บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การศึกษารูปแบบการเจริญและประสิทธิภาพการผลิต GA_3 โดยสายพันธุ์กลายของเชื้อ *G. fujikuroi*

จากการศึกษาของขวัญฤทัย อินสวน(2539) ได้คัดเลือกสายพันธุ์กลายของเชื้อรา *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UNN-653 ซึ่งได้จากการปรับปรุงพันธุ์โดยอุษามาส วังชัยสุนทร (2538) มาเป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลตและ NTG จากงานวิจัยของขวัญฤทัยได้คัดเลือกเชื้อกลายพันธุ์ ได้ 3 สายพันธุ์ คือ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UV-354, UN-62 และ U2N-12 โดยการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่า ได้เท่ากับ 345, 368 และ 412 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ขวัญฤทัยได้รายงานว่าการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มว่าเชื้อราจะมีการเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกลดลงและไม่คงที่ แต่เมื่อนำเชื้อดังกล่าวกลับมาเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อยังคงสามารถเจริญเติบโตและผลิตกรดจิบเบอเรลลิกค่อนข้างคงที่

ดังนั้นในการทดลองนี้ จะทำการศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบการเจริญและประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกของเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UV-354, UN-62 และ U2N-12 กับ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UNN-653 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ตั้งต้น เมื่อเลี้ยงในระดับขวดเขย่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยเตรียมสปอร์ของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ตามวิธีการข้อ 2.4.1 และเตรียมหัวเชื้อตามสูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อตามภาคผนวกที่ ก 1.3 โดยใช้หัวเชื้ออายุ 48 ชั่วโมง แล้วถ่ายหัวเชื้อปริมาตรร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ของศุภชัย สมัปปิโต (2537) ตามภาคผนวกที่ ก 1.4 นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่า 300 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุกวันเป็นระยะเวลา 10 วัน นำน้ำหมักที่ได้มากรองและวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามวิธีการทดลอง ข้อ 2.6.2 นำน้ำหมักที่กรองได้มาวัดค่าความเป็นกรดด่าง ตามวิธีการข้อ 2.6.1 วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ ตามวิธีการข้อ 2.6.5 และวิเคราะห์ปริมาณ GA_3 ตามวิธีการข้อ 2.6.7 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3-1, 3-2, 3-3, และ 3-4 และในรูปที่ 3-1,

3-2, 3-3,3-4 และ 3-5 ตามลำดับ

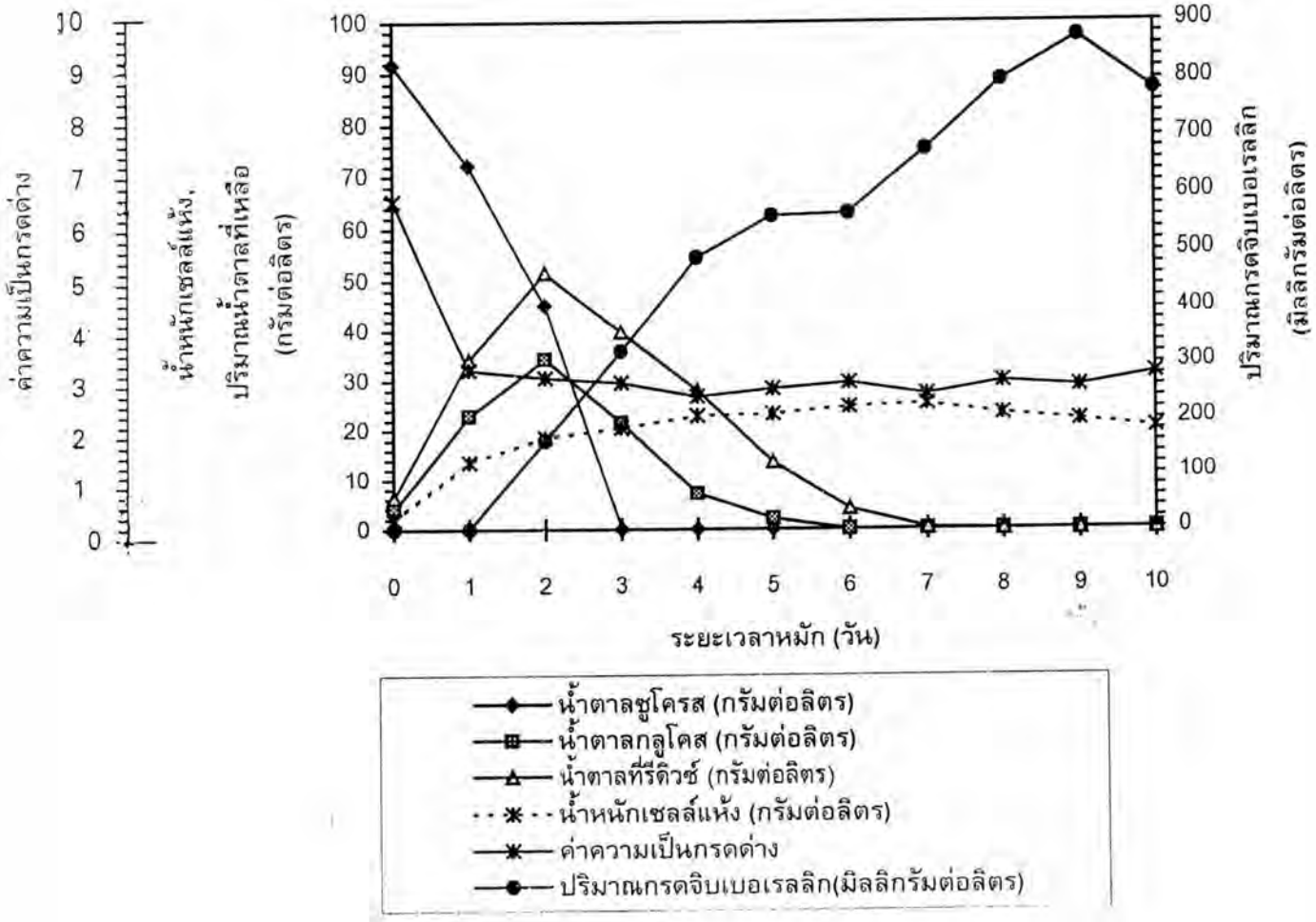
จากผลการทดลองพบว่า ทุกสายพันธุ์มีน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 มีประสิทธิภาพการผลิต GA_3 สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ ดังตารางที่ 3-3 และรูปที่ 3-3 นอกจากนี้เชื้อราสายพันธุ์ดังกล่าวยังเจริญเติบโตได้ดีกว่าและสามารถชักนำให้เกิดสปอร์ได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่น เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสำหรับชักนำให้สร้างสปอร์ ตามภาคผนวกที่ ก 1.2

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงคัดเลือก *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 มาศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม ในการเพิ่มปริมาณการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกให้สูงขึ้น เมื่อเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส โดยในขั้นต้นจะศึกษาในระดับขวดเขย่า จากนั้นจะนำสูตรอาหารที่เหมาะสมไปศึกษาประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยเลี้ยงเชื้อในระดับถังขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 3-1 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UNN-653 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	ซูโครส (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	GA_3 (มล./ล.)
0	91.73	3.91	6.33	1.85	6.53	0
1	72.18	22.98	34.17	13.61	3.22	0
2	45.11	34.40	51.55	18.51	3.06	162
3	0	21.55	39.76	20.46	2.96	323
4	0	7.18	27.98	22.94	2.68	490
5	0	2.01	13.62	23.31	2.84	562
6	0	0	3.98	24.76	2.96	567
7	0	0	0.25	25.31	2.73	678
8	0	0	0	23.46	2.98	798
9	0	0	0	22.14	2.89	**875**
10	0	0	0	20.56	3.14	782

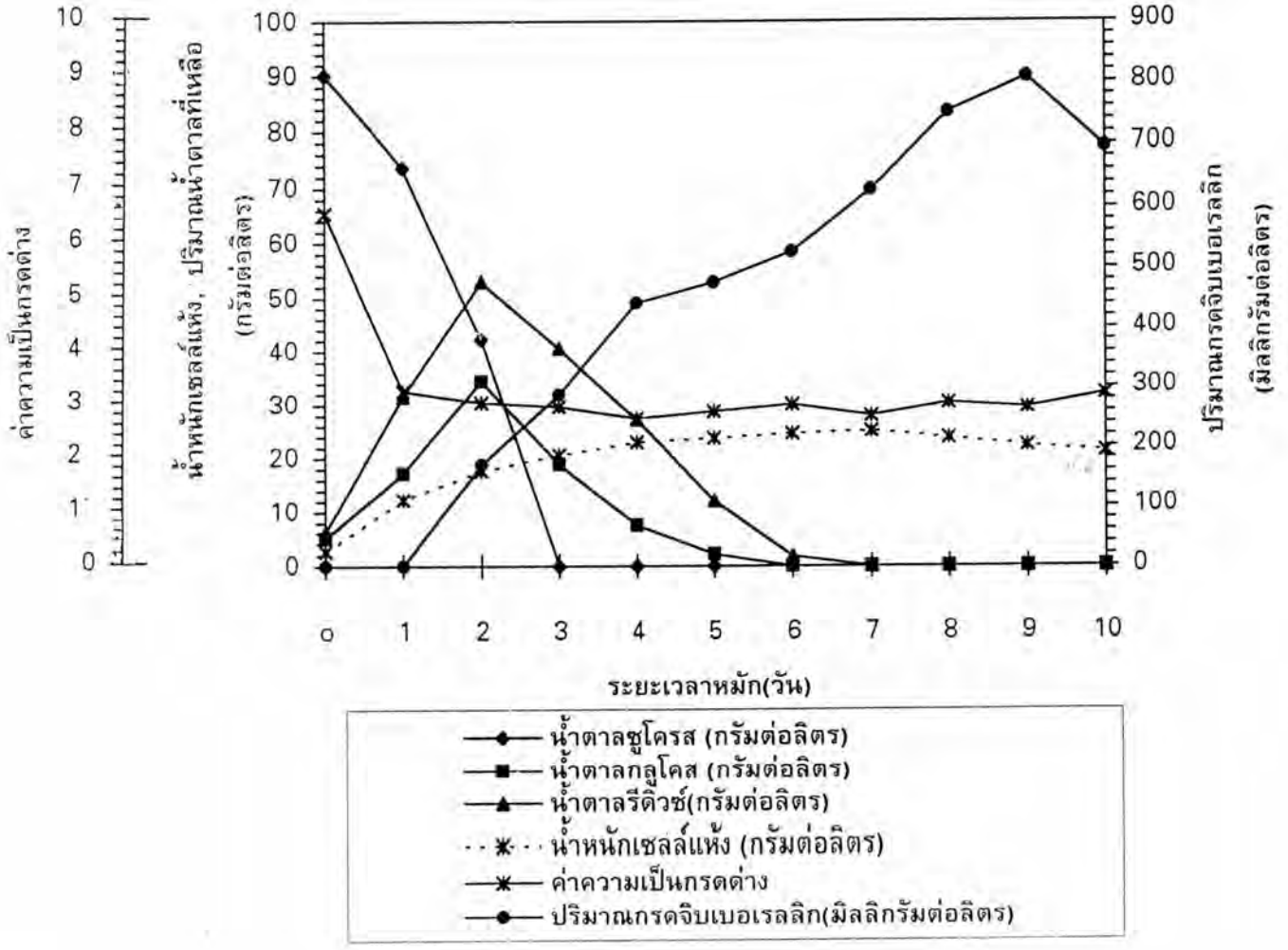
รูปที่ 3-1 ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ น้ำหนักเซลล์แห้ง และ ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UNN-653



ตารางที่ 3-2 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UV-354 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	ซูโครส (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	GA_3 (มล./ล.)
0	90.13	5.17	6.26	2.70	6.55	0
1	73.68	17.24	31.63	12.29	3.26	0
2	42.21	34.48	53.02	17.69	3.05	169
3	0	18.96	40.50	20.64	2.97	287
4	0	7.47	27.24	22.98	2.74	441
5	0	2.08	12.15	23.78	2.88	476
6	0	0	1.77	24.61	3.01	526
7	0	0	0	25.11	2.80	628
8	0	0	0	23.81	3.05	751
9	0	0	0	22.43	2.96	**808**
10	0	0	0	21.25	3.21	695

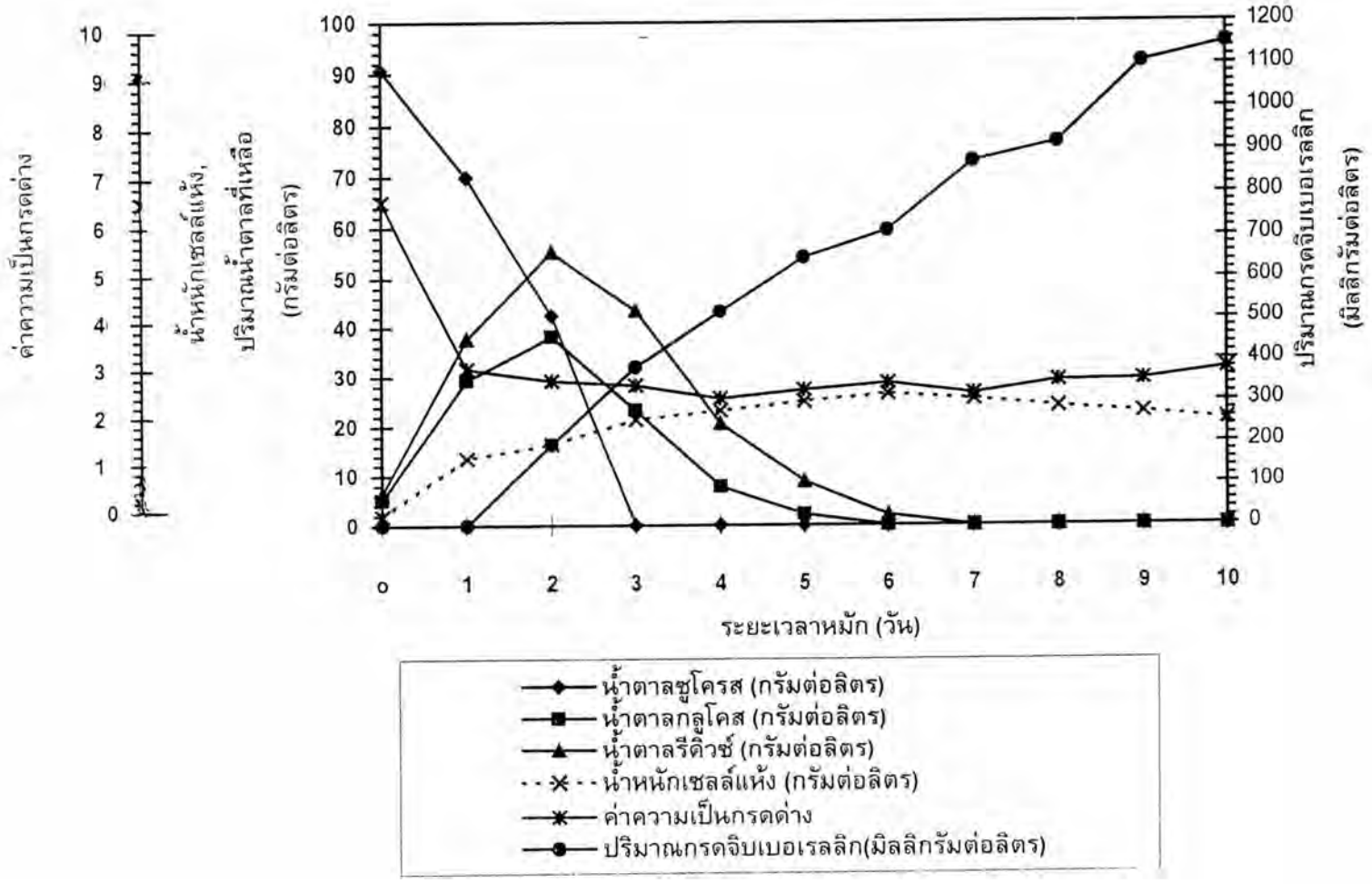
รูปที่ 3-2 ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ น้ำหนักเซลล์แห้ง
และปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกที่ผลิตโดย *G. fujikurol* UV-354



ตารางที่ 3-3 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือและปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	ซูโครส (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	GA_3 (มล./ล.)
0	90.72	5.17	6.33	1.87	6.50	0
1	69.92	29.31	37.70	13.57	3.16	0
2	42.41	38.07	55.23	16.49	2.92	198
3	0	23.28	43.45	21.45	2.83	384
4	0	7.76	20.62	23.21	2.56	518
5	0	2.16	8.84	25.02	2.74	650
6	0	0	2.06	26.49	2.87	713
7	0	0	0	25.47	2.66	875
8	0	0	0	23.94	2.92	919
9	0	0	0	22.85	2.94	1106
10	0	0	0	21.28	3.16	**1152**

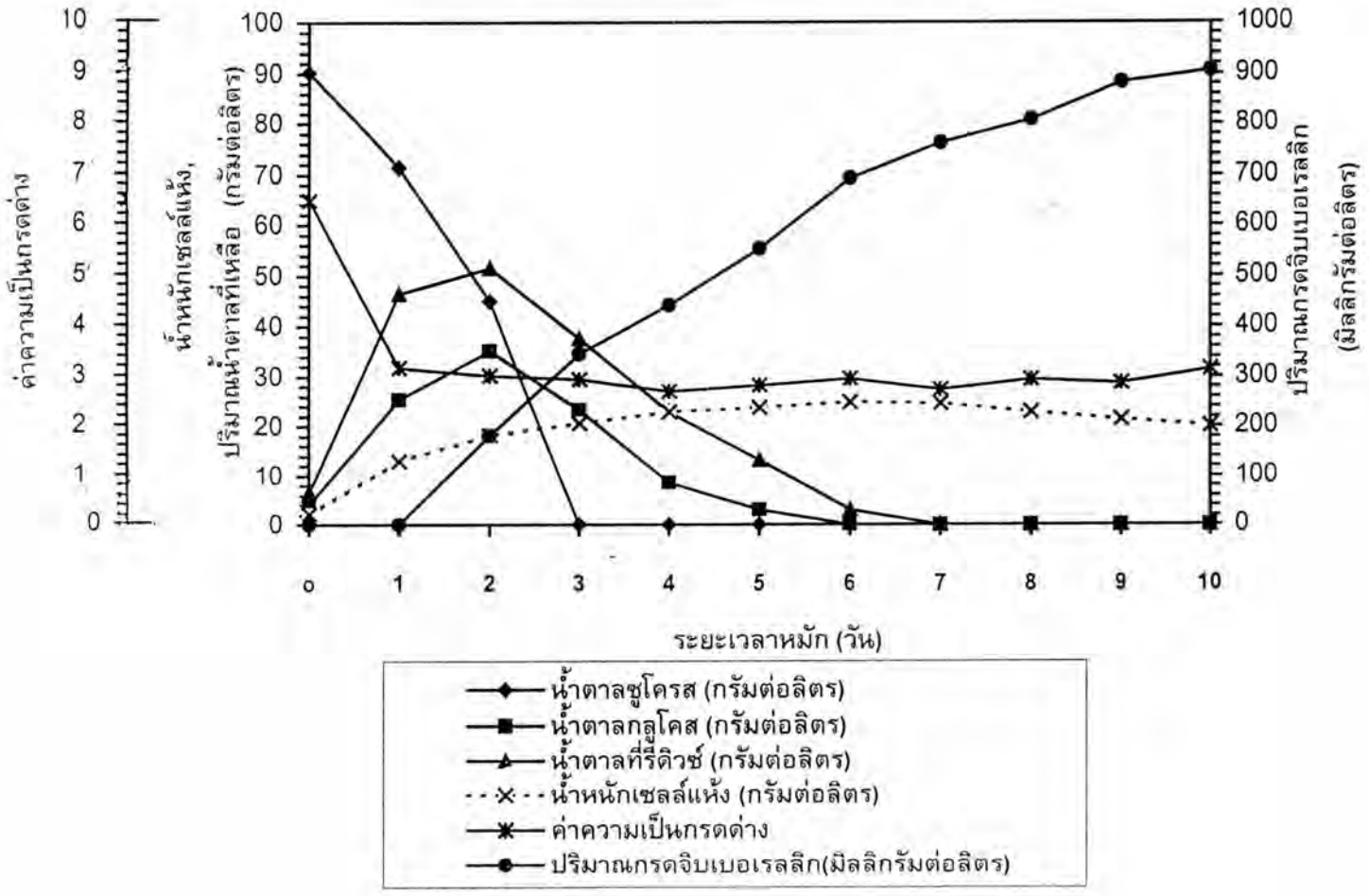
รูปที่ 3-3 ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ น้ำหนักเซลล์แห้ง
และปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62

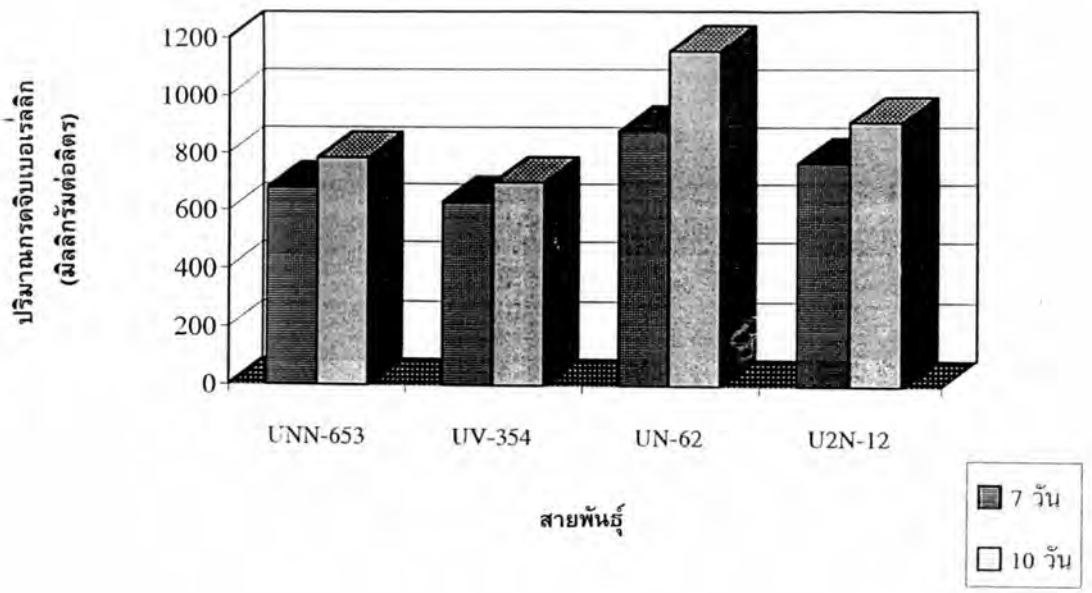


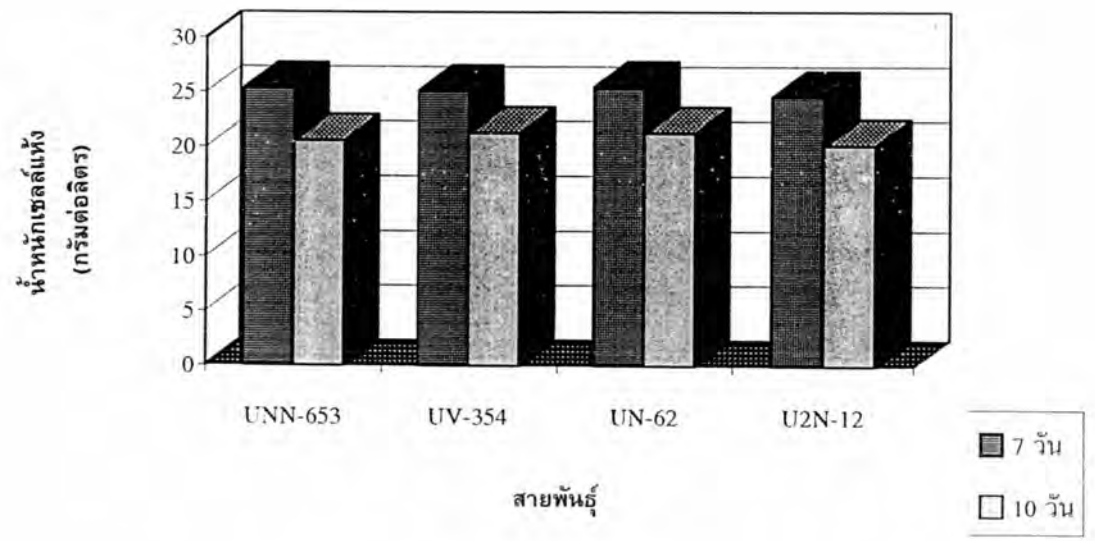
ตารางที่ 3-4 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ และปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ U2N-12 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	ซูโครส (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	GA_3 (มล./ล.)
0	90.22	4.25	6.63	2.23	6.48	0
1	71.43	25.29	46.39	13.00	3.18	0
2	44.97	35.20	51.55	18.15	3.02	182
3	0	23.28	37.56	20.59	2.94	346
4	0	8.62	22.88	22.93	2.70	443
5	0	3.01	13.25	23.79	2.82	554
6	0	0	3.02	24.88	2.96	693
7	0	0	0	24.56	2.74	763
8	0	0	0	22.94	2.95	809
9	0	0	0	21.44	2.87	884
10	0	0	0	20.12	3.15	**907**

รูปที่ 3-4 ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ น้ำหนักเซลล์แห้ง และ ปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกที่ผลิตโดย *G.fujikuroi* U2N-12







รูปที่ 3-5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์กลาย

3.2 การหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 ในระดับขวดเขย่า

3.2.1 ลักษณะการเจริญของ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

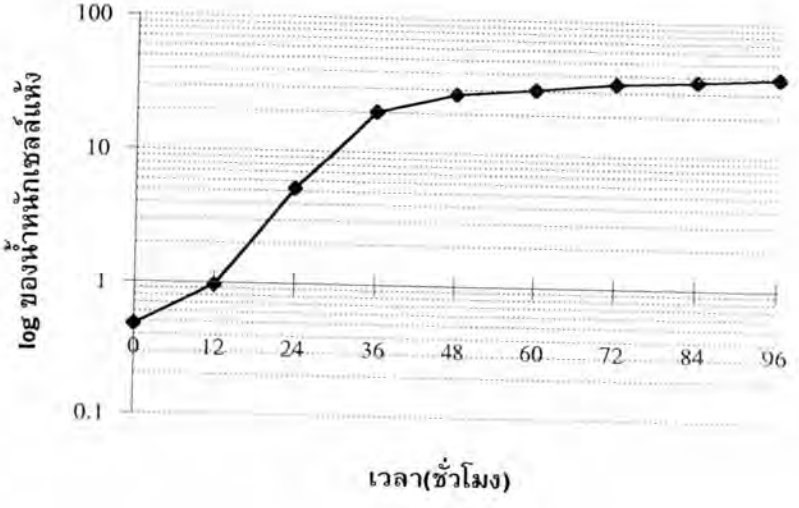
จากการศึกษาของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) ในการหาอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมของ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C เพื่อผลิต GA_3 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า อายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมอยู่ในระยะกึ่งกลางช่วงทวีคูณ ที่ 70-72 ชั่วโมง ต่อมา อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) รายงานว่า อายุของหัวเชื้อที่ระยะกึ่งกลางช่วงทวีคูณของเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ F4W-6(9) อยู่ที่ 60 ชั่วโมง ขณะที่ ศุภชัย สมัปปิโต (2537) รายงานว่า *G. fujikuroi* สายพันธุ์ N9-34 เจริญเข้าสู่ระยะกึ่งกลางช่วงทวีคูณ ที่เวลา 48 ชั่วโมง เป็นอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิต GA_3 ซึ่งสอดคล้องกับ อุษามาส วังชัยสุนทร (2538) และ ขวัญฤทัย อินสวน (2539) ที่ได้ศึกษาหาอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมของ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UNN- 653 ที่อุณหภูมิ 28 และ 33 อาศาเซลเซียส ตามลำดับ จากการศึกษาข้างต้นจึงชี้ให้เห็นว่าอายุหัวเชื้อในระยะกึ่งกลางช่วงทวีคูณ จะแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์และสูตรอาหารที่ใช้

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้หาอายุของของหัวเชื้อ *G. fujikuroi* UN-62 โดยเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อตามภาคผนวกที่ ก 1.3 ตามวิธีการทดลองในหัวข้อ 2.4.2 ติดตามการเจริญของราทุกๆ 12 ชั่วโมง จนครบ 96 ชั่วโมง โดยวิธีการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังแสดงในตารางที่ 3-5 และรูปที่ 3-5 พบว่า ในช่วงแรกของการเจริญ เชื้อจะอยู่ในระยะพัก (lag phase) จนถึงชั่วโมงที่ 12 จากนั้น เชื้อเริ่มเจริญเพิ่มปริมาณเซลล์อย่างรวดเร็ว และเข้าสู่ระยะช่วงทวีคูณในระหว่างชั่วโมงที่ 12-36 และมีระยะกึ่งกลางช่วงทวีคูณชั่วโมงที่ 24 มีน้ำหนักเซลล์ เท่ากับ 5.25 กรัมต่อลิตร แต่มีน้ำหนักเซลล์น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับอายุหัวเชื้อชั่วโมงที่ 48 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 27.45 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกใช้หัวเชื้อที่มีอายุ 48 ชั่วโมง ในการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมต่อไป

ตารางที่ 3-5 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเพาะเลี้ยงต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
0	0.48
12	0.95
24	5.25
36	19.97
48	27.45
60	30.32
72	34.16
84	36.04
96	38.84

รูปที่ 3-5 รูปแบบการเจริญของเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



3.2.2 การหาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก

จากรายงานของวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) ได้ศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C พบว่าการใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 1.90 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 1.89 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์และไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เหมาะสม เมื่อทำการหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในระดับขวดเขย่า ต่อมาศุภชัย สมัปปิโต (2537) ได้ศึกษาแหล่งไนโตรเจน 2 ชนิด คือ สารละลายของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วและย่อยด้วยกรดกำมะถัน และอีกชนิดคือสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน โดยให้มีปริมาณไนโตรเจนที่เท่ากัน คือ 1.14 กรัมต่อลิตร พบว่าให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 912 และ 926 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 7 ของการหมักในระดับขวดเขย่า ดังนั้น ศุภชัย สมัปปิโต จึงเลือกสารละลายกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันเป็นแหล่งไนโตรเจนในการหาสภาวะที่เหมาะสมในระดับถังหมัก ขนาด 5 ลิตร แต่เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนดังกล่าวเพาะเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าให้ผลผลิต GA_3 ต่ำ คือ 347 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน แต่กลับพบว่า เมื่อใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วและไม่ผ่านการย่อยปริมาณ 5.90 กรัมต่อลิตร หรือเทียบเท่าปริมาณไนโตรเจน 0.47 กรัมต่อลิตร กลับเป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่ดีกว่าสารละลายกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน โดยให้ผลผลิต GA_3 ที่สูงกว่า คือ 1091 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงในระยะเวลาเท่ากัน

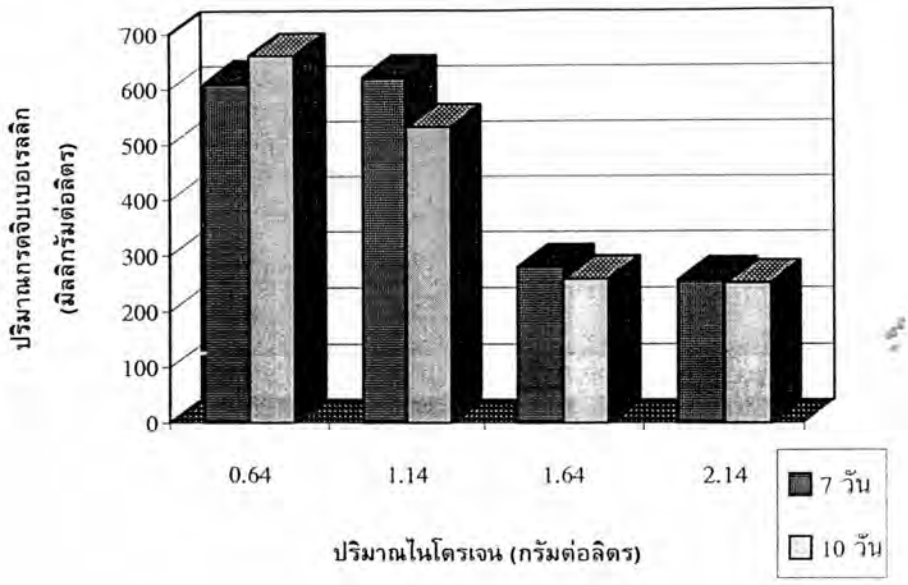
ดังนั้นในการทดลองนี้ จะหาแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-52 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารตามภาคผนวกที่ ก 1.5 โดยเปรียบเทียบระหว่างสารละลายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วกับสารละลายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากเมล็ดฝ้าย ให้มีปริมาณไนโตรเจนเป็น 0.64, 1.14, 1.64, และ 2.14 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 3-6, 3-7 และรูปที่ 3-7, 3-8 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบกับการใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วแต่ไม่ผ่านการย่อย โดยแปรผันปริมาณเป็น 1.24, 2.49, 3.73, 4.97, 5.90, 6.22 และ 7.46 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลการทดลองดังตารางที่ 3-8 และรูปที่ 3-9 ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่า กากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้วที่ไม่ผ่านการย่อยด้วยกรดกำมะถัน เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด ดังรูปที่ 3-10 โดยคิดเป็นปริมาณไนโตรเจน 0.47 กรัมต่อลิตร หรือเทียบเท่ากับปริมาณกากถั่วเหลือง 5.90 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด โดยให้ประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงเท่ากับ 918 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก ดังตารางที่ 3-8 และรูปที่ 3-9 ดังนั้นจึงเลือกใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.90 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน เพื่อนำไปใช้ในการหาปริมาณที่เหมาะสมของแอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ต่อไป

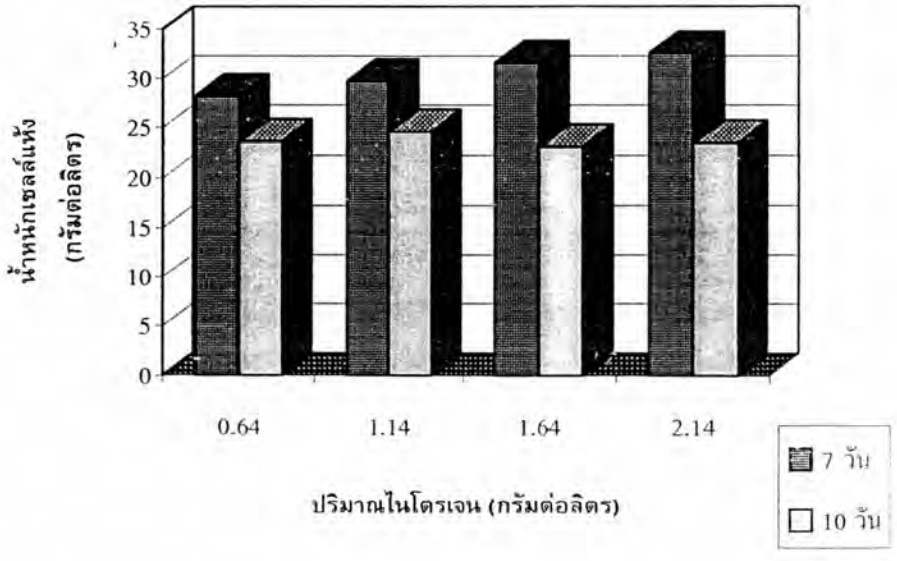
ตารางที่ 3-6 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณสารละลายกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้วและย่อยด้วยกรดกำมะถันให้มีปริมาณไนโตรเจน 0.64, 1.14, 1.64 และ 2.14 กรัมต่อลิตร

ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อ ลิตร)
0.64	7	3.22	28.18	610
	10	3.53	23.58	660
1.14	7	3.54	29.66	**620**
	10	4.32	24.58	531
1.64	7	5.52	31.52	278
	10	7.33	23.08	257
2.14	7	5.42	32.49	254
	10	7.46	23.46	249

ก



ข



รูปที่ 3-7 ผลของการแปรผันปริมาณสารละลายของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 0.64, 1.14, 1.64 และ 2.14 กรัมต่อลิตร

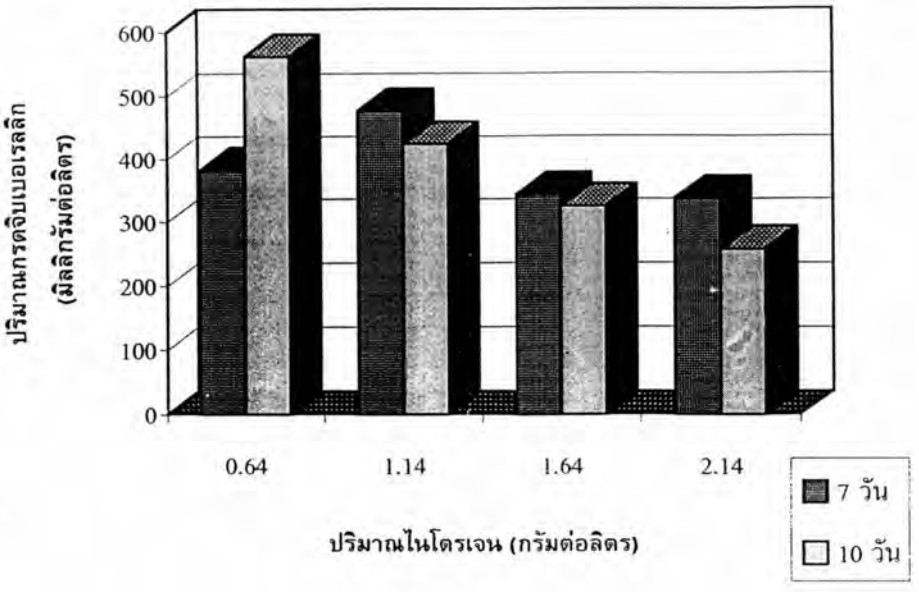
รูปที่ 3-7 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ผลิตได้

รูปที่ 3-7 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

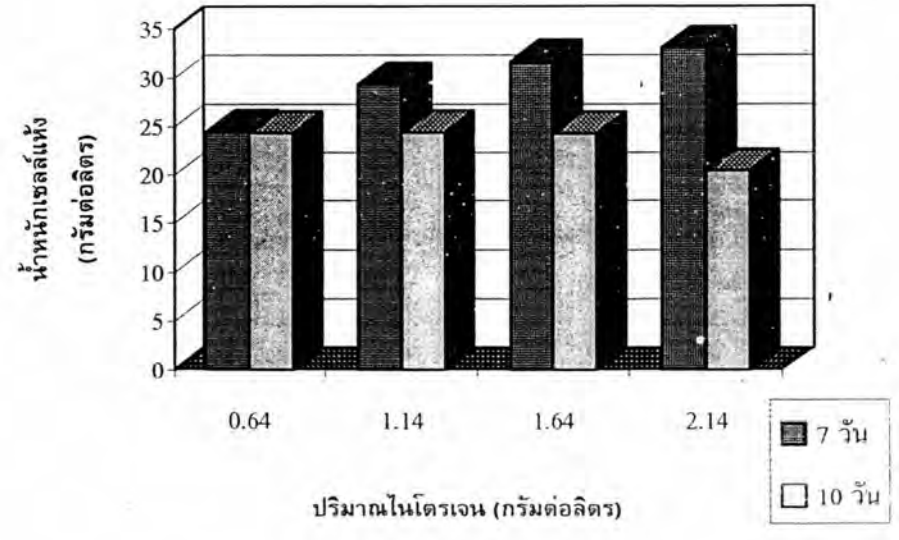
ตารางที่ 3-7 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณสารละลายกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ให้มีปริมาณไนโตรเจน 0.64, 1.14, 1.64 และ 2.14 กรัมต่อลิตร

ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
0.64	7	3.28	24.41	382
	10	3.17	24.26	561
1.14	7	3.33	29.26	**476**
	10	3.52	24.36	423
1.64	7	4.18	31.60	342
	10	4.54	24.18	324
2.14	7	4.89	32.97	336
	10	6.44	20.34	256

ก



ข



รูปที่ 3-8 ผลของการแปรผันปริมาณสารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน ที่มีปริมาณไนโตรเจน 0.64, 1.14, 1.64 และ 2.14 กรัมต่อลิตร

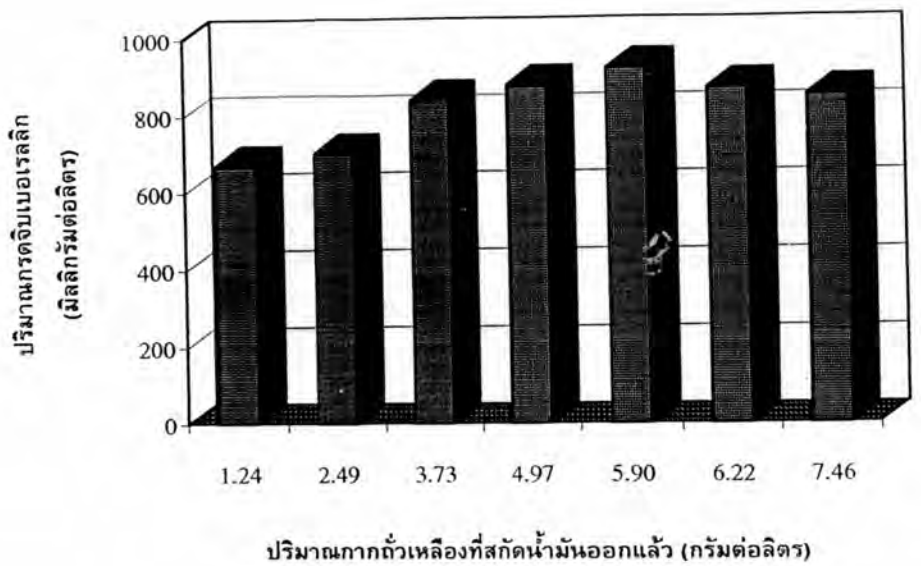
รูปที่ 3-8 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ผลิตได้

รูปที่ 3-8 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

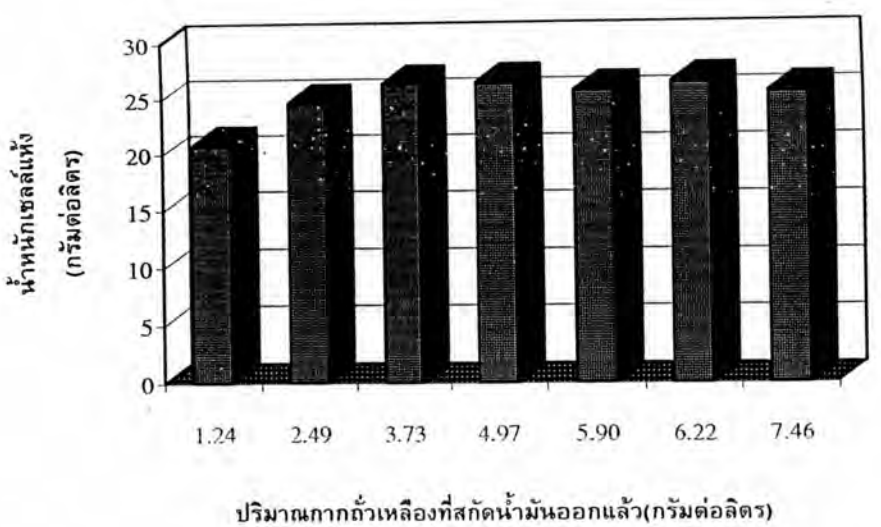
ตารางที่ 3-8 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G.fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว เป็น 1.24, 2.49, 3.73, 4.97, 5.90, 6.22, 7.46 กรัมต่อลิตร ระยะเวลาหมัก 7 วัน

ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกากถั่วเหลือง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
0.10	1.24	3.09	20.72	668
0.20	2.49	3.14	24.52	699
0.30	3.73	3.16	26.19	837
0.40	4.97	3.09	26.30	874
0.47	5.90	3.12	25.58	**918**
0.50	6.22	3.10	26.32	865
0.60	7.46	3.18	25.42	845

ก



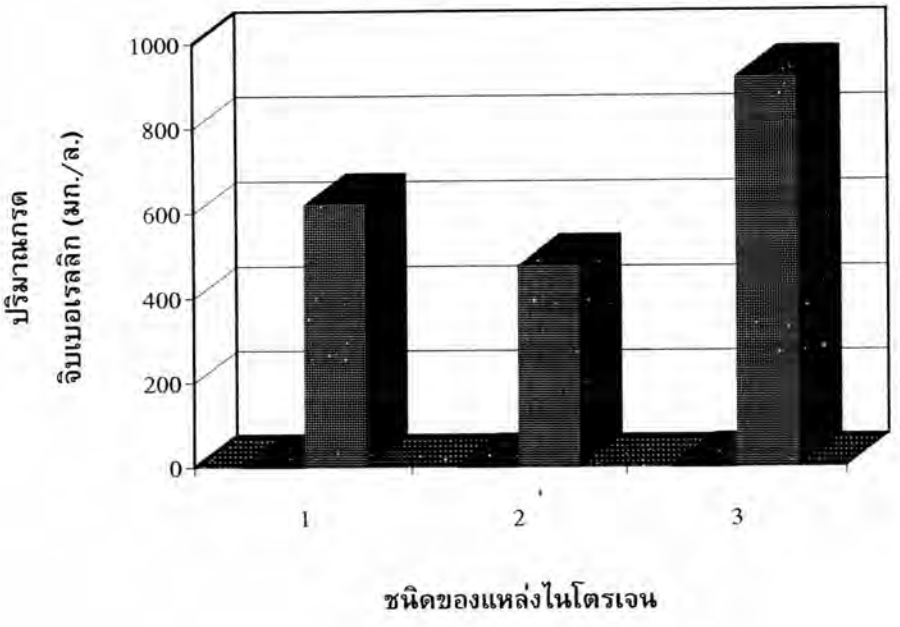
ข



รูปที่ 3-9 ผลของการแปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ให้มีปริมาณเป็น 1.24, 2.49, 3.73, 4.97, 5.90, 6.22, 7.46 กรัมต่อลิตร ระยะเวลาหมัก 7 วัน

รูปที่ 3-9 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ผลิตได้

รูปที่ 3-9 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง



ชนิดที่ 1 สารละลายกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้วและย่อยด้วยกรดกำมะถัน
ชนิดที่ 2 สารละลายกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน
ชนิดที่ 3 กากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้ว

รูปที่ 3-10 เปรียบเทียบผลของแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ 3 ชนิด
ต่อประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก

3.2.3 การหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

ธาตุไนโตรเจนมีความสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ซึ่งเป็นสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) มีรายงานว่า *G. fujikuroi* จะเริ่มสร้าง GA_3 เมื่อแหล่งไนโตรเจนหมด (Borrow *et al.*, 1961;Borrow *et al.*, 1964; Jeffery, 1970, อ้างถึงโดย Rybakov and Bourd,1991) Bruckner and Blechschmidt (1991) ได้รายงานว่าปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 19 มิลลิโมลาร์เป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 และให้ผลผลิตสูง ถึง 1,250 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *G. fujikuroi* m-567 เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 6 วัน จากการศึกษาหาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) พบว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 1.90 กรัมต่อลิตร เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดยเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และจากการหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดยเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ F4W-69 ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายของ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C โดยอัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) พบว่าปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 2.51 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 1.90 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม เมื่อทำการหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ต่อมา ศุภชัย สมัปปิโต (2537) ได้ศึกษาหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดยเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ N9-34 พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับสารละลายของกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้วที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร เชื้อสามารถผลิต GA_3 เท่ากับ 988 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 13 ของการหมักในระดับขวดเขย่า แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารที่ใช้สารละลายของกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันที่มีปริมาณไนโตรเจนเท่ากัน พบว่า ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมเพิ่มขึ้นเป็น 2.39 กรัมต่อลิตร โดยเชื้อสามารถผลิต GA_3 ได้สูงสุดเท่ากับ 1074 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการหมัก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ดังนั้นในการทดลองนี้จะหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดยเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 ในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวกที่ ก 1.6 ซึ่งมีกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.90 กรัมต่อลิตร หรือเทียบเท่ากับปริมาณไนโตรเจน 0.47 กรัมต่อลิตร โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เท่ากับ

0.0, 0.47, 0.95, 1.42, 1.89, 2.36, 2.84, และ 3.31หรือเทียบเท่ากับปริมาณไนโตรเจน เท่ากับ 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60, และ 0.70 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทำการหมักตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.5.1 ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3-9 และรูปที่ 3-11

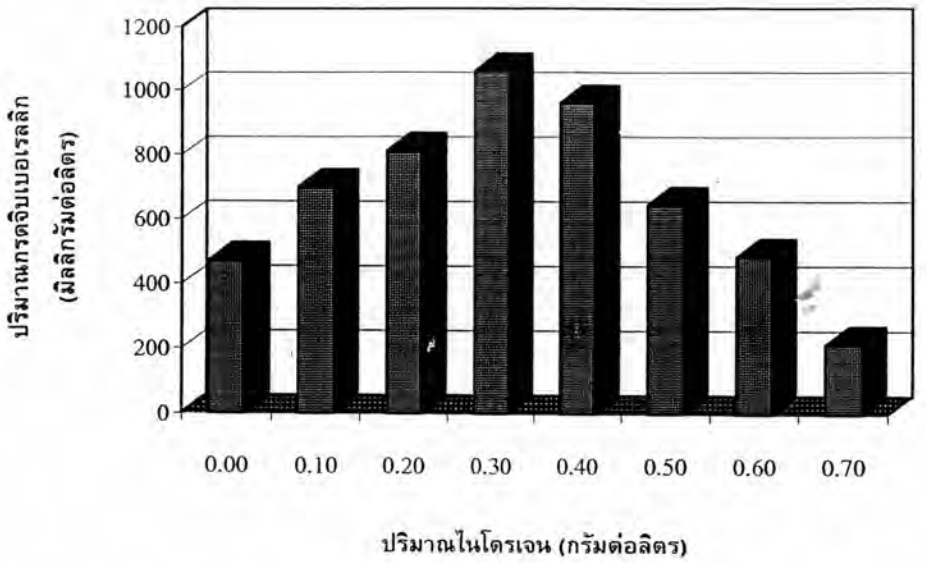
จากผลการทดลองเมื่อสังเกตลักษณะและสีของน้ำหมักที่ยังไม่ได้กรองเซลล์ออก พบว่า น้ำหมักมีสีเหลืองแกมส้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เพิ่มขึ้น และพบว่าปริมาณไนโตรเจน 0.30 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1.42 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตสูงสุด เท่ากับ 1,058 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อรวมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.90 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นปริมาณไนโตรเจน 0.47 กรัมต่อลิตร จะได้ปริมาณไนโตรเจนรวม เท่ากับ 0.77 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงจะใช้ปริมาณไนโตรเจนรวมดังกล่าวเป็นแหล่งไนโตรเจน เพื่อศึกษาหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อไป

ตารางที่ 3-9 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3ที่แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 0 , 0.47 , 0.95, 1.42 , 1.89, 2.36, 2.84, และ 3.31 กรัมต่อลิตร ระยะเวลาหมัก 7 วัน

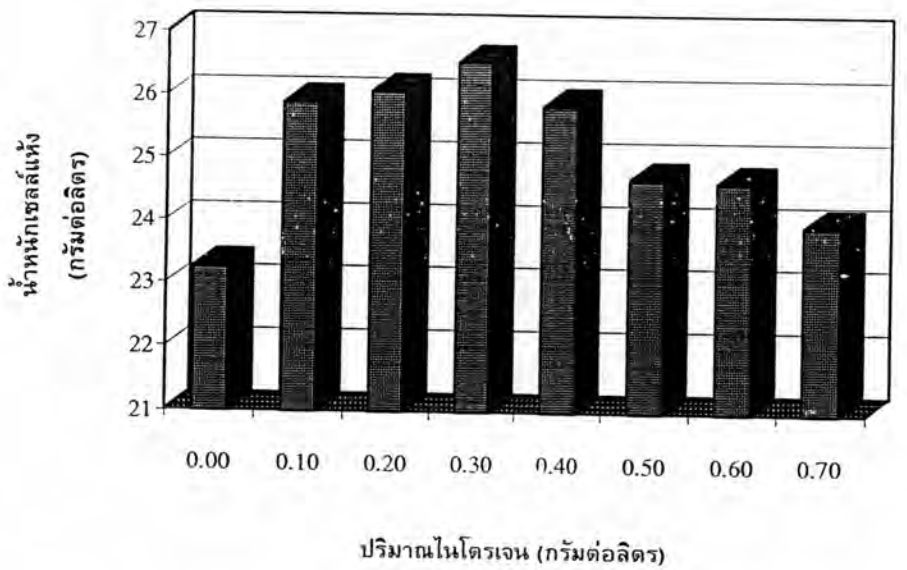
ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
-	-	5.36	23.25	470
0.10	0.47	4.43	25.88	699
0.20	0.95	3.75	26.06	811
0.30	1.42	3.36	26.53	**1058**
0.40	1.89	3.10	25.84	958
0.50	2.36	2.96	24.68	644
0.60	2.84	2.77	24.63	482
0.70	3.31	2.67	23.95	213

- หมายถึง ไม่เติมแอมโมเนียมซัลเฟต

ก



ข



รูปที่ 3-11 ผลของการแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว ซึ่งมีปริมาณไนโตรเจน 0.47 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 3-11 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ผลิตได้

รูปที่ 3-11 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.2.4 การหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

ในการผลิตจิบเบอเรลลิน มีรายงานการใช้แหล่งคาร์บอนหลายชนิด ได้แก่ กลูโคส ซูโครส แป้ง กลีเซอรอล แลกโตส กากน้ำตาล และน้ำมันพืช (Darken, *et al.*, 1959; Kumar and Lonsane,1989)Darken, Jenson and Shu (1959) รายงานการเลี้ยง *G. fujikuroi* CMI-917 ในสูตรอาหารที่ผสมกลูโคส แลกโตส และ กลีเซอรอล ในปริมาณ 10, 20 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ควบคุมอุณหภูมิที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน ได้ปริมาณ GA_3 สูงสุด เท่ากับ 880 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ Vass and Jeffery (1979)ได้รายงานว่าซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีกว่ากลูโคส และจากการศึกษาหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 ทางสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุศาสตร์ได้ทำการวิจัยมาอย่างต่อเนื่องมีลำดับดังนี้ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) พบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมของการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C ในระดับขวดเขย่า คือ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกลูโคสกับแป้งมันสำปะหลัง ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 กรัมต่อลิตร ต่อมาอรไท สุขเจริญ (2533) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลินในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครส 100 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ F4W-6(9) ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้ซูโครสร่วมกับน้ำมันถั่วเหลือง ที่มีสัดส่วน 100:60 เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 ศุภชัย สมัปปิโต (2537) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน โดย *G. fujikuroi* N9-34 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครส 100 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 0.20 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3

ดังนั้นในการทดลองนี้จะหาปริมาณซูโครสที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวก ก 1.7 โดยแปรผันปริมาณซูโครสเป็น 80, 100, 120, และ 140 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3-10 และรูปที่ 3-12

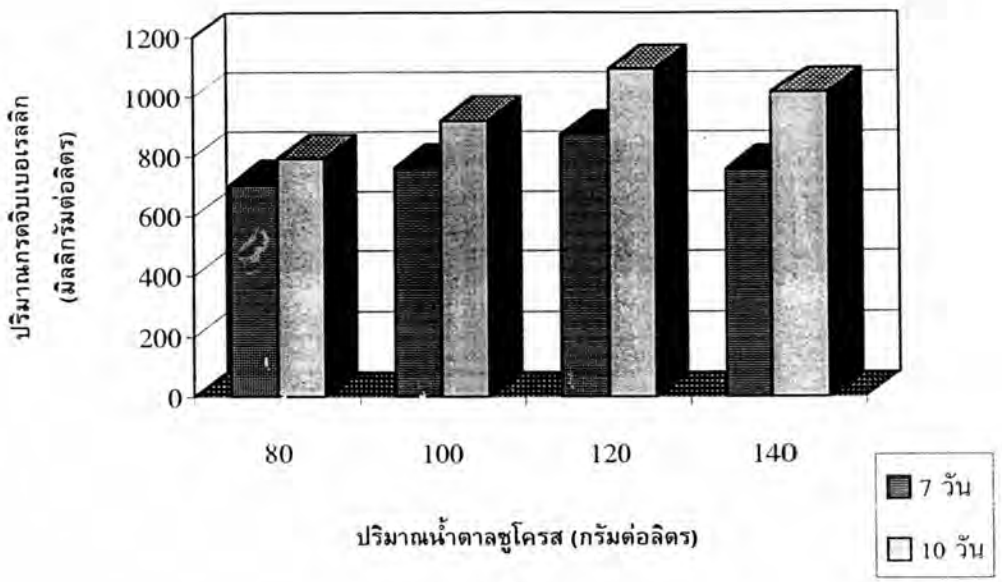
จากผลการทดลองในตารางที่ 3-10 และ 3-12 พบว่า ปริมาณซูโครส 120 กรัมต่อลิตร เหมาะสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* UN-62 ซึ่งให้ผลผลิต เท่ากับ 870 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และ 1,091 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่

10 ของการหมัก ซึ่งสูงกว่าเมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารที่มีซูโครส 80, 100, และ 140 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาการเจริญของเชื้อ พบว่า เชื้อมีการเจริญสูงขึ้น เมื่อปริมาณซูโครสเพิ่มขึ้น สังเกตจากปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งที่เพิ่มขึ้นดังตารางที่ 3-10 ส่วนค่าความเป็นกรดด่างไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกปริมาณซูโครส 120 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อศึกษาหาปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองต่อไป

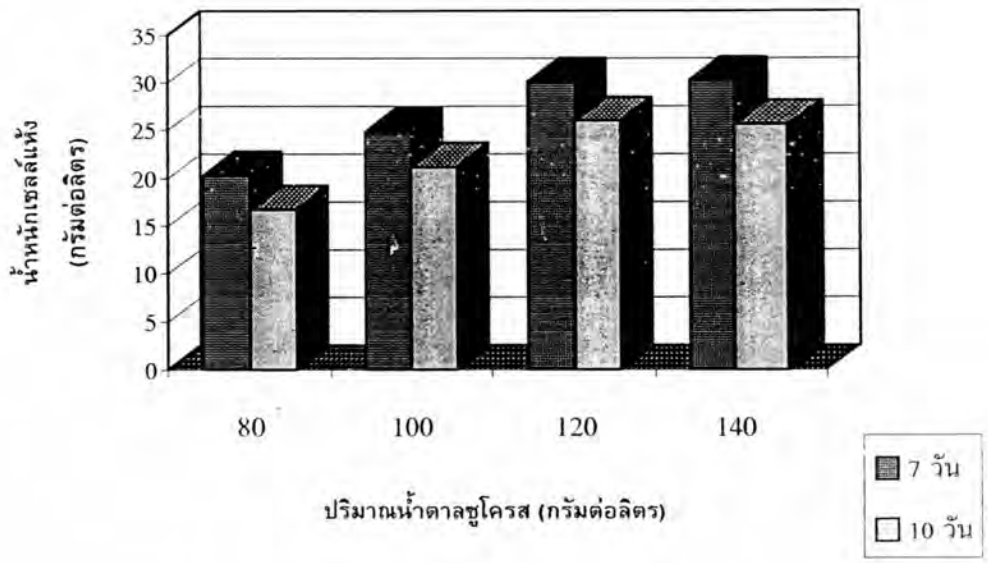
ตารางที่ 3-10 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3ที่แปรผันปริมาณซูโครส 80, 100, 120 และ 140 กรัมต่อลิตร

ปริมาณซูโครส (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาการหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	GA_3 (มก./ลิตร)
80	7	3.36	20.26	0.45	0.052	704
	10	3.65	16.68	0.40	0.038	790
100	7	3.40	24.75	0.54	0.052	758
	10	3.49	21.14	0.48	0.042	917
120	7	3.61	30.01	4.87	0.064	**870**
	10	3.40	25.94	0.52	0.030	**1091**
140	7	3.63	30.18	29.58	0.065	752
	10	3.50	25.57	0.61	0.10	1013

ก



ข



รูปที่ 3-12 ผลของการแปรผันปริมาณซูโครส 80, 100, 120 และ 140 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 3-12 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ผลิตได้

รูปที่ 3-12 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.2.5 การหาปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3

Kumar and Lonsane (1989) รายงานว่าการเติมน้ำมันพืช เช่น น้ำมันลินซีด น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันมะกอกหรือน้ำมันจากเมล็ดฝ้าย ในสูตรอาหารจะช่วยเพิ่มปริมาณการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ Bruckner และคณะ(1991)รายงานว่า การใช้น้ำมันดอกทานตะวันเป็นแหล่งคาร์บอนปริมาณ 80 กรัมต่อลิตร สามารถผลิต GA_3 ได้สูงถึง 1,200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเชื้อ *G. fujikuroi* 567 ระยะเวลาหมัก 10 วัน ในระดับขวดเขย่า โดยวิเคราะห์ปริมาณ GA_3 โดยวิธีฟลูออโรเมทริก (fluorometric method) ขณะที่อัครวิทย์ กาญจณโอภาษ (2536) พบว่า การใช้สูตรอาหารที่มีซูโครสและน้ำมันถั่วเหลืองปริมาณ 100 และ 60 กรัมต่อลิตร สามารถให้ปริมาณ GA_3 สูง เท่ากับ 1,362 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเชื้อ *G. fujikuroi* F4W-6(9) เมื่อเลี้ยงเชื้อในระดับถังหมัก 5 ลิตร เป็นเวลา 13 วัน

ดังนั้นในการทดลองนี้จะหาปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดยเชื้อ *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวก ก 1.8 โดยแปรผันน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 0, 1, 2, 3, 5, 7 และ 9 มิลลิลิตรต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร) ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3-11 และรูปที่ 3-13

จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำมันถั่วเหลือง 2 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร เหมาะสำหรับการผลิต GA_3 โดยให้ผลผลิตสูงสุด เท่ากับ 935 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และ 1,120 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการหมัก ส่วนค่าความเป็นกรดด่างไม่แตกต่างกัน

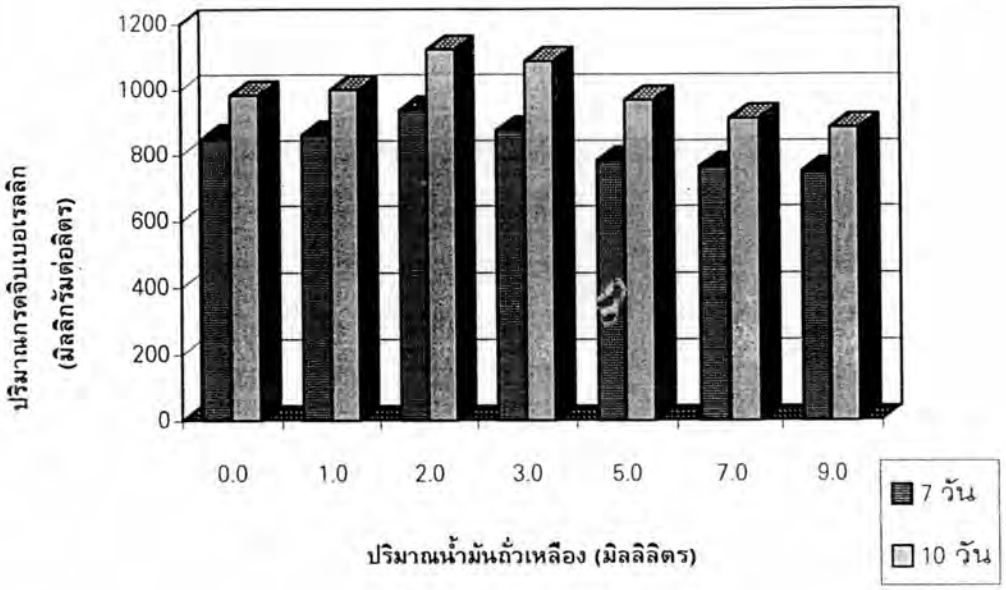
ดังนั้นจึงเลือกน้ำมันถั่วเหลืองปริมาณ 2 มิลลิลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อศึกษาหาปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อไป

ตารางที่ 3-11 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 0, 1 , 2, 3, 5, 7, และ 9 มิลลิลิตร ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

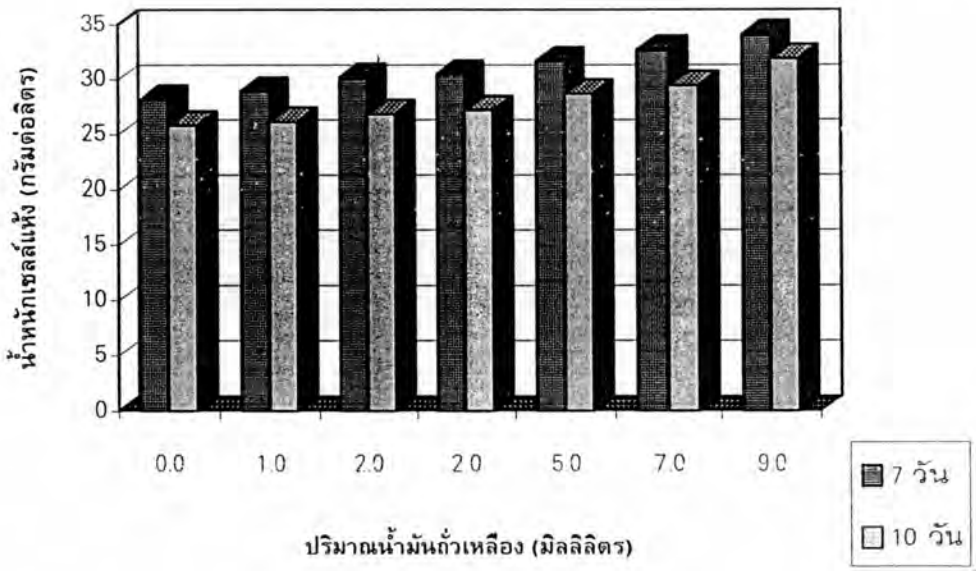
น้ำมันถั่วเหลือง (มิลลิลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
-	7	3.22	28.10	851
	10	3.13	25.76	982
1	7	3.22	28.83	860
	10	3.16	26.08	998
2	7	3.25	30.13	**935**
	10	3.18	26.78	**1120**
3	7	3.23	30.38	874
	10	3.20	27.14	1084
5	7	3.27	31.61	780
	10	3.27	28.67	967
7	7	3.28	32.69	762
	10	3.34	29.41	911
9	7	3.27	34.08	748
	10	3.36	31.86	882

- หมายถึง ไม่เติมน้ำมันถั่วเหลือง

ก



ข



รูปที่ 3-13 ผลของการแปรผันปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 0, 1, 2, 3, 5, 7, และ 9 มิลลิลิตรต่อปริมาตรอาหาร 1 ลิตร

รูปที่ 3-13 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ผลิตได้

รูปที่ 3-13 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.2.6 การหาปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

จากรายงานของ Borrow และคณะ (1961) พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 5.0 กรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดยเชื้อ *G. fujikuroi* (Saw) Wr. ACC 917 ซึ่งสอดคล้องกับวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) และศุภชัย สมัปปิโต (2537) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินจำเป็นต้องใช้แร่ธาตุ โพแทสเซียม ฟอสฟอรัสและแมกนีเซียม เพื่อช่วยเสริมการเจริญเติบโตและสร้างผลิตภัณฑ์ (Vass and Jeffery,1979 ; Stanbury and Whitaker,1989)

ดังนั้นในการทดลองนี้จะหาปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* UN-62 ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายของ *G. fujikuroi* UNN-653 โดยนำมาเลี้ยงในสูตรอาหารตามภาคผนวก ก 1.9 ที่มีการแปรผันปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็น 0, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, และ 9.0 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3-12 และรูปที่ 3-14

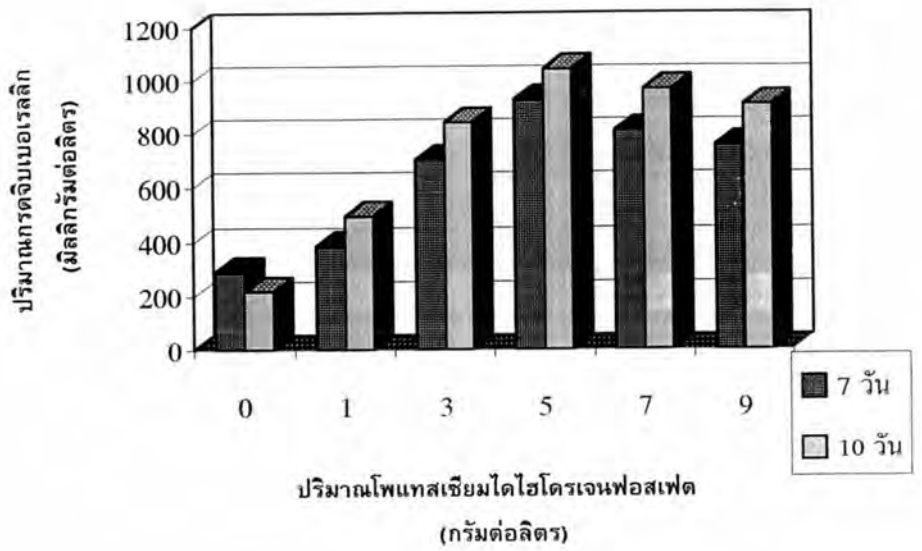
จากผลการทดลองในตารางที่ 3-12 และรูปที่ 3-14 พบว่า ปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 5.0 กรัมต่อลิตร เหมาะสำหรับการผลิตGA_3 ให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 927 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1,042 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 และ 10 ของการหมัก ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก และการเจริญของเชื้อแปรผันตามปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้นจนถึง 5.0 กรัมต่อลิตร ปริมาณเซลล์ลดลงเมื่อปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตสูงขึ้น เท่ากับ 7.0 และ 9.0 กรัมต่อลิตร และจากการสังเกตลักษณะของน้ำหมักพบว่า ปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตน้อยกว่า 3.0 กรัมต่อลิตร เชื้อรามีการเจริญน้อยและน้ำหมักมีสีส้ม ปริมาณตั้งแต่ 3.0 กรัมต่อลิตรขึ้นไป ลักษณะของน้ำหมักไม่เป็นสีแดงของรงควัตถุไบคาเวอริน (bikaverin) แต่จะจับตัวเป็นตะกอนสีแดงกระจายทั่วไปในน้ำหมัก

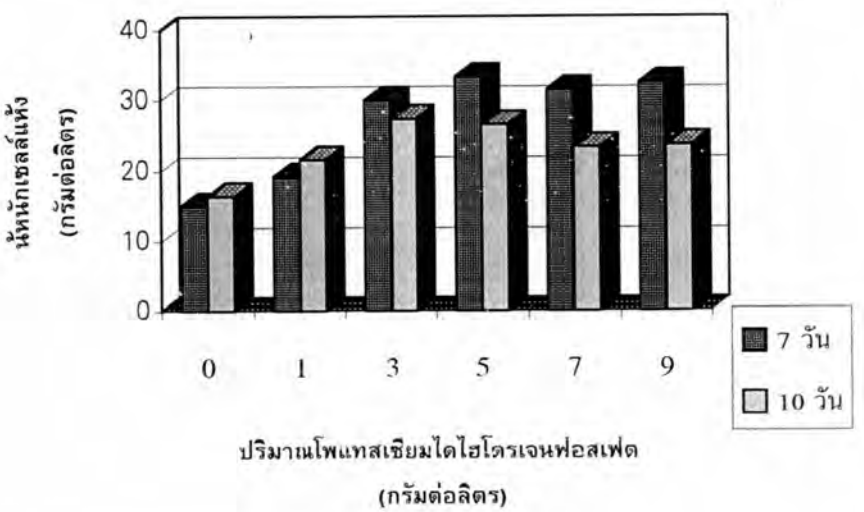
ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้จึงเลือกใช้โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ปริมาณ 5.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่เคยใช้อยู่แล้ว เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 เพื่อทำการทดลองต่อไป

ตารางที่ 3-12 ค่าความเป็นกรดด่าง, น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เป็น 0, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, และ 9.0 กรัมต่อลิตร

ปริมาณ KH_2PO_4 (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
-	7	2.37	14.88	291
	10	2.38	16.38	217
1	7	2.78	19.10	386
	10	2.79	21.56	495
3	7	3.29	29.92	701
	10	3.22	27.41	842
5	7	3.75	33.23	**927**
	10	3.64	26.53	**1042**
7	7	5.89	31.43	809
	10	4.80	23.32	966
9	7	5.18	31.43	754
	10	5.35	23.32	908

- หมายถึง ไม่เติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต





รูปที่ 3-14 ผลของปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 3-14 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้
รูปที่ 3-14 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.2.7 การหาปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

ในกระบวนการสังเคราะห์ของจิบเบอเรลลิน จำเป็นต้องมีธาตุโพแทสเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม เพื่อช่วยเสริมการเจริญและสร้างผลิตภัณฑ์ (Vass and Jeffery, 1979) และSponsel (1995) ได้รายงานว่า ธาตุแมกนีเซียมซัลเฟตหรือแมงกานีส ทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ในขั้นตอนการเปลี่ยนกรดเมวาโลนิก (mevalonic acid) เป็นเอนคัวรีน (ent-kaurene) ขณะที่ Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd. (1983) อ้างอิงใน Kumar and Losane (1989) รายงานว่า ในอาหารที่มีปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร เหมาะสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* NRRL 2633 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) ที่ใช้แมกนีเซียมซัลเฟตปริมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร เป็นองค์ประกอบของอาหารสำหรับผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C และศุภชัย สมัปปิโต (2537) ได้รายงานว่า ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร เหมาะสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ N9-34 เช่นเดียวกัน

ดังนั้นในการทดลองนี้ จะหาปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อนำมาเลี้ยงในสูตรอาหารสำหรับผลิต GA_3 ตามภาคผนวกที่ ก 1.10 โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเป็น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3-13 และรูปที่ 3-15

จากผลการทดลองในตารางที่ 3-13 และรูปที่ 3-15 พบว่าผลการทดลองสอดคล้องกับผลงานที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหน้านี้ คือ ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 ที่มีปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิต GA_3 สูงสุด ในการทดลองที่รายงานนี้ได้ปริมาณ GA_3 920 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และ 1,138 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการหมัก ส่วนการเจริญของเชื้อและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักไม่แตกต่างกันมากนัก

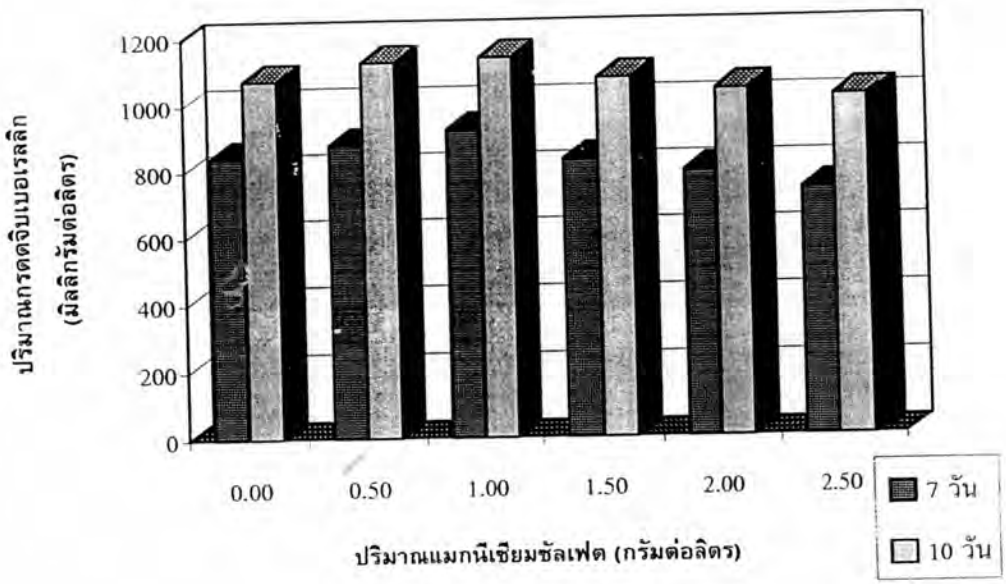
ดังนั้นจึงเลือกใช้แมกนีเซียมซัลเฟต เท่ากับ1.0 กรัมต่อลิตร เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 เพื่อทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 3-13 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 กรัมต่อลิตร

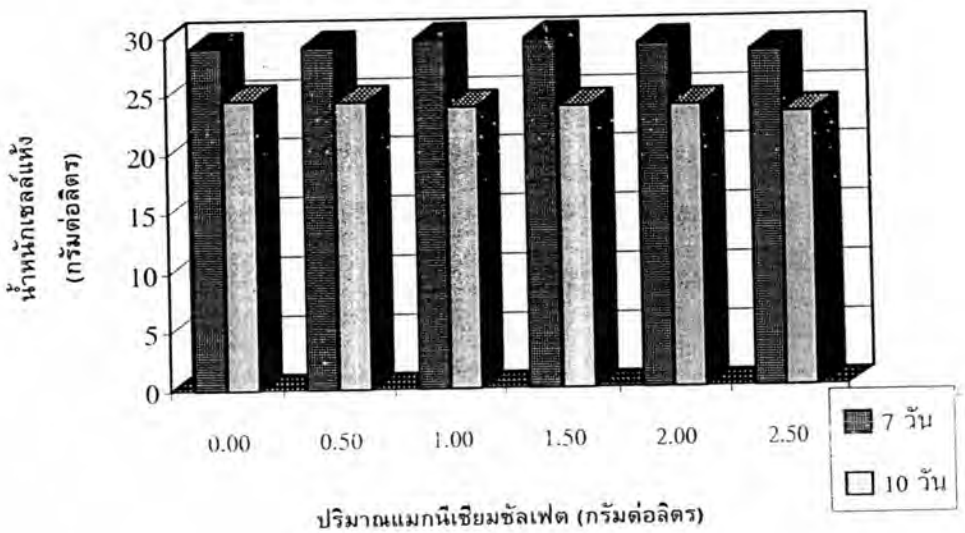
ปริมาณ $MgSO_4 7H_2O$ (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
-	7	3.52	29.02	838
	10	3.58	24.49	1072
0.5	7	3.47	29.07	876
	10	3.56	24.33	1126
1.0	7	3.42	29.65	**920**
	10	3.52	23.84	**1138**
1.5	7	3.44	29.62	828
	10	3.59	23.84	1073
2.0	7	3.42	29.13	790
	10	3.56	23.84	1036
2.5	7	3.45	28.42	733
	10	3.64	23.16	1012

- หมายถึง ไม่เติมแมกนีเซียมซัลเฟต

ก



ข



รูปที่ 3-15 ผลของการแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 3-15 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

รูปที่ 3-15 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.2.8 การหาปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3

อรไท สุขเจริญ (2533) ได้ศึกษาผลของธาตุอาหารเสริมที่มีต่อการผลิต GA_3 พบว่าการเติมอะลูมิเนียมออกไซด์ 0.10 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมต่อการผลิต GA_3 โดยเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C ทำการหมักที่ 25 องศาเซลเซียส ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร และให้ผลสอดคล้องกับศุภชัย สมัปปิโต (2537) โดยเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ N9-34 ทำการหมักที่ 25 องศาเซลเซียส

ดังนั้นในการทดลองนี้ จะหาปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ UN-62 เมื่อนำมาเลี้ยงในสูตรอาหารตามภาคผนวกที่ ก 1.11 ที่แปรผันอะลูมิเนียมออกไซด์ เท่ากับ 0, 0.10, 0.20, และ 0.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทำการหมักในสภาวะเช่นเดียวกับข้อ 3.1 ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3-14 และรูปที่ 3-16 จากผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 3-14 และรูปที่ 3-16 พบว่า ในสูตรอาหารที่มีอะลูมิเนียมออกไซด์ 0.10 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณ GA_3 สูงสุด เท่ากับ 971 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และ 1,120 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการหมัก ส่วนสูตรอาหารที่ไม่เติมอะลูมิเนียมออกไซด์และที่เติมอะลูมิเนียมออกไซด์ 0.20 และ 0.30 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณผลผลิต GA_3 น้อยกว่า และเมื่อสังเกตลักษณะการเจริญพบว่าปริมาณเซลล์ที่ได้และค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักไม่แตกต่างกัน

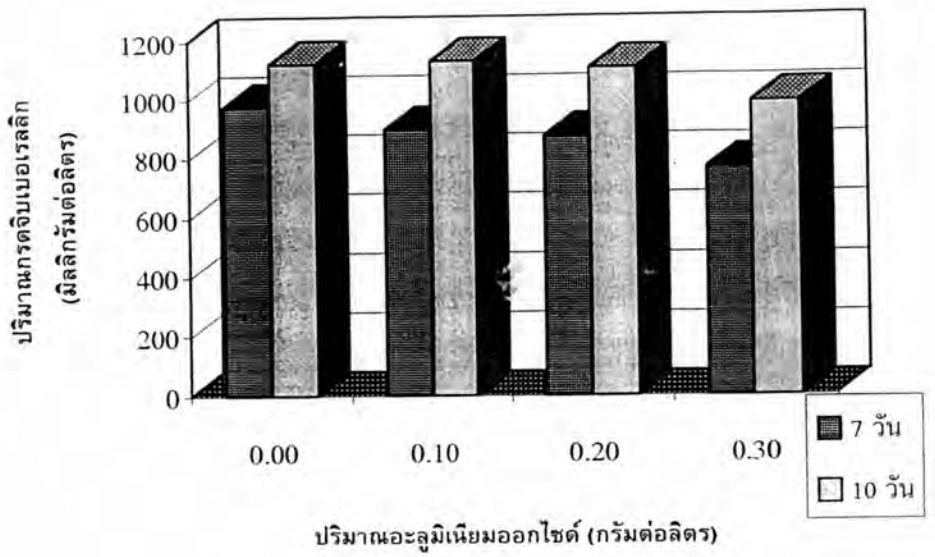
ดังนั้นจึงเลือก ปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ 0.10 กรัมต่อลิตร ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3 เพื่อทำการศึกษาหาค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อไป

ตารางที่ 3-14 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 ที่แปรผันปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ เท่ากับ 0, 0.10, 0.20, และ 0.30 กรัมต่อลิตร

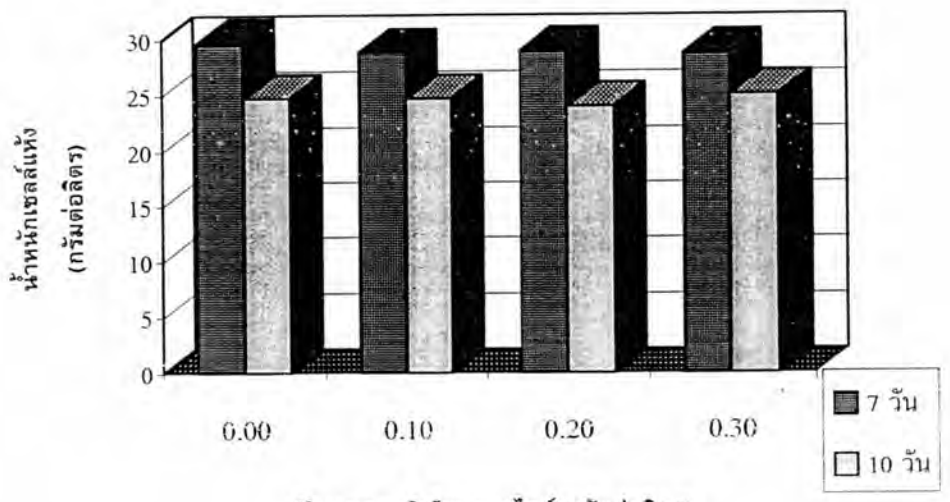
ปริมาณ Al_2O_3 (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาการหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก.ต่อลิตร)
-	7	3.64	28.55	826
	10	3.47	24.49	984
0.10	7	3.55	28.81	**971**
	10	3.48	24.41	**1120**
0.20	7	3.57	28.23	864
	10	3.42	24.14	1050
0.30	7	3.56	28.10	802
	10	3.39	24.74	856

- หมายถึง ไม่เติมอะลูมิเนียมออกไซด์

ก



ข



รูปที่ 3-16 ผลของการแปรผันปริมาณอะลูมิเนียมออกไซด์ เท่ากับ 0, 0.10, 0.20 และ 0.30 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 3-16 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้
รูปที่ 3-16 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.2.9 ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิต GA_3

ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่ง และมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อและการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก จากรายงานของวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) ได้ศึกษาค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C ในระดับขวดเขย่า พบว่า ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ 7.0 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) แต่ผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยใช้เชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ F4W-6(9) ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายของ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ C และสอดคล้องกับงานวิจัยของ ศุภชัย สมัปปิโต (2537) โดยเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* สายพันธุ์ N9-34 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ดังนั้นในการทดลองนี้ จะหาค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 โดย*G. fujikuroi* UN-62 โดยใช้สูตรอาหารตามภาคผนวกที่ ก 1.12 ทำการแปรผันค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.0, 6.5, 7.0, และ7.5 โดยใช้ภาวะการหมักตามวิธีการทดลองข้อ 2.5.1 ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3-15 และรูปที่ 3-17

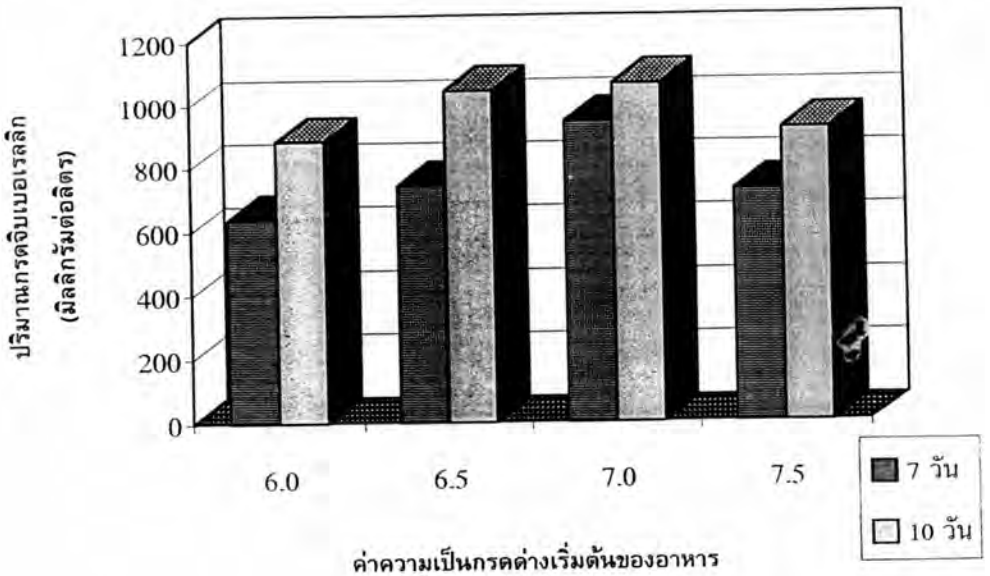
จากผลการทดลองในตารางที่ 3-15 และรูปที่ 3-17 พบว่า ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 7.0 ให้ผลผลิต GA_3 สูงสุด เท่ากับ 942 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก เมื่อสังเกตการเจริญของเชื้อพบว่าจะลดลงเมื่อค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารสูงกว่า 7.0 ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักภายหลังการบ่มเชื้อแปรผันตามค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเช่นกัน

ดังนั้นจึงยังคง ใช้ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหาร เท่ากับ 7.0 เพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตรต่อไป

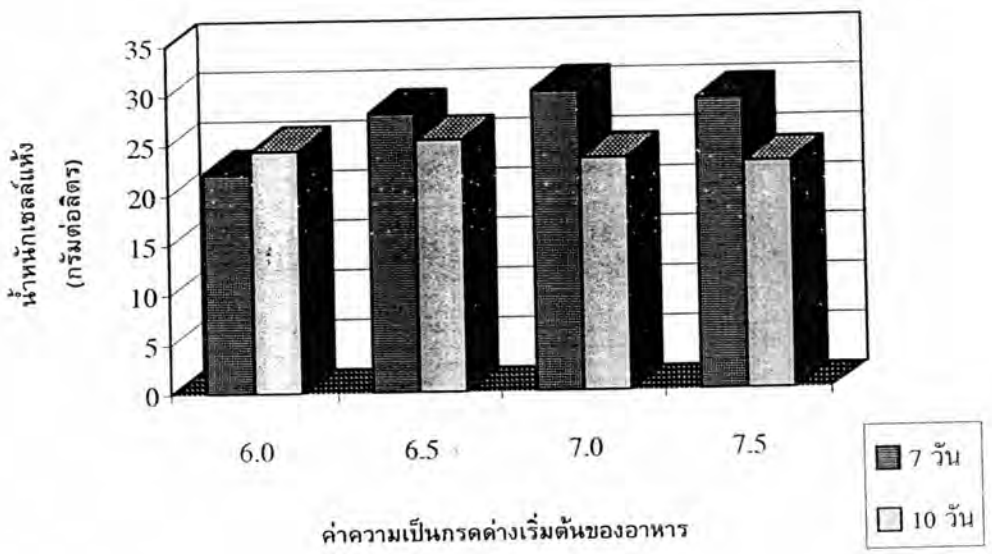
ตารางที่ 3-15 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับผลิต GA_3 แปรผันค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5

ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น	ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	GA_3 (มก. / ลิตร)
6.0	7	3.06	22.16	636
	10	3.04	24.40	882
6.5	7	3.32	28.06	740
	10	3.29	25.32	1042
7.0	7	3.74	30.19	942
	10	3.60	23.37	1062
7.5	7	4.36	29.21	724
	10	4.15	22.80	917

ก



ข



รูปที่ 3-17 ผลของการแปรผันค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิต GA_3

รูปที่ 3-17 ก แสดงผลที่มีต่อปริมาณ GA_3 ที่ผลิตได้

รูปที่ 3-17 ข แสดงผลที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.2.10 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต GA_3 ในอาหารสูตรเดิมและอาหารสูตรใหม่ที่ได้จากการศึกษานี้ ในระดับขวดเขย่า

ในการทดลองนี้จะเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต GA_3 ในอาหารสูตรเดิมของศุภชัย สมัปปิโต (2537)และอาหารสูตรใหม่ที่ได้จากการศึกษานี้ ในระดับขวดเขย่า โดยนำเชื้อ *G. fujikuroi* UN-62 ที่เจริญเต็มที่มาชักนำให้สร้างสปอร์โดยเขี่ยลงบนอาหารแข็งแอซีเทต สำหรับชักนำให้สร้างสปอร์(ภาคผนวก ก 1.2) และเตรียมสปอร์ตามวิธีการข้อ 2.4.1 นำไปเตรียมหัวเชื้อตามสูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (ภาคผนวก ก 1.3) ตามวิธีการข้อ 2.4.2 โดยใช้หัวเชื้ออายุ 48 ชั่วโมง ถ่ายหัวเชื้อปริมาตรร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงในสูตรอาหารสำหรับผลิตGA_3ของศุภชัย สมัปปิโต(2537)และในสูตรอาหารใหม่ที่ได้จากการศึกษานี้ ดังแสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 3-16 นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างในวันที่ 7 และ 10 ของการหมัก นำน้ำหมักที่กรองได้มาวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง

จากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3-17 เมื่อเลี้ยง *G. fujikuroi* UN-62 ในสูตรอาหารใหม่ที่ได้จากการศึกษานี้พบว่า เชื้อสามารถผลิต GA_3 ได้สูงกว่าเมื่อเลี้ยงในสูตรเดิมประมาณร้อยละ 23 ทั้งในวันที่ 7 และ 10 ของการหมัก ดังนั้นในการทดลองต่อไปจะนำสูตรอาหารทั้ง 2 สูตร ไปศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* UN-62 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 3-16 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิต GA_3 ที่ได้จากการศึกษาในระดับขวดเขย่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

สูตรอาหารของศุภชัย สมัปปิโต (กรัมต่อลิตร)		สูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้ (กรัมต่อลิตร)
น้ำตาลซูโครส	100	120
แอมโมเนียมซัลเฟต	1.89	1.42
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	5.0	5.0
แมกนีเซียมซัลเฟต	1.0	1.0
อะลูมิเนียมออกไซด์	0.10	0.10
กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว	5.90	5.90
น้ำมันถั่วเหลือง (มล.)	2.0	2.0
ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น	7	7

ตารางที่ 3-17 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต GA_3 ในสูตรอาหารเดิมและสูตรอาหารที่ได้จากการศึกษานี้

	ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ GA_3 (มก./ลิตร)
สูตรอาหารเดิม	7	3.14	24.94	886
	10	3.21	22.22	915
สูตรที่ได้จากการศึกษานี้	7	3.46	30.78	1090
	10	3.33	27.01	1132

3.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต GA_3 ในสูตรอาหารเดิมและสูตรอาหารใหม่ที่ได้จากการศึกษานี้ ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต GA_3 โดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยง ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ตามวิธีการทดลองข้อ 2.5.2 ในอาหารสูตรเดิมและสูตรใหม่ ผลการทดลองการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตGA_3 ในอาหารสูตรเดิมแสดงดังตารางที่ 3-18 และรูปที่ 3-18 พบว่า เชื้อจะเริ่มผลิต GA_3 ในวันที่ 4 ของการหมัก และเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น การผลิต GA_3 เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยผลิตได้ 884 และ 1056 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 และ 10 ของการหมักตามลำดับ เชื้อใช้น้ำตาลหมดในวันที่ 8 ของการหมัก ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักจะลดลงเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น และเริ่มเพิ่มขึ้นในวันสุดท้ายของการหมัก เนื่องจากเซลล์เริ่มสลาย (autolysis) ส่วนในอาหารสูตรใหม่แสดงดังตารางที่ 3-19 และรูปที่ 3-19 พบว่า เชื้อเริ่มผลิต GA_3 ในวันที่ 3 ของการหมัก และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เช่นกัน โดยให้ผลผลิต GA_3 เท่ากับ 674 และ 1232 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 และ 10 ของการหมัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ยังคงเหลือเล็กน้อย ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักไม่แตกต่างจากสูตรเดิมมากนัก เมื่อเปรียบเทียบในระยะเวลาหมักเดียวกัน

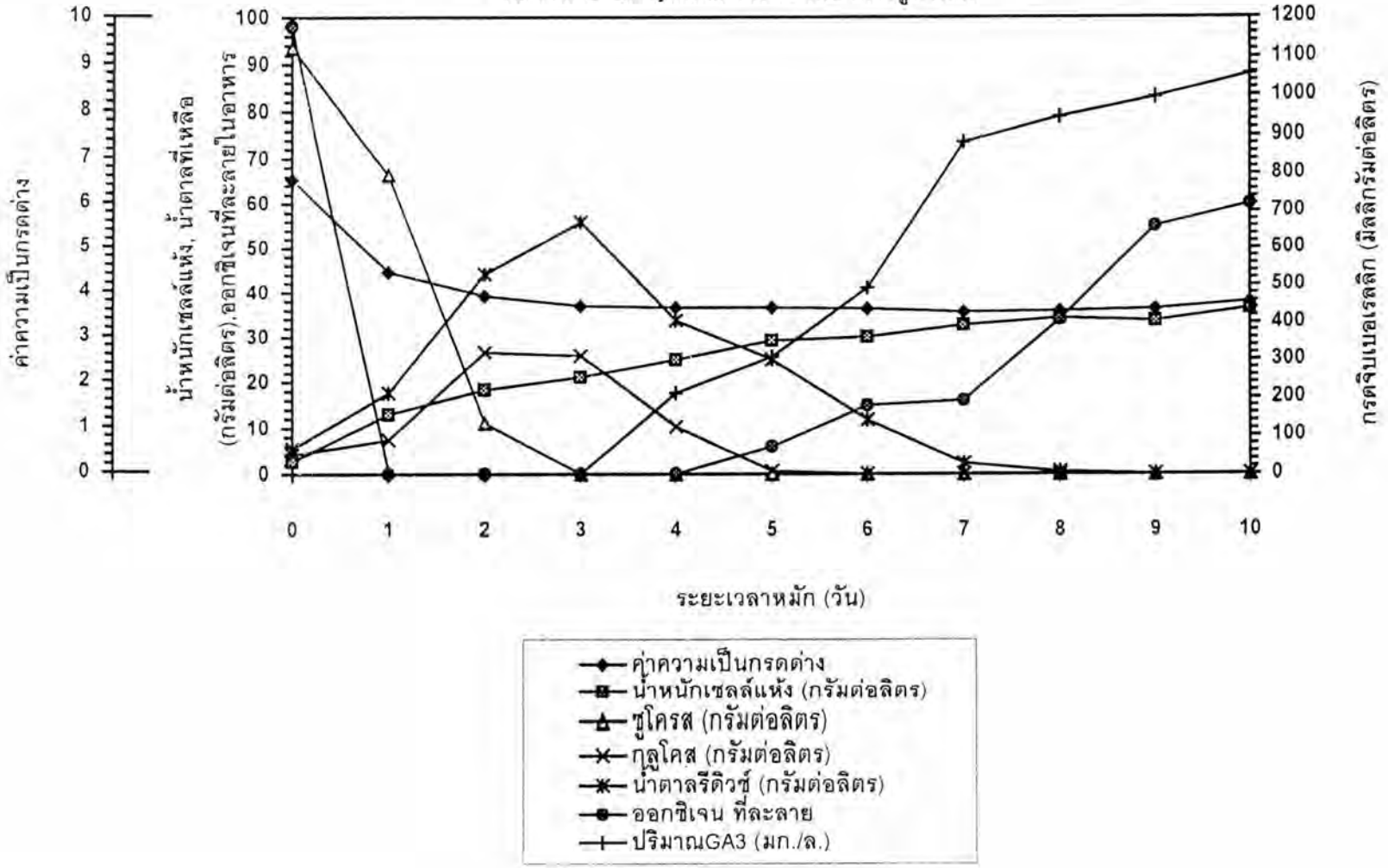
เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบการผลิต GA_3 จากการเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารทั้ง 2 พบว่า สูตรอาหารเดิมกลับให้การผลิตเร็วกว่าสูตรอาหารใหม่ โดยมีปริมาณ GA_3 เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังวันที่ 3 จนถึงวันที่ 7 ของการเลี้ยงเชื้อ พร้อมทั้งการลดลงของปริมาณกลูโคสที่สอดคล้องกัน จากนั้นอัตราเร็วของการผลิตลดลง ขณะที่สูตรอาหารใหม่ให้อัตราการผลิตต่ำกว่าและการลดลงของปริมาณกลูโคสก็ค่อนข้างช้ากว่าเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามอัตราเร็วของการผลิต GA_3 ยังคงที่แม้จะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลานานถึง 10 วัน ดังนั้นถ้ามีการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิต GA_3 ด้วยสูตรอาหารใหม่ในถังหมัก คาดว่าจะเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในระดับขยายส่วนต่อไป

ตารางที่ 3-18 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายและปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม ในระดับถังหมัก 5 ลิตร

ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ซูโครส (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ออกซิเจนที่ละลาย	ปริมาณ GA_3 (มก./ล.)
0	6.54	2.68	93.56	4.13	5.44	98	-
1	4.46	13.02	66.36	7.46	17.64	0	-
2	3.93	18.36	11.10	26.55	44.10	0	-
3	3.70	21.12	-	25.83	55.86	0	-
4	3.67	25.80	-	10.33	33.81	0	211
5	3.67	29.23	-	0.57	24.99	6	307
6	3.65	30.10	-	-	11.76	15	493
7	3.57	32.82	-	-	2.35	16	884
8	3.60	34.34	-	-	0.43	34	947
9	3.64	33.72	-	-	-	55	996
10	3.80	36.60	-	-	-	60	**1056**

- หมายถึง ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณได้

รูปที่ 3-18 ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่าง
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหาร และปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก
ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 ในอาหารสูตรเดิม



ตารางที่ 3-19 ค่าความเป็นกรดด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายและปริมาณ GA_3 ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรใหม่ ในระดับถังหมัก 5 ลิตร

ระยะเวลาหมัก (วัน)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ซูโครส (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ออกซิเจนที่ละลาย	ปริมาณ GA_3 (มก./ล.)
0	6.70	3.53	108.56	3.22	5.44	97	-
1	4.55	15.11	90.89	6.43	14.11	0	-
2	4.34	20.94	51.75	18.70	35.28	0	-
3	4.24	26.56	17.61	33.94	58.80	0	236
4	4.30	28.54	5.61	26.46	54.39	0	287
5	4.23	31.24	-	12.68	44.10	6	434
6	4.25	35.20	-	-	33.08	4	596
7	4.32	36.42	-	-	24.99	12	674
8	4.28	38.44	-	-	13.96	18	938
9	4.16	40.30	-	-	4.56	30	1049
10	4.26	39.76	-	-	0.69	56	1232

- หมายถึง ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณได้

รูปที่ 3-19 ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่าง
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหาร และปริมาณกรดจิบเบอเรลลิก
ที่ผลิตโดย *G. fujikuroi* UN-62 ในอาหารที่ได้จากการศึกษานี้