บทที่ 1

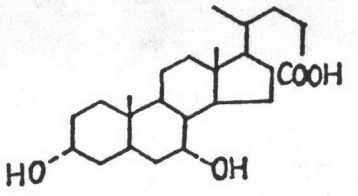
บทนำ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

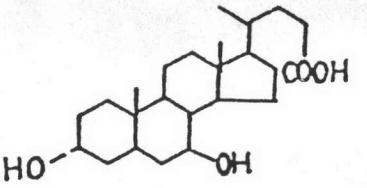
นิ่วโคเลสเตอรอล (cholesterol gallstone) เป็นโรคที่สำคัญของประชากรโลกมาช้านานแล้ว มีรายงานว่า ชาวญี่ปุ่นสูงอายุป่วยเป็นโรคนี้ถึง 10 เปอร์เซนต์ (Kanazawa และคณะ, 1955) และในประเทศสหรัฐอเมริกาก็มีผู้ป่วยเป็นโรคนี้สูงเช่นกัน (Thistle และ Hofmann, 1973) สาเหตุของโรคนี้เกิดขึ้นเนื่องจากมีโคเลสเตอรอลในน้ำดีมากเกินไป บางส่วนของโคเลสเตอรอลเหล่านี้ตกตะกอนและจับตัวกันเป็นก้อนในถุงน้ำดีเกิดสะสมมากขึ้นเป็นนิ่วโคเลสเตอรอลได้ (Thistle และ Hofmann, 1973; Admirad และ Small, 1968)

Admirad และ Small (1968); Thistle และ Hofmann (1973) พบว่ากรดดีโนดีออกซีโคลิก (chenodeoxycholic acid, CDCA) (รูปที่ 1) ซึ่งเป็นกรดน้ำดี (bile acid) ชนิดหนึ่งที่พบในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ (mammals) สามารถละลายนิ่วโคเลสเตอรอลนี้ให้มีขนาดเล็กลงได้ และในผู้ป่วยด้วยโรคนี้บางรายจะสามารถรักษาให้หายขาดได้ด้วยกรดดีโนดีออกซีโคลิก Stiehl และคณะ (1978); Makino และคณะ (1975); Igimi และคณะ (1977) รายงานว่า กรดอูโซดีออกซีโคลิก (ursodeoxycholic acid, UDCA) (รูปที่ 1) ซึ่งเป็น 7β-hydroxy epimer พบในน้ำดีของหมีสามารถละลายนิ่วโคเลสเตอรอลได้เช่นกัน ทั้งนี้อาจจะลายก้อนนิ่วในผู้ป่วยได้มากกว่า 25-30 เปอร์เซนต์ (Nakayama, 1980) แต่ละลายได้น้อยกว่ากรดดีโนดีออกซีโคลิก (Igimi และ Carey, 1981)

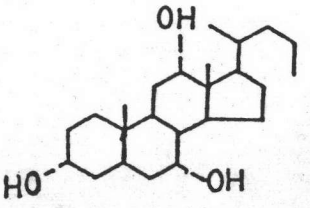
โดยทั่วไปในปัจจุบัน การผลิตกรดดีโนดีออกซีโคลิกและกรดอูโซดีออกซีโคลิกในเชิงพาณิชย์ ทำได้โดยใช้ กรดโคลิก (cholic acid, CA) (รูปที่ 1) เป็นสารตั้งต้นโดยกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีที่ยุ่งยากถึง 5 และ 7 ขั้นตอนตามลำดับ และได้ผลผลิตของกรดดีโนดีออกซีโคลิกประมาณ 10-15 เปอร์เซนต์ (Hofmann, 1963) ในขณะที่ได้



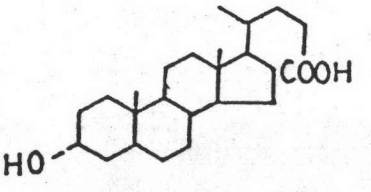
กรดดีโนดีออกซีโคลิก
(Chenodeoxycholic acid; 3α,7α-dihydroxy-5β-cholanic acid)



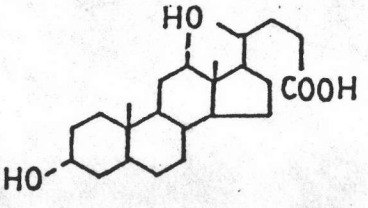
กรดอูโซดีออกซีโคลิก
(Ursodeoxycholic acid; 3α,7β-dihydroxy-5β-cholanic acid)



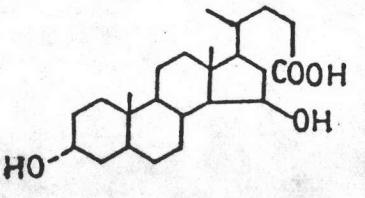
กรดโคลิก
(Cholic acid; 3α,7α,12α-trihydroxy-5β-cholanic acid)



กรดลิโทโคลิก
(Lithocholic acid; 3α-hydroxy-5β-cholanic acid)



กรดดีออกซีโคลิก
(Deoxycholic acid; 3α,12α-dihydroxy-5β-cholanic acid)



กรด 3 แอลฟา,15 เบตา-ไดไฮดรอกซี-5 เบตา-โคลานิก
(3α,15β-dihydroxy-5β-cholanic acid)

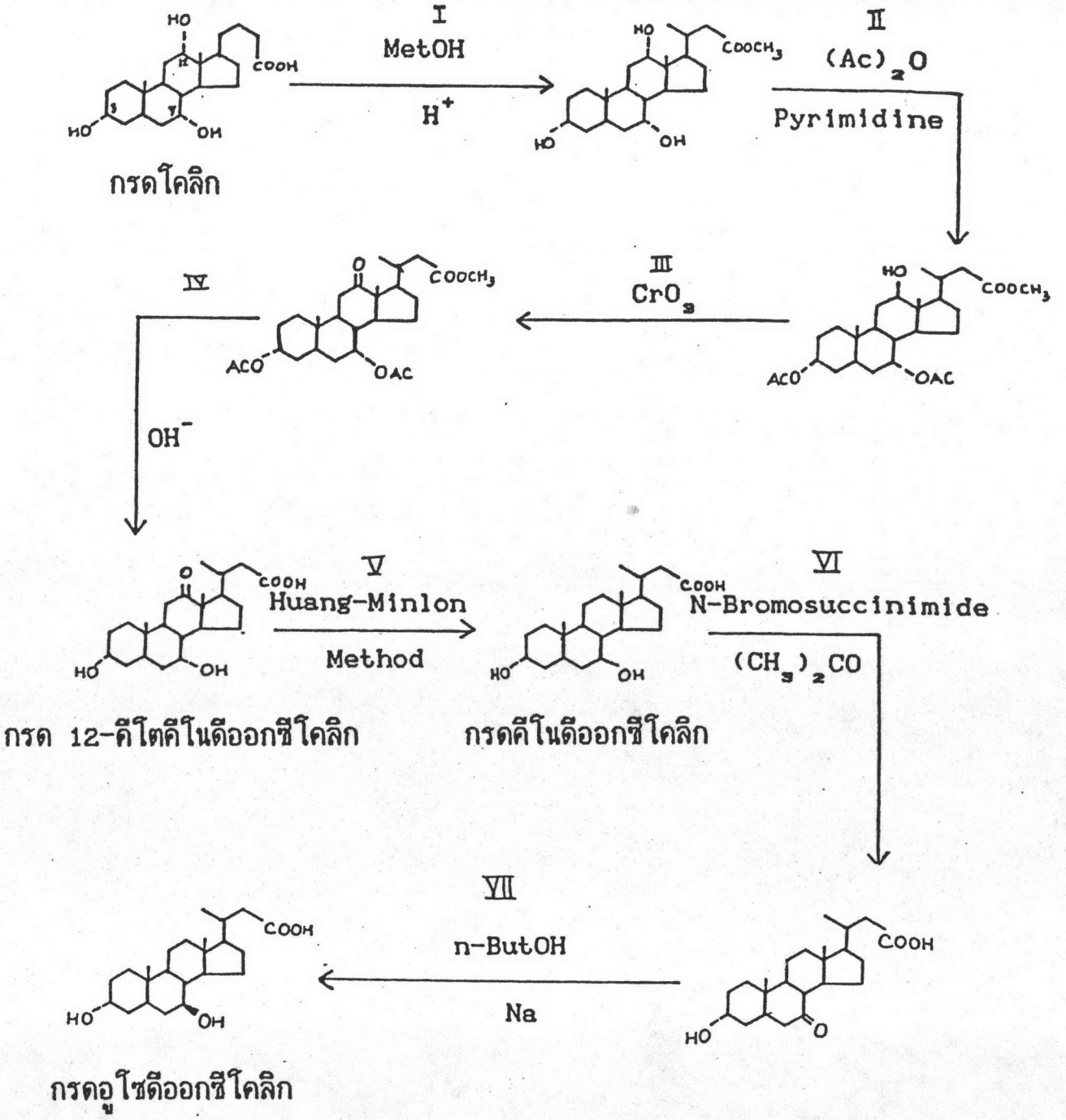
<u>รูปที่ 1</u> สูตรโครงสร้างของกรดน้ำดีต่างๆ

ผลผลิตกรดอูโซดีออกซีโคลิกประมาณ 9-14 เปอร์เซนต์ (Kanazawa และคณะ, 1955) ทั้งนี้เพราะต้องมีวิธีการป้องกันกลุ่มบางกลุ่มที่ไวต่อปฏิกิริยาในโมเลกุลไม่ให้เกิดปฏิกิริยาสร้างผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ (รูปที่ 2)

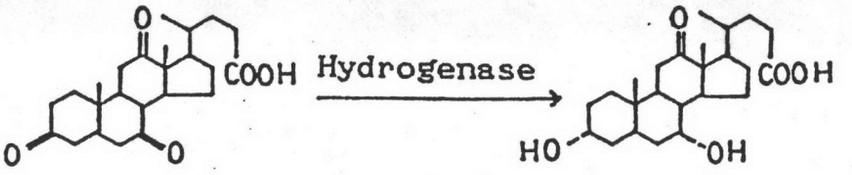
การศึกษาและวิจัยกระบวนการเปลี่ยนรูปของสารประกอบกลุ่มสเตียรอยด์ โดยจุลินทรีย์ (microbial transformation of steroids) ได้มีการเริ่มต้นและได้รับความสนใจอย่างมากตั้งแต่ประมาณปี คศ.1952 เมื่อ Murray และ Peterson ได้รายงานถึงความสามารถของเชื้อราในสกุล มิวโครารัลิส (order Mucorales) โดยเฉพาะ Rhizopus arrhizus ที่สามารถเติมหมู่ไฮดรอกซิลบนโมเลกุลของโปรเจสเตอโรน (progesterone) ได้ (Peterson, 1963; Kieslich และ Sebec, 1979; Smith, 1984) ปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปสารประกอบสเตียรอยด์โดยจุลินทรีย์นี้เป็นปฏิกิริยาที่มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นมีปฏิกิริยาข้างเคียงเกิดขึ้นน้อย ผลผลิตของปฏิกิริยาจึงสูง และขั้นตอนการสกัดแยกผลิตภัณฑ์ทำได้ง่ายอีกด้วย (Murray และ Peterson, 1963)

ปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปสารกลุ่มสเตียรอยด์มีหลายแบบ ที่สำคัญได้แก่ การเติมอะตอมไฮโดรเจนแก่สารตั้งต้น (hydrogenation) การดึงอะตอมของไฮโดรเจนออกจากสารตั้งต้น (dehydrogenation) ซึ่งต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์จำพวกไฮโดรจีเนส (hydrogenase) และดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) ตามลำดับ (Hayakawa, 1973; Sawada และคณะ, 1980) (รูปที่ 3 ก และ ข) การดึงหมู่ไฮดรอกซิลออกจากสารตั้งต้น (dehydroxylation) โดยเอนไซม์ดีไฮดรอกซีเลส (dehydroxylase) (Samuelsson, 1960; Hayalawa, 1973; Stellwag และ Hylemon, 1979; Midtvedt และ Norman, 1968) (รูปที่ 3 ค) การเติมหมู่ไฮดรอกซิลให้แก่สารตั้งต้น (hydroxylation) โดยเอนไซม์จำพวกไฮดรอกซีเลส (hydroxylase) (Meister และคณะ, 1954; Shibahara และคณะ, 1970; Breskvar และ Hudnik-Plevnik, 1978; Sedlaczek และคณะ, 1984; Hanich และคณะ, 1980) (รูปที่ 3 ง) นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังสามารถเปลี่ยนรูปสารสเตียรอยด์ด้วยปฏิกิริยาอื่นๆได้อีก (Meister และคณะ, 1954; Hayakawa, 1973)

ในการผลิตกรดน้ำดีเพื่อรักษาโรคนิ่วในถุงน้ำดีที่เกิดจากการสะสมของโคเลสเตอรอลมีปฏิกิริยาที่น่าสนใจ ได้แก่ การเติมหมู่ไฮดรอกซิลบนกรดลิโทโคลิก (lithocholic acid, LCA) เนื่องจากมีแนวโน้มว่าอนุพันธ์ของกรดลิโทโคลิก (LCA derivatives)

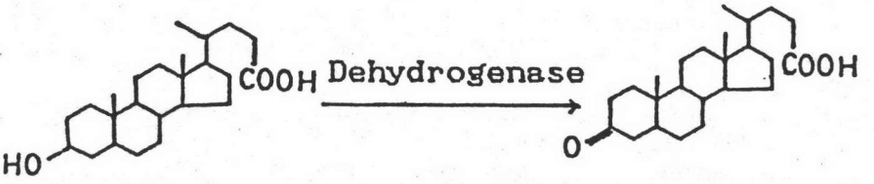


รูปที่ 2 การสังเคราะห์ กรดคีโนดีออกซีโคลิก และกรดอูโซดีออกซีโคลิก โดยวิธีทางเคมี (Kanazawa และคณะ, 1955)



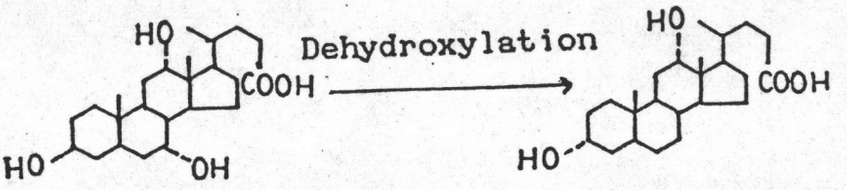
Dehydrocholic acid 12-ketochenodeoxycholic acid

ก. ปฏิกิริยา Hydrogenation โดย Brevibacterium fuscum (Sawada และคณะ, 1980)



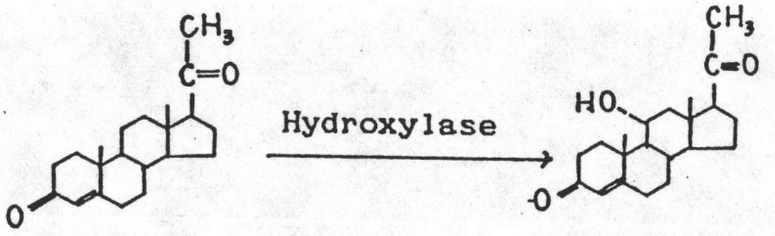
Lithocholic acid 3-Oxo-5β-cholan-24-oic-acid

ข. ปฏิกิริยา Dehydrogenation โดย Bacillus cereus (Hayakawa, 1973)



Cholic acid Deoxycholic acid

ค. ปฏิกิริยา Dehydroxylation โดย Clostridium leptum (Stellwag และ Hylemon, 1979)



Progesterone 11α-Hydroxy-progesterone

ง. ปฏิกิริยา Hydroxylation โดย Aspergillus ochraceus (Shibahara และคณะ, 1970)

รูปที่ 3 ประเภทของปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปสารกลุ่มสเตียรอยด์แบบต่างๆ โดยจุลินทรีย์

ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มมากขึ้น จะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายโคเลสเตอรอลได้ (Kulpreecha และคณะ, 1985a) และกรดลิโทโคลิกซึ่งเป็นสารตั้งต้นก็สามารถผลิตได้เป็นการค้าและราคาถูก การศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับการผลิตกรดดีโนดีออกซีโคลิก และกรดอูโซดีออกซีโคลิก โดยจุลินทรีย์ ได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 1 Sawada และคณะ (1982) รายงานว่า Fusarium equiseti M.41 สามารถผลิตกรดอูโซดีออกซีโคลิกได้สูงถึง 35 เปอร์เซนต์ Kulpreecha และคณะ (1984) รายงานว่า กรดลิโทโคลิกถูกเปลี่ยนเป็นกรด 3 แอลฟา 15 เบตา-ไดไฮดรอกซี-5 เบตา-โคลานิก(3 α,15 β-dihydroxy-5β-cholanic acid, กรด 3 α,15β-DHC) โดยรา Cunninghamella blakesleeana ST-22 ซึ่งกรด 3 α,15 β-DHC มีความสามารถในการละลายนิ่วโคเลสเตอรอลได้ดีใกล้เคียงกับกรดอูโซดีออกซีโคลิก (Kulpreecha และคณะ, 1985a)

วิธีการตรึงเอนไซม์และตรึงเซลล์เพื่อใช้เป็นสารเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ (biocatalysts) ได้รับความสนใจและศึกษากันมากในช่วง 15 ปีที่ผ่านมา (Chibata และ Tosa, 1977; Durand และ Navarro, 1978) โดยเฉพาะการตรึงเซลล์ของจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนรูปสเตียรอยด์บางชนิดให้เป็นสเตียรอยด์ที่ใช้เป็นประโยชน์ เช่นใช้เป็นยารักษาโรคได้ (Kolot, 1982) ซึ่งการใช้เซลล์ตรึงมีข้อได้เปรียบเหนือการใช้เซลล์อิสระ เอนไซม์อิสระ หรือเอนไซม์ตรึง หลายประการ อาทิเช่น เซลล์ตรึงสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้หลายครั้ง โดยที่ความสามารถในการเปลี่ยนรูปสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการยังคงเดิมและสามารถใช้ในกระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องได้ดี Yamane และคณะ (1979) รายงานว่า เซลล์ตรึงของ Nocardia rhodocrous ในไฮโดรฟิลิกเจล (Hydrophilic gel) หรือ ลิโพฟิลิกเจล (Lipophilic gel) สามารถสังเคราะห์ ADD จาก 4-AD อย่างต่อเนื่องได้นานกว่าเซลล์อิสระถึง 6 เท่า Yang และ Studebaker (1978) พบว่า เซลล์ตรึงของ Pseudomonas testosteroni ด้วยโพลีอะไครลาไมด์เจล (polyacrylamide gel) มีอายุการใช้งานครึ่งชีวิต (half-life) ในเครื่องปฏิกรณ์ (reactor) นาน 103 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21 °ซ Kolot (1983) รายงานว่า เซลล์ตรึงของ Mycobacterium phlei ด้วยอะไครลาไมด์เจล เมื่อนำมาใช้งานอย่างต่อเนื่อง จะมีแอคติวิตีของเอนไซม์ที่สังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้นานกว่าเซลล์อิสระ ยิ่งไปกว่านั้น ในกรณีที่เซลล์ตรึงสูญเสียแอคติวิตีไปชั่วคราว อาจนำมาทำให้ว่องไวในปฏิกิริยา (reactivated) ขึ้นใหม่ได้ Sonomoto และคณะ (1983a) พบว่า สายใยจากสปอร์ตรึงของ Curvularia lunata

ตารางที่ 1 ตัวอย่างเอกสารที่มีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับการผลิต กรดคีโนดีออกซีโคลิก และ กรดอูโซดีออกซีโคลิก โดยจุลินทรีย์

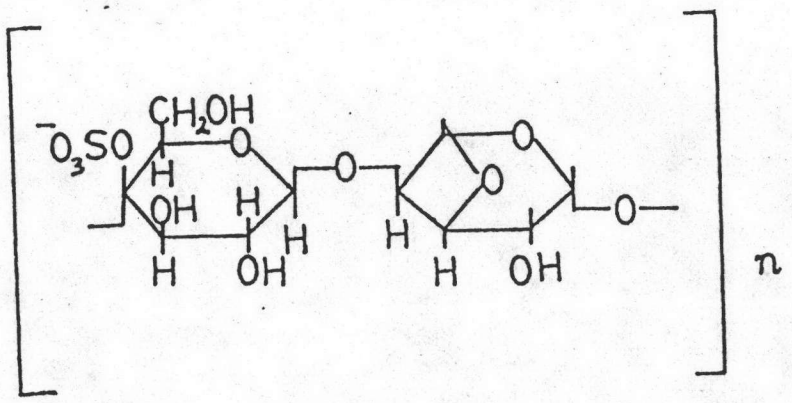
จุลินทรีย์	ผลิตภัณฑ์	เอกสารอ้างอิง
Clostridium absonum	UDCA	Macdonald และคณะ, 1981
Clostridium absonum	UDCA	Sutherland และ Macdonald, 1982
Fusarium equiseti M.41	UDCA	Sawada และคณะ, 1982
Fusarium equiseti M.41	UDCA	Kulpreecha และคณะ, 1985
human intestinal bacteria	CDCA, UDCA	Fedorowski และคณะ, 1979
human intestinal flora	CDCA, UDCA	Hirano และคณะ, 1981

ด้วยโฟโตครอสลิงเกเบิลเรซิน (photo-crosslinkable resin) สามารถกระตุ้นเอนไซม์ที่เปลี่ยนคอติโซโลน(cortisolone) เป็นไฮโดรคอติโซน(Hydrocortisone) ให้มีแอคติวิตีเพิ่มขึ้นกว่า 60 เปอร์เซนต์ได้ถึง 50 ครั้ง โดยใช้สารอาหารที่ผสมคอติโซโลน Ohlson และคณะ (1979) รายงานว่า เซลล์ตรึง Arthrobacter simplex ด้วยแคลเซียมอัลจิเนต (calcium alginate) สามารถกระตุ้นแอคติวิตีของเอนไซม์ที่สังเคราะห์เพรดนิโซโลน (prednisolone) ให้เพิ่มขึ้นได้ถึง 10 เท่า เมื่อใช้สารอาหารที่ผสม 0.5% เพพโทน (peptone) และ 0.2% กลูโคส (glucose) Mosbach และ Larsson (1970) รายงานว่า สายใยจากสปอร์ตรึงของ Curvularia lunata ที่สูญเสียแอคติวิตีไปเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารอาหารที่เหมาะสมจะกลับมีแอคติวิตีได้เช่นเดิม นอกจากนี้เซลล์ตรึงยังช่วยลดความยุ่งยากในการเตรียมเอนไซม์เพราะไม่ต้องผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ มีการใช้โคเอนไซม์ (coenzyme) จากแหล่งภายนอกน้อยลง และโดยทั่วไปแล้วเอนไซม์จะเสถียรสูงเมื่ออยู่ภายในเซลล์เปรียบเทียบกับเอนไซม์อิสระ (Ohlson และคณะ, 1977; Larsson และคณะ, 1979)

วิธีการตรึงเซลล์ของจุลินทรีย์ และการตรึงเอนไซม์ มีหลายวิธี (Chibata, 1978) เช่น carrier binding โดยให้เอนไซม์หรือเซลล์จับกับพาหะที่ไม่ละลายน้ำ (DeNicola และ Kirwan, 1980; Daugalis และคณะ, 1981; Ghommidh และคณะ, 1982) cross linking โดยให้เกิดการเชื่อมโยงโดยตรงระหว่างเอนไซม์กับเอนไซม์หรือเซลล์กับเซลล์ โดยใช้ cross linking agents เช่น กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) เป็นต้น (Petre และคณะ, 1978; Poulsen และ Zittan, 1976; Navarro และ Durand, 1977) entrapping การกักขังเอนไซม์หรือเซลล์ เป็นการจำกัดบริเวณของเอนไซม์หรือเซลล์ให้อยู่ใน lattice ของตัวกลางที่เป็นโพลีเมอร์ หรือโดยการกักขังเอนไซม์หรือเซลล์ไว้ในเมมเบรน (membrane) ที่มีคุณสมบัติเป็น semi permeable (Schnarr และคณะ, 1977; Murata และคณะ, 1979; Yamamoto และคณะ, 1974)

ส่วนใหญ่แล้วการตรึงเซลล์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตสเตียรอยด์ นิยมใช้วิธีการกักขังเซลล์ (entrapping) เนื่องจากเป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย เช่น การกักขังเซลล์ให้อยู่ภายในร่างแหโพลีเมอร์ ทำให้เซลล์รั่วไหลออกภายนอกได้น้อย ไม่ต้องใช้สภาวะรุนแรงในการตรึง และสามารถตรึงเซลล์ได้ครั้งละมากๆ (Nillson และคณะ, 1983) อย่างไรก็ตาม

การตรึงเซลล์ที่มีชีวิตเพื่อใช้ในการผลิตสารผลิตภัณฑ์ที่ต้องการยังมีข้อจำกัดอยู่มาก เพราะเซลล์มีชีวิตจะมีการเจริญหรือแบ่งตัวมากขึ้นหลังจากถูกตรึงแล้ว มีผลทำให้รูปพรรณของเซลล์ตรึงเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมได้ (Mattiasson, 1983) การตรึงเซลล์แบบกักขังนี้นิยมใช้ชนิดของสารตรึงเซลล์แตกต่างกัน เช่น โพลีอะไครลาไมด์เจล (Ohlson และคณะ, 1978; Mosbach และ Larsson, 1970; Yang และ Studebaker, 1978) แคลเซียมอัลจิเนต (Ohlson และ คณะ, 1979; Sonomoto และคณะ, 1983b; Maddox และคณะ, 1981) โฟโตครอสลิงเกเบิลเรซิน (Omata และคณะ, 1979; Sonomoto และคณะ, 1979; Fukui และคณะ, 1980) ดังเอกสารที่รวบรวมไว้ในตารางที่ 2 ในการวิจัยนี้ได้เลือกแคปปา-คาร์ราจีแนน (kappa-carrageenan) เป็นสารตรึงสปอร์ ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ (poly-saccharide) ที่หาซื้อได้ง่าย ราคาไม่แพงนัก ปกติสกัดได้จากสาหร่ายทะเล (sea weeds) ชนิดต่างๆ ทำให้ได้ชนิดของแคปปา-คาร์ราจีแนนแตกต่างกัน และใช้เป็นอาหารเสริม (food additive) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถนำมาใช้กับมนุษย์หรือสัตว์ได้โดยไม่มีผลกระทบข้างเคียง · แคปปา-คาร์ราจีแนนประกอบด้วยโครงสร้างของ เบตา-ดี-กาแลคโตส ซัลเฟต (β-D-galactose sulfate) และ 3,6-แอนไฮโดร-แอลฟา-ดี-กาแลคโตส (3,6-anhydro-α-D-galactose) มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ประมาณ 100,000-800,000 และมีสัดส่วนของเอสเทอร์ (ester content) 20-30 เปอร์เซนต์ของหนึ่งหน่วยน้ำหนัก (unit weight) ดังแสดงในรูปที่ 4 (Tosa และคณะ, 1979)



รูปที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของแคปปา-คาร์ราจีแนน

ตารางที่ 2 ตัวอย่างเอกสารที่มีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับการตรึงเซลล์ของจุลินทรีย์โดยวิธีกักขังเซลล์ (entrapping)

จุลินทรีย์	สารตรึงสปอร์	เอกสารอ้างอิง
Arthrobacter simplex	polyacrylamide gel	Olhson และคณะ, 1978
Arthrobacter simplex	calcium alginate	Olhson และคณะ, 1974
Arthrobacter simplex ATCC 6946	photo-crosslinkable resin prepolymers (PB-200k, PBM-2000, ENTP-2000)	Omata และคณะ, 1979
Arthrobacter simplex ATCC 6946	photo-crosslinkable resin prepolymers (ENT-4000, ENTP-2000)	Sonomoto และคณะ, 1979
Arthrobacter simplex	urethane prepolymer (PU-6)	Tanaka และคณะ, 1979
Arthrobacter simplex ATCC 6946	urethane prepolymers (PU-1 PU-2, PU-3, PU-4, PU-5, PU-6, PU-7, PU-8, PU-9, PU-10, PU-11)	Sonomoto และคณะ, 1980
Corynebacterium simplex	collagen	Constantinidies, 1980
Corynebacterium sp. ATCC 14887	photo-crosslinkable resin prepolymers (ENT-2000, ENT-4000, ENT-6000, ENTP -4000), urethane prepoly mer (PU-3, PU-6), agar, calcium alginate, k-carrageenan	Sonomoto และคณะ, 1983b

จุลินทรีย์	สารตรึงสปอร์	เอกสารอ้างอิง
Curvularia lunata	polyacrylamide gel	Mosbach และ Larsson, 1970
Curvularia lunata ATCC 12017	calcium alginate, polyacrylamide gel	Ohlson และคณะ, 1980
Curvularia lunata ATCC 12017	photo-crosslinkable resin prepolymers (ENT-2000, ENT-4000), urethane pre polymers (PU-3, PU-6), sodium alginate, agar, k-carrageenan	Sonomoto และคณะ, 1981
Curvularia lunata ATCC 12017	photo-crosslinkable resin prepolymers (ENT-1000, ENT-2000, ENT-4000, Ent-6000)	Sonomoto และคณะ, 1983a
Nocardia rhodocrous NCIB 10554	urethane prepolymer (PU-6)	Tanaka และคณะ, 1979
Nocardia rhodocrous NCIB 10554	photo-crosslinkable resin prepolymers (ENT-4000, ENTP-2000)	Yamane และคณะ, 1979
Nocardia rhodocrous NCIB 10554	urethane prepolymers (PU-3 PU-6) photo-crosslinka ble resin prepolymers (ENT-4000, ENTP-2000)	Fukui และคณะ, 1980
Pseudomonas testos teroni ATCC 11976	polyacrylamide gel	Yang และ Studeba- ker, 1978

จุลินทรีย์	สารตรึงสปอร์	เอกสารอ้างอิง
Rhizopus nigricans	polyacrylamide gel, alginate, agar	Maddox และคณะ, 1981
Rhizopus nigricans ATCC 62276	photo-crosslinkable resin prepokymers (ENT-1000, ENT-2000, ENT-4000, ENT-6000), urethane prepolymers (PU-3, PU-6), sodium alginate, agar, k-carrageenan	Sonomoto และคณะ, 1982

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงศักยภาพของการผลิตกรด 3α,15β-DHC จากสารตั้งต้นราคาถูกคือ กรดลิโทโคลิก โดยใช้สายใยจากสปอร์ตรึง (immobilized spores) ของ Cunninghamella blakesleeana ST-22 ด้วยแคปปา-คาร์ราจีแนน 3 ชนิดที่แตกต่างกัน จากนั้นศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพ ชีวภาพ และจลนศาสตร์ ของสายใยตรึงกับสายใยอิสระ เพื่อจะได้สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสายใยให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมกับการผลิตกรด 3α,15β-DHC แบบต่อเนื่องต่อไป

ขั้นตอนการวิจัยมีดังต่อไปนี้

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเจริญและการแปรรูปกรดลิโทโคลิกเป็นกรด 3α,15β-DHC ด้วยสายใยที่ได้จากสปอร์ของ Cunninghamella blakesleeana ST-22

2. ศึกษาวิธีตรึงสปอร์ในแคปปา-คาร์ราจีแนนต่างชนิด เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมของการตรึงสปอร์ของ Cunninghamella blakesleeana ST-22 ซึ่งให้สายใยที่สามารถผลิตกรด 3α,15β-DHC ได้สูงสุด

3. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ชีวภาพ และจลนศาสตร์ ของสายใยที่ได้จากสปอร์ที่ถูกตรึง เพื่อคัดเลือกชนิดของแคปปา-คาร์ราจีแนนที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการใช้ผลิตกรด 3α,15β-DHC สูงสุด โดยเปรียบเทียบกับสายใยอิสระ