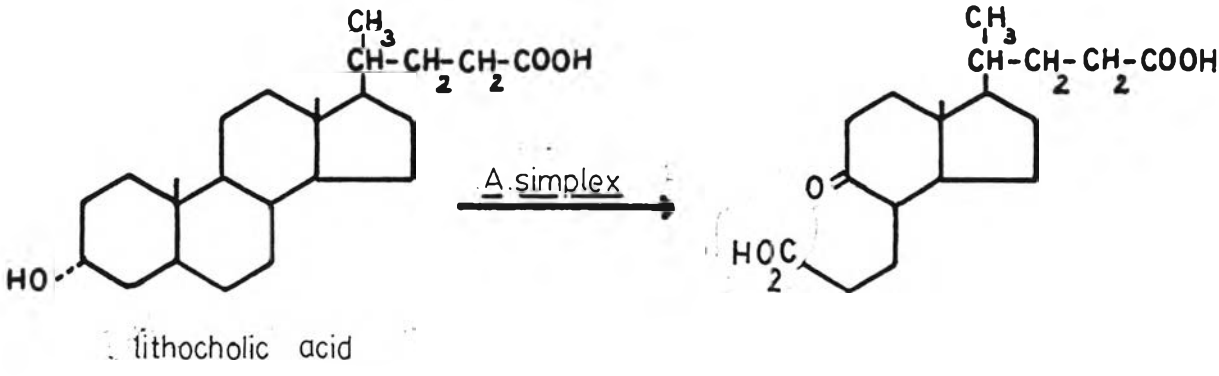
4. ไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) เป็นปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซีบนโมเลกุลของกรดน้ำดี ตัวอย่างเช่น การผลิต UDCA โดย Fusarium equiseti M 41 (9) และการผลิต 3α, 15β-dihydroxy-5B-cholanic acid จาก LCA โดย Cunninghamella blakesleeana ST 22 (11)



รูปที่ 12 ปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซีบนโมเลกุลของ LCA โดย F.equiseti M 41 และ C. blakesleeana ST 22

5. ปฏิกิริยาการตัดพันธะระหว่างอะตอมของคาร์บอน (degradation of bile acids)

ตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยาการตัดนิวเคลียสของ LCA โดย Arthrobacter simplex (2)



lithocholic acid

รูปที่ 13 ปฏิกิริยาการตัดนิวเคลียสของ LCA โดย A. simplex

6. ปฏิกิริยาอื่นๆ เป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดน้ำดีโดยจุลชีพนอกเหนือจากปฏิกิริยาดังกล่าวข้างต้น ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงให้เกิดไอโซเมอร์ซึ่งกันและกัน (2)

จากตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดน้ำดีโดยจุลชีพที่กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาของจุลชีพส่วนใหญ่เป็นปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียว และในบางกรณีก็ทำให้ได้กรดน้ำดีชนิดใหม่ที่มีประโยชน์ ในแง่ของการผลิตกรดน้ำดีเพื่อการรักษาโรคนิ่วในถุงน้ำดีที่เกิดจากโคเลสเตอรอล ปฏิกิริยาที่น่าสนใจได้แก่การเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA เนื่องจากมีแนวโน้มว่าอนุพันธ์ของ LCA (LCA derivatives) ที่มีหมู่ไฮดรอกซีเพิ่มมากขึ้น จะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายโคเลสเตอรอลในหลอดทดลอง (11) และ LCA ซึ่งให้เป็นสับสเตรท (substrate) ก็สามารถผลิตได้เป็นการค้าและมีราคาถูก ตัวอย่างของการเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA ที่ทำให้ได้กรดน้ำดีที่มีประโยชน์ได้แก่ การผลิต UDCA และ 3α,15β-DHC โดย Fusarium equiseti M 41 (9) และ Cunninghamella blakesleeana ST 22 (11) ตามลำดับ นอกจากนั้นการเลือกใช้จุลชีพที่เหมาะสมอาจทำให้ได้อนุพันธ์ของ LCA ชนิดอื่นๆที่มีคุณสมบัติเหมาะสมกว่าอนุพันธ์ที่พบมาแล้ว และเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดน้ำดีโดยจุลชีพมีข้อได้เปรียบกว่าวิธีทางเคมี โดยเป็นปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียวและให้ผลผลิตสูงกว่า (9) จึงน่าที่จะเป็นไปได้ว่าสามารถใช้จุลชีพในการผลิตกรดน้ำดีที่ต้องการในเชิงอุตสาหกรรม โดยมีความสะดวกกว่าและต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการสังเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมีที่ใช้กันอยู่

สภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบประเภทสเตียรอยด์โดยจุลชีพ

เอนไซม์ของจุลชีพที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบประเภทสเตียรอยด์ส่วนใหญ่พบว่าเป็นเอนไซม์ที่ถูกชักนำให้สร้างขึ้น (inducible enzyme) (12-15) การปรับสภาวะต่าง ๆ ในการเลี้ยงจุลชีพให้เหมาะสมจะทำให้จุลชีพสามารถผลิตเอนไซม์ประเภทนี้ได้มาก (15) ปัจจัยต่าง ๆ ในการเลี้ยงจุลชีพที่มีผลต่อการผลิตสารประกอบประเภทสเตียรอยด์ได้แก่ องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่างและปริมาณของออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นต้น องค์ประกอบที่สำคัญในอาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน แหล่งคาร์บอนที่มีรายงานว่าใช้ในการเลี้ยงจุลชีพเพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบประเภทสเตียรอยด์ได้แก่ กลูโคส (glucose) โอทมีล (oat meal) และเดกซ์ตริน (dextrin) (8,9,11,13,14) ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่รายงานไว้ได้แก่ เปปโตน (peptone) ผงสกัดจากยีสต์ (yeast extract) แอสพาราจีน (asparagine) โซเดียมไนเตรท (sodium nitrate $NaNO_3$) กากถั่วเหลือง (soy bean meal) และคอร์นสตีพลิคเคอร์ (corn steep liquor) (8,9,11,13,14) การเลือกใช้ชนิดของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนรวมทั้งปริมาณที่ใช้ขึ้นกับความเหมาะสมสำหรับจุลชีพนั้น ๆ สำหรับการผลิตในเชิงอุตสาหกรรมจะต้องคำนึงถึงความคุ้มทุนโดยการเลือกใช้แหล่งอาหารที่หาง่ายและมีราคาถูก

สำหรับอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างจะต้องคำนึงถึงความเหมาะสมของสภาวะดังกล่าวต่อการเจริญของจุลชีพ และการทำงานของเอนไซม์ในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสับสเตรท (11) จากที่มีผู้รายงานไว้นั้นการควบคุมอุณหภูมิมีตั้งแต่ 25°-33°ซ. ส่วนความเป็นกรดด่างมักจะปรับความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่พีเอชตั้งแต่ 4.5-8.0 (6,9,11,14,) ในบางกรณีมีการควบคุมความเป็นกรดด่างให้คงที่ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อด้วย เช่น ในการผลิต 3α,15 -DHC จาก LCA โดย Cunninghamella blakesleeana ST 22 ซึ่งควบคุมความเป็นกรดด่างไว้ที่ค่าพีเอช 8.0 ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 10 ลิตร เป็นต้น (11)

ในปี 1980 Hanisch และคณะพบว่าปริมาณของออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเหนี่ยวนำให้สร้างเอนไซม์ที่ใช้ในการเติมหมู่ไฮดรอกซีบนโปรเจสเตอโรนโดย Rhizopus nigricans (13) โดยเชื้อรามีความต้องการออกซิเจนในขณะที่มีการเหนี่ยวนำให้สร้างเอนไซม์ต่ำกว่าปริมาณออกซิเจนที่ต้องการขณะที่มีอัตราการเติมหมู่ไฮดรอกซี

สูงสุด นอกจากนี้ในการเติมหมู่ไฮดรอกซีบน Reichstein's substance S โดย Pellicularia filamentosa (14) และการเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA โดย Fusarium equiseti M 41 (9) ก็ได้ผลการทดลองสอดคล้องกัน ปริมาณของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงจุลชีพในถังหมักนอกจากจะขึ้นอยู่กับสมบัติทางกายภาพของอาหาร ยังขึ้นกับปัจจัยอีก 2 ประการคือ อัตราการให้อากาศ (aeration rate) และอัตราการกวนของใบพัด (agitation speed) ซึ่งสามารถควบคุมเพื่อให้ออกซิเจนที่ละลายในอาหารมีปริมาณพอเหมาะกับการเกิดปฏิกิริยาที่ต้องการได้

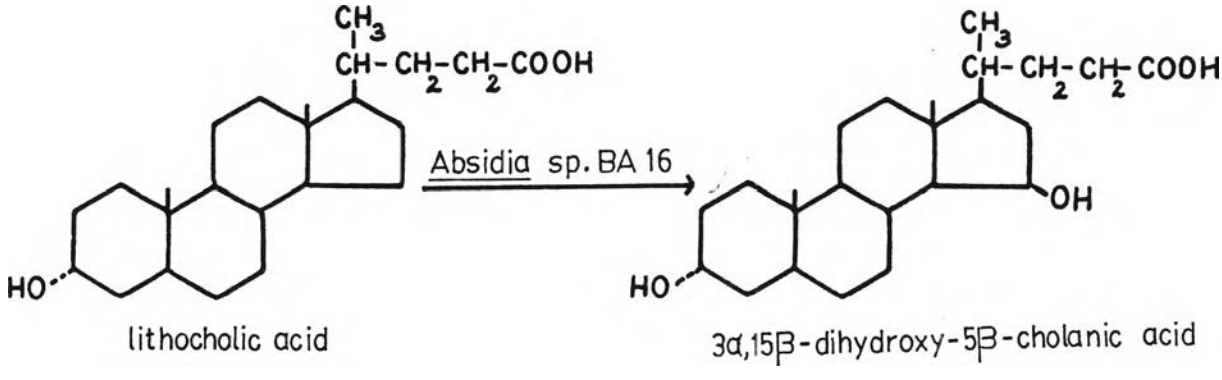
นอกจากปัจจัยต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วเนื่องจากสเตียรอยด์เป็นสารที่ละลายน้ำได้น้อย ทำให้การทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นไปได้ยาก จึงมักจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ช่วยในการละลายเมื่อเติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ตัวอย่างของตัวทำละลายที่ใช้กันได้แก่ เอทานอล (ethanol) ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (dimethylformamide, DMF) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethylsulfoxide, DMSO) และไดออกเซน (dioxane) (11,14,15) เป็นต้น การเลือกชนิดและปริมาณของตัวทำละลายให้เหมาะสมก็จะมีส่วนช่วยในการเพิ่มผลผลิตด้วย

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

ในประเทศไทยได้มีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดน้ำดีโดยจุลชีพ โดยมีการศึกษาปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA โดย Fusarium equiseti M 41 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากประเทศญี่ปุ่น และ Cunninghamella blakesleeana ST 22 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากดินในประเทศไทย พบว่า F. equiseti M 41 สามารถสร้าง UDCA ได้จาก LCA และ C. blakesleeana ST 22 สามารถสร้าง 3α,15β-DHC ได้จาก LCA (9,11) จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซีโดยเชื้อราทั้ง 2 ชนิดทำให้ได้กรดน้ำดีที่มีประโยชน์ นอกจากนั้นยังทำให้ได้กรดน้ำดีชนิดใหม่ เช่นในกรณีของการสร้าง 3α, 15β-DHC เป็นกรดน้ำดีชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการละลายโคเลสเตอรอลได้ดีใกล้เคียงกับ UDCA (11) ดังนั้นการเลือกใช้จุลชีพที่เหมาะสมชนิดอื่นๆสำหรับการเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA อาจทำให้ได้กรดน้ำดีชนิดใหม่ซึ่งจะเป็นประโยชน์มากขึ้น นอกจากนี้การปรับปรุงสภาวะในการผลิตให้เหมาะสม ก็จะเป็นแนวทางในการผลิตสารประเภทนี้ในระดับขยายส่วน

จากการคัดเลือกเชื้อราจากซานอ้อยในประเทศไทย เพื่อหาเชื้อราที่สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ LCA ได้พบว่า Absidia sp. BA 16 สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ LCA ไปเป็นกรดน้ำดีอีกชนิดหนึ่ง และจากการศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของกรดน้ำดีนี้พบว่า น่าจะเป็นอนุพันธ์ของ LCA ที่มีหมู่ไฮดรอกซีเพิ่มขึ้นอีก 1 หมู่ จึงอาจเป็นไปได้ว่ากรดน้ำดีนี้จะสามารถช่วยละลายก้อนนิ่วในถุงน้ำดีชนิดที่เกิดจากโคเลสเตอรอลได้ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA โดย Absidia sp. BA 16 เพื่อผลิตกรดน้ำดีดังกล่าว โดยทำการศึกษาในระดับขวดเขย่าและถังหมักขนาด 5 ลิตร และใช้ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาถูกและหาได้ง่ายในประเทศไทย ซึ่งจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการผลิตกรดน้ำดีชนิดนี้ในระดับขยายส่วนต่อไป

เนื่องด้วยมีผู้รายงานผลการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างอนุพันธ์ของ LCA ที่ผลิตโดยเชื้อ Absidia sp. BA 16 ว่า อนุพันธ์ดังกล่าวคือ 3α, 15β-dihydroxy-5β-cholanic acid (3α, 15β-DHC) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่เกิดจากการเติมหมู่ไฮดรอกซีเข้าไปที่คาร์บอนอะตอมที่ตำแหน่ง 15β ของ LCA (21) ดังนั้นการรายงานผลงานวิจัยต่อไปนี้จะใช้ชื่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าวว่า 3α, 15β dihydroxy-5B-cholanic acid (3α, 15β-DHC)



รูปที่ 14 การเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA โดย Absidia sp. BA 16

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA โดย Absidia sp.BA 16 ในระดับขวดเขย่า

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเติมหมู่ไฮดรอกซีบน LCA โดย Absidia sp.BA 16 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

3. ศึกษาทางอนุกรมวิธาน (taxonomy) ของ Absidia sp.BA 16