บทที่ 3
ผลการทดลอง

3.1 การคัดเลือกสายพันธุ์กลายพันธุ์ของเชื้อ *Gibberella fujikuroi* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3)

จากการคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อ *G. fujikuroi* และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินในระดับขวดเขย่า โดยวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) พบว่า *G. fujikuroi* C จะให้ผลผลิตจิบเบอเรลลินสูงสุด ต่อมา อรไท สุขเจริญ (2533) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินโดย *G.fujikuroi* C พบว่า ให้ผลผลิต GA_3 ในระดับขวดเขย่าสูงสุดเท่ากับ 412 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก ขณะที่ให้ผลผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร สูงสุดเท่ากับ 1023 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 14.5 ของการหมัก หลังจากนั้นสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ดำเนินการวิจัยปรับปรุงสายพันธุ์นี้ เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการผลิต GA_3 สูงขึ้น โดยจันทร์ธิรา ล้ภยพร(2536) ได้สายพันธุ์กลายพันธุ์ N6-3 N7-54 และ N9-34 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผ่านการกลายพันธุ์ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต 1 ครั้ง และ NTG 2 ครั้ง ให้ผลผลิต GA_3 สูงเท่ากับ 872 878 และ 891 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 13 ของการหมัก เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ของอรไท สุขเจริญ(2533) ในระดับขวดเขย่า

ดังนั้นในการทดลองนี้จะนำสายพันธุ์ N6-3 N7-54 และ N9-34 มาทำการคัดเลือกประสิทธิภาพการผลิต GA_3 อีกครั้ง โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิมคือ *G. fujikuroi* C และสายพันธุ์ที่ได้จากการกลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi* C คือ สายพันธุ์ UV4-28 ที่ผ่านการกลายพันธุ์ด้วย UV 1 ครั้ง (จันทร์ธิรา ล้ภยพร,2533) และสายพันธุ์ 08-19 ที่ผ่านการกลายพันธุ์ด้วย UV 1 ครั้ง และ NTG 1 ครั้ง (จันทร์ธิรา ล้ภยพร,2536) เพื่อหาประสิทธิภาพการเพิ่มขึ้นของผลผลิต จากสายพันธุ์ที่ผ่านการกลายพันธุ์ในแต่ละขั้นตอน เมื่อเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อของอรไท สุขเจริญ(2533) ตามภาคผนวกที่ 1.3 แล้วถ่ายหัวเชื้อปริมาตรร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ของอรไท สุขเจริญ(2533) ตามภาคผนวกที่ 1.4 ทำการหมักบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่า 300 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างน้ำหมักในวันที่ 7 10 และ 13

ของการหมัก นำมาหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก และปริมาณ GA_3 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 7

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 7 พบว่า สายพันธุ์ N9-34 ผลิต GA_3 ได้สูงสุด 913 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก ซึ่งสูงกว่าผลผลิตที่ได้จากสายพันธุ์ C คิดเป็นร้อยละ 49 รองลงมาคือ สายพันธุ์ N7-54 และ N6-3 ให้ผลผลิตเท่ากับ 879 และ 873 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก ซึ่งมีผลผลิตเพิ่มขึ้นสูงกว่าสายพันธุ์ C คิดเป็นร้อยละ 43 และ 42 ตามลำดับ ทุกสายพันธุ์มีน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักไม่แตกต่างกัน

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สายพันธุ์ N9-34 เพื่อหาองค์ประกอบของอาหารและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 ในระดับขวดเขย่าและระดับถังหมัก 5 ลิตร ต่อไป

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และประสิทธิภาพการผลิต GA_3 จากสายพันธุ์ต้นต้น(C) และสายพันธุ์กลายพันธุ์ *G. fujikuroi* เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ของอรไท สุขเจริญ (2533)

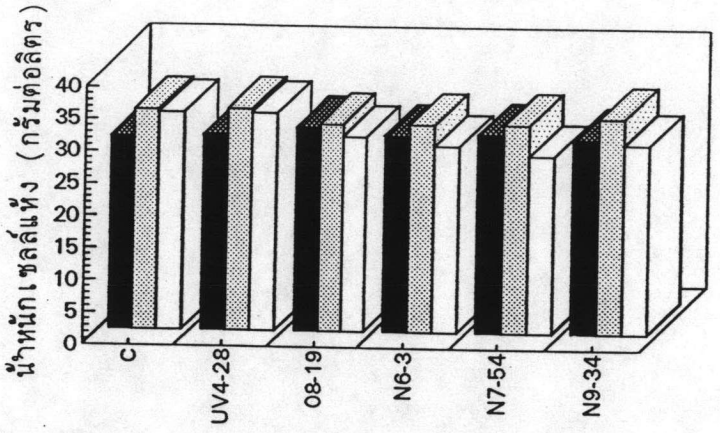
สายพันธุ์	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มิลลิกรัมต่อลิตร)
C	7	3.35	29.90	312
	10	3.28	34.10	530
	13	3.26	33.70	**612**
UV4-28	7	3.33	30.20	398
	10	3.26	34.30	626
	13	3.25	33.00	**725**
08-19	7	3.30	31.50	520
	10	3.23	32.00	801
	13	3.18	30.10	**830**
N6-3	7	3.25	30.40	469
	10	3.21	32.10	833
	13	3.16	28.80	**873**
N7-54	7	3.25	30.70	540
	10	3.20	32.20	819
	13	3.12	27.40	**879**

ต่อ...

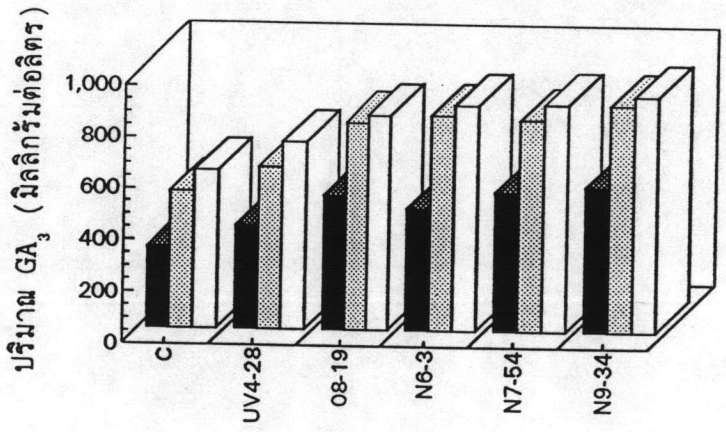
ตารางที่ 2 ต่อ

สายพันธุ์	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มิลลิกรัมต่อลิตร)
N9-34	7	3.27	30.10	562
	10	3.20	33.30	878
	13	3.15	29.20	913

รูปที่ 7ก



รูปที่ 7ข



รูปที่ 7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต GA_3 ของสายพันธุ์ตั้งต้น(C) และสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi*

รูปที่ 7ก น้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 7ข ปริมาณ GA_3

■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน

▨ ระยะเวลาหมัก 10 วัน

□ ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2 การหาองค์ประกอบของอาหาร และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* N9-34 ในระดับขวดเขย่า

3.2.1 การหาชนิดของแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

จากการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินโดยเชื้อ *G. fujikuroi* C ในระดับขวดเขย่า โดยวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532) พบว่าการใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 1.9 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนและอนินทรีย์ไนโตรเจน ที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน สำหรับการศึกษานี้จะหาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิต GA_3 โดยจะใช้ในรูปสารละลายของกากถั่วเหลือง หรือกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน แทนการใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว โดยเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามภาคผนวกที่ 1.5 ทำการแปรผันสารละลายของกากถั่วเหลืองหรือกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.14,0.64,1.14,1.64 และ 2.14 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 กับ 4 และรูปที่ 8 กับ 9

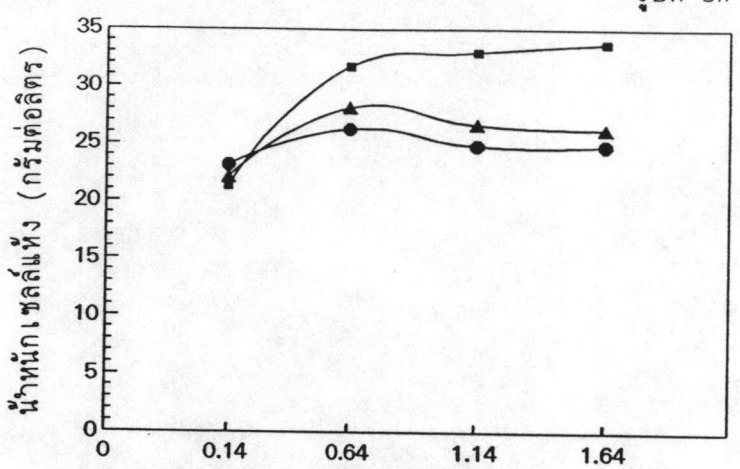
จากผลการทดลองในตารางที่ 3 และรูปที่ 8 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน พบว่าให้ผลผลิต GA_3 สูง เท่ากับ 912 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก ขณะที่เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร จะให้ผลผลิต GA_3 สูง เท่ากับ 926 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการหมัก ดังผลการทดลองในตารางที่ 4 และรูปที่ 9 เมื่อพิจารณาการเจริญของเชื้อและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ตามการเพิ่มปริมาณสารละลายของกากถั่วเหลือง และกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน

ดังนั้น จะเลือกใช้สารละลายของกากถั่วเหลือง และกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร เพื่อหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 ต่อไป

ตารางที่ 3 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณสารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.14 0.64 1.14 และ 1.64 กรัมต่อลิตร

สารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน (กรัมไนโตรเจนต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
0.14	7	3.28	21.24	480
	10	3.25	22.03	659
	13	3.11	23.11	**691**
0.64	7	3.55	31.68	679
	10	3.48	28.10	804
	13	3.36	26.25	**834**
1.14	7	3.67	32.91	834
	10	3.71	26.64	910
	13	3.68	24.79	**912**
1.64	7	4.19	33.69	753
	10	4.16	26.22	724
	13	4.42	24.78	**729**

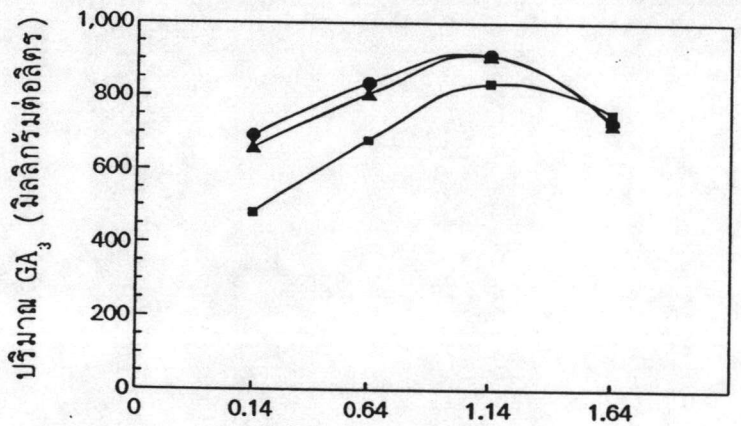
รูปที่ 8ก



สารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน

(กรัมไนโตรเจนต่อลิตร)

รูปที่ 8ข



สารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน

(กรัมไนโตรเจนต่อลิตร)

รูปที่ 8 ผลของการแปรผันปริมาณสารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 8ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

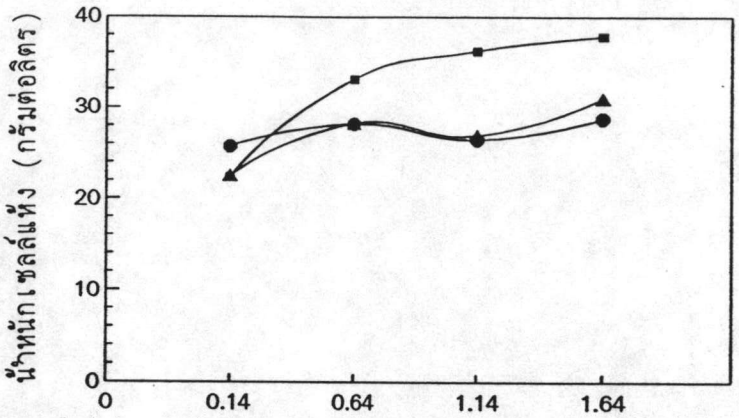
รูปที่ 8ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ▲ ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ● ระยะเวลาหมัก 13 วัน

ตารางที่ 4 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.14 0.64 1.14 และ 1.64 กรัมต่อลิตร

สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน (กรัมไนโตรเจนต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
0.14	7	3.34	22.34	482
	10	3.30	22.48	699
	13	3.15	25.70	701
0.64	7	3.54	33.08	719
	10	3.37	28.21	891
	13	3.29	28.15	767
1.14	7	3.51	36.20	875
	10	3.47	26.88	926
	13	3.59	26.42	906
1.64	7	3.85	37.80	798
	10	3.88	30.98	895
	13	4.09	28.74	847

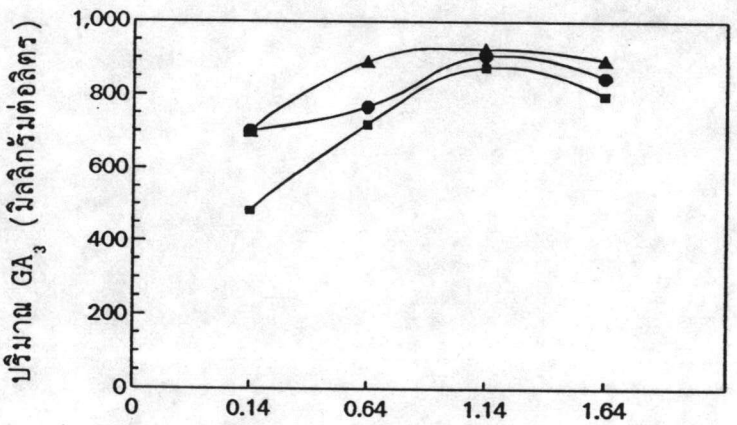
รูปที่ 9ก



สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน

(กรัมไนโตรเจนต่อลิตร)

รูปที่ 9ข



สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน

(กรัมไนโตรเจนต่อลิตร)

รูปที่ 9 ผลของการแปรผันปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 9ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 9ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2.2 การหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

จากการศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน ด้วยเชื้อ *G. fujikuroi* C โดย วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) พบว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 1.90 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นแหล่งอนินทรีย์และอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตจิบเบอเรลลิน ขณะที่ Bruckner and Blechschmidt(1991) รายงานว่า ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 2.50 กรัมต่อลิตร เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ด้วยเชื้อ *G. fujikuroi* 567 และจากการหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 ด้วยสายพันธุ์ F4W-6(9) ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi* C โดย อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) พบว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณ 2.51 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 1.90 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการผลิต GA_3

ดังนั้น ในการทดลองนี้จะหาปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวกที่ 1.6 โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 1.39 1.89 2.39 และ 2.89 กรัมต่อลิตร โดยทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 กับ 6 และรูปที่ 10 กับ 11

จากผลการทดลองตารางที่ 5 และรูปที่ 10 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับสารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร เชื้อจะผลิต GA_3 สูงสุด เท่ากับ 988 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก ซึ่งสูงกว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตที่ 2.39 2.89 และ 1.39 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร แทนกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว พบว่า ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมเปลี่ยนไปเป็น 2.39 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 11 ด้วยการใช้ปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมดังกล่าว เชื้อผลิต GA_3 ได้สูงสุด 1074 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการหมัก การเจริญของเชื้อและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักมีแนวโน้มลดลง เมื่อปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเพิ่มขึ้น

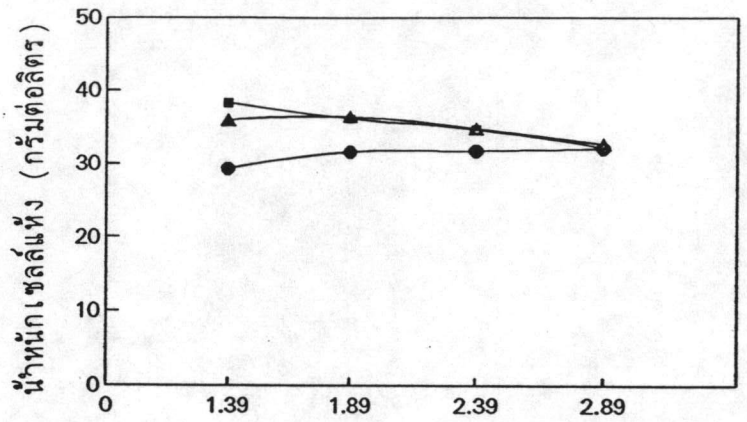
ดังนั้น จึงเลือกใช้ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่ 2.39 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อศึกษาหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 เนื่องจากให้ผลผลิตสูงกว่าและสร้าง GA_3 ได้เร็วกว่า

I18840840X

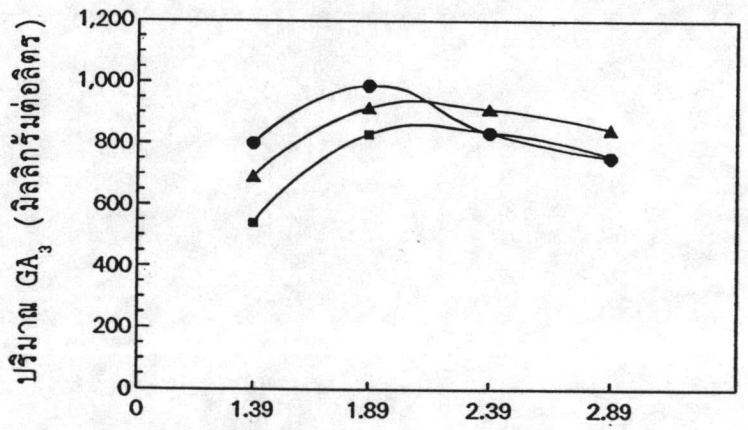
ตารางที่ 5 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 1.39 1.89 2.39 และ 2.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับสารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร

ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
1.39	7	3.98	38.26	540
	10	3.99	35.88	691
	13	4.29	29.31	**799**
1.89	7	3.93	36.10	828
	10	3.86	36.36	915
	13	4.02	31.56	**988**
2.39	7	3.49	34.64	836
	10	3.45	34.73	**910**
	13	3.64	31.69	833
2.89	7	3.18	32.14	758
	10	3.18	32.62	**844**
	13	3.29	32.03	752

รูปที่ 10ก



รูปที่ 10ข



รูปที่ 10 ผลของการแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ร่วมกับสารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 10ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

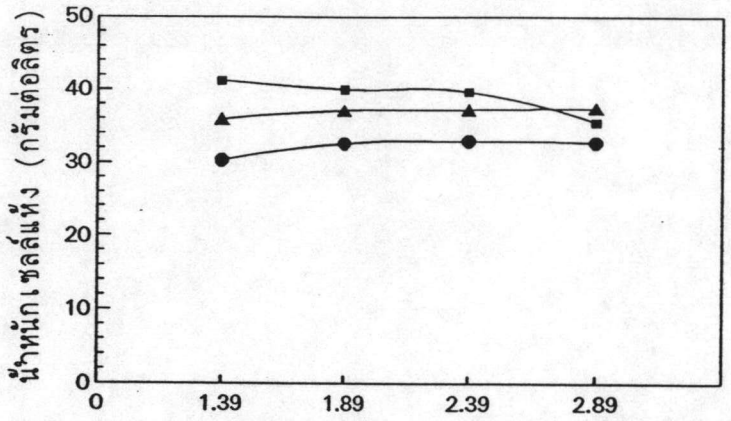
รูปที่ 10ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ▲ ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ● ระยะเวลาหมัก 13 วัน

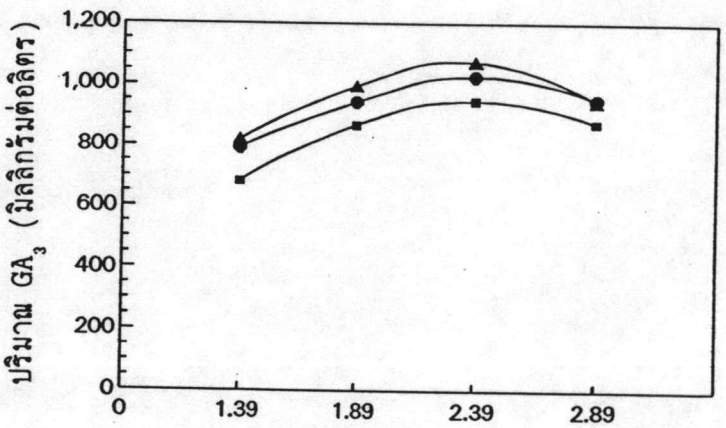
ตารางที่ 6 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 1.39 1.89 2.39 และ 2.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร

ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
1.39	7	3.80	41.20	682
	10	3.79	35.89	**819**
	13	4.19	30.29	792
1.89	7	3.47	40.01	867
	10	3.55	37.09	**994**
	13	3.76	32.55	942
2.39	7	3.30	39.69	946
	10	3.32	37.23	**1073**
	13	3.45	32.90	1026
2.89	7	3.06	35.51	874
	10	3.05	37.43	944
	13	3.14	32.73	**950**

รูปที่ 11ก



รูปที่ 11ข



รูปที่ 11 ผลของการแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ร่วมกับสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 11ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 11ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ▲ ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ● ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2.3 การหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

จากการศึกษา หาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินด้วย *G. fujikuroi* C ในระดับขวดเขย่า โดยวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532) พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกลูโคสกับแป้งมันสำปะหลัง ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 อรไท สุขเจริญ(2533) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลินในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดย *G. fujikuroi* C พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครส 100 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 ต่อมา อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ F4W-6(9) ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า การใช้ซูโครสร่วมกับน้ำมันถั่วเหลือง ที่มีสัดส่วนเป็น 100 ต่อ 60 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3

ดังนั้น ในการทดลองนี้จะหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ภาคผนวกที่ 1.7 โดยแปรผันปริมาณซูโครสเป็น 80 100 120 และ 140 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อที่ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 7 และรูปที่ 12

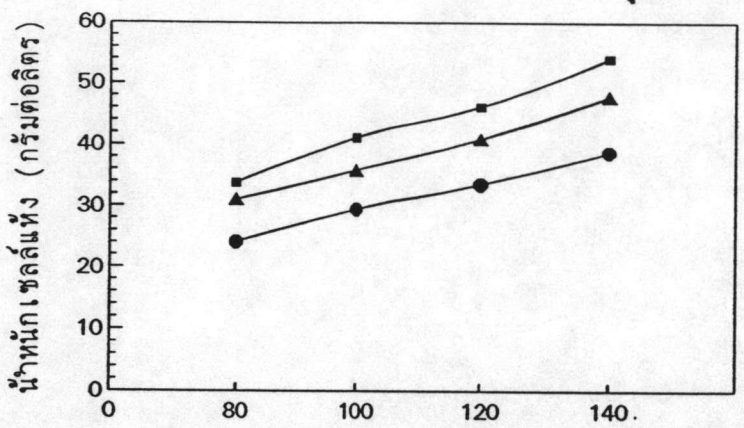
จากผลการทดลองในตารางที่ 7 และรูปที่ 12 พบว่า เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณซูโครส 120 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิต GA_3 สูงสุด เท่ากับ 1087 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการหมัก ซึ่งสูงกว่าเมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่มีซูโครสเป็น 140 100 และ 80 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาการเจริญของเชื้อ พบว่าเชื้อมีการเจริญสูงขึ้น เมื่อปริมาณซูโครสเพิ่มมากขึ้น ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักไม่แตกต่างกัน

ดังนั้น จึงเลือกใช้ปริมาณซูโครสที่ 120 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อศึกษาปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจรฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต และอะลูมิเนียมออกไซด์ที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 ต่อไป

ตารางที่ 7 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณซูโครสเป็น 80 100 120 และ 140 กรัมต่อลิตร

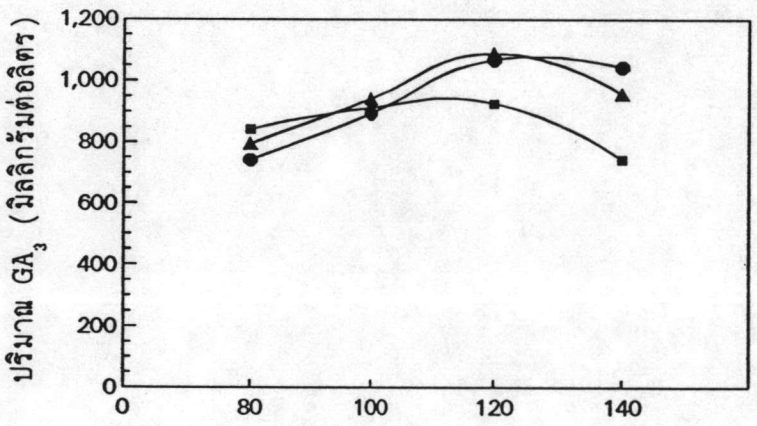
ปริมาณซูโครส (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
80	7	3.21	33.73	842
	10	3.32	30.94	794
	13	3.86	24.02	741
100	7	3.30	41.05	912
	10	3.26	35.72	941
	13	3.22	29.30	893
120	7	3.44	46.07	926
	10	3.20	40.81	1087
	13	3.20	33.42	1067
140	7	3.61	53.94	743
	10	3.38	47.70	956
	13	3.20	38.60	1042

รูปที่ 12ก



ปริมาณซูโครส (กรัมต่อลิตร)

รูปที่ 12ข



ปริมาณซูโครส (กรัมต่อลิตร)

รูปที่ 12 ผลของการแปรผันปริมาณซูโครส ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 12ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 12ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2.4 การหาปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3

เนื่องจากในกระบวนการสังเคราะห์ของจิบเบอเรลลิน จำเป็นต้องใช้ธาตุอาหารที่มีโปตัสเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม เพื่อช่วยเสริมในการเจริญเติบโตและการสร้างผลิตภัณฑ์ (Vass and Jefferys,1979) จากรายงานของ Stodola et al. (1955) พบว่าเมื่อเลี้ยง *F. moniliforme* NRRL 2284 ในอาหารที่มีปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 3 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งโปตัสเซียม มีความเหมาะสมในการผลิตจิบเบอเรลลิน ขณะที่ Borrow et al. (1961) พบว่าปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 5 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดยเชื้อ *G. fujikuroi*(Saw.)Wr.ACC. 917 ซึ่งสอดคล้องกับ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532) เมื่อใช้เชื้อ *G. fujikuroi* C

ดังนั้น ในการทดลองนี้จะหาปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดยสายพันธุ์ N9-34 ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi* C ซึ่งอาจมีความต้องการใช้โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แตกต่างไปจากสายพันธุ์เดิม โดยนำมาเลี้ยงในสูตรอาหารตามภาคผนวกที่ 1.8 ที่มีการแปรผันปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็น 3,5,7 และ 9 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 8 และรูปที่ 13

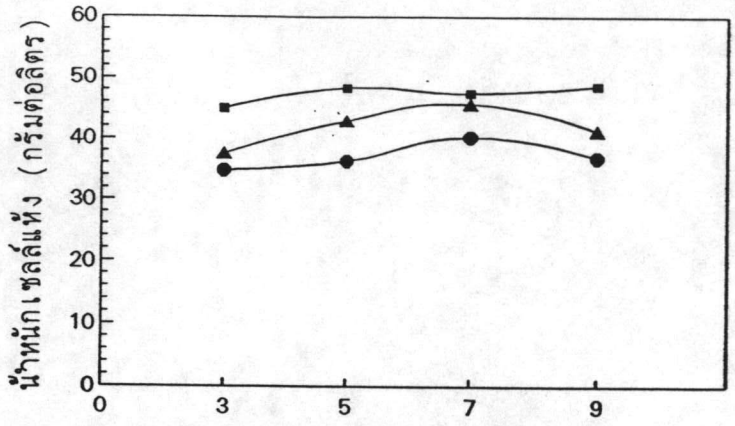
จากผลการทดลองในตารางที่ 8 และรูปที่ 13 พบว่า สูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่มีปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิต GA_3 สูงสุดเท่ากับ 1103 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก และพบว่า ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักและการเจริญของเชื้อจะสูงขึ้น เมื่อเพิ่มปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเพิ่มขึ้น

ดังนั้น จึงเลือกใช้โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณ 5 กรัมต่อลิตร เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 เพื่อทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 8 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็น 3 5 7 และ 9 กรัมต่อลิตร

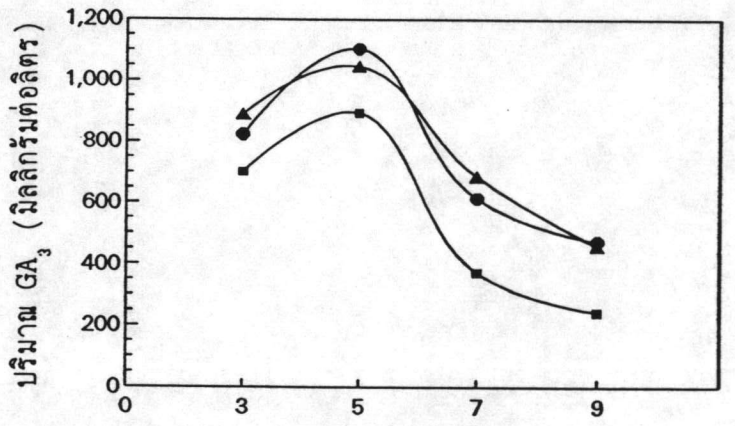
ปริมาณ KH_2PO_4 (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
3.0	7	3.13	44.96	701
	10	2.98	37.53	889
	13	2.97	34.78	823
5.0	7	3.49	48.27	894
	10	3.30	42.81	1045
	13	3.34	36.25	1103
7.0	7	4.52	47.42	371
	10	3.91	45.62	686
	13	3.97	40.14	613
9.0	7	5.61	48.60	243
	10	5.23	41.17	457
	13	4.57	36.78	471

รูปที่ 13ก



ปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (กรัมต่อลิตร)

รูปที่ 13ข



ปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (กรัมต่อลิตร)

รูปที่ 13 ผลของการแปรผันปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 13ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 13ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ▲ ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ● ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2.5 การหาปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

จากรายงานของ Stodola et al. (1955) พบว่า เมื่อเลี้ยง *F. moniliforme* NRRL 2284 ในอาหารที่มีปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการผลิตจิบเบอเรลลิน ขณะที่ Kyowa Hakko Kogyo Co.Ltd. (1983) cited by Kumar and Lonsane (1989) รายงานว่า เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* NRRL 2633 ในอาหารที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) ที่ใช้แมกนีเซียมซัลเฟตปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร เป็นองค์ประกอบของอาหารสำหรับผลิต GA_3

ดังนั้น ในการทดลองนี้จะหาปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อนำมาเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวกที่ 1.9 โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเป็น 0.5,1.0,1.5 และ 2.0 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 9 และรูปที่ 14

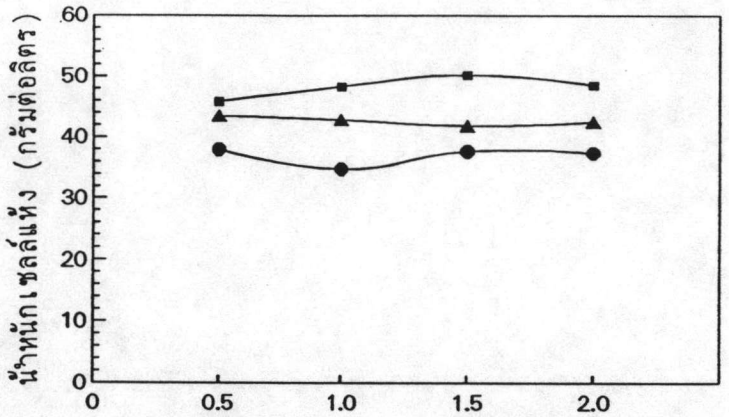
จากผลการทดลองในตารางที่ 9 และรูปที่ 14 พบว่า ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต GA_3 ที่มีปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิต GA_3 สูงสุด เท่ากับ 1103 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก ส่วนการเจริญของเชื้อ พบว่า เชื้อเจริญได้สูงขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต และค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักจะไม่แตกต่างกัน

ดังนั้น จึงเลือกใช้แมกนีเซียมซัลเฟตปริมาณเท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 เพื่อทำการศึกษาต่อไป

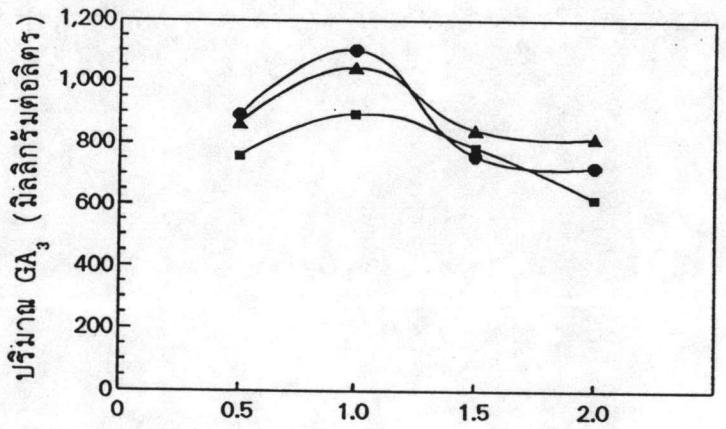
ตารางที่ 9 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเป็น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 กรัมต่อลิตร

ปริมาณ $MgSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
0.5	7	3.42	45.56	758
	10	3.29	39.51	864
	13	3.31	32.87	891
1.0	7	3.49	48.27	894
	10	3.30	42.81	1045
	13	3.34	36.25	1103
1.5	7	3.57	50.16	785
	10	3.37	41.80	842
	13	3.40	37.63	758
2.0	7	3.51	48.50	616
	10	3.36	42.43	816
	13	3.32	37.35	721

รูปที่ 14ก



รูปที่ 14ข



รูปที่ 14 ผลของการแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 14ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 14ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ▲ ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ● ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2.6 การหาปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

Kyowa Hakko Kogyo Co.Ltd. (1983) cited by Kumar and Lonsane (1989) รายงานว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมธาตุอาหารเสริมที่ประกอบด้วย อะลูมิเนียมออกไซด์ ซิงค์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต ในปริมาณ 0.5 0.5 และ 0.1 กรัมต่อลิตร เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตจิบเบอเรลลิน โดยเชื้อ *G. fujikuroi* NRRL 2633 ขณะที่ อรไท สุขเจริญ(2533) ได้ศึกษาผลของธาตุอาหารเสริมที่มีต่อการผลิต GA_3 พบว่า การเติมอะลูมิเนียมออกไซด์ 0.1 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมสำหรับผลิต GA_3

ดังนั้น ในการทดลองนี้จะหาปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อนำมาเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวกที่ 1.10 ที่มีการแปรผันปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 0.1 0.2 และ 0.3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 10 และรูปที่ 15

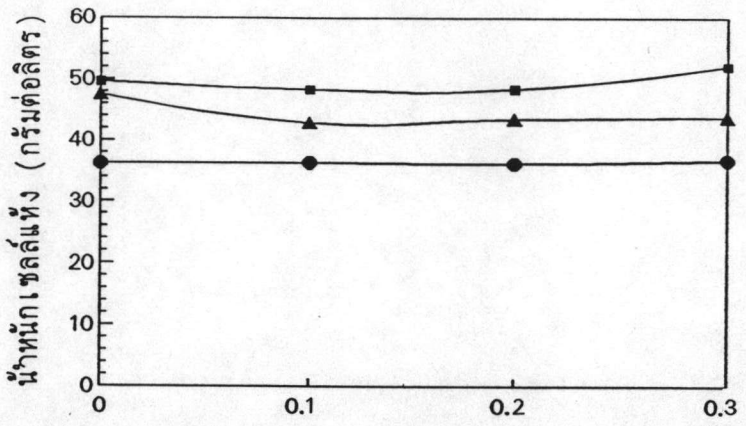
จากผลการทดลองในตารางที่ 10 และรูปที่ 15 พบว่า ในสูตรอาหารที่มีการเติมอะลูมิเนียมออกไซด์เท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตร จะให้ผลผลิต GA_3 สูงสุด เท่ากับ 1103 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก นอกจากนี้พบว่า เชื้อจะเจริญได้ใกล้เคียงกัน ไม่ว่าจะมีการเติมหรือไม่เติมอะลูมิเนียมออกไซด์ ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักในอาหารสูตรที่ไม่เติมอะลูมิเนียมออกไซด์ จะสูงกว่าสูตรอาหารที่เติมอะลูมิเนียมออกไซด์เล็กน้อย

ดังนั้น **จึงเลือกใช้ปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ 0.1 กรัมต่อลิตร** เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 เพื่อทำการศึกษาต่อไป

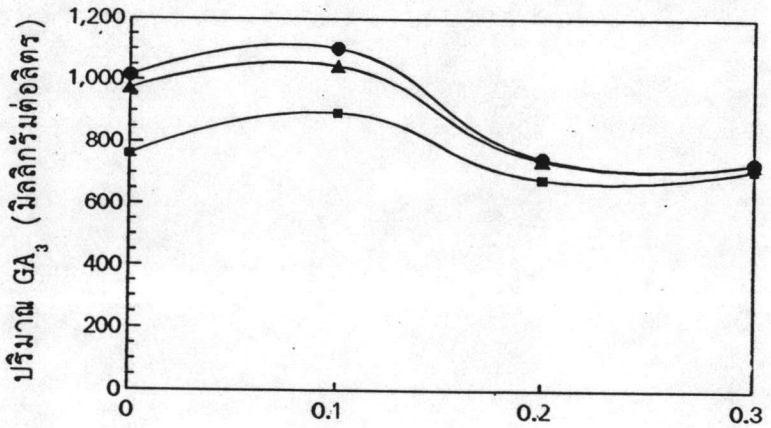
ตารางที่ 10 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 เมื่อไม่มีการเติมอะลูมิเนียมออกไซด์ และมีการเติมอะลูมิเนียมออกไซด์เป็น 0.1 0.2 และ 0.3 กรัมต่อลิตร

ปริมาณ Al_2O_3 (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
ไม่เติม	7	4.39	49.61	761
	10	3.93	47.52	972
	13	4.15	36.20	**1014**
0.1	7	3.49	48.27	894
	10	3.30	42.81	1045
	13	3.34	36.25	**1103**
0.2	7	3.81	48.32	679
	10	3.46	43.36	739
	13	3.51	36.09	**746**
0.3	7	3.62	52.08	710
	10	3.56	43.72	729
	13	3.63	36.64	**731**

รูปที่ 15ก



รูปที่ 15ข



รูปที่ 15 ผลของการแปรผันปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 15ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 15ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2.7 การหาค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3

ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน จากรายงานของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532) ได้ศึกษาความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* C ในระดับขวดเขย่า พบว่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสม คือ 7.0 ซึ่งสอดคล้องรายงานของ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) ที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 โดยสายพันธุ์ F4W-6(9) ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi* C

ดังนั้น ในการทดลองนี้จะหาความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อนำมาเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารตามภาคผนวกที่ 1.12 ทำการแปรผันค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.0,6.5,7.0,7.5 และ 8.0 โดยใช้สภาวะการหมักเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 11 และรูปที่ 16

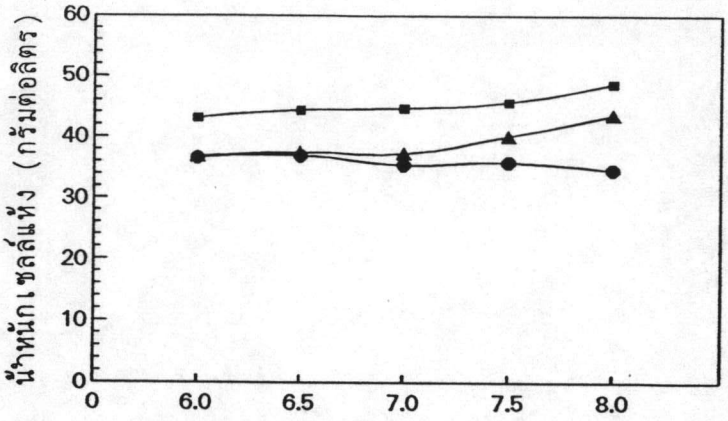
จากผลการทดลองในตารางที่ 11 และรูปที่ 16 พบว่า ในสูตรอาหารที่มีค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะให้ผลผลิต GA_3 สูงสุด เท่ากับ 1208 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก ส่วนการเจริญของเชื้อและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักจะเพิ่มตามการเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหาร

ดังนั้น จึงเลือกใช้ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 7.0 เพื่อทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 11 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 โดยแปรผันค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.0 6.5 7.0 7.5 และ 8.0

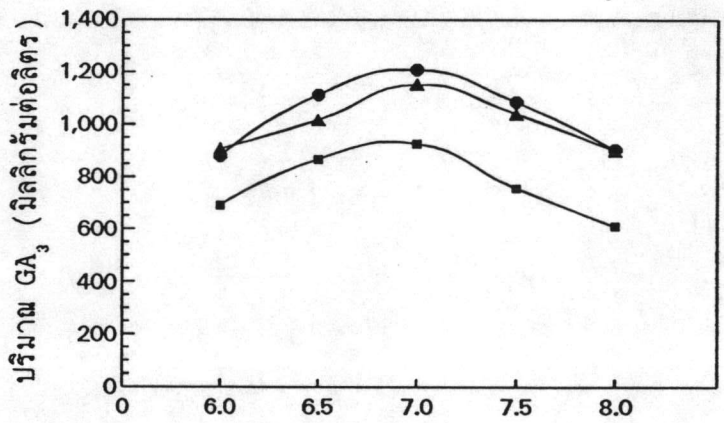
ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหาร	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
6.0	7	2.70	43.12	688
	10	2.66	36.82	**905**
	13	2.92	36.64	878
6.5	7	3.01	44.32	866
	10	2.92	37.49	1015
	13	3.14	36.90	1112
7.0	7	3.22	44.65	925
	10	3.08	37.25	1151
	13	3.34	35.37	1208
7.5	7	3.54	45.65	756
	10	3.42	40.03	1039
	13	3.73	35.78	1084
8.0	7	3.94	48.63	609
	10	3.74	43.48	897
	13	4.17	34.49	903

รูปที่ 16ก



ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

รูปที่ 16ข



ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

รูปที่ 16 ผลของการแปรผันความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 16ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 16ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ▲ ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ● ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2.8 การหาอุณหภูมิระหว่างการหมักที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

จากรายงานของ Borrow et al. (1959) พบว่า ในกระบวนการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุด จะต้องรักษาอุณหภูมิระหว่างการหมักที่ 27.5-30 องศาเซลเซียส ขณะที่ Jefferys (1970) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ *G. fujikuroi* อยู่ระหว่าง 31-32 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 คือ 29 องศาเซลเซียส ขณะที่ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) ได้ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยง *G. fujikuroi* C พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 คือ 25 องศาเซลเซียส และ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 โดยสายพันธุ์ F4W-6(9) ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi* C คือ 28 องศาเซลเซียส

ดังนั้น ในการทดลองนี้จะหาอุณหภูมิที่ระหว่างการหมักที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวกที่ 1.12 โดยแปรผันอุณหภูมิระหว่างการหมักเป็น 25 28 และ 30 องศาเซลเซียส ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 12 และรูปที่ 17

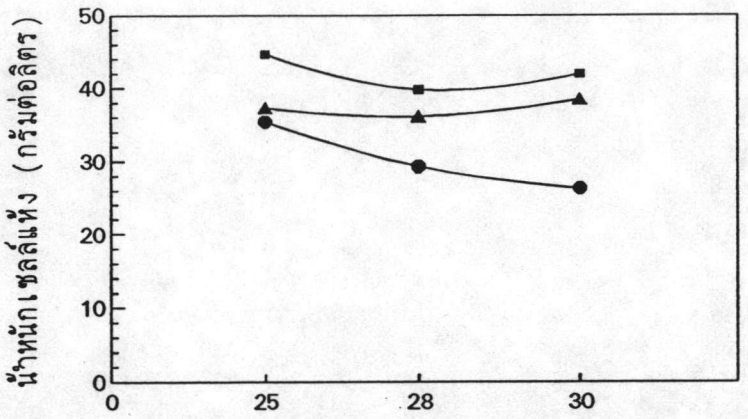
จากผลการทดลองในตารางที่ 12 และรูปที่ 17 อุณหภูมิระหว่างการหมักที่ 25 องศาเซลเซียส เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 โดยให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 1208 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก ส่วนการเจริญของเชื้อ พบว่า อุณหภูมิระหว่างการหมักไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ เมื่ออุณหภูมิระหว่างการหมักสูงขึ้นเชื้อจะสลายตัวได้เร็วกว่า ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักจะสูงขึ้น ตามอุณหภูมิระหว่างการหมักที่สูงขึ้น เนื่องจากเป็นผลที่เกี่ยวกับการสลายตัวของเซลล์

ดังนั้น จึงเลือกใช้อุณหภูมิระหว่างการหมักที่ 25 องศาเซลเซียส เพื่อทำการศึกษาต่อไป

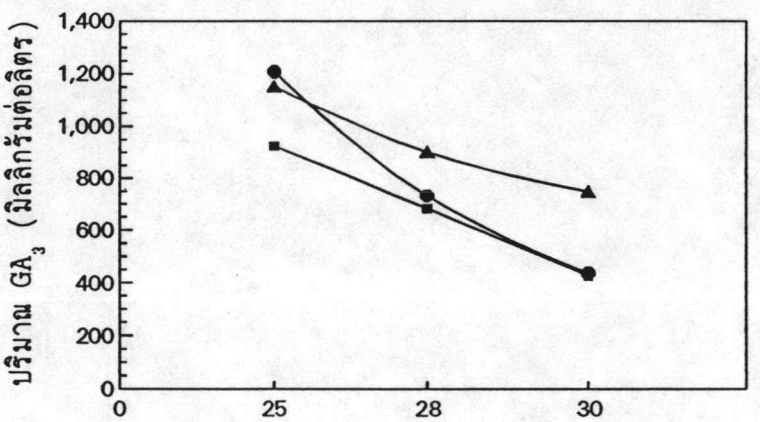
ตารางที่ 12 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันอุณหภูมิระหว่างการหมักเป็น 25 28 และ 30 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิระหว่างการหมัก (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
25.0	7	3.22	44.65	925
	10	3.08	37.25	1151
	13	3.34	35.37	1208
28.0	7	3.29	39.75	682
	10	3.22	36.06	**901**
	13	3.78	29.24	732
30.0	7	3.40	41.91	425
	10	3.30	38.41	**749**
	13	4.43	26.26	436

รูปที่ 17ก



รูปที่ 17ข



รูปที่ 17 ผลของการแปรผันอุณหภูมิระหว่างการหมักที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 17ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 17ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ระยะเวลาหมัก 13 วัน

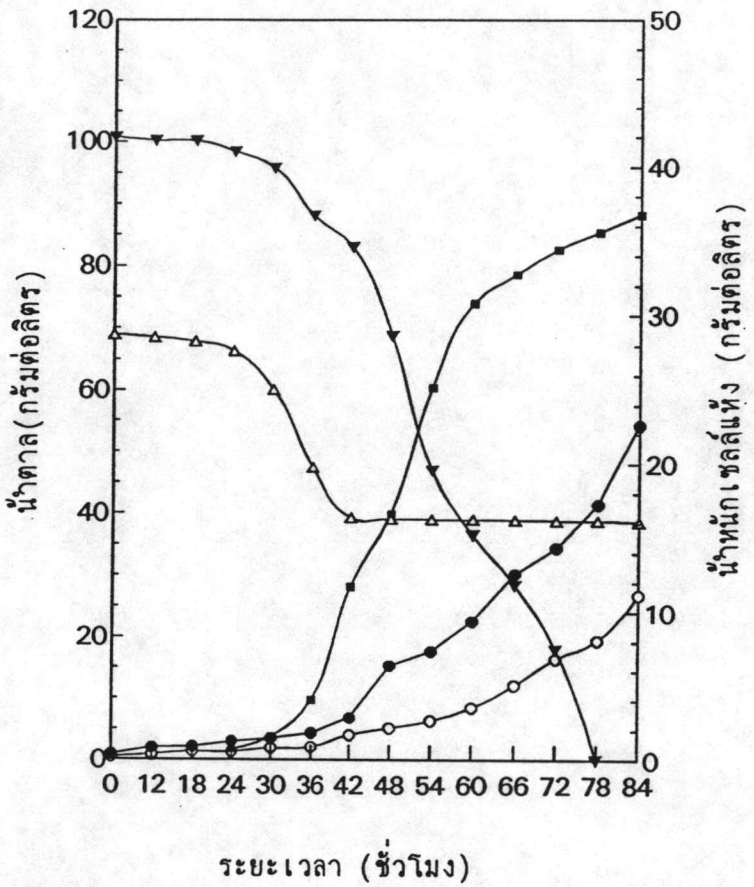
3.2.9 การศึกษารูปแบบการเจริญของ *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

ตามผลการทดลองในข้อที่ 3.2.1 ถึง 3.2.8 ได้องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ดังนั้น ในการทดลองนี้ จะศึกษารูปแบบการเจริญของ *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ซึ่งมีองค์ประกอบเหมือนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต GA_3 ยกเว้นไม่มีน้ำมันถั่วเหลือง ภาคผนวกที่ 1.11 โดยทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อที่ 3.1 เก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก 6 ชั่วโมง นำมาหาน้ำหนักเซลล์แห้ง วัดค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 13 และรูปที่ 18

จากผลการทดลองในตารางที่ 13 และรูปที่ 18 พบว่า เชื้อจะเจริญเข้าสู่ระยะกึ่งกลางของการเจริญช่วงทวีคูณ(mid log phase) ในชั่วโมงที่ 48 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 16.64 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเตรียมหัวเชื้อในสูตรอาหารของ อรไท สุขเจริญ(2533) ดังนั้น ในการทดลองต่อไป **จะศึกษาอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3**

ตารางที่ 13 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณน้ำตาลที่เหลือที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ซูโครส (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0	6.85		100.75	0.41	0.83
12	6.85		100.23	0.78	1.94
18	6.78		100.18	1.32	2.09
24	6.63	0.72	98.43	1.28	2.92
30	6.01	1.56	95.78	1.89	3.48
36	4.74	4.03	88.06	2.05	4.33
42	3.93	11.72	83.00	4.01	6.77
48	3.91	16.64	68.79	5.11	15.28
54	3.90	25.18	46.95	6.28	17.62
60	3.90	30.82	36.50	8.39	22.53
66	3.89	32.75	28.40	12.05	30.17
72	3.88	34.42	17.94	16.39	34.39
78	3.88	35.47	0.00	19.41	41.42
84	3.86	36.75		26.80	54.25



รูปที่ 18 รูปแบบการเจริญของ *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

- น้ำหนักเซลล์แห้ง
- ค่าความเป็นกรดด่าง
- น้ำตาลซูโครส
- น้ำตาลกลูโคส
- น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด

3.2.10 การหาอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3

จากรายงานของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) พบว่าการเจริญของเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C จะเจริญเข้าสู่ระยะกึ่งกลางของการเจริญช่วงทวีคูณ ในชั่วโมงที่ 70-72 และใช้หัวเชื้อที่อายุนี้เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ต่อมา อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) พบว่า อายุของหัวเชื้อที่ 60 ชั่วโมง เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดยสายพันธุ์ F4W-6(9) ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi* C

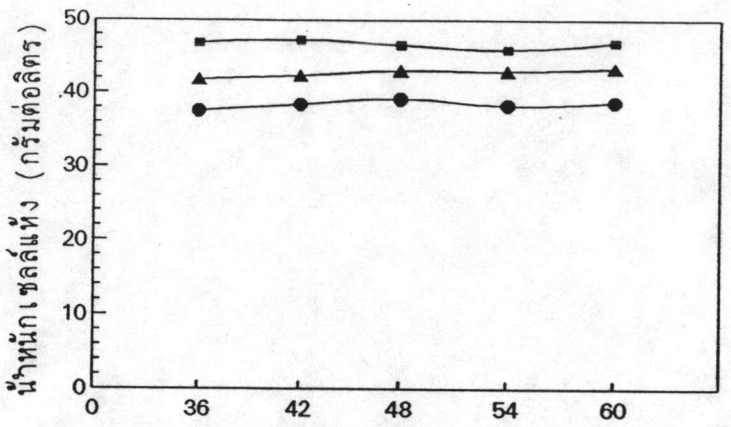
ดังนั้น ในการทดลองนี้จะหาอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 ภาคผนวกที่ 1.12 โดยแปรผันอายุหัวเชื้อที่ใช้เป็น 36 42 48 54 และ 60 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 14 และรูปที่ 19

จากผลการทดลองในตารางที่ 14 และรูปที่ 19 พบว่า อายุของหัวเชื้อมีผลต่อการผลิต GA_3 ไม่แตกต่างกัน โดยหัวเชื้อที่มีอายุในช่วง 36 ถึง 60 ชั่วโมง จะให้ผลผลิต GA_3 ได้ใกล้เคียงกันประมาณ 1100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการหมัก และการเจริญของเชื้อและค่าความกรดด่างของน้ำหมัก เมื่อใช้หัวเชื้อที่มีอายุต่างกัน พบว่าไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาจากรูปแบบการเจริญของเชื้อในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ พบว่า จะเจริญเข้าสู่ระยะกึ่งกลางของการเจริญช่วงทวีคูณ ในชั่วโมงที่ 48 ดังนั้น **ในการทดลองต่อจากนี้ จะใช้หัวเชื้อที่มีอายุ 48 ชั่วโมง เพื่อศึกษาการผลิต GA_3 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ต่อไป**

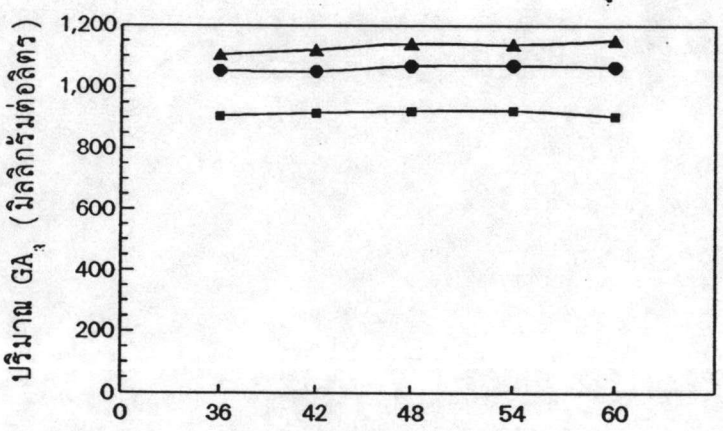
ตารางที่ 14 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 เมื่อแปรผันอายุของหัวเชื้อเป็น 36 42 48 54 และ 60 ชั่วโมง

อายุหัวเชื้อ (ชั่วโมง)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
36	7	3.41	46.83	905
	10	3.26	41.72	1104
	13	3.50	37.49	1052
42	7	3.47	47.20	915
	10	3.24	42.26	1120
	13	3.52	38.35	1050
48	7	3.43	46.51	921
	10	3.23	42.94	1141
	13	3.48	39.07	1068
54	7	3.36	45.86	923
	10	3.25	42.85	1138
	13	3.50	38.21	1070
60	7	3.36	46.80	904
	10	3.25	43.24	1152
	13	3.50	38.61	1064

รูปที่ 19ก



รูปที่ 19ข



รูปที่ 19 ผลของการแปรผันอายุหัวเชื้อที่มีต่อการผลิต GA_3

รูปที่ 19ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 19ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.2.11 การเปรียบเทียบการผลิต GA_3 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารของอรไท สุขเจริญ(2533) และสูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้

G. fujikuroi N9-34 เป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ของสายพันธุ์ C ซึ่งอรไท สุขเจริญ(2533) ได้ศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่เหมาะสมในการผลิต GA_3 ในระดับขวดเขย่า โดยสายพันธุ์ C พบว่ามีองค์ประกอบของอาหารดังแสดงในตารางที่ 15 ซึ่งใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วเป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน และจากการศึกษานี้ ตามผลการทดลองในข้อที่ 3.2.1 ถึง 3.2.8 ได้องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 โดยสายพันธุ์ N9-34 ดังแสดงในตารางที่ 15 ซึ่งใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน

ตารางที่ 15 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 ที่ได้จากการศึกษาในระดับขวดเขย่า

สูตรอาหารของอรไท สุขเจริญ(2533) (กรัมต่อลิตร)		สูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้ (กรัมต่อลิตร)	
น้ำตาลซูโครส	100	น้ำตาลซูโครส	120
แอมโมเนียมซัลเฟต	1.89	แอมโมเนียมซัลเฟต	2.39
กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว	1.90	สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วย	
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	5.0	กรดกำมะถันที่มีปริมาณไนโตรเจน	1.14
แมกนีเซียมซัลเฟต	1.0	โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	5.0
อะลูมิเนียมออกไซด์	0.1	แมกนีเซียมซัลเฟต	1.0
น้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ	0.2	อะลูมิเนียมออกไซด์	0.1
ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น		น้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ	0.2
ของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ	7.0	ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น	
		ของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ	7.0

ในการทดลองนี้จะเปรียบเทียบการเจริญและการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารทั้ง 2 ข้างต้น โดยใช้สภาวะการหมักดังเช่นในข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 16 และรูปที่ 20

จากผลการทดลองในตารางที่ 16 และรูปที่ 20 พบว่า เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในระดับขวดเขย่า ในสูตรอาหารที่ได้จากงานวิจัยนี้ ตามภาคผนวกที่ 1.12 เชื้อจะผลิตGA_3 ได้สูงกว่าการเลี้ยงในสูตรอาหารของอรไท สุขเจริญ(2533) กล่าวคือ ในวันที่ 12 ของการหมัก เชื้อผลิต GA_3 ได้ 1208 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ผลิตได้ 854 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารของ อรไท สุขเจริญ(2533) เมื่อพิจารณาการเจริญของเชื้อ พบว่าเชื้อจะเจริญในอาหาร ตามภาคผนวกที่ 1.12 ได้ดีกว่า คือได้น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 48 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็น 2 เท่าของน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารของ อรไท สุขเจริญ(2533)

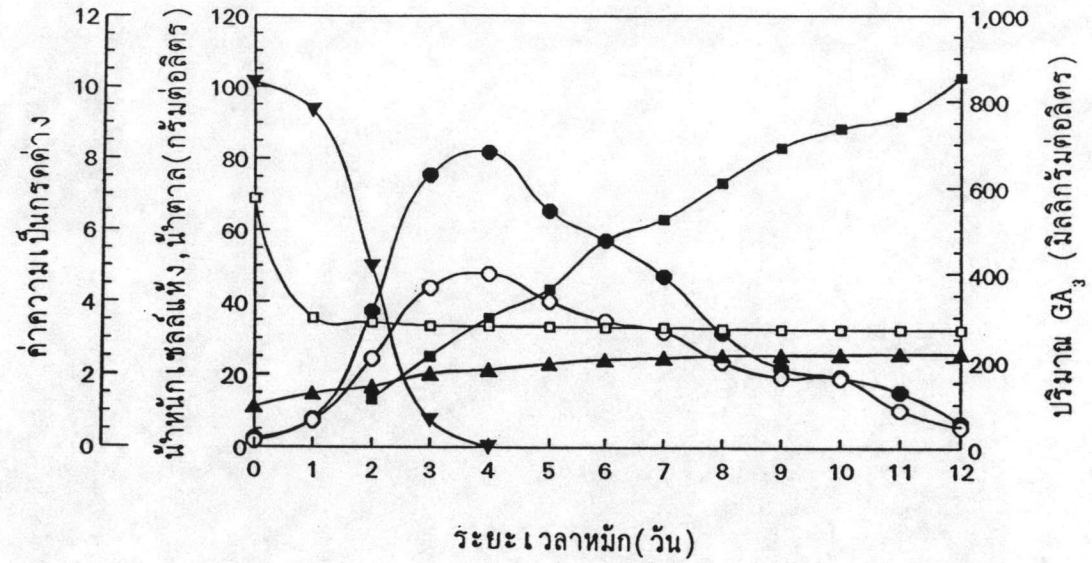
ส่วนการใช้น้ำตาล พบว่า ในสูตรอาหารของอรไท สุขเจริญ(2533) เชื้อใช้น้ำตาลไม่หมด โดยเมื่อหยุดการหมักจะเหลือน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณ 6.68 กรัมต่อลิตร ส่วนในสูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้ เชื้อใช้น้ำตาลหมดในวันที่ 7 ของการหมัก

จากผลการทดลองข้างต้น จะเห็นว่าในการหมักในระดับขวดเขย่านั้น สูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้ให้ผลผลิต GA_3 สูงกว่าสูตรอาหารของอรไท สุขเจริญ(2533) โดยคิดเป็นร้อยละ 41 ดังนั้น **ในการทดลองต่อไปจะใช้สูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้ เพื่อศึกษาการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* N9-34 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ต่อไป**

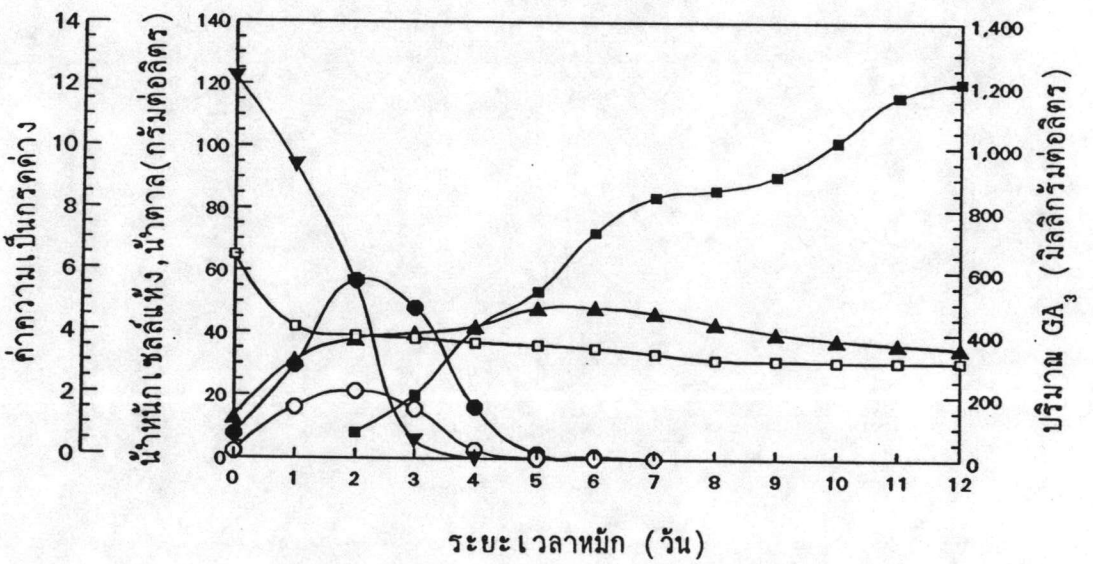
ตารางที่ 16 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดยเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ของอรไท สุขเจริญ (2533) และสูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้ ทำการหมักบนเครื่องเขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการเขย่า 300 รอบต่อนาที

ระยะเวลาหมัก (วัน)	สูตรอาหารของอรไท			สูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้		
	เซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร	เซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./กรัม
0	11.10	2.42		12.67	7.50	
1	14.72	7.64		30.96	29.36	
2	16.60	37.44	109	37.94	56.72	81
3	20.18	75.50	208	39.77	48.04	199
4	21.30	81.74	297	42.05	16.19	411
5	23.00	65.52	363	48.02	1.57	534
6	24.10	57.09	475	48.35	0.80	723
7	24.70	47.11	527	46.51	0.00	838
8	25.30	31.51	611	43.16		861
9	25.51	21.84	692	39.99		906
10	25.56	19.34	736	37.98		1017
11	25.86	10.29	765	36.62		1162
12	25.92	6.68	854	35.45		1208

รูปที่ 20ก



รูปที่ 20ข



รูปที่ 20 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดยเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ของอรไท สุขเจริญ(2533) และสูตรอาหารที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษานี้ ทำการหมักบนเครื่องเขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการเขย่า 300 รอบต่อนาที

รูปที่ 20ก สูตรอาหารของอรไท สุขเจริญ(2533)

รูปที่ 20ข สูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้

▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง ▼ น้ำตาลซูโครส □ ค่าความเป็นกรดด่าง

○ น้ำตาลกลูโคส ■ ปริมาณ GA_3 ● น้ำตาลรีดิวซ์

3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

3.3.1 การศึกษาการเจริญและการผลิต GA_3

เลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต GA_3 ภาคผนวกที่ 1.12 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้หัวเชื้อร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตรการให้อากาศ 1 vvm เก็บตัวอย่างทุกวัน ครั้งละ 25 มิลลิลิตร นำมาหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 17 และรูปที่ 21

จากผลการทดลองในตารางที่ 17 และรูปที่ 21 พบว่า การหมักตามสภาวะดังกล่าวจะให้ผลผลิต GA_3 เพียง 347 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก น้อยกว่าผลผลิต GA_3 เมื่อเลี้ยงในระดับขวดเขย่า ซึ่งให้ผลผลิต 838 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก ส่วนการเจริญ พบว่าเชื้อจะมีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเริ่มต้น ถึงวันที่ 3 ของการหมัก ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดประมาณ 48 กรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับเมื่อเลี้ยงในระดับขวดเขย่า ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักสุดท้ายที่ได้จากการหมักในถังหมัก เป็น 3.97 ซึ่งสูงกว่าการหมักในระดับขวดเขย่าเล็กน้อย

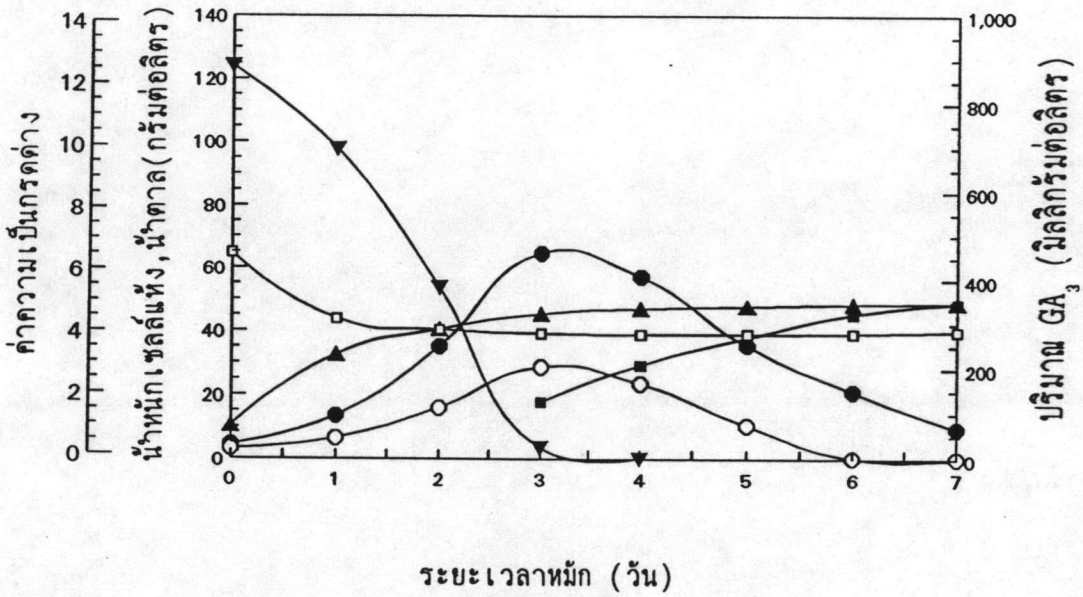
การใช้น้ำตาล พบว่าการเลี้ยงในถังหมักเชื้อจะใช้น้ำตาลไม่หมด เมื่อสิ้นสุดการหมักในวันที่ 7 จะมีน้ำตาลรีดิวส์เหลืออยู่ประมาณ 9.36 กรัมต่อลิตร ขณะที่เมื่อหมักในระดับขวดเขย่าเชื้อจะใช้น้ำตาลหมด ในวันที่ 7 ของการหมัก

จากข้อมูลข้างต้น จะเห็นว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ที่ได้จากการศึกษานี้ ภาคผนวกที่ 1.12 ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เลี้ยงในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร เนื่องจากสูตรอาหารดังกล่าว ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน ที่อยู่ในรูปของกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) หรือเปปไทด์ (peptide) สายสั้น เมื่อนำมาหมักในถังหมักที่มีการให้อากาศอย่างสมบูรณ์ ทำให้ขบวนการเมตาโบลิสมของไนโตรเจนเกิดได้ดีขึ้น ส่งผลให้เกิดสภาวะการเจริญมากแต่ไม่เหมาะกับการผลิต GA_3 ขณะที่การหมักในระดับขวดเขย่าอาจเป็นเพราะการให้อากาศถูกจำกัด เชื้อจึงสร้าง GA_3 ได้ดีกว่า การหมักในถังหมัก ดังนั้น ในการทดลองขั้นต่อไปจะปรับปรุงสูตรอาหารสำหรับ

ผลิต GA_3 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยลดปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันลง เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ต่อไป

ตารางที่ 17 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 เมื่อเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.47	10.23	123.06	3.04	4.36	
1	4.37	32.40	97.83	6.41	13.41	
2	4.03	40.37	53.66	15.86	34.94	
3	3.91	45.21	3.43	28.54	64.58	127
4	3.88	46.86	0.00	23.40	57.09	208
5	3.89	47.54		10.43	35.25	269
6	3.90	48.32		0.14	20.90	322
7	3.97	48.61		0.00	9.36	347



รูปที่ 21 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมัก 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
▽ น้ำตาลซูโครส
□ ค่าความเป็นกรดด่าง
○ น้ำตาลกลูโคส
■ ปริมาณ GA_3
● น้ำตาลรีดิวซ์

3.3.2 ผลของปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันที่มีต่อการผลิต GA_3

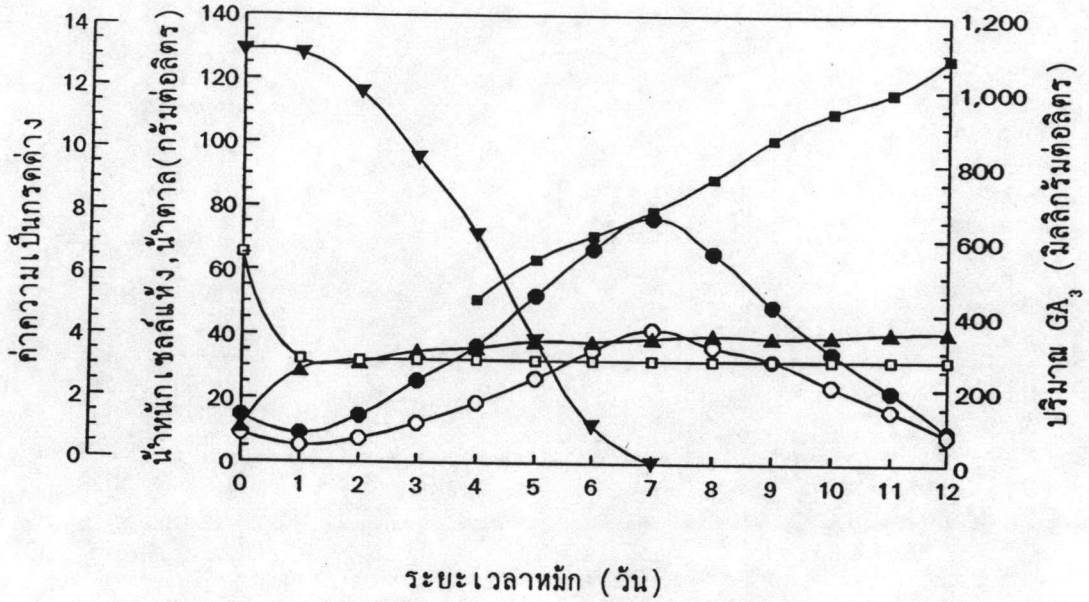
เลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารตามภาคผนวกที่ 1.12 โดยทำการแปรผันปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.39 0.57 0.66 และ 0.95 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ใช้สภาวะการหมักเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 18 ถึง 21 และรูปที่ 22 ถึง 26

จากผลการทดลองในตารางที่ 18 ถึง 21 และรูปที่ 22 ถึง 26 พบว่า ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่มีสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายย่อยด้วยกรดกำมะถันที่มีปริมาณไนโตรเจน 0.57 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 717 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก ซึ่งสูงกว่าอาหารที่มีสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันเป็น 0.39 0.66 และ 0.95 กรัมต่อลิตร ที่ให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 674 659 และ 461 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 7 ของการหมัก แต่เมื่อใช้เวลาหมักเพิ่มขึ้น พบว่าผลผลิต GA_3 จะสูงขึ้น ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก และอัตราการใช้น้ำตาล จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ กล่าวคือ ในอาหารที่มีปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีไนโตรเจนสูง คือ 0.66 และ 0.95 กรัมต่อลิตร เชื้อจะเจริญให้ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่า มีค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักสูงกว่า และใช้น้ำตาลเร็วกว่า เมื่อเทียบกับการเลี้ยงในอาหารที่มีสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันต่ำกว่า

ดังนั้นในการทดลองต่อไป **จะใช้อาหารที่มีสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากเมล็ดฝ้ายที่มีไนโตรเจนเป็น 0.57 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน** เพื่อศึกษาผลของอัตราการให้อากาศที่มีการผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ต่อไป

ตารางที่ 18 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.39 กรัมต่อลิตร โดยทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.52	11.08	129.90	8.87	14.54	
1	3.22	28.63	127.83	5.25	9.09	
2	3.18	31.05	115.86	7.44	14.54	
3	3.21	34.59	95.17	12.26	25.45	
4	3.20	35.87	71.22	18.61	36.36	435
5	3.19	37.90	38.32	26.28	52.17	542
6	3.18	37.86	11.71	35.04	66.53	607
7	3.19	38.89	0.00	41.61	76.36	674
8	3.18	39.91		36.35	65.44	761
9	3.20	39.27		31.97	49.08	866
10	3.20	39.62		24.09	34.54	940
11	3.21	40.78		16.64	22.54	993
12	3.21	41.22		8.64	10.18	1085

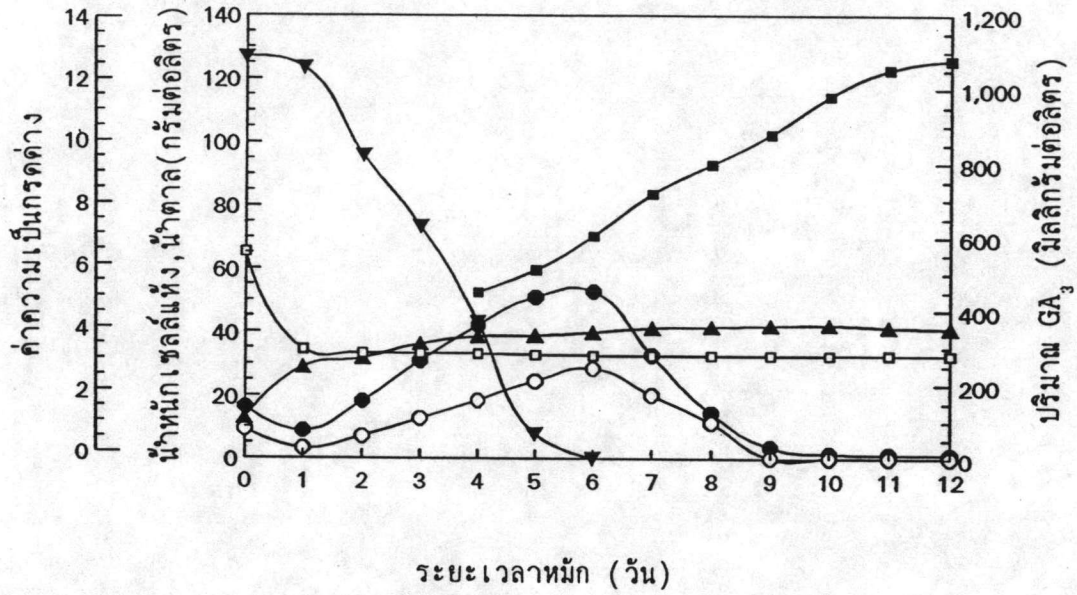


รูปที่ 22 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมัก 5 ลิตร เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.39 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
▼ น้ำตาลซูโครส
□ ค่าความเป็นกรดด่าง
○ น้ำตาลกลูโคส
■ ปริมาณ GA_3
● น้ำตาลรีดิวซ์

ตารางที่ 19 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.57 กรัมต่อลิตร โดยทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.51	12.76	126.86	9.19	16.36	
1	3.45	28.86	123.52	3.19	8.72	
2	3.34	31.69	95.92	7.01	18.18	
3	3.33	36.16	73.42	12.70	30.90	
4	3.31	38.42	42.95	18.39	41.81	449
5	3.28	38.73	7.78	24.52	50.90	509
6	3.26	39.71	0.00	28.47	52.72	602
7	3.26	41.19		20.14	32.72	717
8	3.26	41.52		11.38	14.54	797
9	3.26	41.86		0.10	3.59	877
10	3.26	42.13		0.05	1.58	980
11	3.27	41.36		0.04	1.35	1052
12	3.27	40.97		0.01	1.23	1077

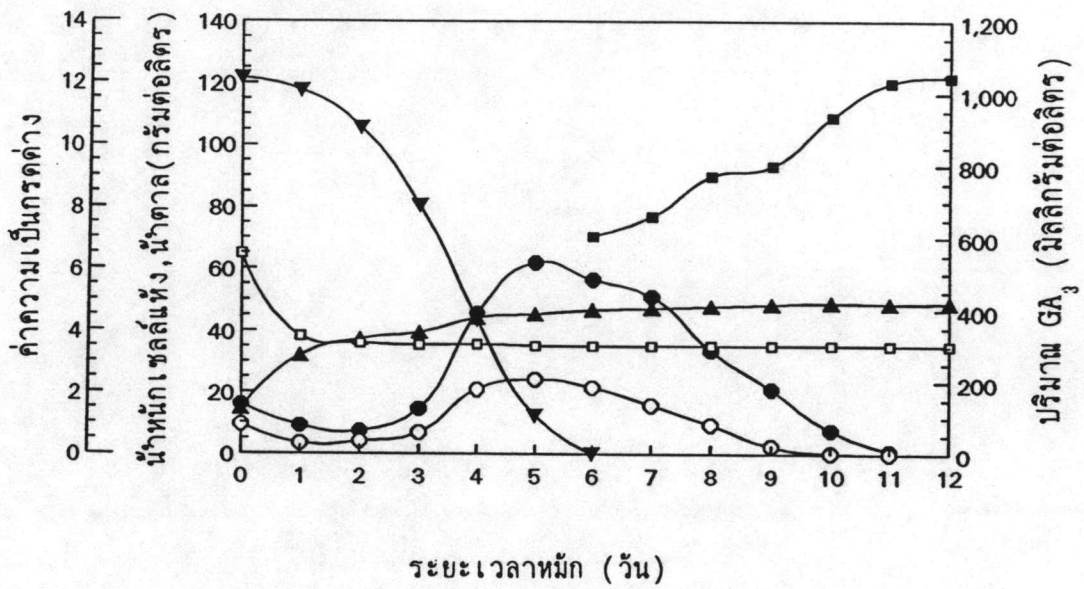


รูปที่ 23 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมัก 5 ลิตร เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.57 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

- ▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
- ▼ น้ำตาลซูโครส
- □ ค่าความเป็นกรดด่าง
- ○ น้ำตาลกลูโคส
- ■ ปริมาณ GA_3
- ● น้ำตาลรีดิวซ์

ตารางที่ 20 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.66 กรัมต่อลิตร โดยทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.48	15.62	121.59	9.41	15.99	
1	3.83	31.95	117.66	3.32	9.09	
2	3.60	37.28	105.59	3.94	7.27	
3	3.54	39.36	80.50	6.78	14.54	
4	3.56	44.09	43.65	20.80	45.45	
5	3.51	45.27	12.44	24.09	61.81	
6	3.51	46.58	0.00	21.46	56.35	604
7	3.51	47.14		15.76	50.90	659
8	3.52	47.80		9.41	33.63	770
9	3.52	48.43		2.40	20.90	799
10	3.53	48.96		0.21	7.63	934
11	3.52	48.62		0.00	0.90	1029
12	3.52	48.89			0.00	1044

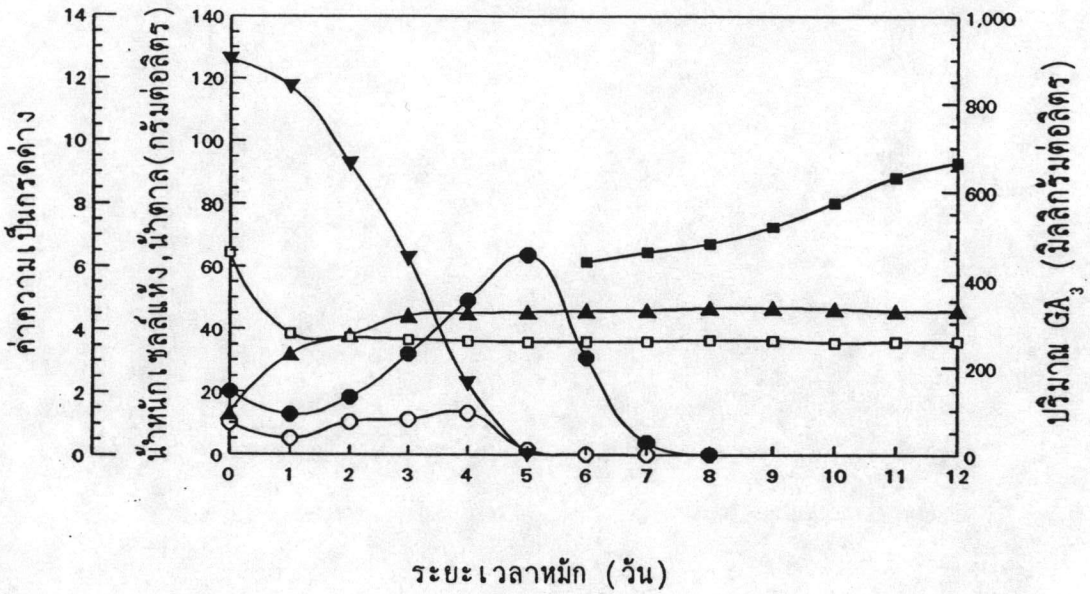


รูปที่ 24 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมัก 5 ลิตร เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.66 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

- ▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
- ▼ น้ำตาลซูโครส
- □ ค่าความเป็นกรดด่าง
- ○ น้ำตาลกลูโคส
- ■ ปริมาณ GA_3
- ● น้ำตาลรีดิวซ์

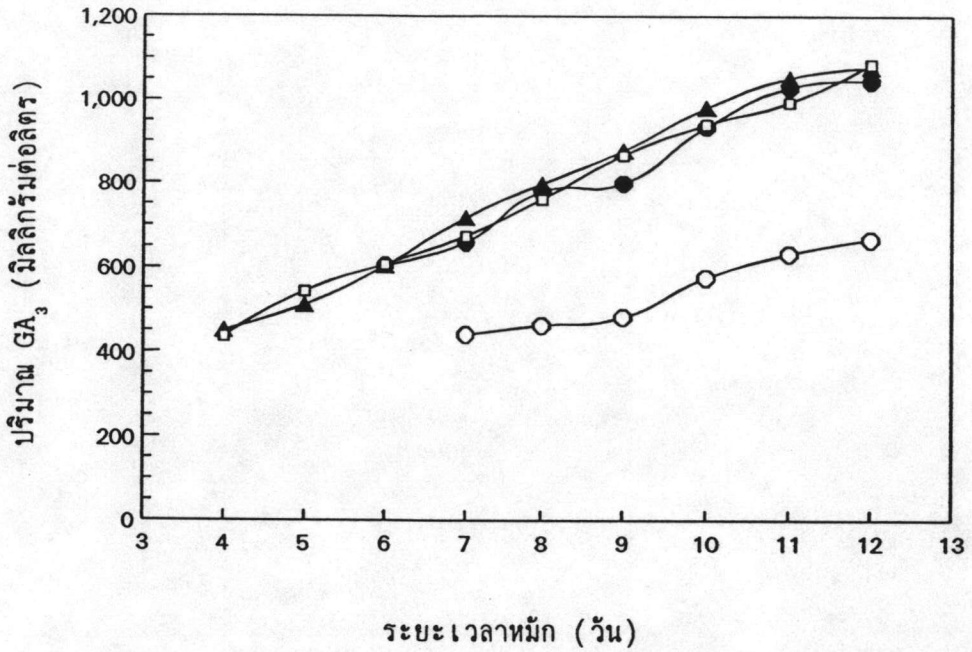
ตารางที่ 21 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.95 กรัมต่อลิตร โดยทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.44	12.94	126.04	9.96	19.99	
1	3.85	31.84	117.32	5.03	12.72	
2	3.73	37.83	92.66	10.29	18.18	
3	3.66	44.19	62.55	11.16	31.99	
4	3.61	45.02	22.64	13.14	49.08	
5	3.58	45.36	0.00	1.53	63.63	
6	3.60	45.86		0.08	30.90	439
7	3.61	46.02		0.00	3.81	461
8	3.65	46.73			0.00	481
9	3.64	46.81				519
10	3.56	46.42				574
11	3.60	45.75				632
12	3.61	45.93				666



รูปที่ 25 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมัก 5 ลิตร เมื่อใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.95 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
▼ น้ำตาลซูโครส
□ ค่าความเป็นกรดด่าง
○ น้ำตาลกลูโคส
■ ปริมาณ GA_3
● น้ำตาลรีดิวซ์



รูปที่ 26 เปรียบเทียบปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยแปรผันปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 0.39 0.57 0.66 และ 0.95 กรัมต่อลิตร

- สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่มีปริมาณไนโตรเจน 0.39 กรัมต่อลิตร
- สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่มีปริมาณไนโตรเจน 0.57 กรัมต่อลิตร
- สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่มีปริมาณไนโตรเจน 0.66 กรัมต่อลิตร
- สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่มีปริมาณไนโตรเจน 0.95 กรัมต่อลิตร

3.3.3 ผลของอัตราการให้อากาศที่มีต่อการผลิต GA_3

จากรายงานของ Stodola et al. (1955) พบว่า อัตราการให้อากาศเท่ากับ 0.25 vvm ในถังหมักขนาด 300 แกลลอน โดย *F. moniliforme* NRRL 2284 เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลิน ขณะที่ อรไท สุขเจริญ(2533) ได้ศึกษาอัตราการให้อากาศที่มีต่อการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าอัตราการให้อากาศ 1 vvm ที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3

ดังนั้น ในการทดลองนี้จะศึกษาอัตราการให้อากาศที่มีต่อการผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ภาคผนวกที่ 1.1 โดยเลี้ยงเชื้อและสภาวะการหมักเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 3.2.1 แต่ใช้อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm แทน 1 vvm เพื่อดูผลของอัตราการให้อากาศที่มีต่อประสิทธิภาพการผลิต GA_3 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 22 และรูปที่ 27

จากผลการทดลองในตารางที่ 22 และรูปที่ 27 พบว่า เมื่อลดอัตราการให้อากาศลงเป็น 0.5 vvm จะให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 603 และ 882 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 และ 12 ของการหมัก ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าผลผลิตเมื่อหมักในสภาวะที่มีอัตราการให้อากาศเป็น 1 vvm ที่ให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 717 และ 1077 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 และ 12 ของการหมัก นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อลดอัตราให้อากาศลงไม่มีผลต่อปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก และการใช้น้ำตาล

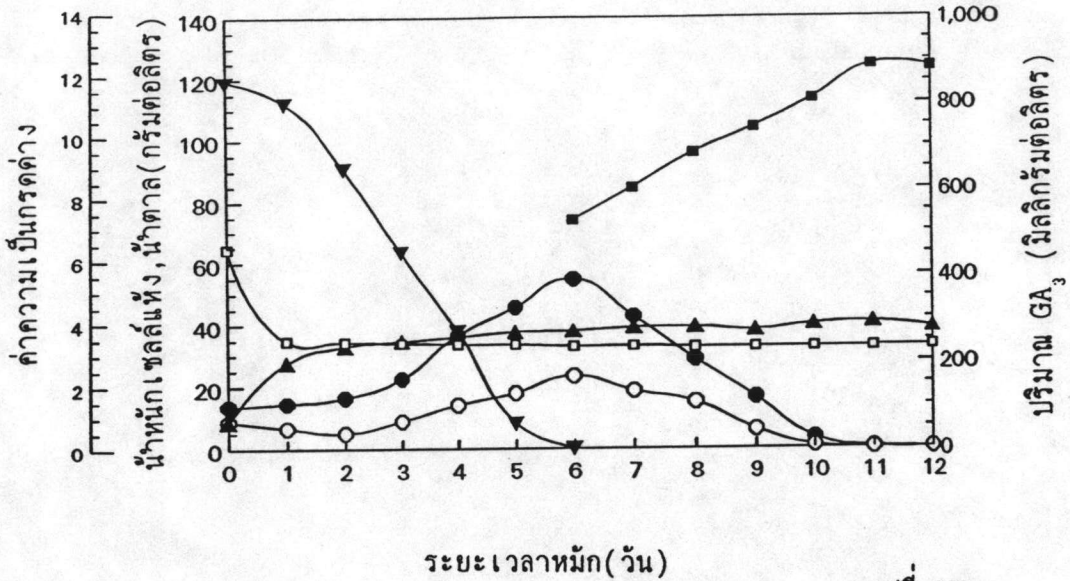
จากผลการทดลองที่รายงานมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าการใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต GA_3 นั้น ถ้าเป็นการหมักในระดับถังหมัก จะต้องลดปริมาณของสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันแล้วลงต่ำกว่าที่ใช้ในระดับขวดเขย่า คือปริมาณไนโตรเจนลดจาก 1.14 กรัมต่อลิตร เป็น 0.57 กรัมต่อลิตร เพื่อลดการเจริญของเชื้อรา เป็นผลทำให้การผลิต GA_3 ดีขึ้น และจากรายงานของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532) และ อรไท สุขเจริญ(2533) โดยใช้เชื้อ *G. fujikuroi* C และ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) โดยใช้เชื้อ *G. fujikuroi* F4W-6(9) ได้ใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันถั่วเหลืองออกแล้ว ซึ่งไม่ผ่านการย่อยด้วยกรดกำมะถัน เมื่อเลี้ยงเชื้อในถังหมัก ดังนั้น ในการทดลองต่อไปจะลองใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ซึ่งไม่ผ่านการย่อย โดยจะหาปริมาณที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ในระดับขวด

เขย่า ซึ่งเชื้อสายพันธุ์ N9-34 ที่ใช้อาจต้องการกากถั่วเหลืองในปริมาณที่ต่างไปจากเชื้อสายพันธุ์ C ของ อรไท สุขเจริญ(2533) และสายพันธุ์ F4W-6(9) ของ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) และจากผลการทดลองข้างต้น ซึ่งใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันนั้น จะต้องใช้ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 2.39 กรัมต่อลิตร แต่รายงานของ อรไท สุขเจริญ(2533) พบว่า การใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร และอัครวิทย์ กาญจนโอภาษ(2536) พบว่า การใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 2.51 กรัมต่อลิตร เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 เมื่อใช้กากถั่วเหลือง เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน **ดังนั้น ในการทดลองขั้นต่อไป จะทดลองแปรผันหาปริมาณกากถั่วเหลือง ควบคู่กับการแปรผันหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3**

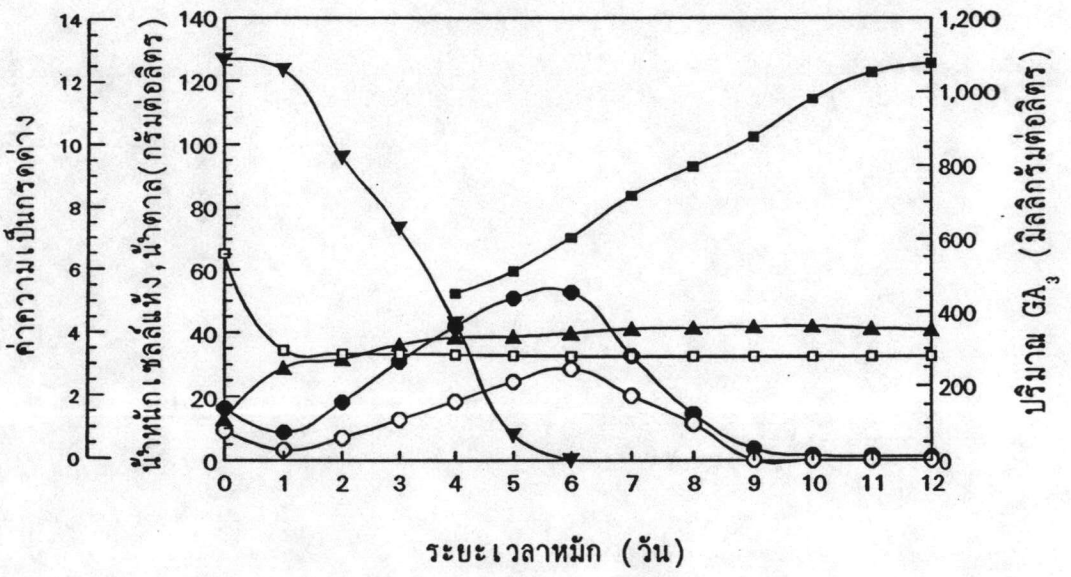
ตารางที่ 22 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 0.5 และ 1 vvm

ระยะเวลาหมัก (วัน)	อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm			อัตราการให้อากาศ 1 vvm		
	เซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร	เซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	8.42	13.63		12.76	16.36	
1	27.59	14.54		28.86	8.72	
2	32.83	16.36		31.69	18.18	
3	34.48	22.90		36.16	30.90	
4	35.80	36.36		38.42	41.81	449
5	37.46	45.45		38.73	50.90	509
6	37.77	54.54	513	39.71	52.72	602
7	38.85	42.54	603	41.19	32.72	717
8	39.07	28.52	684	41.52	14.54	797
9	38.07	16.36	743	41.86	3.59	877
10	39.88	3.27	809	42.13	1.58	980
11	40.51	0.28	887	41.36	1.35	1052
12	38.76		882	40.97	1.23	1077

รูปที่ 27ก



รูปที่ 27ข



รูปที่ 27 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที

รูปที่ 27ก อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm

รูปที่ 27ข อัตราการให้อากาศ 1 vvm

▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง ▼ น้ำตาลซูโครส □ ค่าความเป็นกรดด่าง

○ น้ำตาลกลูโคส ■ ปริมาณ GA_3 ● น้ำตาลรีดิวซ์

3.4 การปรับปริมาณสารอาหารในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 โดยทดสอบในระดับขวดเขย่า

3.4.1 การหาปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

เลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวกที่ 1.14 โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 1.89 และ 2.39 กรัมต่อลิตร และแปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วเป็น 0.9,1.9,2.9,3.9,4.9,5.9,6.9 และ 7.9 กรัมต่อลิตร โดยใช้สภาวะการหมักเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 23 และรูปที่ 28 กับ 29

จากผลการทดลองในตารางที่ 23 และรูปที่ 28 กับ 29 พบว่า สูตรอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.9 6.9 และ 7.9 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิต GA_3 ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1085 1094 และ 1105 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และเมื่อใช้ระยะเวลาหมักเพิ่มขึ้น เชื้อสามารถผลิต GA_3 ได้สูงขึ้นเท่ากับ 1237 1246 และ 1249 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก ดังแสดงผลในตารางที่ 21 และพบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่เพิ่มขึ้น

ในขณะที่เมื่อเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 2.39 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.9 6.9 และ 7.9 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิต GA_3 ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1029 1054 และ 1072 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และ 1117 1068 และ 1096 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมัก

จากผลการทดลองข้างต้น จะเห็นว่า ในสูตรอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร จะให้ผลผลิต GA_3 สูงกว่าอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต 2.39 กรัมต่อลิตร ขณะที่ในสูตรอาหาร ที่มีกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.9,6.9 และ 7.9 กรัมต่อลิตร จะให้ผลผลิต GA_3 ไม่แตกต่างกัน และเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต ดังนั้น ในการทดลองต่อไป จะใช้แอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 1.89 กรัมต่อลิตร และกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.9 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอนินทรีย์และอินทรีย์ไนโตรเจน ในการทดลองต่อไป จะหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ถึงแม้ว่าจะได้หาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมไว้

ครั้งหนึ่งแล้วในการทดลองที่ 3.2.3 แต่ในการทดลองที่ 3.2.3 นั้นได้ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมซัลเฟต 2.39 กรัมต่อลิตร ซึ่งต่างจากค่าเหมาะสมที่ได้จากการทดลอง 3.4.1 ที่เปลี่ยนไปใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ซึ่งไม่ผ่านการย่อย ดังนั้น จึงต้องมีการหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมกับปริมาณไนโตรเจนอีกครั้งในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 23 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 1.89 และ 2.39 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการแปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วเป็น 0.9,1.9,2.9,3.9,4.9,5.9,6.9 และ 7.9 กรัมต่อลิตร

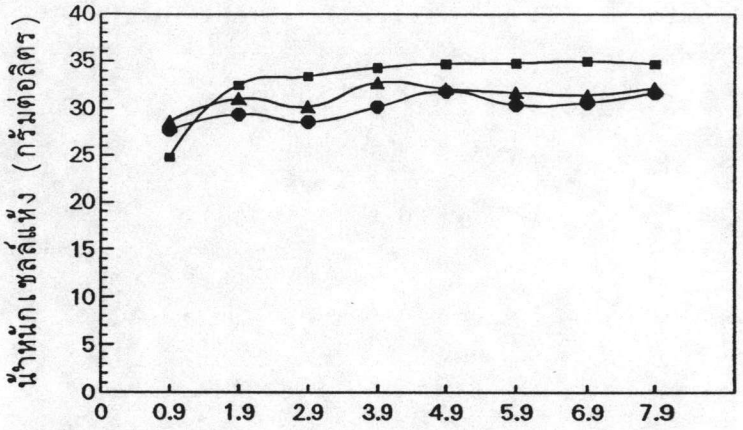
		ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร		ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 2.39 กรัมต่อลิตร	
ปริมาณกากถั่วเหลือง (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0.90	7	24.76	605	27.86	596
	10	28.56	736	28.31	693
	13	27.66	788	28.03	799
1.90	7	32.50	721	30.62	666
	10	31.02	894	30.44	858
	13	29.35	1054	27.58	965
2.90	7	33.37	832	32.14	830
	10	30.14	1027	30.74	1020
	13	28.51	1098	28.12	1045
3.90	7	34.30	941	32.30	918
	10	32.71	1063	30.23	1039
	13	30.13	1110	29.86	1102

ต่อ...

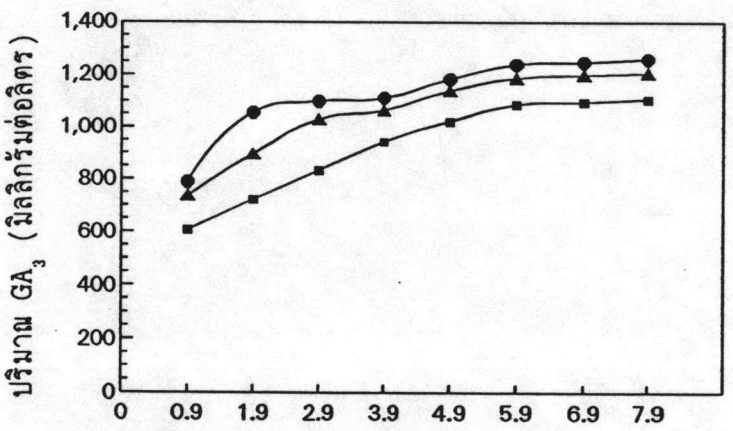
ตารางที่ 23 ต่อ

ปริมาณกากถั่วเหลือง (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร		ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 2.39 กรัมต่อลิตร	
		น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
4.90	7	34.71	1019	35.12	933
	10	32.08	1138	31.78	1046
	13	31.78	1182	29.82	1112
5.90	7	34.78	1085	33.95	1029
	10	31.68	1186	33.46	1052
	13	30.34	1237	31.26	1117
6.90	7	34.98	1094	34.21	1054
	10	31.41	1198	32.52	1068
	13	30.58	1246	31.22	1068
7.90	7	34.68	1105	34.11	1072
	10	32.15	1207	33.10	1081
	13	31.62	1249	30.45	1096

รูปที่ 28ก



รูปที่ 28ข



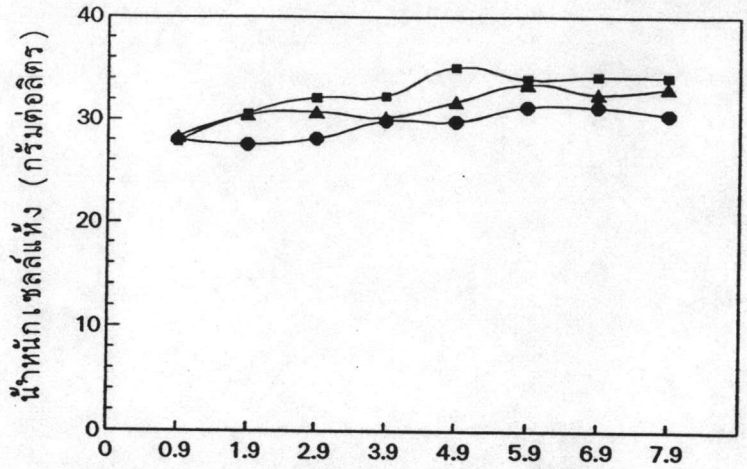
รูปที่ 28 ผลของการแปรผันปริมาณที่เหมาะสมของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 28ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

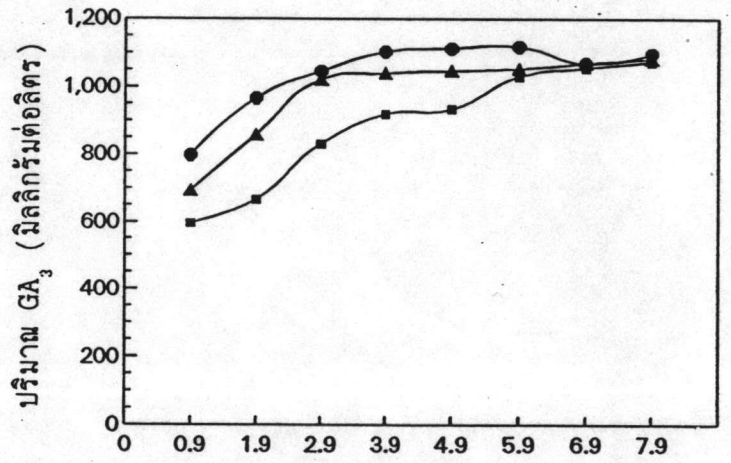
รูปที่ 28ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ▲ ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ● ระยะเวลาหมัก 13 วัน

รูปที่ 29ก



รูปที่ 29ข



รูปที่ 29 ผลของการแปรผันปริมาณที่เหมาะสมของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 2.39 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 29ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 29ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ■ ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ▲ ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ● ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.4.2 การหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

จากผลการทดลองในข้อ 3.4.1 พบว่า การใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.9 กรัมต่อลิตร แทนการใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

ดังนั้น ในการทดลองนี้ จะหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวกที่ 1.15 โดยแปรผันปริมาณน้ำตาลซูโครสเป็น 80 100 120 และ 140 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 24 และรูปที่ 30

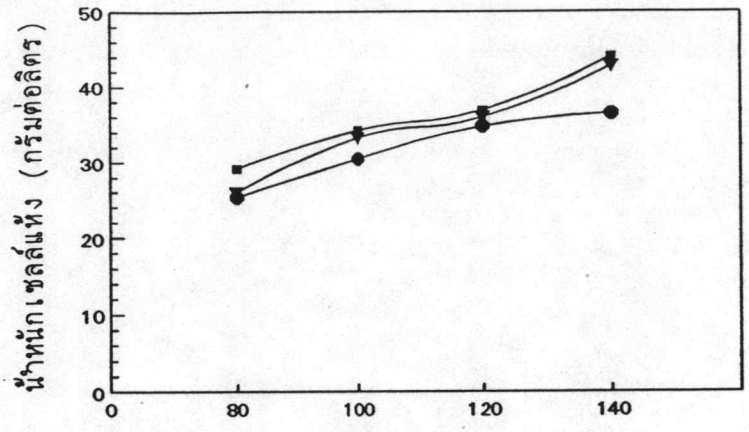
จากผลการทดลองในตารางที่ 24 และรูปที่ 30 พบว่า สูตรอาหารที่มีปริมาณซูโครส 100 120 และ 140 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิต GA_3 สูงใกล้เคียงกัน คือ 1026 1012 และ 1044 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 7 ของการหมัก และพบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก จะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มปริมาณซูโครส

เมื่อพิจารณาความเหมาะสมของต้นทุนในการผลิต **จึงเลือกใช้ปริมาณซูโครสที่ 100 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อศึกษาการผลิต GA_3 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ต่อไป**

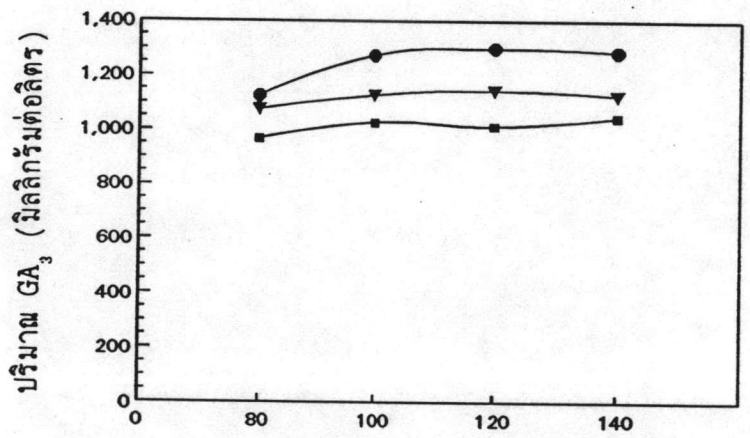
ตารางที่ 24 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuoi* N9-34 ในอาหารสำหรับผลิต GA_3 เมื่อแปรผันปริมาณซูโครสเป็น 80 100 120 และ 140 กรัมต่อลิตร

ปริมาณน้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก./ลิตร)
80	7	2.75	29.18	966
	10	2.80	25.92	1074
	13	2.90	25.30	1124
100	7	3.14	34.20	1026
	10	2.97	33.22	1126
	13	3.10	30.42	1272
120	7	3.13	36.88	1012
	10	3.01	35.94	1143
	13	3.06	34.72	1298
140	7	3.20	44.02	1044
	10	3.09	42.74	1124
	13	3.14	36.43	1285

รูปที่ 30ก



รูปที่ 30ข



รูปที่ 30 ผลของการแปรผันปริมาณซูโครส เพื่อปรับปริมาณให้เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.90 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต GA_3

รูปที่ 30ก แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รูปที่ 30ข แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

- ระยะเวลาหมัก 7 วัน
- ระยะเวลาหมัก 10 วัน
- ระยะเวลาหมัก 13 วัน

3.5 การศึกษาการเจริญและการผลิต GA_3 โดยใช้สูตรอาหารที่ปรับปริมาณสารอาหารแล้วในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

3.5.1 การเจริญและการผลิต GA_3

จากผลการทดลองในข้อ 3.4.1 และ 3.4.2 ได้ปริมาณกากถั่วเหลืองและซูโครสที่เหมาะสมสำหรับอาหารเพื่อผลิต GA_3 ดังแสดงในตารางที่ 25 ดังนั้น ในการทดลองต่อไป จะศึกษารูปแบบการเจริญและการผลิต GA_3 ในถังหมัก โดยใช้สูตรอาหารตามตารางที่ 25 ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส อัตราการกวนที่ 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vmm เก็บตัวอย่างทุกวัน ครั้งละ 25 มิลลิลิตร หาน้ำหนักเซลล์แห้ง วัดค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 26 และรูปที่ 31

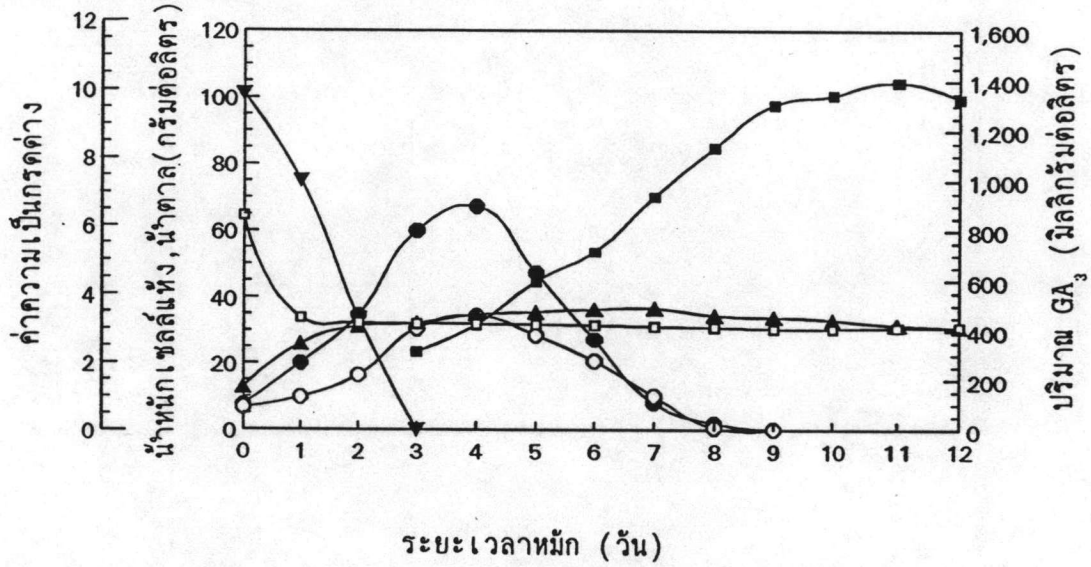
ตารางที่ 25 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 เมื่อใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว แทนสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน

สารอาหาร (กรัมต่อลิตร)	
น้ำตาลซูโครส	100
แอมโมเนียมซัลเฟต	1.89
กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว	5.9
โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	5
แมกนีเซียมซัลเฟต	1
อะลูมิเนียมออกไซด์	0.1
น้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ	0.2
ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเท่ากับ	7

จากผลการทดลอง พบว่า เชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 935 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และเมื่อใช้เวลาในการหมักเพิ่มขึ้น พบว่า จะได้ผลผลิต GA_3 สูงสุด เท่ากับ 1394 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการหมัก ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงในสูตรอาหารที่ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่งได้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 1077 ในวันที่ 11 ของการหมัก นอกจากนี้น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ก็น้อยกว่าด้วย ส่วนการใช้น้ำตาล พบว่าเชื้อจะใช้น้ำตาลรีดิวซ์หมด ในวันที่ 9 ของการหมัก ในการทดลองต่อไป **จะ เพิ่มปริมาณออกซิเจนโดย เพิ่มอัตราการกวนจาก 500 เป็น 600 รอบต่อนาที**

ตารางที่ 26 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.46	12.64	101.05	6.64	7.45	
1	3.39	25.87	75.05	9.71	19.99	
2	3.23	31.21	33.77	16.33	34.54	
3	3.21	32.24	0.00	30.50	59.99	313
4	3.19	34.75		34.44	67.26	421
5	3.18	35.50		28.53	47.26	596
6	3.16	36.37		20.66	27.27	714
7	3.12	36.59		10.08	7.99	935
8	3.09	34.50		0.49	1.81	1131
9	3.05	33.98		0.00	0.00	1303
10	3.05	33.17				1341
11	3.08	31.54				1394
12	3.09	30.86				1327



รูปที่ 31 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 เมื่อใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว แทนสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราการกวนที่ 500 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm

- ▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
- ▼ น้ำตาลซูโครส
- □ ค่าความเป็นกรดด่าง
- ○ น้ำตาลกลูโคส
- ■ ปริมาณ GA_3
- ● น้ำตาลรีดิวซ์

3.5.2 ผลของอัตราการกวนที่มีต่อการผลิต GA_3

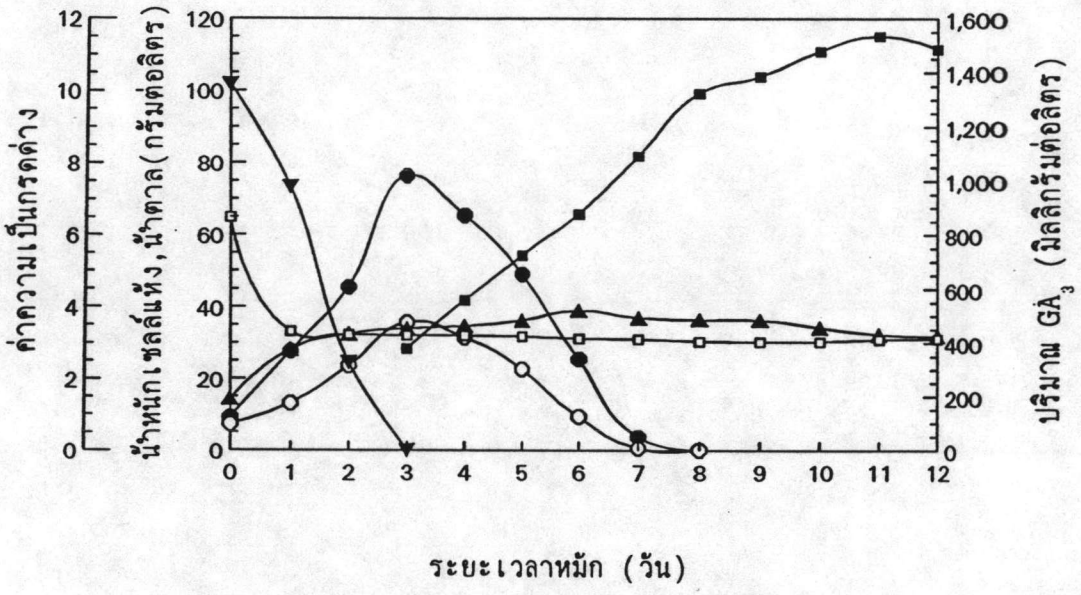
จากผลการทดลองในข้อ 3.5.1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที ให้ผลผลิต GA_3 สูงสุด เท่ากับ 1394 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการหมัก ขณะที่ อรไท สุขเจริญ (2533) ได้รายงานว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีอัตราการกวน 500 รอบต่อนาที เป็นอัตราที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 มากกว่า 600 รอบต่อนาที ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) เมื่อใช้สภาวะดังกล่าวกับสายพันธุ์ F4W-6(9) ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi* C ในการทดลองต่อไป จะใช้สภาวะการหมักที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที เพื่อเปรียบเทียบผลที่ได้กับการหมักโดยใช้อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 27 และรูปที่ 32

จากผลการทดลองในตารางที่ 27 และรูปที่ 32 พบว่า การเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในสภาวะที่มีอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที ให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 1091 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของหมัก ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงในสภาวะที่มีอัตรากวน 500 รอบต่อนาที ที่ให้ผลผลิตเพียง 935 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และเมื่อใช้เวลาหมักเพิ่มขึ้น เชื้อสามารถผลิต GA_3 ได้สูงสุด 1534 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการหมัก นอกจากนี้พบว่าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์ได้เร็วกว่า ส่วนปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง และค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก จะไม่แตกต่างกับเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีอัตราการกวนที่ 500 รอบต่อนาที

ดังนั้น ในการทดลองต่อไป **จะเลือกใช้อัตราการกวนที่ 600 รอบต่อนาที เพื่อศึกษาการควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ต่อไป**

ตารางที่ 27 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการให้อากาศ 1 vvm แต่เพิ่มอัตราการกวนเป็น 600 รอบต่อนาที

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.49	14.17	101.83	7.13	9.09	
1	3.32	28.10	73.35	13.03	27.63	
2	3.23	32.48	24.64	23.61	45.45	
3	3.21	33.97	0.00	35.67	76.35	378
4	3.20	34.66		31.48	65.44	558
5	3.18	36.26		22.63	49.08	723
6	3.12	38.96		9.34	25.45	877
7	3.10	36.97		0.51	3.63	1091
8	3.04	36.48		0.00	0.00	1322
9	3.03	36.28				1384
10	3.03	34.22				1478
11	3.09	32.27				1534
12	3.11	31.84				1486



รูปที่ 32 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมัก 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศเป็น 1 vvm

▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
▼ น้ำตาลซูโครส
□ ค่าความเป็นกรดด่าง
○ น้ำตาลกลูโคส
■ ปริมาณ GA_3
● น้ำตาลรีดิวซ์

3.5.3 ระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3

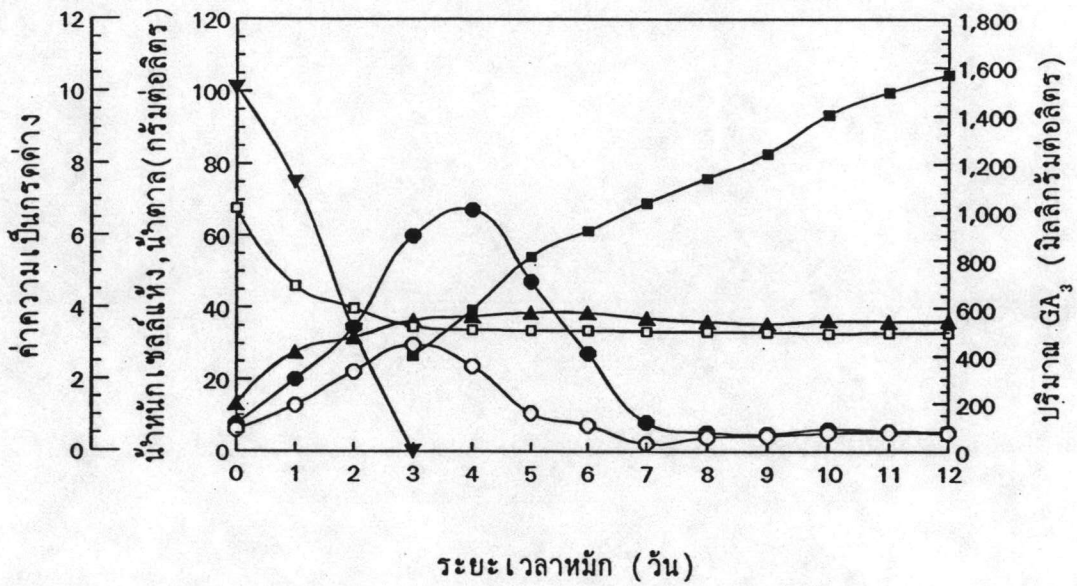
จากรายงานของ อรไท สุขเจริญ(2533) พบว่า การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักให้คงที่ ที่ความเข้มข้นประมาณ 25 กรัมต่อลิตร โดยการเติมสารละลายกลูโคสอย่างต่อเนื่อง มีผลทำให้ *G. fujikuroi* C สามารถผลิตจิบเบอเรลลินได้เพิ่มขึ้น ซึ่งให้ผลผลิตสูงสุด 1023 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 14.5 ของการหมัก ขณะที่รายงาน อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) ได้ศึกษาการควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีต่อการผลิต GA_3 โดยสายพันธุ์ F4W-6(9) ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *G. fujikuroi* C พบว่า การรักษาระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักให้คงที่ ที่ความเข้มข้นประมาณ 15 กรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้นกว่าการเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีการรักษาระดับน้ำตาลรีดิวซ์ โดยให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 1362 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 12 ของการหมัก ขณะที่การเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส ให้ผลผลิต 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 8 ของการหมัก

ดังนั้น จึงทำการทดลองโดยเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ภาคผนวกที่ 1.1 การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมัก โดยการเติมสารละลายกลูโคสที่เข้มข้นร้อยละ 30 ลงไป ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำตาลรีดิวซ์ ในแต่ละถังหมักเป็น 5 15 และ 25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 28 ถึง 30 และรูปที่ 33 ถึง 36

จากผลการทดลอง พบว่า การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักที่ 25 กรัมต่อลิตร ทำให้ผลผลิต GA_3 เพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 1760 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ได้ผลผลิต 1586 และ 1569 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์เป็น 15 และ 5 กรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลาหมัก 12 วันเท่ากัน แต่การเลี้ยงที่ไม่ได้เติมน้ำตาลลงในถังหมัก ให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 1534 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการหมัก อย่างไรก็ตาม พบว่าการเติมกลูโคสเพื่อรักษาระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมัก ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง และค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก

ตารางที่ 28 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm โดยเริ่มเติมน้ำตาลกลูโคส ในวันที่ 7 ของการหมัก และควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.77	12.94	101.05	5.88	7.45	
1	4.60	27.63	75.05	12.70	19.99	
2	3.98	31.68	33.77	22.14	34.54	
3	3.48	36.48	0.00	29.60	59.99	399
4	3.39	37.56		23.61	67.26	589
5	3.38	38.64		10.53	47.26	812
6	3.38	38.60		7.23	27.27	922
7	3.35	37.06		2.08	7.99	1037
8	3.34	36.16		3.84	5.24	1141
9	3.32	35.55		4.21	4.86	1243
10	3.29	36.48		5.01	6.15	1403
11	3.31	36.23		5.27	5.59	1496
12	3.30	36.39		4.90	5.24	1569

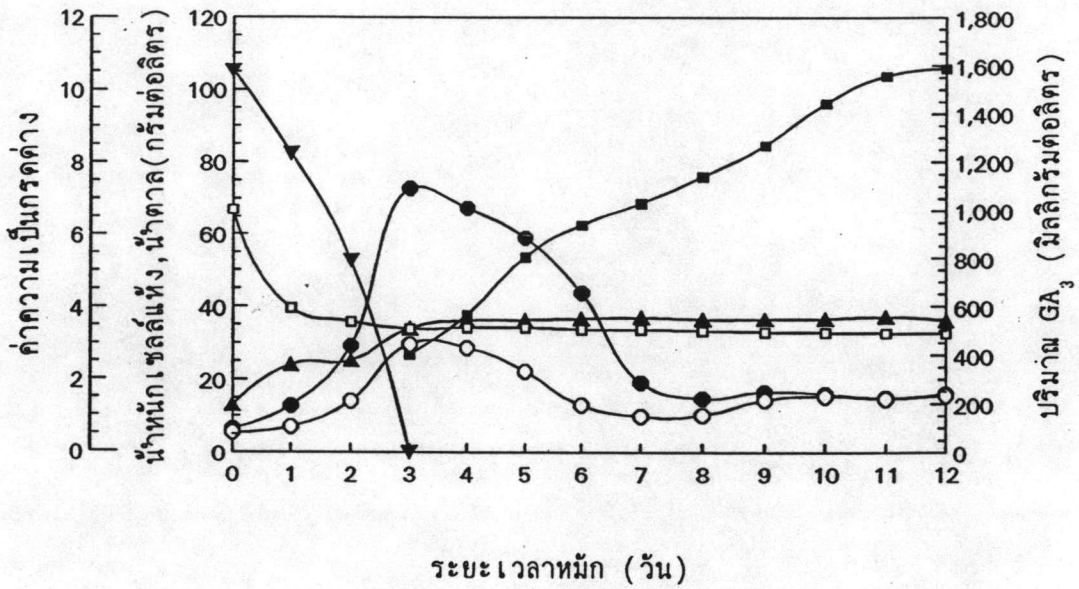


รูปที่ 33 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศเป็น 1 vvm โดยเริ่มเติมน้ำตาลกลูโคส ในวันที่ 7 ของการหมัก และควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร

▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
▼ น้ำตาลซูโครส
□ ค่าความเป็นกรดด่าง
○ น้ำตาลกลูโคส
■ ปริมาณ GA_3
● น้ำตาลรีดิวซ์

ตารางที่ 29 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm โดยเริ่มเติมน้ำตาลกลูโคส ในวันที่ 7 ของการหมัก และควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักเท่ากับ 15 กรัมต่อลิตร

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.69	12.96	105.23	5.41	6.45	
1	3.95	23.94	82.32	7.01	12.72	
2	3.58	35.15	52.67	14.02	29.08	
3	3.38	33.84	0.00	29.52	72.72	400
4	3.41	36.01		28.53	67.26	564
5	3.41	36.16		22.14	58.90	803
6	3.36	36.51		12.93	43.63	939
7	3.36	36.90		9.84	19.08	1029
8	3.32	36.38		10.11	14.72	1140
9	3.29	36.45		14.28	16.51	1268
10	3.28	36.55		15.31	15.96	1443
11	3.26	37.09		14.57	14.86	1556
12	3.25	36.04		15.46	16.02	1586

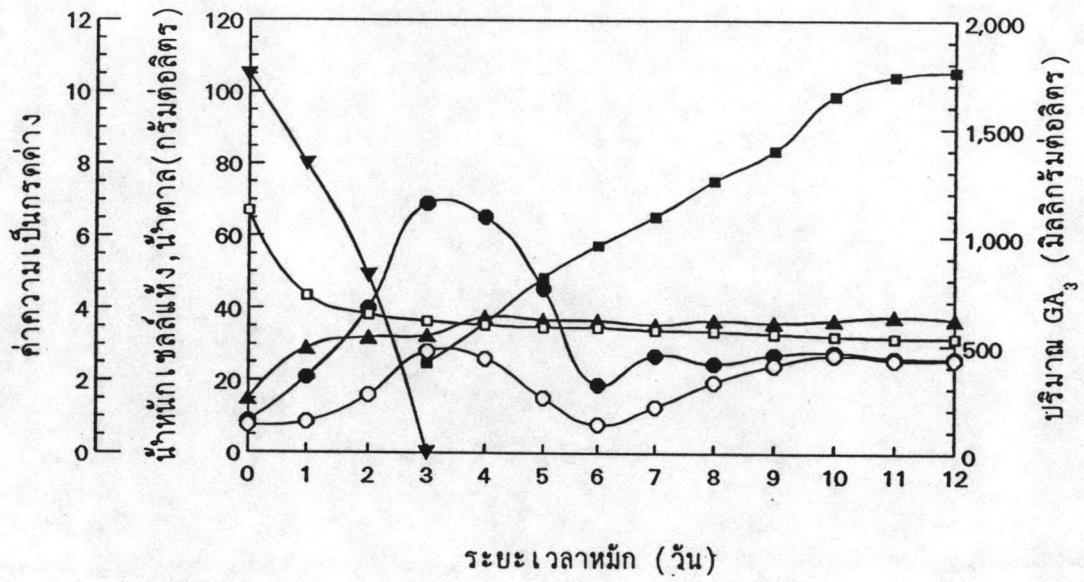


รูปที่ 34 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศเป็น 1 vvm โดยเริ่มเติมน้ำตาลกลูโคส ในวันที่ 7 ของการหมัก และควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักเท่ากับ 15 กรัมต่อลิตร

- ▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
- ▼ น้ำตาลซูโครส
- □ ค่าความเป็นกรดด่าง
- ○ น้ำตาลกลูโคส
- ■ ปริมาณ GA_3
- ● น้ำตาลรีดิวซ์

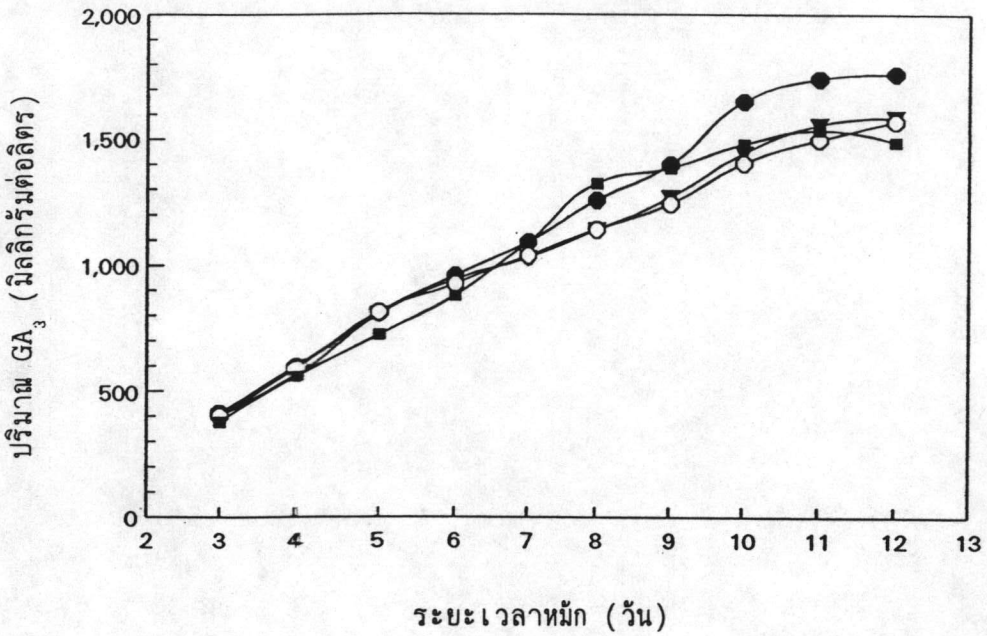
ตารางที่ 30 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm โดยเริ่มเติมน้ำตาลกลูโคส ในวันที่ 7 ของการหมัก และควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักเท่ากับ 25 กรัมต่อลิตร

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ความเป็นกรดด่าง	น้ำหนักเซลล์แห้ง กรัม/ลิตร	ซูโครส กรัม/ลิตร	กลูโคส กรัม/ลิตร	น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด กรัม/ลิตร	ปริมาณ GA_3 มก./ลิตร
0	6.71	14.89	104.80	7.62	8.72	
1	4.35	29.02	80.08	8.56	20.90	
2	3.83	31.94	49.11	15.99	39.99	
3	3.65	32.51	0.00	28.04	69.08	413
4	3.54	37.60		26.07	65.44	597
5	3.48	36.91		15.25	45.45	809
6	3.48	36.73		7.86	18.90	956
7	3.40	35.57		12.74	26.99	1092
8	3.38	36.85		19.56	24.72	1257
9	3.31	36.17		24.28	27.27	1397
10	3.25	36.92		27.13	28.08	1650
11	3.20	37.95		25.79	26.48	1740
12	3.20	37.14		25.96	26.36	1760



รูปที่ 35 ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศเป็น 1 vvm โดยเริ่มเติมน้ำตาลกลูโคส ในวันที่ 7 ของการหมัก และควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักเท่ากับ 25 กรัมต่อลิตร

▲ น้ำหนักเซลล์แห้ง
▼ น้ำตาลซูโครส
□ ค่าความเป็นกรดด่าง
○ น้ำตาลกลูโคส
■ ปริมาณ GA_3
● น้ำตาลรีดิวซ์



รูปที่ 36 เปรียบเทียบปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ในสภาวะที่ไม่มีการควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักและในสภาวะที่มีการควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์เป็น 5 15 และ 25กรัมต่อลิตร

- ไม่ควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ (ไม่เติมน้ำตาล)
- ควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ที่ 5 กรัมต่อลิตร
- ควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ที่ 15 กรัมต่อลิตร
- ควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ที่ 25 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 31 การเปรียบเทียบปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสภาวะของการหมัก

สภาวะที่ทำการหมัก	ระยะเวลาหมักที่ผลผลิต GA_3 สูงสุด (วัน)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
1.สภาวะที่ใช้คัดเลือกสายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารของอรไท สุขเจริญ(2533) ในระดับขวดเขย่า	13	913
2.สภาวะที่เหมาะสมในระดับขวดเขย่า เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน	12	1208
3.สภาวะที่เหมาะสมในถังหมัก เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน	12	1077
4.สภาวะที่เหมาะสมในระดับขวดเขย่า เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำออกแล้ว	13	1237
5.สภาวะที่เหมาะสมในถังหมัก เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว	11	1534

ตารางที่ 32 เปรียบเทียบปริมาณผลผลิต GA_3 ที่ได้จาก *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารของ อรไท สุขเจริญ(2533), สายพันธุ์ F4W-6(9) ในสูตรอาหารของ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ(2536) และสายพันธุ์ N9-34 ในสูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง	สายพันธุ์	สภาวะการเลี้ยง	ระยะเวลาหมักที่ให้ผลผลิตสูงสุด (วัน)	ปริมาณ GA_3 (มิลลิกรัมต่อลิตร)
สูตรของ อรไท สุขเจริญ (2533)	C	ขวดเขย่า	13	570
		ถังหมัก	14.5	1023
สูตรของ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536)	F4W-6(9)	ขวดเขย่า	10	927
		ถังหมัก	12	1362
สูตรที่ได้จากการศึกษานี้	N9-34	ขวดเขย่า	13	1237
		ถังหมัก	11	1534