บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ซึ่งเป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากงานวิจัยของขวัญฤทัย อินสวน (2539)ได้คัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์รา *G. fujikuroi* เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกที่อุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เพื่อให้เหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศของประเทศไทย เนื่องจากสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ดำเนินการวิจัยเกี่ยวกับกระบวนการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกควบคู่กับการปรับปรุงพันธุ์รา *G. fujikuroi* อย่างต่อเนื่องรวมระยะเวลาประมาณ 10 ปี และสามารถพัฒนาการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับถังหมัก 300 ลิตร โดยเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ได้ผลผลิตเท่ากับ 1299 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (สันติ เหมศรี,2539)ต่อมา ได้ปรับปรุงสายพันธุ์ เพื่อให้ได้ *G. fujikuroi* สายพันธุ์กลายที่สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ที่อุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส โดยอุษามาส วังชัยสุนทร(2538) พบว่า *G. fujikuroi* UNN-653 มีประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด เท่ากับ 1257 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงในระดับขวดเขย่า และ 1310 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส แต่พบว่า เมื่อนำมาเลี้ยงที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด เท่ากับ 487 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ในระดับขวดเขย่า แต่ก็ยังสูงกว่าสายพันธุ์กลาย UNN-507, UNN-580, UNN-627 และ UNN- 656 ดังนั้นขวัญฤทัย อินสวน (2539) จึงใช้สายพันธุ์ดังกล่าวเป็นสายพันธุ์ดั้งต้นในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสี UV และ NTG เพื่อให้ได้สายพันธุ์กลายที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียสและสามารถคัดเลือกสายพันธุ์กลายได้ 3 สายพันธุ์ คือ *G. fujikuroi* UV-354, *G. fujikuroi* UN-62 และ *G. fujikuroi* U2N-12 ซึ่งผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ได้เท่ากับ 345, 368 และ 412 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ในระดับขวดเขย่า มีประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกไม่ดี ผลผลิตไม่คงที่ เมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ผลผลิตเท่ากับ 945, 972 และ 997 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงนำสายพันธุ์กลายทั้ง 3 สายพันธุ์ กลับมาเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและเมื่อนำสายพันธุ์กลายของ *G. fujikuroi* UV-354, *G. fujikuroi* UN-62 และ

G. fujikuroi U2N-12 มาคัดเลือกประสิทธิภาพในการผลิต GA_3 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซ้ำโดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ดั้งต้น คือ *G. fujikuroi* UNN-653 พบว่า *G. fujikuroi* UN-62 ให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุดเท่ากับ 875 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงในระดับขวดเขย่า และยังสามารถผลิตสปอร์ได้มากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งแอซีเทตสำหรับสร้างสปอร์ นอกจากนี้ไมซีเลียมก็ไม่รวมกลุ่มกันแน่นมาก ซึ่งทำให้ง่ายและสะดวกในการเขี่ยเชื้อ ดังนั้นจึงเลือกเชื้อ *G. fujikuroi* UN-62 สำหรับศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในระดับขวดเขย่าและศึกษาประสิทธิภาพการผลิตในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร

การใช้หัวเชื้อที่มีอายุเหมาะสมในการหมัก สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกให้สูงขึ้น วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532)รายงานว่า อายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมของ *G. fujikuroi* C อยู่ในระยะกึ่งกลางช่วงทวีคูณที่ 70-72 ชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับอรไท สุขเจริญ(2533) ขณะที่อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ(2536) รายงานว่าอายุของหัวเชื้อที่ระยะกึ่งกลางช่วงทวีคูณของเชื้อ *G. fujikuroi* F4W-6(9) อยู่ที่ 60 ชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ศุภชัย สมัปปิโต(2537)ได้ศึกษาอายุของหัวเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ โดยแปรผันอายุหัวเชื้อที่ 36, 42, 48, 54, และ 60 ชั่วโมง พบว่า อายุของหัวเชื้อมีผลต่อการเจริญไม่แตกต่างกัน ซึ่งหัวเชื้อที่มีอายุระหว่าง 36-60 ชั่วโมง จะให้ผลผลิต GA_3 ใกล้เคียงกัน แต่หัวเชื้อที่อายุ 48 ชั่วโมง เหมาะสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับอุษามาส วังชัยสุนทร (2538) และขวัญฤทัย อินสวน(2539)ได้ศึกษาหาอายุของหัวเชื้อ *G. fujikuroi* UNN-653 ที่อุณหภูมิ 28 และ 33 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากข้อมูลข้างต้นอาจกล่าวได้ว่าอายุของหัวเชื้อที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะในการเลี้ยงเชื้อ ส่วนงานวิจัยนี้พบว่า หัวเชื้อของ *G. fujikuroi* UN-62 อยู่ในระยะกึ่งกลางช่วงทวีคูณที่ 24 ชั่วโมง แต่ปริมาณเซลล์จะน้อยกว่าปริมาณเซลล์ของหัวเชื้ออายุ 48 ชั่วโมงมาก อย่างไรก็ตามหัวเชื้อที่อายุ 48 ชั่วโมง เชื้อยังคงมีแอกทิวิตีสูง (ศุภชัย สมัปปิโต, 2537) และมีปริมาณเซลล์มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับหัวเชื้อที่อายุ 24 ชั่วโมง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกหัวเชื้อที่มีอายุ 48 ชั่วโมง สำหรับการหาภาวะที่เหมาะสมตลอดงานวิจัยนี้

ไนโตรเจนเป็นแหล่งอาหารหลักที่สำคัญของจุลินทรีย์ นอกจากใช้เป็นส่วนประกอบของเซลล์ เอนไซม์ชนิดต่างๆ ในกระบวนการเมแทบอลิซึมและสารพันธุกรรมแล้ว ไนโตรเจนยังมีความสำคัญต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน เนื่องจากวิถีการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินถูกควบคุมโดยเมแทบอลิซึมของไนโตรเจน กล่าวคือ การสังเคราะห์จิบเบอเรลลินจะเริ่มเมื่อแหล่งไนโตรเจนถูกใช้หมด (Rybakov and Bourd,1991 ; Bruckner and Blechschmidt,1991b ; Candau, Avalos and Cerda-Olmedo,1992 ; Sanchez-Fernandez, Avalos and Cerda

Olmedo,1997) จากรายงานของวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532) ศึกษาชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดย*G. fujikuroi* C พบว่า กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 1.90 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์และไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เหมาะสมและให้ผลผลิตสูงกว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเดี่ยวๆ เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในระดับขวดเขย่า ซึ่งสอดคล้องกับ อรไท สุขเจริญ(2533) ศึกษาการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ในระดับถังหมัก 5 ลิตร เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการย่อยมีลักษณะไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว ศุภชัย สมัปปิโต(2537) จึงใช้สารละลายของกากถั่วเหลืองและกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันแทน พบว่า สารละลายของกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรดกำมะถันที่มีปริมาณไนโตรเจน 1.14 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด เท่ากับ 1237 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *G. fujikuroi* N9-34 เมื่อเลี้ยงในระดังขวดเขย่า เป็นเวลา 13 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แต่พบว่าไม่เหมาะสมต่อการผลิตในระดับถังหมัก 5 ลิตร จึงกลับมาใช้กากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการย่อยแทน ซึ่งให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงเท่ากับ 1534 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 11 ของการหมัก ดังนั้นในงานวิจัยจึงศึกษาแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ 3 ชนิด คือ สารละลายกากถั่วเหลืองและกากเมล็ดฝ้ายที่ย่อยด้วยกรดกำมะถัน และกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วแต่ไม่ผ่านการย่อย จากผลการทดลองพบว่ากากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วแต่ไม่ผ่านการย่อย ปริมาณ 5.90 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์อีก 2 แหล่งดังกล่าว อาจเนื่องจากในสารละลายกากถั่วเหลืองและกากเมล็ดฝ้ายที่ผ่านการย่อยด้วยกรดกำมะถันอาจมีสารประกอบอื่นที่รา *G. fujikuroi* UN-62 ไม่สามารถนำไปใช้ได้ และมีไนโตรเจนที่อยู่ในรูปที่ราสามารถนำไปใช้ได้เร็ว เช่น กรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นๆ ในปริมาณมากเกินในตอนเริ่มต้นของการหมักทำให้ได้ผลผลิต GA_3 ลดลง (Stanbury and Whitaker, 1989) ทั้งนี้เพราะปริมาณไนโตรเจนมากเกินไปราจะสร้างเส้นใยมากกว่าผลผลิต และถ้ามากเกินความจำเป็นจะเกิดแคแทบอลิก รีเพลสชัน ในขณะที่กากถั่วเหลืองซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเชื้อสามารถนำไปใช้โดยการย่อยและดูดซึมอย่างช้าๆจึงเหมาะสมต่อการสร้างกรดจิบเบอเรลลิก เพราะเป็นสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ และนอกจากมีธาตุไนโตรเจนแล้วอาจมีแหล่งอาหารอื่นที่ราสามารถนำไปใช้ได้ เช่น คาร์บอน แร่ธาตุเสริม(Stanbury and Whitaker,1989)

การใช้ไนโตรเจนอินทรีย์ร่วมกับไนโตรเจนอนินทรีย์จะให้ผลผลิตสูงกว่า เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเดี่ยวๆ อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) รายงานว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 2.51 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 1.90 กรัมต่อลิตร เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดย *G. fujikuroi* F4W-6(9) ขณะที่ ศุภชัย สมัปปิโต

(2537) รายงานว่าแอมโมเนียมซัลเฟต 1.89 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 5.90 กรัมต่อลิตร เหมาะสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดย *G. fujikuroi* N9-34 จากงานวิจัยนี้พบว่า แอมโมเนียมซัลเฟต 1.42 กรัมต่อลิตร เหมาะสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดย *G. fujikuroi* UN-62 ซึ่งปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่น้อยกว่านี้ไม่เพียงพอต่อการเจริญ แต่ถ้ามากเกินไปทำให้การสังเคราะห์จิบเบอเรลลินช้าลง และยังพบว่าน้ำหมักมีสีส้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากราสร้างรงควัตถุเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Bulock และคณะ(1974)รายงานว่า ถ้าปริมาณไนโตรเจนสูงมากเกิน ราจะสร้างไบคาเวอริน(bikaverin)ซึ่งเป็นรงควัตถุสีแดงและเป็นสารพอลิคีไทด์ ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นร่วมกับการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน และยังพบว่าปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตมากเกินไปจะแตกตัวให้แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ GA_4-1,2 ดีไฮโดจีเนส (Breader *et al.*, อ้างถึงในRybakov and Bourd, 1991) จึงทำให้การผลิตจิบเบอเรลลินลดลง

แหล่งคาร์บอนจัดเป็นอาหารหลักที่สำคัญอีกแหล่งหนึ่ง รานำไปใช้ในการสังเคราะห์ส่วนประกอบของเซลล์และเป็นแหล่งพลังงาน วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532)รายงานว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดย *G. fujikuroi* C ประกอบด้วยกลูโคสกับแป้งมันสำปะหลัง ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 แต่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนืดสูง การให้อากาศจึงต้องใช้ความเร็วรอบสูงถึง 700 รอบต่อนาที ซึ่งเป็นภาวะที่ไม่เหมาะสมในทางปฏิบัติ นอกจากนี้เชื้อมีขีดจำกัดต่อการใช้แป้งมันสำปะหลังทำให้มีปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่เชื้อไม่สามารถนำไปใช้ได้หมด ต่อมา อัครวิทย์ กาญจนโอภาษ(2536)รายงานว่า การใช้ซูโครสร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองสัดส่วน 100 ต่อ 60 เหมาะสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดย *G. fujikuroi* F4W-6(9) ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แต่พบว่าราไม่สามารย่อยสลายน้ำมันถั่วเหลืองได้หมด ก่อให้เกิดปัญหาในการกำจัดและกระบวนการเก็บเกี่ยวผลผลิต เพราะเมื่อนำน้ำหมักไปสกัดจิบเบอเรลลิกอาจเกิดอิมัลชันทำให้ไม่สามารถแยกผลผลิตออกมาได้หมด ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว พบว่า ปริมาณซูโครส 120 กรัมต่อลิตร เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดยเชื้อ *G. fujikuroi* UN-62 ปริมาณซูโครสที่น้อยกว่านี้ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต ทำให้ราสร้างเส้นใยน้อย แต่ปริมาณซูโครสที่มากกว่า 120 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกลดลง นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การใช้ซูโครสร่วมกับแหล่งคาร์บอนอื่น เช่น น้ำมันพืช จะเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตจิบเบอเรลลิน ซึ่ง Oiong และคณะ(1987)รายงานว่าการใช้น้ำมันพืชร่วมกับซูโครส ให้ผลผลิตสูงขึ้นร้อยละ 15 (Oiong *et al.*, 1987 อ้างถึงใน อรไท สุขเจริญ, 2533)และจากการศึกษาของ อรไท สุขเจริญ(2533)พบว่า น้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 2 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรเหมาะสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลิก ดังนั้นในงานวิจัยนี้

จึงได้แปรผันปริมาณน้ำมันถั่วเหลือง พบว่า น้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 2 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุดอาจเป็นเพราะเมื่อเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมในเซลล์ น้ำมันพืชซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนถูกไฮโดรไลซ์จะให้แอซิทิลโคเอนไซม์เอมากกว่าแหล่งคาร์บอนอื่น ซึ่งแอซิทิลโคเอนไซม์เอเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์กรดจิบเบอเรลลิก แต่ถ้าน้ำมันถั่วเหลืองปริมาณมากเกินไปอาจทำให้การละลายของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำลง ส่งผลให้ประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกต่ำลงด้วย

ธาตุฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่สำคัญอีกธาตุหนึ่งในกระบวนการผลิตจิบเบอเรลลิน ช่วยในการเจริญเติบโตของราและเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของมหโมเลกุล เช่น DNA, RNA ฟอสฟอลิปิด โมเลกุลขนาดเล็ก เช่น โคเอนไซม์ เอ, NAD และ FAD รวมทั้งเป็นส่วนประกอบของนิวคลีโอไทด์ เช่น ATP, GTP และเกี่ยวข้องกับการสะสมและขนส่งพลังงานภายในเซลล์ (Garraway and Evans, 1984) จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 5.0 กรัมต่อลิตร ให้ประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับ Borrow และคณะ (1961) และศุภชัย สมัปปิโต(2537) เมื่อเพาะเลี้ยง *G. fujikuroi* N9-34 ในระดับขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 5 ลิตร ในขณะที่สูตรอาหารที่ไม่เติมและเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตต่ำกว่า 5.0 กรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อสามารถเจริญได้แต่มีปริมาณฟอสเฟตจำกัดไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตมากเกินไปจะทำให้เกิดภาวะการเจริญมากเกิน ส่งผลให้ผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้น้อย ซึ่งสอดคล้องกับ Bruckner (1992)รายงานว่าปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตจะส่งผลให้อัตราการเจริญของรา *G. fujikuroi* ลดลง แต่ทั้งปริมาณที่น้อยและมากเกินไปจะทำให้อัตราการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกลดลง

แมกนีเซียมเป็นธาตุที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน เพราะแมกนีเซียมทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ในขั้นตอนการเปลี่ยนกรดเมวาโลนิกเป็นเอ็นคัวรีน(Sponsel, 1995) และมีรายงานว่า ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร เหมาะสมสำหรับเลี้ยง *G. fujikuroi* NRRL 2633 (Kyowa Hakko Kogyo Co Ltd., 1983 อ้างถึงใน Kumar and Lonsane, 1989)ในงานวิจัยนี้พบว่า ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดย *G. fujikuroi* N-62 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532) และ ศุภชัย สมัปปิโต(2537)ที่ศึกษากับเชื้อ *G. fujikuroi* C และ *G. fujikuroi* N9-34 ตามลำดับ

ธาตุอะลูมิเนียมถือเป็นธาตุอาหารเสริมที่มีผลต่อการผลิตจิบเบอเรลลินเช่นกัน จากรายงานของอรไท สุขเจริญ(2533)ได้ศึกษาผลของธาตุอาหารเสริมที่มีต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดย *G. fujikuroi* C โดยแปรผันเป็น 2 แบบ แบบที่ 1 ประกอบด้วยอะลูมิเนียมออกไซด์ 0.1 กรัมต่อลิตร แบบที่ 2 ประกอบด้วย อะลูมิเนียมออกไซด์ ซิงค์คลอไรด์ และ

คอปเปอร์ซัลเฟต ในอัตราส่วน 0.5 :0.5:1 กรัมต่อลิตร พบว่าการใช้สูตรอาหารทั้ง 2 แบบ ให้ผลผลิตจิบเบอเรลลินไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้อะลูมิเนียมออกไซด์อย่างเดียวจึงประหยัดกว่าซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้พบว่า อะลูมิเนียมออกไซด์ 0.1 กรัมต่อลิตร เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก

ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก จากรายงานของวันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532)รายงานว่า ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7 เหมาะสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ซึ่งสอดคล้องกับอัครวิทย์ กาญจนโอภาษ(2536) และศุภชัย สมัปปิโต(2537) และจากงานวิจัยนี้พบว่า ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเท่ากับ 7 ซึ่งโดยปกติค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อราค่อนข้างเป็นกรด แต่เนื่องจากเชื้อ *G. fujikuroi* ผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน ให้ค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 2.5-3.5 ดังนั้นการปรับค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7 เมื่อมีการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกเกิดขึ้น จึงส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงและเหมาะสมต่อการเจริญของรา *G. fujikuroi*

ดังนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดย *G. fujikuroi* UN-62 ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย แหล่งไนโตรเจน คือ กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วแต่ไม่ผ่านการย่อย 5.90 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 1.42 กรัมต่อลิตร แหล่งคาร์บอน คือ น้ำตาลซูโครส 120 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมันถั่วเหลือง 2 มิลลิลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 5.0 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร อะลูมิเนียมออกไซด์ 0.10 กรัมต่อลิตร และค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7 เมื่อเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในระดับขวดเขย่า ให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุดเท่ากับ 1090 และ 1132 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 และ 10 ของการหมัก ตามลำดับ และเมื่อนำสูตรอาหารเดิมและสูตรอาหารใหม่มาศึกษาประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าสูตรอาหารใหม่และสูตรอาหารเดิมให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุดเท่ากับ 1232 และ 1056 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 10 ของการหมัก อย่างไรก็ตาม ถ้าได้มีการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยใช้สูตรอาหารที่ปรับปรุงใหม่นี้เมื่อเลี้ยงในถังหมักคาดว่าจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่านี้