

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลินในถั่มัก



นางสาว อรไท สุขเจริญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2533

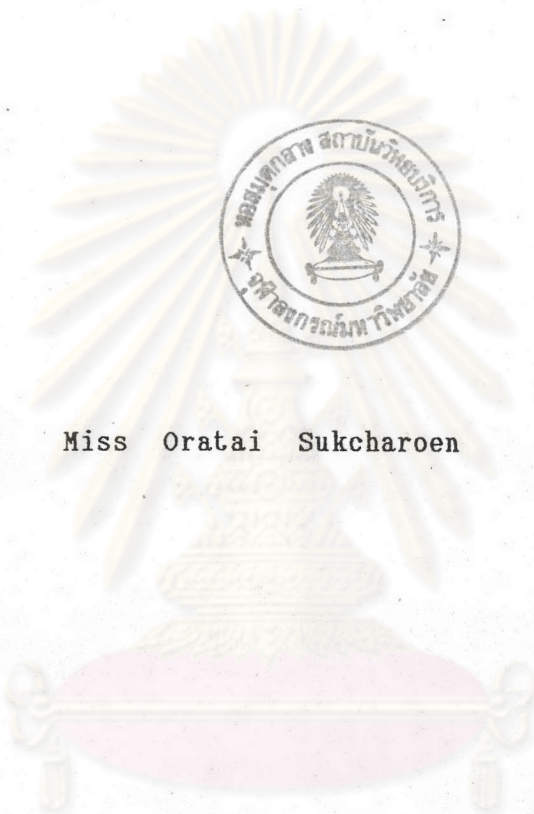
ISBN 974-578-243-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 16750060

25 ส.ค. 2547

Optimal Condition for the Production of Gibberellins in Fermentor



Miss Oratai Sukcharoen

ศูนย์วิทยทรัพยากร

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science

Programme of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1990

ISBN 974-578-243-2



อรไท สุขเจริญ : สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินในถังหมัก  
(OPTIMAL CONDITIONS FOR THE PRODUCTION OF GIBBERELLINS  
IN FERMENTOR) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.นลิน นิลอบล และ รศ.ดร.ไพเราะ  
ปิ่นพานิชการ, 113 หน้า. ISBN 974-578-243-2

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปัจจัย และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลิน  
ชนิด GA<sub>3</sub> โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อเป็นข้อมูล  
เบื้องต้นสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินในระดับขยายส่วนต่อไป

จากการศึกษาเพื่อหาองค์ประกอบที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับการผลิต  
จิบเบอเรลลินชนิด GA<sub>3</sub> โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร  
พบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม คือ ซูโครส 100 กรัมต่อลิตร แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม คือ  
แอมโมเนียมซัลเฟตและกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้ว และมีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.40 และ  
0.14 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ชนิด ปริมาณของแร่ธาตุ และองค์ประกอบอื่นๆที่เหมาะสม คือ  
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 5 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร อลูมิเนียม  
ออกไซด์ 0.10 กรัมต่อลิตร และน้ำมันถั่วเหลือง 2 มล.ต่อลิตร สภาวะที่เหมาะสมสำหรับ  
การผลิตจิบเบอเรลลินชนิด GA<sub>3</sub> คือสภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิคงที่ที่ 25°C อัตราการกวน  
500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที โดยมีการเติมสาร  
ละลายกลูโคสอย่างต่อเนื่องในชั่วโมงที่ 162 เพื่อรักษาระดับน้ำตาลในถังหมักให้คงไว้ที่ 25  
กรัมต่อลิตร จนสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง ในสภาวะที่ไม่มีการควบคุมความเป็นกรดต่างในระหว่าง  
การเพาะเลี้ยง ซึ่งสภาวะดังกล่าวทำให้เชื้อผลิต GA<sub>3</sub> ได้สูงสุด 1023 มก.ต่อลิตร ในชั่วโมง  
ที่ 348 ของการเลี้ยงเชื้อ ปริมาณน้ำหนักรวมแห้ง 25.5 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการผลิต  
GA<sub>3</sub> โดยเฉลี่ย 3.05 มก.ต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อติดตามปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณสารแหล่ง  
ไนโตรเจน และปริมาณออกซิเจน ในระยะเวลาต่างๆของการเลี้ยงเชื้อ พบว่าปริมาณของสาร  
อาหารดังกล่าวไม่ได้เป็นตัวจำกัดสำหรับการผลิต GA<sub>3</sub> แต่ขีดจำกัดของการผลิต GA<sub>3</sub> คือ  
ประสิทธิภาพของเชื้อราในช่วงเวลานั้น

ORATAI SUKCHAROEN : OPTIMAL CONDITIONS FOR THE PRODUCTION OF  
GIBBERELLINS IN FERMENTOR. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF. NALINE  
NILUBOL, Ph.D. AND ASSOC.PROF. PAIROH PINPHANICHAKARN, Ph.D. 113 pp.  
ISBN 974-578-243-2

The scope of this work is to study the optimal conditions for the production of gibberellin  $GA_3$  by Gibberella fujikuroi C in a 5-L fermentor.

The optimal conditions for the production of gibberellin  $GA_3$  by Gibberella fujikuroi C in a 5-L fermentor were determined. The suitable medium compositions for the production of  $GA_3$  contained per litre, 100 gm. of sucrose as carbon source, ammonium sulfate and defatted soybean meal with the nitrogen content of 0.40 and 0.14 gm., respectively as nitrogen sources, 5 gm. of potassium dihydrogen phosphate, 1 gm. of magnesium sulfate, 0.1 gm. of aluminium oxide as minerals, and 0.2 ml of soya bean oil as an enhancing substance. The medium was adjusted to pH 7 before autoclaving.

The optimal cultivation conditions were as follows : cultivation temperature at 25°C, the aeration rate at 1.0 vvm. and the agitation speed at 500 rpm. Continuous feeding of glucose was started at 162 hours of cultivation and its concentration was maintained at 25 g/l throughout the period of fermentation. The pH of the medium was uncontrolled. Under these conditions, 1023 mg/l of  $GA_3$  was obtained at 348 hours of cultivation, dry weight 25.5 g/l and the mean  $GA_3$  production rate was 3.05 mg/l/hr. By monitoring the contents of carbon and nitrogen sources including dissolved oxygen remained in the medium during the fermentation, the limiting factor for  $GA_3$  production was neither carbon source, nitrogen source nor dissolved oxygen, but it was due to the weakness of the cell itself.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล และรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ได้กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้คำแนะนำ ให้แนวความคิด กำลังใจ และความเข้าใจ อันมีค่ายิ่งตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธานีวัน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคส์ตฤศาสน์ ที่ได้กรุณาปรับเป็นกรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร. ดารารัตน์ รอดนยาธิ ที่ได้ช่วยเหลือและให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความเข้าใจ ตลอดมา

ขอขอบพระคุณ ผู้อำนวยการสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อ สถานที่ อุปกรณ์และสารเคมี งานงานวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณท่านคณาจารย์หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และขอขอบคุณนักวิจัย พี่ เพื่อน และเจ้าหน้าที่สถาบันฯทุกท่าน ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดการศึกษา และทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย สำหรับความอนุเคราะห์ด้านนักวิจัย  
ท้ายสุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่ และผู้อยู่เบื้องหลังทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ความเข้าใจ และเป็นกำลังใจ ในการทำวิทยานิพนธ์ ตั้งแต่เริ่มต้นจนสำเร็จสมบูรณ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง  
 บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ  
 กิตติกรรมประกาศ..... ฉ  
 สารบัญ..... ช  
 สารบัญตาราง..... ฉ  
 สารบัญรูป..... ป  
 คำย่อ..... ม  
 บทที่

1 บทนำ

1 ประวัติความเป็นมา..... 1  
 2 กระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน (Biosynthesis Pathway) โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi..... 2  
 3 การพัฒนากระบวนการผลิตจิบเบอเรลลิน โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi .... 5  
 4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi ..... 7  
 5 การวิเคราะห์จิบเบอเรลลิน..... 9  
 6 เหตุจูงใจในการวิจัย..... 11  
 7 ขั้นตอนการวิจัย..... 11

2 วิธีการทดลอง

1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง..... 13  
 2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย..... 14  
 3 วิธีการวิเคราะห์..... 17

3 ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  ด้วยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี..... 20  
 3.2 การศึกษาชนิดและปริมาณของสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับภายใน (internal standard) ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยวิธี HPLC... 25  
 3.3 การศึกษาชนิดของแร่ธาตุเสริมและชนิดของน้ำมันพืชที่เหมาะสมสำหรับการผลิต  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในชาวรูปข่มขู่..... 29

3.4 การศึกษาปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองที่เหมาะสมสำหรับการผลิต  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในระบบขวดเขย่า.....32

3.5 ศึกษาผลการผันแปรอัตราการงอกที่มีต่อการผลิต  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....34

3.6 ศึกษาผลการเพิ่มอัตราการให้อากาศที่มีผลต่อการผลิต  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....43

3.7 เปรียบเทียบการผลิต  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในระดับขวดเขย่า เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับแป้งมันสำปะหลังเป็น 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตร กับแหล่งคาร์บอนที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับซูโครสเป็น 50 ต่อ 50 กรัมต่อลิตร.....47

3.8 การศึกษาสัดส่วนของกลูโคสต่อซูโครส ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิต  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในระบบขวดเขย่า.....49

3.9 การศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิต  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในระบบขวดเขย่า.....51

3.10 ศึกษาผลของอัตราการงอกต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C เมื่อใช้ซูโครสกับกลูโคส หรือซูโครสเพียงชนิดเดียวเป็นแหล่งคาร์บอน.....53

3.11 ศึกษาผลของการเพิ่มอัตราการให้อากาศที่มีต่อการผลิต  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้ซูโครส 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน.....61

3.12 อิทธิพลของระดับน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักที่มีต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C.....67

3.13 ศึกษาผลของการควบคุมความเป็นกรดต่างตลอดการเพาะเลี้ยง ต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....76

3.14 ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากยีสต์ต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  โดยเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 82

3.15 การตรวจสอบประสิทธิภาพของเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ในวันที่ 3 8 13 16 และ 19....85



4 บทวิจารณ์และอภิปรายผลการทดลอง.....87

    สรุปผลการทดลอง.....92

เอกสารอ้างอิง.....93

ภาคผนวกที่

    1 สูตรอาหารที่ใช้ในการวิจัย.....98

    2 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย.....101

    3 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณจิบเบอเรลลิน โดยวิธี HPLC.....103

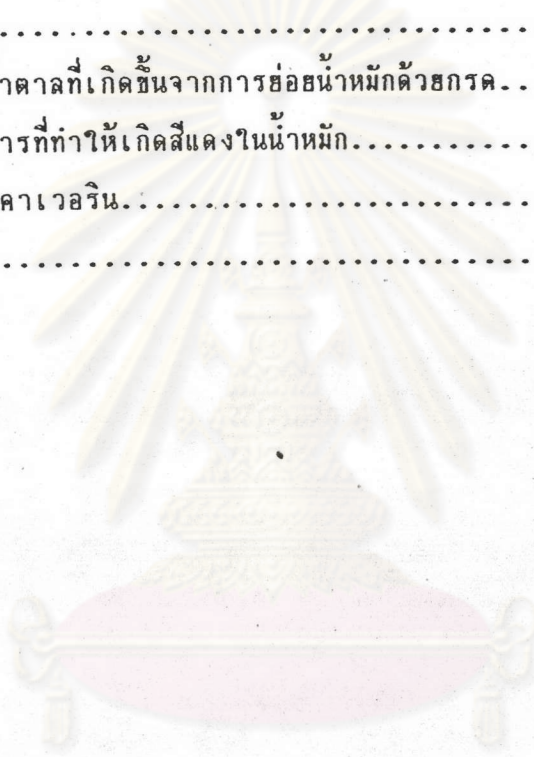
    4 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....106

    5 การตรวจสอบชนิดของน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการย่อยน้ำหมักด้วยกรด.....109

    6 การวิเคราะห์ชนิดของสารที่ทำให้เกิดสีแดงในน้ำหมัก.....110

    7 การวิเคราะห์ปริมาณไบคาเวอริน.....112

ประวัติผู้เขียน.....113



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1	องค์ประกอบและสภาวะในการเลี้ยงจุลินทรีย์ เพื่อผลิตจิบเบอเรลินในถังหมัก.....	6
2	เวลาที่ $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ อยู่ในคอลัมน์ (retention time) และค่าความสามารถในการแยกของผลิตภัณฑ์ที่อยู่ใกล้กัน (resolution) ในการตรวจวัดโดยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (HPLC).....	24
3	เวลาที่อยู่ในคอลัมน์ของสารต่างๆ ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับภายใน เมื่อตรวจวัดโดยวิธี HPLC กับคอลัมน์ $C_{18}$ .....	26
4	เปรียบเทียบผลการใช้ขี้มูลไม้เนียมออกไซด์ 0.10 กรัมต่อลิตร กับชนิดของน้ำมันพืชร้อยละ 0.2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ โดยเชื้อ <u>Gibberella fujikuroi</u> C .....	31
5	เปรียบเทียบผลการใช้ขี้มูลไม้เนียมออกไซด์ ร่วมกับซิงค์คลอไรด์และคอปเปอร์ซัลเฟต ในปริมาณ 0.5, 0.5 และ 0.10 กรัมต่อลิตรตามลำดับ กับชนิดของน้ำมันพืชร้อยละ 0.2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ โดยเชื้อ <u>Gibberella fujikuroi</u> C .....	31
6	ผลการผันแปรปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองต่อการผลิต $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ โดยเชื้อ <u>Gibberella fujikuroi</u> C .....	33
7	แสดงการเปรียบเทียบปริมาณจิบเบอเรลิน ( $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ ) ที่ผลิตได้ ปริมาณเซลล์ ปริมาณแหล่งคาร์บอนที่เหลือ และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงเชื้อรา <u>Gibberella fujikuroi</u> C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยแปรอัตราการกวนต่างๆกัน ตั้งแต่ 300 ถึง 700 รอบต่อนาที.....	42
8	เปรียบเทียบการใช้แหล่งคาร์บอนที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับแป้งมันสำปะหลังเป็น 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตร กับแหล่งคาร์บอนที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับซูโครสเป็น 50 ต่อ 50 กรัมต่อลิตร ต่อการผลิต $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ โดยเชื้อรา <u>Gibberella fujikuroi</u> C.....	48
9	เปรียบเทียบการผันแปรสัดส่วนของกลูโคสต่อซูโครส ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนต่อการผลิต $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ โดยเชื้อรา <u>Gibberella fujikuroi</u> C.....	50
10	เปรียบเทียบการผันแปรชนิดของสารแหล่งไนโตรเจนที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.54 กรัมต่อลิตร ต่อการผลิต $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ กับปริมาณไบคาเวอริน โดยเชื้อ <u>Gibberella fujikuroi</u> C ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยซูโครส 100 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน ในระบบขวดเช้า.....	52
11	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในถังหมัก เมื่อมีการเจริญของเชื้อรา <u>Gibberella fujikuroi</u> C เพื่อผลิต $GA_3$ , $GA_4$ และ $GA_7$ ที่อัตราการกวน 400 และ 500 รอบต่อ	

20	เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยจากตารางที่ 14 โดยวิธี Duncan.....	107
21	ปริมาณ GA <sub>3</sub> ที่เชื้อรา <u>Gibberella fujikuroi</u> C ผลิตในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีน้ำมัน ถั่วเหลืองปริมาณต่างๆ.....	108
22	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลจากตารางที่ 21.....	108
23	ค่าที่ใช้เปรียบเทียบความแตกต่างของ GA <sub>3</sub> ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันถั่วเหลือง ปริมาณต่างๆ.....	108
24	เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยจากตารางที่ 21 โดยวิธี Duncan.....	108
25	เคมีคัลชิฟท์(chemical shift) ของสารไบคาเวอริน โดยวิธีโปรตอนนิวเคลียร์ แมกเนติกเรโซแนนซ์.....	111

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1	1
2	2
3	3
4	4
5	4
6	16
7	16
8	22
9	23
10	27
11	28
12	36
13	37
14	

- เวลาต่างๆของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี อัตราการกวนเป็น 500 รอบต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับ แป้งมันสำปะหลัง 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน.....38
- 15 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิต ของจิบเบอเรลลิน( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยยะ เวลาต่างๆของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี อัตราการกวนเป็น 600 รอบต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับ แป้งมันสำปะหลัง 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน.....39
- 16 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิต ของจิบเบอเรลลิน( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ )และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยยะ เวลาต่างๆของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี อัตราการกวนเป็น 700 รอบต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับ แป้งมันสำปะหลัง 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน.....40
- 17 เปรียบเทียบปริมาณจิบเบอเรลลินชนิด  $GA_3$  ที่ผลิตในระยยะเวลาต่างๆกันของการเพาะ เลี้ยงเชื้อ Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อผันแปรอัตราการ กวนตั้งแต่ 300 ถึง 700 รอบต่อนาที(สรุปจากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 12 ถึง16).41
- 18 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ )และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยยะเวลา ต่างๆของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีอัตราการ กวนเป็น 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศเป็น 1.5 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับแป้งมันสำปะหลัง 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตรเป็น แหล่งคาร์บอน.....44
- 19 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C(น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ )และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยยะเวลา ต่างๆของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีอัตราการ กวนเป็น 700 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศเป็น 1.5 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับแป้งมันสำปะหลัง 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตรเป็น แหล่งคาร์บอน.....45
- 20 เปรียบเทียบปริมาณจิบเบอเรลลินชนิด  $GA_3$  ที่ผลิตในระยยะเวลาต่างๆกันของการเพาะเลี้ยง เชื้อ Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อผันแปรอัตราการกวน

กับอัตราการให้อากาศ (สรุปจากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 15 ถึง 19).....46

21 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน (GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> และ GA<sub>7</sub>)และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีอัตราการ  
 กวนเป็น 400 รอบต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับซูโครส 40 ต่อ 60  
 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน.....55

22 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน (GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> และ GA<sub>7</sub>)และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีอัตราการ  
 กวนเป็น 500 รอบต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสัดส่วนของกลูโคสกับซูโครส 40 ต่อ 60  
 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน.....56

23 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน (GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> และ GA<sub>7</sub>)และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีอัตราการ  
 กวนเป็น 400 รอบต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครส 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่ง  
 คาร์บอน.....57

24 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน (GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> และ GA<sub>7</sub>)และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีอัตราการ  
 กวนเป็น 500 รอบต่อนาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครส 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่ง  
 คาร์บอน.....58

25 เปรียบเทียบปริมาณจิบเบอเรลลินชนิด GA<sub>3</sub> ที่ผลิตในระยะเวลาต่างๆกันของการเพาะเลี้ยง  
 เชื้อ Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อผันแปรอัตราการกวน  
 และชนิดของแหล่งคาร์บอน (สรุปจากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 21 ถึง 24).....59

26 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน (GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> และ GA<sub>7</sub>)และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีอัตราการ  
 กวนเป็น 400 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที  
 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครส 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน.....63

27 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ

- จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีอัตราการ  
 กวนเป็น 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.5 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที  
 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครส 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน.....64
- 28 เปรียบเทียบปริมาณจิบเบอเรลลินชนิด  $GA_3$  ที่ผลิตในระยะเวลาต่างๆ กันของการเพาะ  
 เลี้ยงเชื้อ Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อผันแปรอัตรา  
 การกวนและอัตราการให้อากาศ (สรุปจากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 25 ถึง 27).....65
- 29 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี  
 การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ให้มึในถังหมักประมาณ 15 กรัมต่อลิตร.....68
- 30 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี  
 การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ให้มึในถังหมักประมาณ 20 กรัมต่อลิตร.....69
- 31 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี  
 การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ให้มึในถังหมักประมาณ 25 กรัมต่อลิตร.....70
- 32 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี  
 การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ให้มึในถังหมักประมาณ 30 กรัมต่อลิตร.....71
- 33 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี  
 การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวซ์ให้มึในถังหมักประมาณ 35 กรัมต่อลิตร.....72
- 34 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ผลผลิตของ  
 จิบเบอเรลลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆ ในระยะเวลา  
 ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มี

การควบคุมระดับน้ำตาลรีดิวส์ให้มีในถังหมักประมาณ 45 กรัมต่อลิตร.....73

35 เปรียบเทียบปริมาณจิบเบอเรลินชนิด  $GA_3$  ที่ผลิตในระยะเวลาต่างๆกันของการเพาะ  
เลี้ยงเชื้อ Gibberella fujikuroi C ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อควบคุม  
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในถังหมักให้อยู่ในระดับต่างๆกัน ตั้งแต่ 15 ถึง 45 กรัมต่อลิตร  
(สรุปจากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 29 ถึง 34).....74

36 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักรเซลแห้ง) ผลผลิตของ  
จิบเบอเรลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยะเวลา  
ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีการควบคุม  
ความเป็นกรดค่าที่ 3 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 72 จนถึงสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง.....78

37 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักรเซลแห้ง) ผลผลิตของ  
จิบเบอเรลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยะเวลา  
ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีการควบคุม  
ความเป็นกรดค่าที่ 4 ตลอดการเพาะเลี้ยง.....79

38 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักรเซลแห้ง) ผลผลิตของ  
จิบเบอเรลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยะเวลา  
ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีการควบคุม  
ความเป็นกรดค่าที่ 5 ตลอดการเพาะเลี้ยง.....80

39 แสดงการเจริญของเชื้อรา Gibberella fujikuroi C (น้ำหนักรเซลแห้ง) ผลผลิตของ  
จิบเบอเรลิน ( $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$ ) และการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆในระยะเวลา  
ต่างๆ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา Gibberella fujikuroi C ในสภาวะที่มีการเติมสาร  
ละลายของสารสกัดจากยีสต์ ในชั่วโมงที่ 300.....83

40 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ  $GA_3$  โดยวิธี HPLC ในน้ำหมักที่ผ่านการ  
สกัดแล้ว.....103

41 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ  $GA_4$  โดยวิธี HPLC ในน้ำหมักที่ผ่านการ  
สกัดแล้ว.....104

42 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ  $GA_7$  โดยวิธี HPLC ในน้ำหมักที่ผ่านการ  
สกัดแล้ว.....105

43 เปเปอร์โครมาโตแกรมของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อน้ำหมักด้วยกรดไฮโดรคลอริกเทียบกับ  
สารละลายมาตรฐานกลูโคสและมอลโตส โดยใช้ตัวทำละลายที่ประกอบด้วยสัดส่วนของ



โพรพานอลคือน้ำ เป็น 7 ต่อ 3.....	109
44 โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ของไบคาเวอริน.....	110
45 เปรียบเทียบโครมาโตแกรมของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตโดยเชื้อรา <u>Gibberella fujikuroi</u> C ในสภาวะที่มีการควบคุมความเป็นกรดต่างที่ 3 4 และ 5 ตลอดจนการเพาะเลี้ยง และ สภาวะที่ไม่มีการควบคุมความเป็นกรดต่าง กับสารละลายมาตรฐานของไบคาเวอริน.....	112



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## คำย่อ

- °C = องศาเซลเซียส  
% = เปอร์เซ็นต์  
มก. = มิลลิกรัม  
ชม. = ชั่วโมง  
pH = ความเป็นกรดด่าง  
HPLC = ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย