# บทที่ 1

# บทนำ

กรดจิบเบอเรลลิก เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มจิบเบอเรลลิน (gibberellins, GA) มีบทบาทในการกระตุ้นการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตของพืช การแบ่งตัว และการยืดยาวของเซลล์ฮอร์โมนพืชในกลุ่มจิบเบอเรลลินมีอยู่ด้วยกันหลายชนิดแต่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และ ใช้กันมากในทางการเกษตร คือ กรดจิบเบอเรลลิก ($GA_3$) $GA_1$ $GA_4$ และ$GA_7$ โดยกรดจิบเบอเรลลิก ($GA_3$) จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าจิบเบอเรลลินชนิดอื่นและได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมการเกษตรอย่างกว้างขวาง

## 1.1 ประวัติความเป็นมา

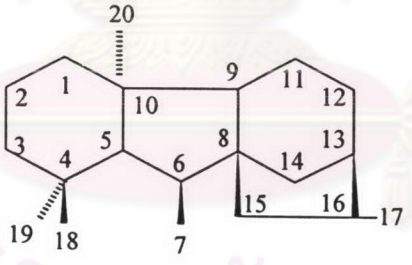
ในปี ค.ศ. 1898 มีการระบาดของโรคข้าวในประเทศญี่ปุ่น เรียกว่า โรคบาคานี (bakanae) โรคดังกล่าวทำให้ต้นข้าวยืดยาวผิดปกติ ไม่สร้างเมล็ดในระยะเจริญพันธุ์ หรือสร้างเพียงเล็กน้อย ซึ่งทำให้ผลผลิตลดลงก่อให้เกิดผลเสียหายเป็นอย่างมาก ( Bruckner และ Blechschmidt, 1991) ซึ่งโรคนี้เป็นโรคที่พบทั่วไปในประเทศแถบตะวันออก ต่อมาในปี ค.ศ. 1926 นักวิชาการโรคพืชชาวญี่ปุ่น ชื่อ Kurosawa สังเกตเห็นว่าอาการของโรคดังกล่าวนั้นน่าจะมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* ปล่อยสารพิษ (toxin) ชนิดหนึ่งที่มีฤทธิ์กระตุ้นการยืดยาวของพืช ยับยั้งการสร้างคลอโรฟิลล์ และการเจริญในส่วนของปลายราก โดยแยกเชื้อราจากต้นข้าวที่ติดเชื้อไปเลี้ยงในอาหารเหลวแล้วนำอาหารเหลวที่แยกเชื้อราออกไปใส่ในต้นข้าว พบว่ามีผลทำให้ต้นข้าวแสดงอาการของโรคเช่นเดียวกัน และเมื่อทดลองกับพืชชนิดอื่น เช่น ข้าวโพดก็ให้ผลการทดลองในลักษณะเดียวกัน จนกระทั่งปี ค.ศ. 1935 Yabutaได้ปรับปรุงสูตรอาหาร และภาวะสำหรับการเลี้ยงเชื้อรา และสามารถแยกของแข็งที่มีลักษณะไม่เป็นผลึกที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากน้ำหมักของเชื้อราได้และได้ตั้งชื่อว่า จิบเบอเรลลิน เอ (gibberellin A) หลังจากนั้นได้เกิดสงครามโลกครั้งที่ 2 ทำให้การศึกษาเกี่ยวกับจิบเบอเรลลินหยุดชะงักไป

หลังจากสิ้นสุดสงคราม การศึกษาเกี่ยวกับจิบเบอเรลลินได้รับความสนใจทั้งในประเทศอังกฤษและสหรัฐอเมริกา จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1954 กลุ่ม Imperial Chemical Industries, Ltd. (ICI) ของประเทศอังกฤษ ได้คัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตจิบเบอเรลลิน และสามารถแยกสารออกฤทธิ์จากน้ำหมักของเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช โดยให้ผลคล้ายกับสารที่ได้จากการวิจัยในญี่ปุ่น แต่มีโครงสร้างของโมเลกุลต่างกันเล็กน้อยและให้ชื่อสารนี้ว่า กรดจิบเบอเรลลิก (gibberellic acid, $GA_3$) (Bruckner และ Blechschmidt, 1991) จากการค้นพบนี้นับเป็นส่วนสำคัญที่กระตุ้นให้นักวิทยาศาสตร์อื่น ๆ เพิ่มความสนใจมากยิ่งขึ้น ต่อมาในปี ค.ศ. 1955 Stodola และคณะได้ตีพิมพ์บทความเกี่ยวกับความสำเร็จในการแยกจิบเบอเรลลินจากเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* ได้ในปริมาณสูง และมีการศึกษาบทบาทของจิบเบอเรลลินที่มีต่อกระบวนการเจริญเติบโตของ

พืชโดยนักวิทยาศาสตร์อีกหลายท่าน ในระยะเวลาใกล้เคียงกันนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นได้ทำการตรวจสอบจิบเบอเรลลิน เอ และพบว่าสารที่แยกได้ไม่บริสุทธิ์ จึงได้ทำการแยกพบว่า จิบเบอเรลลิน เอ ประกอบด้วยจิบเบอเรลลิน 3 ชนิดจึงตั้งชื่อสารที่พบว่า $GA_1$, $GA_2$, และกรดจิบเบอเรลลิก ($GA_3$) (Takahashi และคณะ, 1955) ต่อมาได้มีการศึกษาและค้นพบอนุพันธ์ของฮอร์โมนพืชในกลุ่มจิบเบอเรลลินอีกหลายชนิด

**1.2 ชนิดและโครงสร้างของจิบเบอเรลลิน**

ฮอร์โมนในกลุ่มจิบเบอเรลลิน มีสูตรโครงสร้างประกอบด้วยเทอร์พีนอยด์ 2 หน่วย จับตัวกันเป็นวง 4 วง (tetracyclic diterpenoid acids) ในลักษณะโครงสร้างที่เป็นวงจิบเบอเรลเลน (ent – gibberrellane ring system) ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของจิบเบอเรลลิน (Takahashi และคณะ, 1986) ดังแสดงในรูปที่ 1.1 จิบเบอเรลลินแต่ละชนิดจะต่างกันที่ตำแหน่งของพันธะคู่ หมู่ไฮดรอกซีหรือหมู่ฟังก์ชั่น (functional group) ต่าง ๆ ที่มาจับกับวงจิบเบอเรลเลน เกิดเป็นจิบเบอเรลลินชนิดต่าง ๆ ที่มีคุณสมบัติ และฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกัน การเรียกชื่อจิบเบอเรลลินจะเรียกชื่อและมีหมายเลขกำกับตามลำดับการค้นพบ เช่น $GA_1$, $GA_2$, $GA_3$,..., $GA_n$ สำหรับจิบเบอเรลลินที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงคือ กรดจิบเบอเรลลิก ($GA_3$) รองลงมาคือ $GA_4$ และ $GA_7$ นอกจากนี้ยังพบว่า $GA_4$ และ $GA_7$ เป็นสารตั้งต้นของ $GA_3$ ด้วย (Bruckner และคณะ, 1989)




รูปที่ 1.1 โครงสร้างของ ent-gibberrellane skeleton

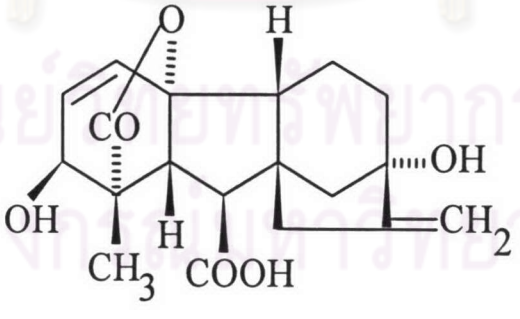
(Bruckner และ Blechschmidt, 1991)

จิบเบอเรลลินสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มตามจำนวนอะตอมของคาร์บอนในโมเลกุล คือ กลุ่มที่มีคาร์บอน 20 อะตอมซึ่ง เป็นกลุ่มที่มีโครงสร้างไดเทอร์ฟีนที่สมบูรณ์ และกลุ่มที่มีคาร์บอน 19 อะตอม เป็นกลุ่มที่ขาดคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 20 โดยคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 19 สร้างพันธะแลกโตน (lactone bridge) กับคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 10 และจิบเบอเรลลินที่อยู่ในกลุ่มนี้จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง ได้แก่ $GA_3$ $GA_4$ และ $GA_7$ (Bruckner และคณะ, 1989)

นับตั้งแต่ปี ค.ศ.1960 รายงานการค้นพบจิบเบอเรลลินทั้งจากพืช และจุลินทรีย์มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นโดยลำดับ จนกระทั่งปี ค.ศ.1998 มีรายงานว่าค้นพบจิบเบอเรลลินแล้วถึง 116 ชนิด ( Nakayama และคณะ, 1998) แต่ที่มีการผลิตในเชิงการค้า เพื่อใช้ประโยชน์มากที่สุดในอุตสาหกรรมการเกษตร คือ กรดจิบเบอเรลลิก เนื่องจากมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชหลาย ๆ ชนิด เช่นช่วยในการเจริญเติบโตของพืช สามารถกระตุ้นให้พันธุ์แคระ (dwarf plant) และพืชที่มีใบกระจุกแบบกุหลาบซ้อน (rosette plant) ขยายลำต้นยืดยาวได้ การชักนำให้เกิดการสร้างผลที่ไม่มีเมล็ดช่วยในการผลิตองุ่นไม่มีเมล็ดชักนำให้เกิดการออกดอกในพืชที่ต้องการแสงและอุณหภูมิเป็นตัวกระตุ้น ช่วย ในการงอกของเมล็ดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะที่มีอากาศเย็น ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากในการผลิตข้าวมอลต์ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ เป็นต้น

**1.3 คุณสมบัติของกรดจิบเบอเรลลิก**

$GA_3$ มีชื่อสามัญว่า กรดจิบเบอเรลลิก (gibberellic acid) และมีชื่อทางเคมีว่า 2,4α ,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylenegibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid 1,4α - lactone ดังแสดงในรูปที่ 1.2 สูตรโมเลกุล คือ $C_{19}H_{22}O_6$ มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล เมทานอล เอทิลอะซิเตต และบิวทิลอะซิเตต แต่ละลายได้ยากในคลอโรฟอร์ม คาร์บอนเททระคลอไรด์ และปิโตรเลียมอีเธอร์ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 346 จุดหลอมเหลว 234-236 องศาเซลเซียส กรดจิบเบอเรลลิกจะเสถียรในภาวะที่แห้งและสลายตัวได้ง่ายเมื่ออยู่ในรูปสารละลาย และเมื่ออยู่ในรูปของสารละลายจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 3-4 (Bruckner และ Blechschmidt, 1991)

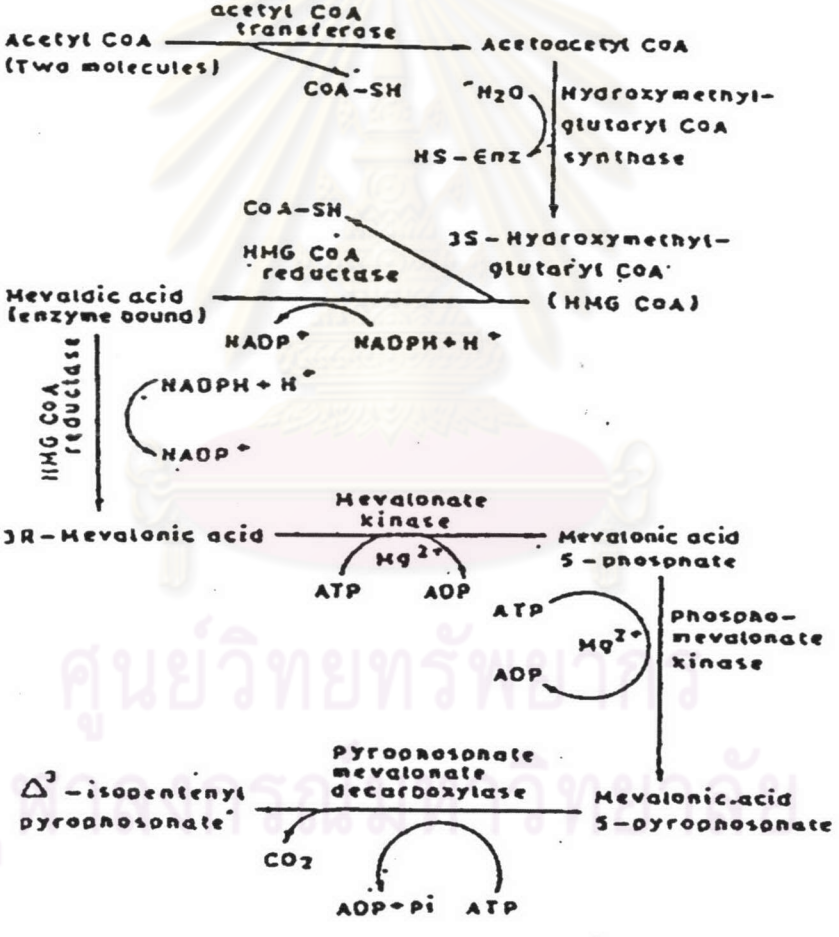



รูปที่ 1.2 โครงสร้างของกรดจิบเบอเรลลิก ($GA_3$)

**1.4 การสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน (Biosynthesis pathway)**

1.4.1 การสังเคราะห์ไอโซเพนทีนิล ไพโรฟอสเฟต (Isopentenyl pyrophosphate, IPP)

การสังเคราะห์จิบเบอเรลลินจะผ่านกระบวนการทางชีวภาพของสารไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid biosynthesis pathway) โดยเริ่มจากการรวมตัวกันของอะเซทิลโค เอ (acetyl Co A) 2 โมเลกุล โดยอาศัยเอนไซม์อะเซทิลโค เอ ทรานเฟอเรส (acetyl Co A transferase) ได้อะซิโตอะเซทิลโค เอ (acetoacetyl Co A) ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็นไฮดรอกซีเมทิลกลูตาริลโคเอนไซม์เอ (hydroxymethyl glutaryl CoenzymeA ; HMGCOA) และกรดเมวาโลนิก (mevalonic acid ; MVA) ตามลำดับ ซึ่งกรดเมวาโลนิกนี้เป็นสารตัวกลางที่สำคัญที่จะเปลี่ยนแปลงต่อไปจนได้ ไอโซเพนทีนิล ไพโรฟอสเฟต (isopentenyl pyrophosphate ; IPP) (Kumar และ Lonsane, 1989) ดังแสดงในรูปที่ 1.3

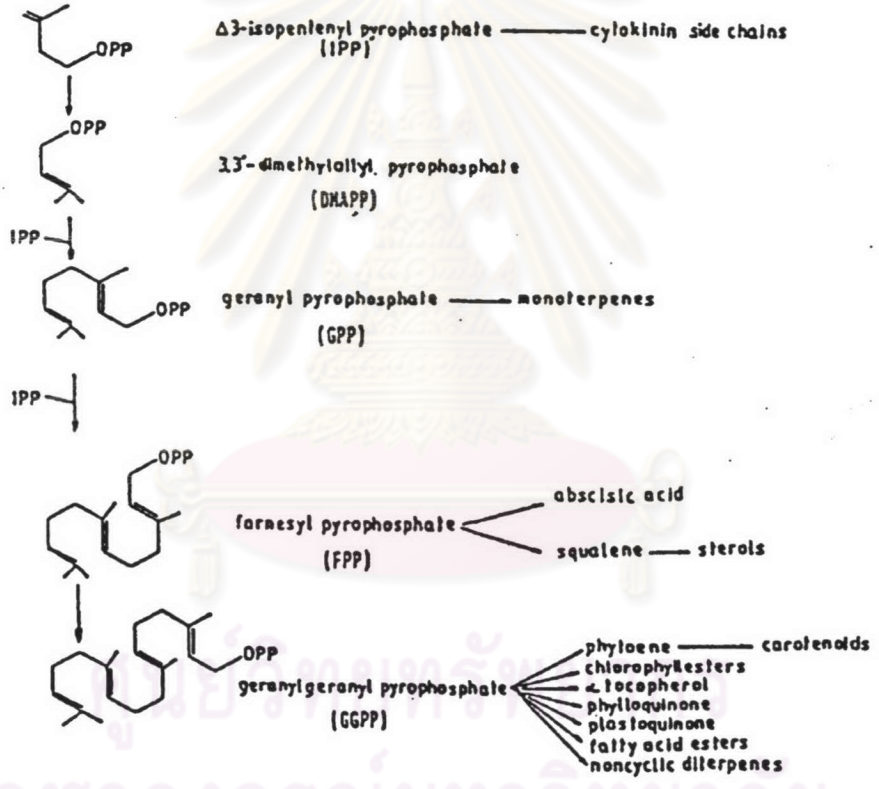



รูปที่ 1.3 ขั้นตอนการสังเคราะห์ไอโซเพนทีนิล ไพโรฟอสเฟต

(Kumar และ Lonsane, 1989)

1.4.2. การสังเคราะห์เทอร์พีน และเทอร์พีนอยด์ (Terpene และ terpenoid biosynthesis)

ไอโซเพนทีนิล ไพโรฟอสเฟต (IPP) เป็นสารตั้งต้นที่สามารถจะเปลี่ยนเป็นเทอร์พีน และเทอร์พีนอยด์ชนิดต่าง ๆได้ โดย IPP 2 โมเลกุลรวมตัวกันเกิดเป็น ไดเมทธิลอัลลิลไพโรฟอสเฟต (dimethyl-allylpyrophosphate, DMAPP) จากนั้น DMAPP จะรวมกับ IPP อีก 1 โมเลกุล ได้สารเจอรา-นิลไพโรฟอสเฟต (geranyl pyrophosphate, GPP) และ GPP จะรวมกับ IPP อีก 1 โมเลกุล เกิดเป็น ฟาร์เนซิล ไพโรฟอสเฟต (farnesyl pyrophosphate, FPP) จากนั้นจะจะรวมกับ IPP อีก 1 โมเลกุล และเปลี่ยนต่อไปเป็น เจอรานิล เจอรานิล ไพโรฟอสเฟต (geranyl geranyl pyrophosphate, GGPP) (Kumar และ Lonsane, 1989) ซึ่งมีคาร์บอนในโครงสร้าง 20 อะตอม สารชนิดนี้จะเป็นสารหลักที่จะนำไปใช้ในการสังเคราะห์สารในกลุ่มจิบเบอเรลลินต่อไป ดังแสดงในรูปที่ 1.4



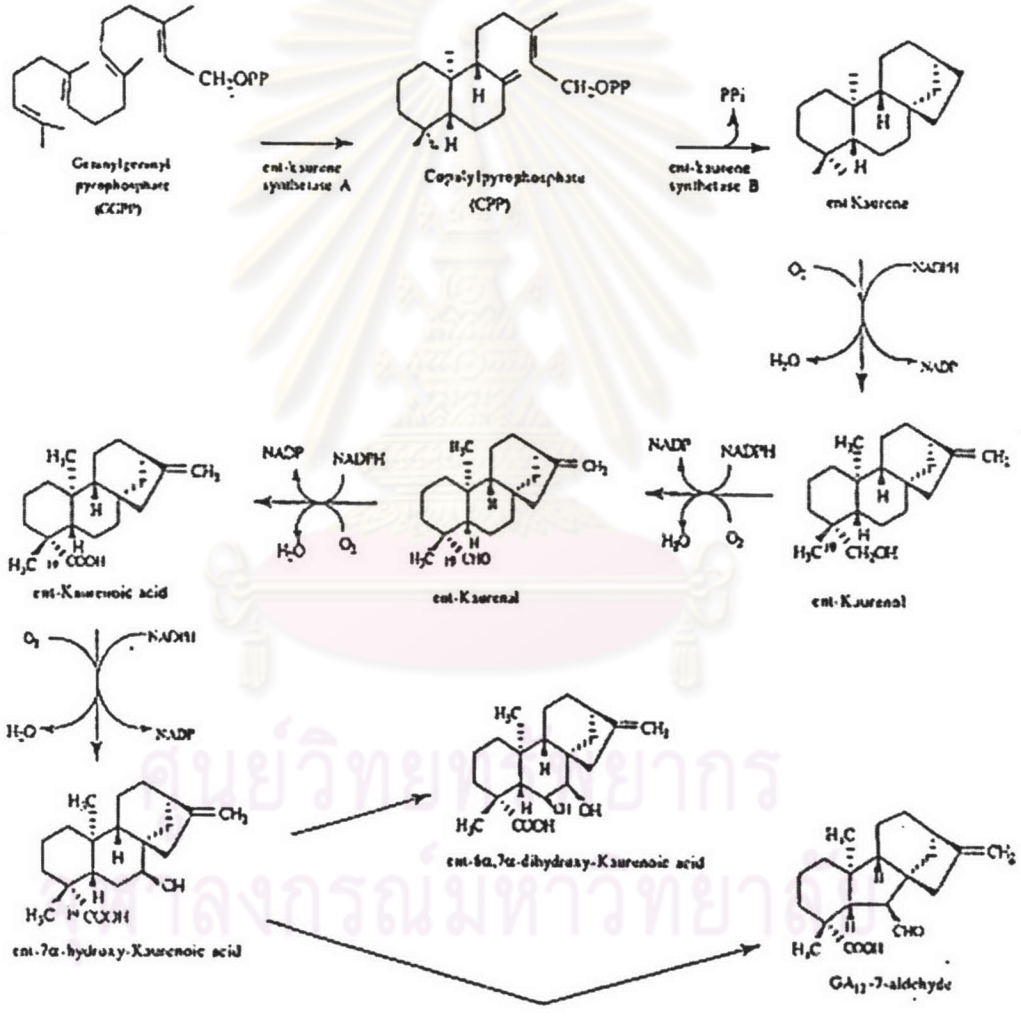

รูปที่ 1.4 ขั้นตอนการสังเคราะห์เทอร์พีน และเทอร์พีนอยด์

(Bruckner และคณะ, 1989)

1.4.3. การสังเคราะห์เอนท์-คอรีน (Ent – kaurene biosynthesis)

การเกิดวงแหวนของเอนท์-คอรีน (ent – kaurene) เริ่มจากโดย GGPP จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นโคพาลีลไพโรฟอสเฟต (copalylpyrophosphate, CPP) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์

เอแนนทิโอเมอร์ เอนท์คอรีนซินเทส (ent-kaurene synthase) โดยตลอดกระบวนการสังเคราะห์นั้นจะเกี่ยวข้องกับการออกซิเดชันในร่างแหเอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัม (endoplasmic reticulum ; ER) เพื่อสร้างสารมัธยันตร์ต่างๆขึ้นตามลำดับ คือ เอนท์-คอรีนอล (ent-kaurenol) เอนท์-คอรีนาล (ent-kaurenal) และเอนท์-คอรีโนอิก แอซิด (ent-kaurenoic acid) (Shechter และ West, 1969) หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิลเลชันที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 7 ได้สารประกอบที่เรียกว่า เอนท์-7-บีตา ไฮดรอกซีคอรีโนอิก แอซิด (ent-7-β -hydroxykaurenoic acid) (West, 1973 ; Bearder และคณะ, 1975) ดังแสดงในรูปที่ 1.5



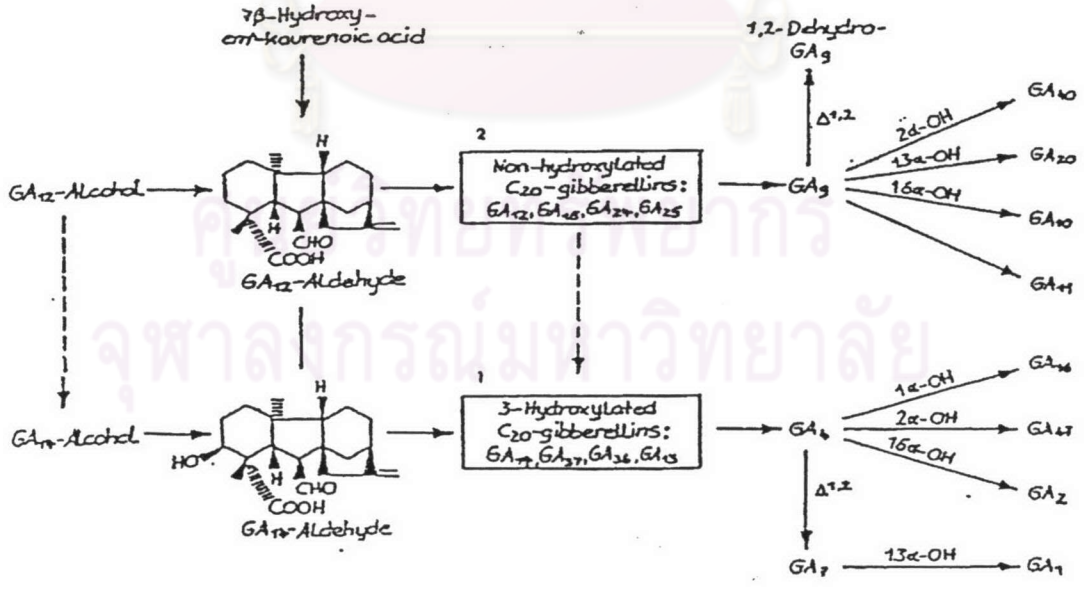

รูปที่ 1.5 ขั้นตอนการสังเคราะห์เอนท์-คอรีน

(Sponsel, 1995)

1.4.4. การสังเคราะห์ $GA_{12}$ แอลดีไฮด์ ($GA_{12}$-aldehyde biosynthesis)

เอนท์-7-เบต้า-ไฮดรอกซีคอรีโนอิกเอซิด ที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 3 วงเรียงกัน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่วงแหวนบี (ring B) โดยการลดจำนวนคาร์บอนอะตอมลงเหลือ 5 อะตอม กลายเป็นวงแหวน 5 เหลี่ยมโดยที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 7 กลายเป็นหมู่แอลดีไฮด์ ดังนั้นคาร์บอนอะตอมที่ตำแหน่ง 6 และ 8 จะเกิดพันธะที่ต่อวงแหวนเข้าด้วยกันอีกครั้งเกิดเป็นจิบเบอเรลลิน-12-แอลดีไฮด์ ($GA_{12}$-aldehyde) ซึ่งมีคาร์บอนในโมเลกุล 20 อะตอม (Birch และคณะ, 1959)

$GA_{12}$ แอลดีไฮด์ ซึ่งเป็นสารประกอบตัวแรกที่มีโครงสร้างแบบเอนท์-จิบเบอเรลเลน (ent-gibberellane) จะเป็นสารเริ่มต้นของการเปลี่ยนแปลงเป็นจิบเบอเรลลินชนิดต่าง ๆ ผ่านกระบวนการที่แยกเป็น 2 วิถี คือ วิถีแรกเป็นการสังเคราะห์ที่ผ่านปฏิกิริยา 3-บีตา-ไฮดรอกซีเลชัน ได้ $GA_{14}$-aldehyde และเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น $GA_{14}$ $GA_{37}$ $GA_{36}$ และเมื่อจำนวนคาร์บอนลดลง 1 อะตอมเหลือคาร์บอน 19 อะตอมจะเกิดเป็น $GA_4$ ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็น $GA_7$ ได้โดยปฏิกิริยา 1-2-ดีไฮโดรจีเนชัน (1,2-dehydrogenation) และเมื่อ $GA_7$ เกิดปฏิกิริยา 13-ไฮดรอกซีเลชัน (13-hydroxylation) จะได้เป็น $GA_3$ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์หลักของการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินในเชื้อ *Gibberella fujikuroi* สำหรับวิถีที่ 2 เป็นกระบวนการสังเคราะห์ที่ไม่ผ่านปฏิกิริยา 3-บีตา-ไฮดรอกซีเลชัน จะได้จิบเบอเรลลินที่ประกอบด้วยคาร์บอนจำนวน 20 อะตอม เช่น $GA_{15}$ $GA_{24}$ และจิบเบอเรลลินที่มีคาร์บอนจำนวน 19 อะตอม คือ $GA_9$ ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น $GA_{10}$ $GA_{11}$ และ $GA_{40}$ ดังแสดงในรูปที่ 1.6 (Bruckner และ Blechschmidt, 1991)




รูปที่ 1.6 ขั้นตอนการสังเคราะห์ $GA_{12}$ แอลดีไฮด์

(Bruckner และ Blechschmidt, 1991)

**1.5 การผลิตจิบเบอเรลลิน**

สำหรับการผลิตฮอร์โมนในกลุ่มจิบเบอเรลลินได้มีการศึกษาแนวทาง และวิธีการผลิต แบ่งออกได้เป็น 3 วิธีการ คือ

1.5.1 การสกัดจากพืช มีรายงานการค้นพบจิบเบอเรลลินครั้งแรกในพืชชั้นสูง (West และ Phinney, 1956) โดยพบได้ในเนื้อเยื่อพืชที่กำลังมีการเจริญเติบโต และเปลี่ยนสภาพทุกชนิด เนื่องจากเป็นแหล่งที่มีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน นอกจากนี้ยังพบในผล และเมล็ดที่กำลังเจริญเติบโต เนื่องจากมีเอนไซม์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนกรดเมวาโลนิกให้เป็นจิบเบอเรลลินที่มีคาร์บอนจำนวน 19 อะตอม และในปี ค.ศ. 1968 MacMillan และ Takahashi สามารถแยก $GA_1$ ได้ในพืชชั้นสูง โดยแยกได้จากเมล็ดถั่ว (*Phaseolus coccineus*) ที่ยังเจริญไม่เต็มที่โดยสารจิบเบอเรลลินส่วนใหญ่ที่พบจะจับกับสารประกอบอื่นมากกว่าอยู่ในรูปจิบเบอเรลลินอิสระ (Russell, 1975) และจิบเบอเรลลินที่พบในพืชต่างๆมีอยู่มากกว่า 100 ชนิดตามชนิดของพืช และพบในปริมาณที่ต่ำมาก จึงเป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมสำหรับการผลิตเพื่อการค้า

1.5.2 การสังเคราะห์ทางเคมี พบว่ามีการใช้ 2-แอลลิลออกซีอนิโซล (2-allyloxyanisole) และ 4-เบนซิลออกซีไซโคลเฮกซาโนน (4-benzyloxy-cyclohexanone) เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลิน แต่ผลผลิตที่ได้จะไม่คงที่ และใช้ต้นทุนสูงกว่า เมื่อเทียบกับค่าใช้จ่ายในการผลิตด้วยกระบวนการหมัก (Corey และคณะ, 1978)

1.5.3 การหมักด้วยจุลินทรีย์ โดยมีความสนใจการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตจิบเบอเรลลิน โดยในปี ค.ศ. 1955 คณะทำงานของบริษัท ICI ทำการทดสอบ และแยกเชื้อราจากพืชหลายชนิด พบว่า เชื้อรา *Gibberella fujikuroi* ให้ผลผลิตจิบเบอเรลลินสูง (Borrow และคณะ, 1955) ต่อมาปี ค.ศ. 1957 Curtis ศึกษาหาเชื้อรา และแอคติโนมัยซีส (Actinomycetes) ที่มีความสามารถผลิตจิบเบอเรลลิน และพบว่าเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* เป็นจุลินทรีย์ที่ให้ผลผลิตจิบเบอเรลลินสูง และได้มีการนำมาใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมจนถึงปัจจุบัน

**1.6 กระบวนการหมักเพื่อผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อจุลินทรีย์**

จิบเบอเรลลินชนิดที่มีการนำมาใช้กันแพร่หลายอย่างมากในอุตสาหกรรมการเกษตรคือ $GA_3$ หรือกรดจิบเบอเรลลิก จึงมีการศึกษาการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกเพื่อการค้า โดยอาศัยการหมักด้วยจุลินทรีย์เป็นหลัก โดยใช้เชื้อรา *Gibberella fujikuroi* หรือเรียกชื่ออีกอย่างหนึ่งว่า *Fusarium moniliforme* เมื่ออยู่ในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเชื้อราชนิดนี้มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น และให้กรดจิบเบอเรลลิกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในกระบวนการเมแทบอลิซึม ผลผลิตของกรดจิบเบอเรลลิกจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

ภาวะในการเลี้ยงเชื้อ และกระบวนการหมัก พบว่า การหมักบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) โดยใช้ข้าวโพดที่บดละเอียด, รำข้าวสาลี และข้าว และมีการเติมน้ำเล็กน้อย เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์จะให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูง แต่มีข้อเสีย คือ การควบคุมความชื้น และอัตราการให้อากาศทำได้ยาก

การผลิตกรดจิบเบอเรลลิก จึงนิยมใช้วิธีการหมักในอาหารเหลว (Submerged fermentation) ด้วยการหมักแบบแบตช์ (batch fermentation) ซึ่งเป็นการหมักที่มีการเติมอาหารทั้งหมดลงในถังหมักตั้งแต่ต้น หลังจากนั้นจะไม่มีการเติมสารอาหารใด ๆ เพิ่มลงในระบบซึ่งการใช้สารอาหารตั้งต้นในปริมาณสูงอาจไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และเป็นการจำกัดปริมาณสารอาหารในถังหมัก นอกจากนี้ยังมีปัญหาในการเติมออกซิเจนทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักต่ำเกินไป (Vass และ Jeffereys, 1979) จึงมีการนำกระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์มาใช้ (fed - batch fermentation) ซึ่งเป็นการหมักที่มีการเติมสารอาหารบางอย่างเพิ่มในระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นระยะ ๆ เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญ และใช้สารอาหารได้อย่างเต็มที่โดยไม่มีการถ่ายอาหารเก่าออก การหมักแบบนี้ส่วนใหญ่ใช้เพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับข้อจำกัดเรื่องความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น ซึ่งถ้าใช้มากเกินไปอาจมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ หรืออาจทำให้เกิดปัญหาในการให้ออกซิเจนในปริมาณที่เพียงพอได้ พบว่า การควบคุมอัตราการเติมคาร์โบไฮเดรตให้เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อรา และการเติมสารตั้งต้นในการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน เช่น กรดเมวาโลนิก (mevalonic acid) จะเพิ่มผลผลิตจิบเบอเรลลิกได้

นอกจากนั้นยังมีการใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) ซึ่งเป็นการหมักที่มีการเติมอาหารใหม่และถ่ายอาหารเก่าออกจากระบบในอัตราเดียวกันตลอดเวลาทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้อย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีข้อจำกัดในเรื่องอาหาร ระบบนี้จะสามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงแล้วยังสามารถใช้ในการผลิตสารอื่น ๆ จากจุลินทรีย์ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบต่อเนื่องสามารถปรับอัตราการเจือจางให้เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดเป็นเวลานานได้ จากรายงาน Holme และ Zacharias (1965) ; Bu Lock และคณะ (1974) เกี่ยวกับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยการหมักแบบต่อเนื่อง พบว่ามีอัตราการผลิตที่ต่ำ และใช้เวลานาน ดังนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้ระบบนี้จึงยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก เนื่องจากขาดความรู้ที่สำคัญในการควบคุมภาวะการหมักแบบต่อเนื่อง และพบว่าการหมักแบบต่อเนื่องที่ใช้เวลานานจะมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากภายนอกรวมทั้งยังอาจเกิดปัญหาจากการที่จุลินทรีย์ในระบบเกิดการผ่าเหล่าซึ่งอาจทำให้ความสามารถในการผลิตสารเมแทบอไลท์ต่ำลงได้

## 1.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก

1.7.1 หัวเชื้อสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก

การเตรียมหัวเชื้อมีความสำคัญมากอย่างหนึ่งในการทำให้กระบวนการผลิตดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ หัวเชื้อที่มีคุณภาพ และมีปริมาณที่เหมาะสมจะทำให้การผลิตกรดจิบเบอเรลลิกดีขึ้น Gancheva และ Dimova (1984) รายงานว่า การเจริญของเชื้อ และกระบวนการผลิตกรดจิบเบอ-เรลลิก จะขึ้นอยู่กับอายุ และปริมาณของหัวเชื้อ โดยในกระบวนการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกที่ใช้หัวเชื้อที่มีอายุ 48 ชั่วโมง จะสูงกว่าการใช้หัวเชื้อที่มีอายุเกิน 72 ชั่วโมง เพราะเส้นใยจะเริ่มมีการแตกหักและเกิดการย่อยสลาย (autolysis) ปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก คือ ร้อยละ10 (ปริมาตรหัวเชื้อต่อปริมาตรอาหาร) เป็นส่วนใหญ่ เช่น Darken และคณะ (1959) ; Gohlwar และคณะ (1984) ; Sastry และคณะ (1988) ; Bruckner และ Blechschmidt (1991) ขณะที่อายุของหัวเชื้อที่ใช้มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์แต่ละชนิด จากรายงานของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) พบว่าอายุของหัวเชื้อของ *Gibberella fujikuroi* C ที่มีอายุ 72 ชั่วโมงเหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก รายงานของอัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) พบว่า อายุของหัวเชื้อของ *Gibberella fujikuroi* F4W-6(9) ที่มีอายุ 60 ชั่วโมงเหมาะสมสำหรับการผลิต และรายงานของศุภชัย สมัปปิโต (2537) อายุของหัวเชื้อของ *Gibberella fujikuroi* N9-34 ที่มีอายุ 48 ชั่วโมงซึ่งเป็นเวลากึ่งกลางของระยะทวีคูณ (log phase) เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมักขนาด 5 ลิตร

1.7.2 ปัจจัยของสารอาหาร

อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจะมีความสำคัญในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีองค์ประกอบ และปริมาณสารอาหารแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุอาหารที่จำเป็นในปริมาณที่เหมาะสมจะมีผลต่อการเจริญ และการสร้างผลิตภัณฑ์

1.7.2.1 สารแหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีความสำคัญในการสังเคราะห์เซลล์ โดยแหล่งคาร์บอนที่นิยมใช้ในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก คือ กลูโคส และซูโครส แต่จากรายงานของ Borrow และคณะ (1964) พบว่าการใช้กลูโคสที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมากกว่าร้อยละ 20 ขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลให้การผลิตกรดจิบเบอเรลลิกลดลง จึงมีการแก้ไขโดยเติมน้ำตาลลงไปเป็นช่วงๆ ในระหว่างการผลิต ซึ่งจะรักษาระดับความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อให้ต่ำกว่าร้อยละ 4 (Borrow และคณะ, 1959a ; Borrow และคณะ, 1959b) นอกจากนั้นยังมีการใช้แหล่งคาร์บอนอื่นด้วย เช่น มอลโตส และแมนนิทอล (Candau และคณะ, 1991) และการใช้สารพวกโพลีแซคคาร์ไรด์ (polysaccharide) เช่น แป้งและกากเมล็ดพืช (Fuska และคณะ, 1961) หรืออาจใช้แหล่งคาร์บอนผสมระหว่างชนิดที่นำไปใช้ได้ง่ายร่วมกับชนิดที่นำไปใช้ได้ยาก เช่น การใช้กลีเซอรอล ต่อกลูโคส ต่อแลคโทสในอัตราส่วน 20 ต่อ 10 ต่อ 20 กรัมต่อลิตรมีความเหมาะสมต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (Darken และคณะ, 1959) นอกจากนี้การเติมน้ำมันพืช เช่น น้ำมันดอกทานตะวันลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

มีผลให้มวลชีวภาพ (biomass) เพิ่มขึ้น และไม่ว่องไวต่อการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากแหล่งคาร์บอนซึ่งจะเป็นการเพิ่มผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้อีกด้วย

1.7.2.2 สารแหล่งไนโตรเจน

คุณภาพและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อ Borrow และคณะ (1964) กล่าวว่า การสังเคราะห์กรดจิบเบอเรลลิกจะเริ่มขึ้นเมื่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อถูกใช้หมด ดังนั้นในกระบวนการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่ใช้จึงมีความสำคัญ โดยอาจมีการใช้แหล่งไนโตรเจนหลายชนิดซึ่งอาจอยู่ในรูปของอินทรีย์สารหรืออนินทรีย์สาร ได้แก่ แอมโมเนียซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ กากเมล็ดพืช เป็นต้น จากรายงานของวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) และศุภชัย สมัปปิโต (2537) พบว่า การใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก

นอกจากนั้นปริมาณของแหล่งไนโตรเจนก็มีผลต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยจากรายงานของ Bruckner และ Blechschmid (1991) ที่ได้ทำการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 7.5 และ 38 มิลลิโมลาร์ พบว่าเชื้อ *Gibberella fujikuroi* สายพันธุ์ m 567มีการเจริญเติบโตได้ไม่แตกต่างกัน แต่เชื้อจะผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน และเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีความเข้มข้นของแอมโนเนียมซัลเฟตสูงจะทำให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกลดลงถึง 3 เท่า เนื่องจากแอมโมเนียมมีผลต่อการสังเคราะห์ หรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ และมีรายงานของ Giordano และคณะ (1999) ที่ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ *Gibberella fujikuroi* ที่แยกได้จากธรรมชาติในสูตรอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงจะยับยั้งการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกอย่างถาวร

ดังนั้นการเลือกใช้ปริมาณ และชนิดของแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนจึงมีความสำคัญในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก เนื่องจากหากเลือกใช้แหล่งคาร์บอน และแหล่ไนโตรเจนที่มีผลทำให้เกิดความหนืดสูง จะเป็นผลให้ลดค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน (oxygen transfer efficiency) ของระบบการกวน (Jefferys, 1970) และการเลือกแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนยังต้องพิจารณาถึงการที่เซลล์สามารถนำไปใช้สร้างกรดจิบเบอเรลลิกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.7.3. ปัจจัยทางกายภาพ

ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดจิบเบอเรลลิก พบว่าอิทธิพลของค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิระหว่างการหมัก อัตราการให้อากาศ และอัตราการกวนเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (Jefferys, 1970)

1.7.3.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างสูงจะทำให้มีการขับสารมัธยันตร์ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งจะมีผลให้ไม่สามารถผลิตผลผลิตสุดท้ายออกมาได้ จากรายงานของ Stodola และคณะ (1955) พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 5.5 เหมาะสมสำหรับผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยเชื้อ *Fusarium moniliforme* NRRL 2284 ขณะที่รายงานของวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532), อรไท สุขเจริญ (2533), อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) และศุภชัย สมัปปิโต (2537) ซึ่งใช้สายพันธุ์ *Gibberella fujikuroi* C, *Gibberella fujikuroi* C, *Gibberella fujikuroi* F4W-6(9) และ *Gibberella fujikuroi* N9-34 ตามลำดับ รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกเท่ากับ 7 นอกจากนี้ อรไท สุขเจริญ (2533) พบว่า การไม่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการหมักให้ผลผลิต กรดจิบเบอเรลลิกสูงกว่าการหมักที่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

1.7.3.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีความสำคัญต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดยอุณหภูมิที่ใช้จะขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อ Stoda และคณะ (1955) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดยใช้เชื้อ *Fusarium moniliforme* NRRL 2284 คือ 25 องศาเซลเซียส อรไท สุขเจริญ (2533) และศุภชัย สมัปปิโต (2537) รายงานว่าการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดยเชื้อ *Gibberella fujikuroi* N9-34 ใช้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า มีการควบคุมอุณหภูมิในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะที่เชื้อมีการเจริญจะควบคุมอุณหภูมิที่ 31-32 องศาเซลเซียส และระยะของการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกจะควบคุมอุณหภูมิที่ 29 องศาเซลเซียส (Jefferys, 1970)

1.7.3.3 อัตราการให้อากาศและอัตราการกวน

ขบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดต่าง ๆ ได้แก่ไซโทโครม P450 มอนอออกซีจีเนส (cytochrome P450 monooxygenases), ไดออกซีจีเนส (dioxygenases) และ ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenases) ดังนั้นประสิทธิภาพการถ่ายเทออกซิเจนในกระบวนการจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ ถ้าปริมาณออกซิเจนที่ให้ต่ำหรือเกิดสภาพขาดแคลนออกซิเจนจะมีผลให้ผลผลิตจิบเบอเรลลินลดลง (Geissman และคณะ, 1966) Giordano และ Domenech (1999) รายงานว่า จากการศึกษาการให้อากาศที่มีผลต่อการผลิตกรดจิบเบอ-เรลลิกของเชื้อ *Gibberella fujikuroi* สายพันธุ์ IMI58289 ในระดับขวดเขย่าที่แปรปริมาณการให้อากาศโดยทำการเลี้ยงเชื้อในขวดรูปชมพู่ที่มีปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน พบว่า การเจริญเติบโต และเมแทบอลิซึมของเชื้อภายใต้ภาวะที่มีการให้อากาศต่ำจะทำให้มีมวลชีวภาพเกิดขึ้นน้อยกว่าภาวะที่มีการให้อากาศสูง เนื่องจากเชื้อจะมีการเจริญเติบโตช้ากว่า และมีใช้การกลูโคสในปริมาณที่สูงกว่า ดังนั้น การเลี้ยงเชื้อในภาวะที่มีการให้อากาศต่ำจะสิ้นเปลืองสารอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนมากขึ้น

และเมื่อพิจารณาปริมาณของกรดจิบเบอเรลลิกที่เชื้อผลิตขึ้น พบว่า สภาวะที่มีการให้อากาศสูงจะทำให้เชื้อผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้เพิ่มขึ้น

ดังจะเห็นได้ว่า การผลิตกรดจิบเบอเรลลิกให้ได้ในปริมาณที่สูงนั้นเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่าง ๆ ค่อนข้างมาก ทั้งในเรื่องของการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อ *Gibberella fujikuroi* ที่จะใช้ในการผลิต ปริมาณและคุณภาพของเชื้อ ปัจจัยของสารอาหาร วัตถุดิบที่ใช้ และการควบคุมภาวะต่าง ๆในระหว่างการหมัก ดังนั้นจึงน่าสนใจอย่างยิ่งที่จะศึกษาภาวะในการเลี้ยงเชื้อ และกระบวนการหมักที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกเพื่อเป็นแนวทางการผลิตในระดับขยายส่วน และระดับอุตสาหกรรมต่อไป

**1.8 การผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดยใช้กระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ (fed - batch fermentation)**

เนื่องจากการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกเพื่อการค้ามักจะอาศัยการหมักด้วยจุลินทรีย์เป็นหลัก ได้แก่ เชื้อรา *Gibberella fujikuroi* ที่มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในภาวะที่เหมาะสม และกระบวนการหมักที่เหมาะสม พบว่ากระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ (fed-batch fermentation) ซึ่งเป็นการหมักที่มีการเติมสารอาหารเข้าสู่ถังหมักในระหว่างกระบวนการหมักโดยอาจเป็นการเติมแบบครั้งคราว หรือเติมแบบต่อเนื่องก็ได้ แต่จะไม่มีการดึงเอาของเหลวภายในถังหมักออกจนกว่าจะสิ้นสุดการหมัก เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญ และใช้สารอาหารได้อย่างเต็มที่ ซึ่งเป็นวิธีการที่นิยมใช้เพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับข้อจำกัดเรื่องความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น เพราะเมื่อมีปริมาณมากเกินไปอาจมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ พบว่า การควบคุมอัตราการเติมคาร์โบไฮเดรตให้เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อรา และการเติมสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดจิบเบอ-เรลลิก เช่น กรดเมวาโลนิกจะเพิ่มผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้

จากรายงานของ Hollmann และคณะ (1995) ที่ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ *Gibberella fujikuroi* DSM 893 เพื่อเปรียบเทียบกระบวนการหมักระหว่างแบบแบตช์กับแบบเฟดแบตช์ เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 120 กรัมต่อลิตร พบว่า ในกระบวนการหมักแบบแบตช์เชื้อจะมีการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกเมื่อเชื้อหยุดการเจริญซึ่งเป็นช่วงที่ปริมาณกลูโคสใกล้จะหมดแล้วได้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุดประมาณ 520 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังจากที่ปริมาณกลูโคสหมดไปการผลิตจะหยุดลง และปริมาณของกรดจิบเบอเรลลิกจะลดลงอย่างรวดเร็ว อาจเนื่องมาจากการยับยั้งโดยผลผลิต และการย่อยสลายของผลผลิตทำให้เกิดกรดจิบเบอเลนนิก (Gibberellenic acid; GE) ส่วนในกระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ที่มีการเติมกลูโคสระหว่างการหมัก เมื่อปริมาณกลูโคสลดลงต่ำกว่า 20 กรัมต่อลิตร พบว่า เมื่อเชื้อหยุดการเจริญจะมีการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้อย่างต่อเนื่อง และมีระยะเวลานานขึ้น โดยได้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุดประมาณ 540 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการผลิตปริมาณของกรดจิบเบอเรลลิกลดลงเพียงเล็กน้อย

จากรายงานของ Yuan และคณะ (1997) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อ *Gibberella fujikuroi* โดยมีแหล่งคาร์บอน คือ สารละลายเดกซ์ทริน และแหล่งไนโตรเจน คือ กากถั่วเหลือง ในถังหมัก

ขนาด 50 ลูกบาศก์เมตร เป็นเวลา 160 ชั่วโมงแล้วทำการเติมสารอาหารในช่วงชั่วโมงที่ 60-100 ของการหมัก จากนั้นทำการสุ่มมาศึกษาปริมาณการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก พบว่า ผลผลิตกรดจิบเบอ-เรลลิกในชั่วโมงที่ 150 จะมีปริมาณที่ต่ำที่สุด ซึ่งมีค่าผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) เท่ากับ 16 มิลลิกรัมกรดจิบเบอเรลลิกต่อกรัมน้ำตาล ขณะที่การเติมแหล่งไนโตรเจนปริมาณมากในช่วงกลางของเพาะเลี้ยง และไม่มีการเติมอาหารหลังจากชั่วโมงที่ 120 ของการเพาะเลี้ยงจะทำให้ได้ปริมาณผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงที่สุด ซึ่งมีค่าผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) เท่ากับ 21 มิลลิกรัมกรดจิบเบอเรลลิกต่อกรัมน้ำตาล อาจเนื่องจากการเติมแหล่งไนโตรเจนในชั่วโมงท้าย ๆ ของการเพาะเลี้ยงทำให้เชื้อไม่มีการผลิตจิบเบอเรลลิก ดังนั้นควรเติมสารอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจนในระยะแรกของการเพาะเลี้ยงซึ่งจะให้ผลดีกว่าการเติมตลอดช่วงของการเพาะเลี้ยง

### 1.9 ประโยชน์ของจิบเบอเรลลิน

ฮอร์โมนจิบเบอเรลลินและสารสังเคราะห์ของกรดจิบเบอเรลลิกสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการผลผลิตไม้ผล เช่น การเพิ่มขนาดผลองุ่นชนิดไม่มีเมล็ด, การปรับปรุงขนาดและรูปร่างของช่อผลโดยการกระตุ้นความยาวก้านผล มักจะใช้ร่วมกับฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินในรูปสารผสมของเบนซิลอะดีนีน (benzyladenine) กับ $GA_4$ และ $GA_7$ นอกจากนั้นยังมีการใช้ในพืชตระกูลส้มโดยกรดจิบเบอเรลลิกจะสามารถช่วยยืดระยะการเก็บเกี่ยวให้ยาวนานขึ้น และทำให้ผลติดอยู่ได้นานเป็นประโยชน์ต่อการยืดระยะเวลาการส่งออกสู่ตลาดโลกได้ (Rappaport, 1980)

ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ได้มีนำกรดจิบเบอเรลลิกมาใช้ในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลสไปย่อยแป้งในเมล็ดให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล เพื่อช่วยในการงอกของเมล็ดข้าวบาร์เลย์ได้เป็นข้าวมอลต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ ดังจะเห็นได้ว่ากรดจิบเบอเรลลิกมีคุณสมบัติหลายประการจึงมีการนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงผลผลิตทางการเกษตร และมีความสนใจในการผลิตเพื่อการค้าแต่ต้องมีปริมาณที่มากเพียงพอด้วย ดังนั้น จึงต้องมีการคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อรา, การปรับปรุงเทคนิคการหมักให้เหมาะสม เพื่อเพิ่มผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกให้สูงขึ้น

### 1.10 มูลเหตุจูงใจในการทำวิจัย

ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะทำการศึกษาเกี่ยวกับ ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* สายพันธุ์ N9-34 ที่ได้รับการปรับปรุงสายพันธุ์โดยจันทร์ธิรา ลัภยพร (2536) โดยใช้กระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อโดยการควบคุมปริมาณคาร์บอน และไนโตรเจนในระยะต่าง ๆ ของการหมักให้เหมาะสมกับช่วงการเจริญเติบโต และการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก