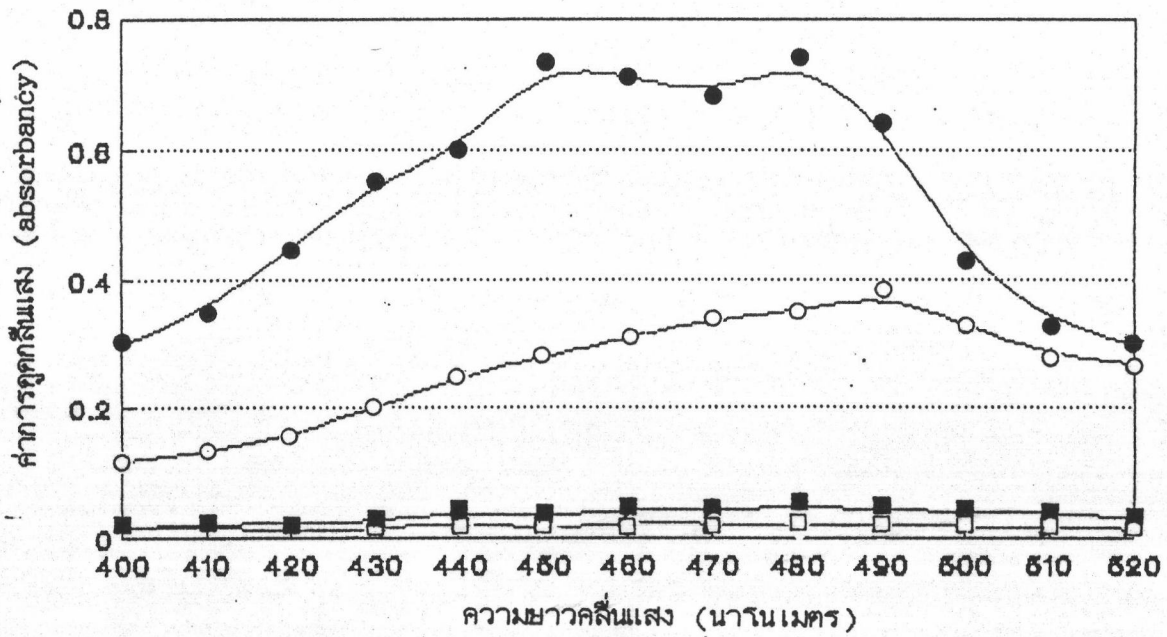
บทที่ 3

ผลการวิจัย

3.1 การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดยศึกษารูปแบบการดูดกลืนแสง (absorption spectrum) ของรงควัตถุในช่วงความยาวคลื่นแสงตั้งแต่ 400 ถึง 520 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของเบตา-แคโรทีนในปิโตรเลียมอีเธอร์ อยู่ที่ 422 448 และ 475 นาโนเมตร (2) จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 5 6 และ 7 จุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้ มีอยู่ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Rhodotorula* sp. Y1621 *Blakeslea* sp. C 0004 และ *Blakeslea* sp. C 0005 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณรงควัตถุซึ่งจุลินทรีย์ 3 สายพันธุ์นี้สังเคราะห์ขึ้น (ดังตารางที่ 3) ได้พบว่า *Rhodotorula* sp. Y1621 มีความสามารถในการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงกว่าสายพันธุ์อื่น กล่าวคือรงควัตถุที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621 มีปริมาณเท่ากับ 280 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ในขณะที่ *Blakeslea* sp. C 0004 และ *Blakeslea* sp. C 0005 สังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้เพียง 127 และ 156 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือก *Rhodotorula* sp. Y1621 เพื่อศึกษาสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเบตา-แคโรทีน ทั้งในระดับขวดเขย่า และในถังหมักขนาด 5 ลิตร ลักษณะการเติบโตของ *Rhodotorula* sp. Y1621 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และลักษณะเซลล์ที่เห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แสดงในรูปที่ 8 และ 9 ตามลำดับ



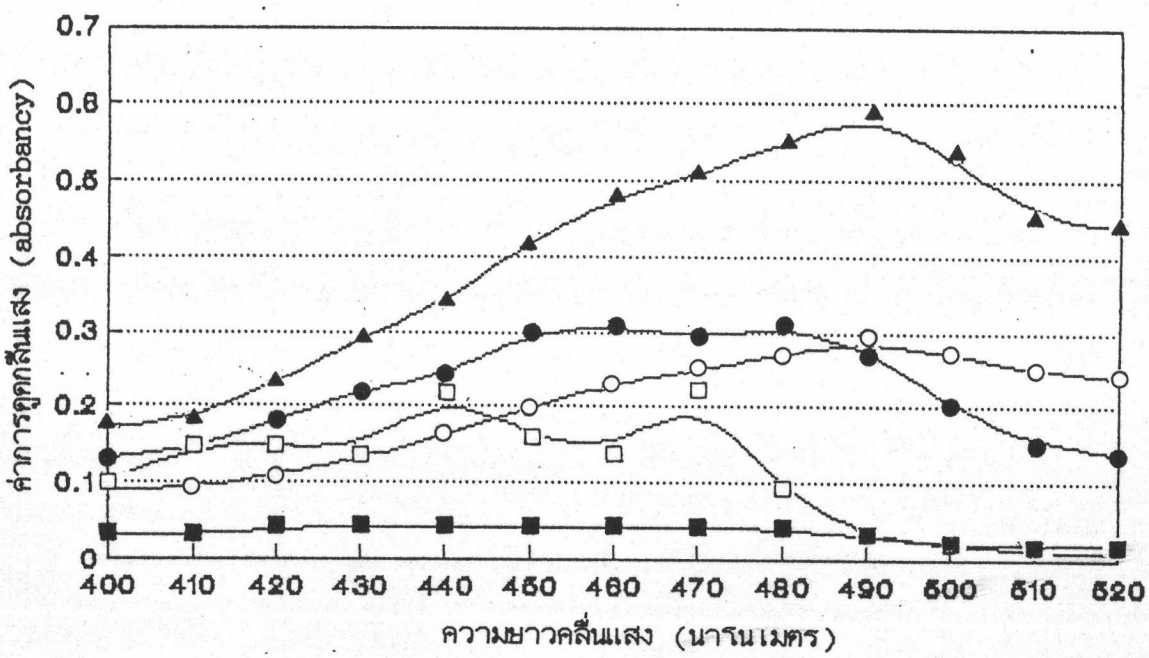
รูปที่ 5 รูปแบบการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. สายพันธุ์ Y1621 K0001 C0001 และ M0001

Rhodotorula sp. Y1621

Rhodotorula sp. K0001

Rhodotorula sp. C0001

Rhodotorula sp. M0001



รูปที่ 6 รูปแบบการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. สายพันธุ์ T5159 C0003 Y1592 Y1585 และ C0002

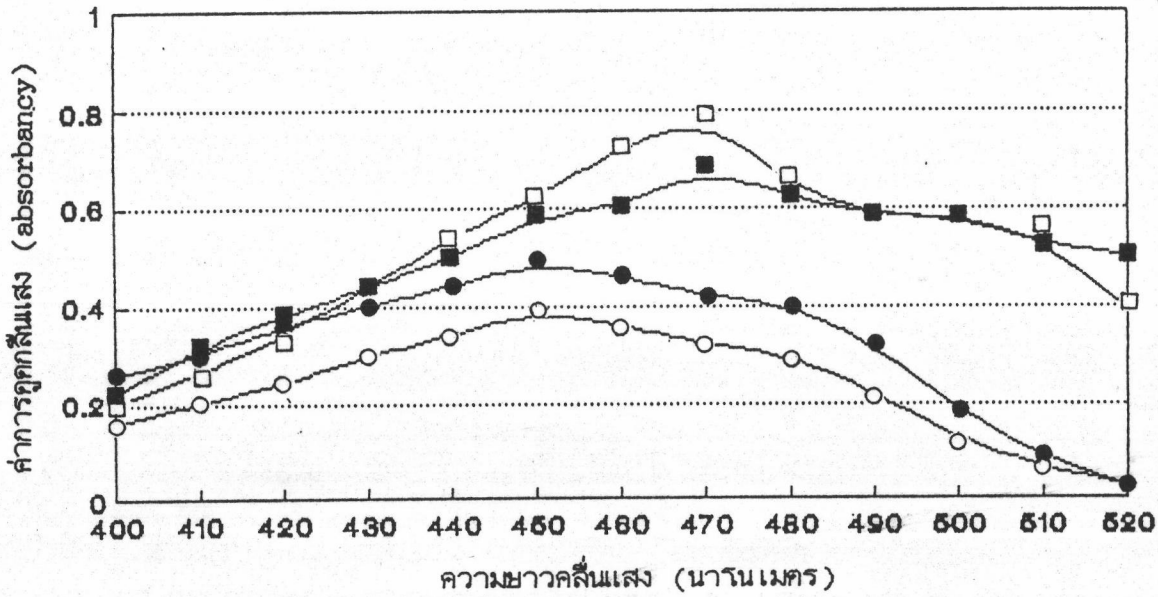
Rhodotorula sp. T5159

Rhodotorula sp. C0003

Rhodotorula sp. Y1592

Rhodotorula sp. Y1585

Rhodotorula sp. C0002



รูปที่ 7 รูปแบบการดูดกลืนแสงของรงควัตถุที่สังเคราะห์โดย *Blakeslea* sp. C0004 *Blakeslea* sp. C0005 แบคทีเรียสายพันธุ์ C0006 และแบคทีเรียสายพันธุ์ C0007

Blakeslea sp. C0004

Blakeslea sp. C0005

แบคทีเรียสายพันธุ์ C0006

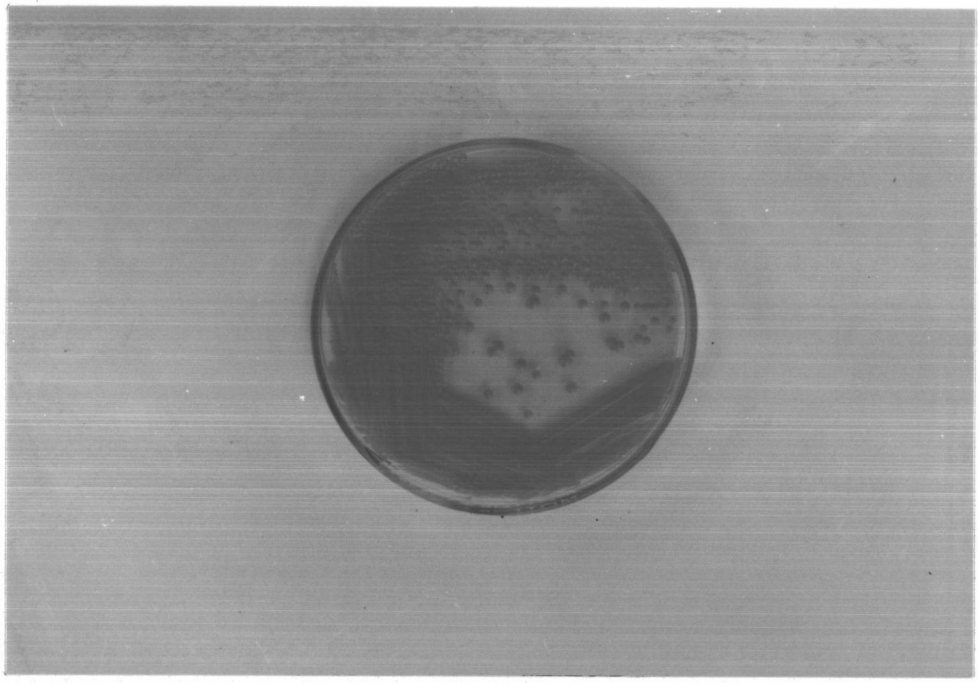
แบคทีเรียสายพันธุ์ C0007

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ

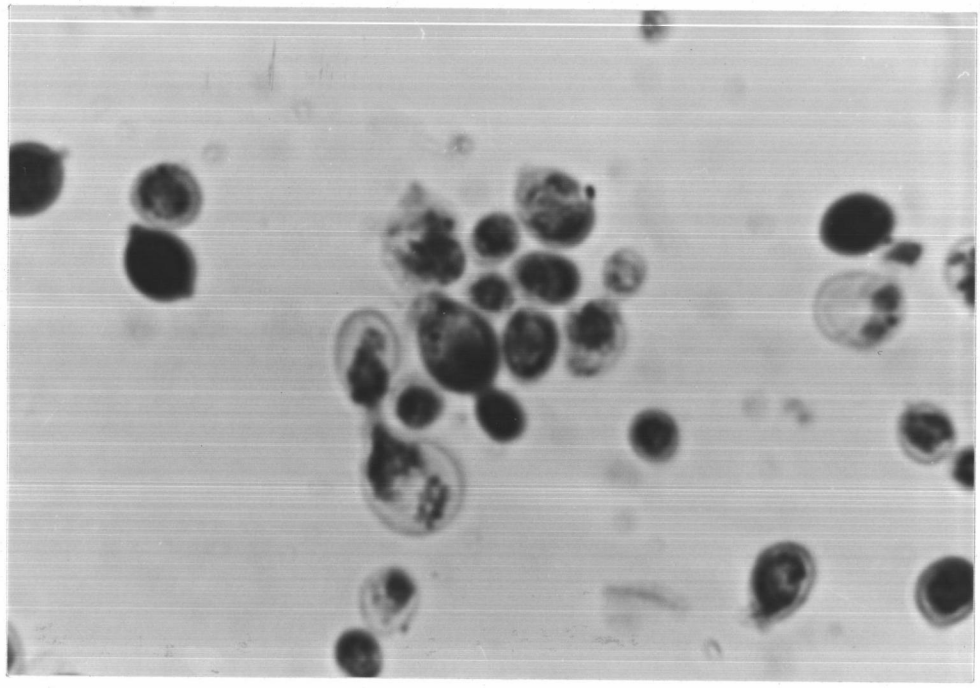
จุลินทรีย์	การสังเคราะห์เบตา- แคโรทีน	ปริมาณเบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
Rhodotorula sp. Y1621	+	280
Rhodotorula sp. K0001	-	-
Rhodotorula sp. C0001	-	-
Rhodotorula sp. M0001	-	-
Rhodotorula sp. C0002	-	-
Rhodotorula sp. C0003	-	-
Rhodotorula sp. Y1592	-	-
Rhodotorula sp. T5159	-	-
Rhodotorula sp. Y1585	-	-
Blakeslea sp. C0004	+	127
Blakeslea sp. C0005	+	156
แบคทีเรียสายพันธุ์ C0006	-	-
แบคทีเรียสายพันธุ์ C0007	-	-

หมายเหตุ + = มีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน

- = ไม่มีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน



รูปที่ 8 ลักษณะการเติบโตของ *Rhodotorula* sp. Y1621 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM



รูปที่ 9 ลักษณะเซลล์ของ *Rhodotorula* sp. Y1621 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

3.2 เปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ สำหรับเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 เพื่อสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน

ในการศึกษาเบื้องต้น เพื่อตรวจหาระยะเวลาการเติบโต และช่วงเวลาในการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน เพื่อเป็นข้อมูลในการที่จะศึกษาหาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ตลอดจนปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสังเคราะห์รงควัตถุนั้นจำเป็นต้องมีอาหารเลี้ยงเชื้อที่จุลินทรีย์สายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้สามารถเติบโต และสังเคราะห์รงควัตถุได้ดีพอสมควร ดังนั้นจึงศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหาร 3 ชนิด สำหรับเพาะเลี้ยง *Rhodotorula* sp. Y1621 อาหารที่ใช้ในการทดลองมี 3 ชนิด ได้แก่ สูตรอาหาร YM (ภาคผนวกที่ 1) สูตรอาหาร Costa (ภาคผนวกที่ 2) และสูตรอาหาร basal medium (ภาคผนวกที่ 3) จากผลการทดลอง (ดังตารางที่ 4) พบว่าสูตรอาหาร Costa เหมาะสมต่อการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 มากกว่าอาหารอีก 2 ชนิด

ดังนั้นการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้อาหารสูตร Costa ในการปรับปรุงการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ของ *Rhodotorula* sp. Y1621

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ	การเติบโต (กรัม/ลิตร)	เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
YM	7.48	238
Costa	5.63	298
basal medium	3.15	256

I 17202132

3.3 การวิเคราะห์รงควัตถุที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

3.3.1 การวิเคราะห์รงควัตถุที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ด้วยวิธีตรวจสอบรูปแบบการดูดกลืนแสง

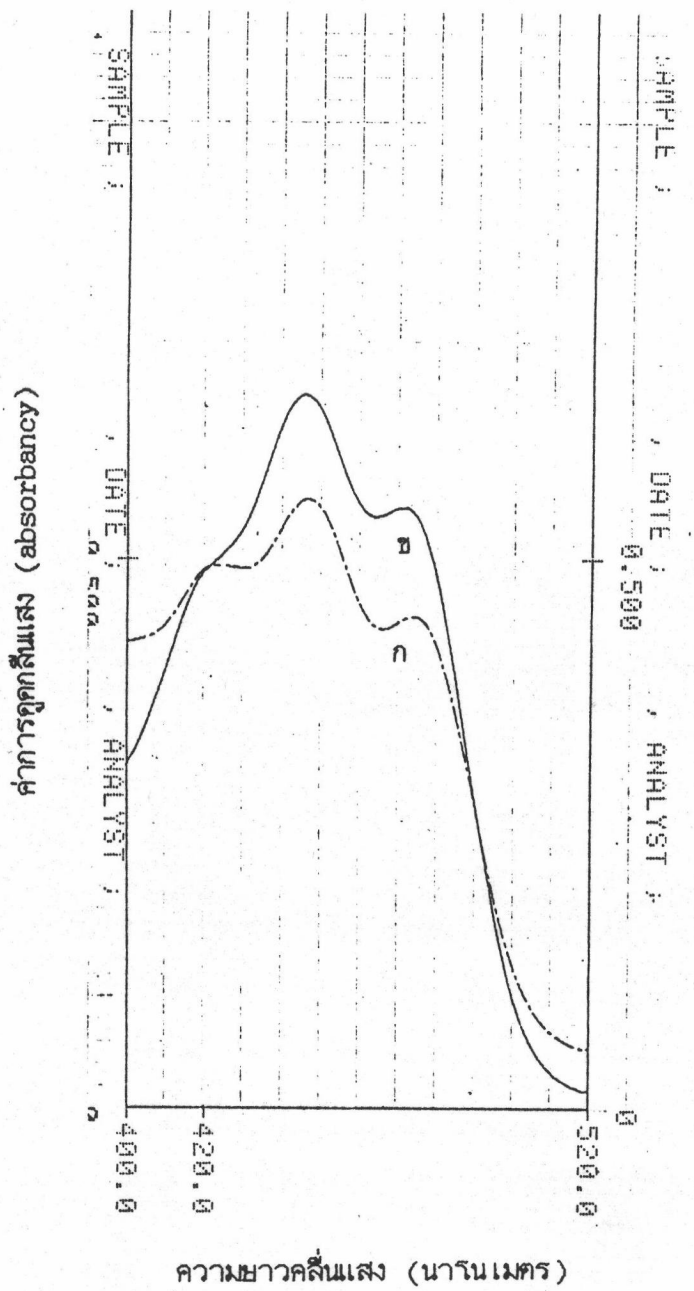
จากการศึกษารูปแบบของการดูดกลืนแสงของรงควัตถุในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 400 ถึง 520 นาโนเมตร (รูปที่ 10) ได้ผลว่า รงควัตถุที่สังเคราะห์โดยสายพันธุ์ Y1621 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดในปิโตรเลียมอีเธอร์ เท่ากับ 422 448 และ 475 นาโนเมตร ซึ่งเป็นรูปแบบเดียวกับ รูปแบบการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเบตา-แคโรทีน

3.3.2 การวิเคราะห์รงควัตถุที่สร้างโดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบผิวบาง

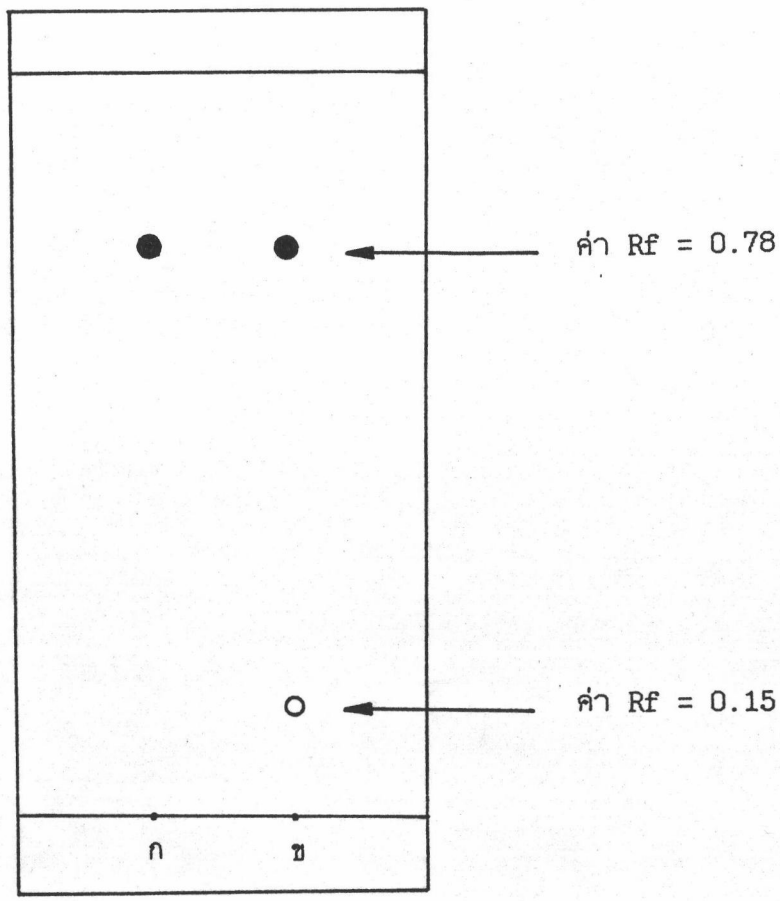
จากการวิเคราะห์รงควัตถุที่สร้างโดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบผิวบาง โดยใช้แผ่นโครมาโตกราฟีที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล และระบบตัวทำละลายคือ อะซิโตนร้อยละ 10 ในปิโตรเลียมอีเธอร์ ผลการวิจัยได้พบว่าค่า Rf ของรงควัตถุที่สร้างโดย *Rhodotorula* sp. Y1621 มีค่าเท่ากับค่า Rf ของสารมาตรฐานเบตา-แคโรทีน คือ เท่ากับ 0.78 และนอกจากนี้ยังพบจุดอีก 1 จุด ซึ่งมีความจางกว่าจุดที่ตรงกับตำแหน่งของสารมาตรฐาน เบตา-แคโรทีนมาก และมีค่า Rf เท่ากับ 0.15 (รูปที่ 11) เมื่อสกัดสารตรงตำแหน่งนี้แล้วไปตรวจหาค่าการดูดกลืนแสง พบว่าสารนี้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 275 และ 210 นาโนเมตร (รูปที่ 12) จากข้อมูลดังกล่าวนี้จึงถือได้ว่ารงควัตถุหลักที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621 เป็น เบตา-แคโรทีน

3.3.3 การวิเคราะห์รงควัตถุที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ด้วยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนลิควิดโครมาโตกราฟี

จากการวิเคราะห์รงควัตถุที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621 ด้วยวิธีไฮเพอร์แมนลิควิดโครมาโตกราฟี โดยมี tran-β-apo-8'-carotenal เป็นสารมาตรฐานภายใน ได้พบว่าสารมาตรฐานภายในดังกล่าวมีเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ (retention time) เท่ากับ 3.2 นาที ส่วนสารมาตรฐานเบตา-แคโรทีน มีเวลาที่อยู่ในคอลัมน์เท่ากับ 10 นาที และรงควัตถุที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621 มีเวลาที่อยู่ในคอลัมน์เท่ากับ 10 นาที เช่นกัน (รูปที่ 13)



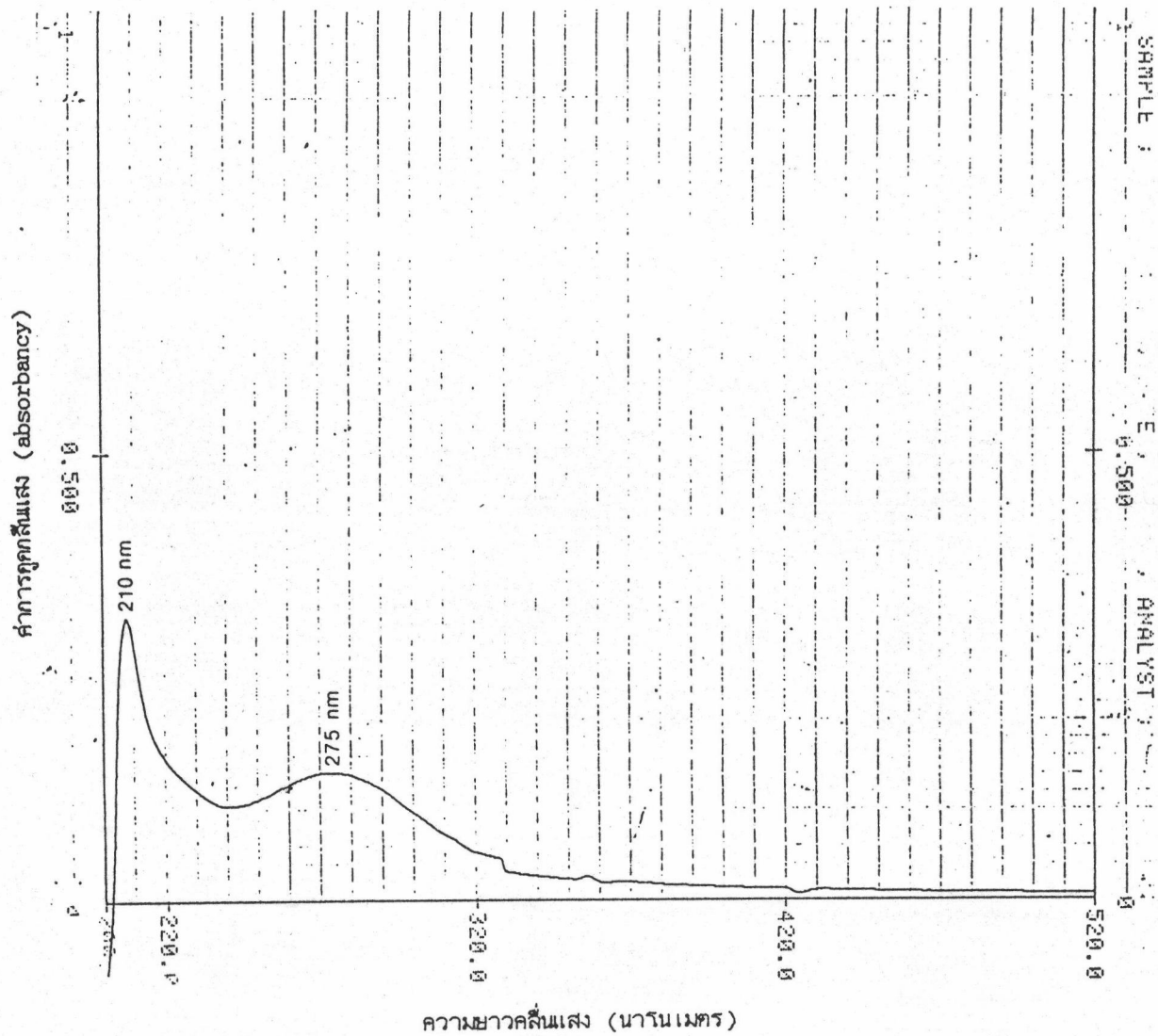
รูปที่ 10 รูปแบบการดูดกลืนแสง ของสารมาตรฐานเบตา-แคโรทีน (ก) และของรงควัตถุที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621 (ข)



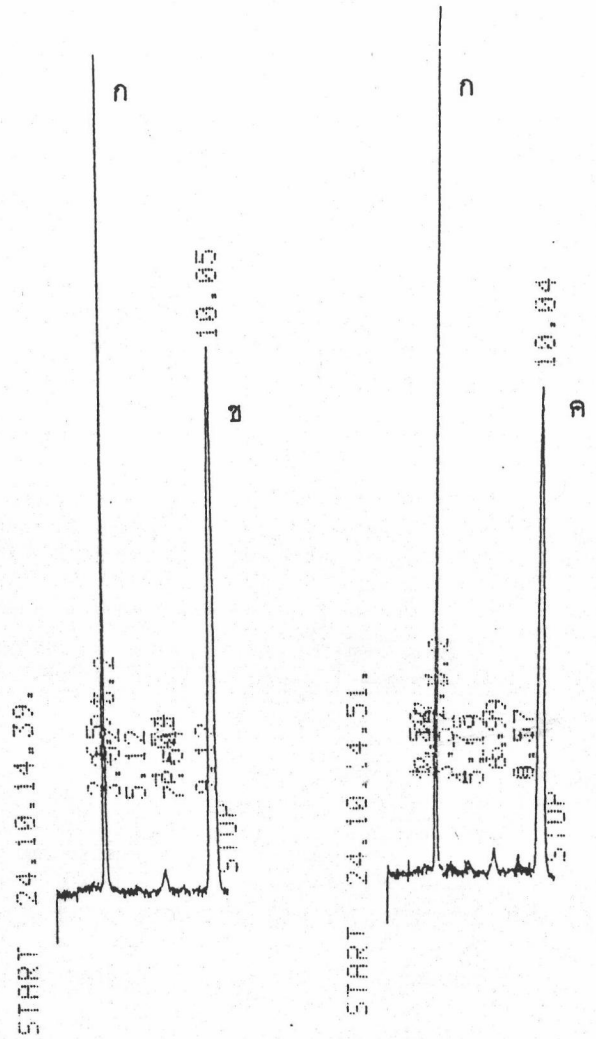
รูปที่ 11 โครมาโตแกรม (จากโครมาโตกราฟีแบบผิวบาง) ของสารมาตรฐานเบตา-แคโรทีน และของรงควัตถุที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621

ก = สารมาตรฐานเบตา-แคโรทีน

ข = รงควัตถุที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621



รูปที่ 12 รูปแบบการดูดกลืนแสง ของจุดบนแผ่นโครมาโตแกรม ที่มีค่า Rf=0.15 เมื่อสกัดออกจากแผ่นโครมาโตแกรม



รูปที่ 13 โครมาโตแกรม (จากไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี) ของสารมาตรฐานเบตา-แคโรทีน trans-β-apo-8'-carotenal และของรงควัตถุที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621

ก = สารมาตรฐานภายใน (trans-β-apo-8'-carotenal)

ข = สารมาตรฐานเบตา-แคโรทีน

ค = รงควัตถุที่ได้จาก *Rhodotorula* sp. Y1621

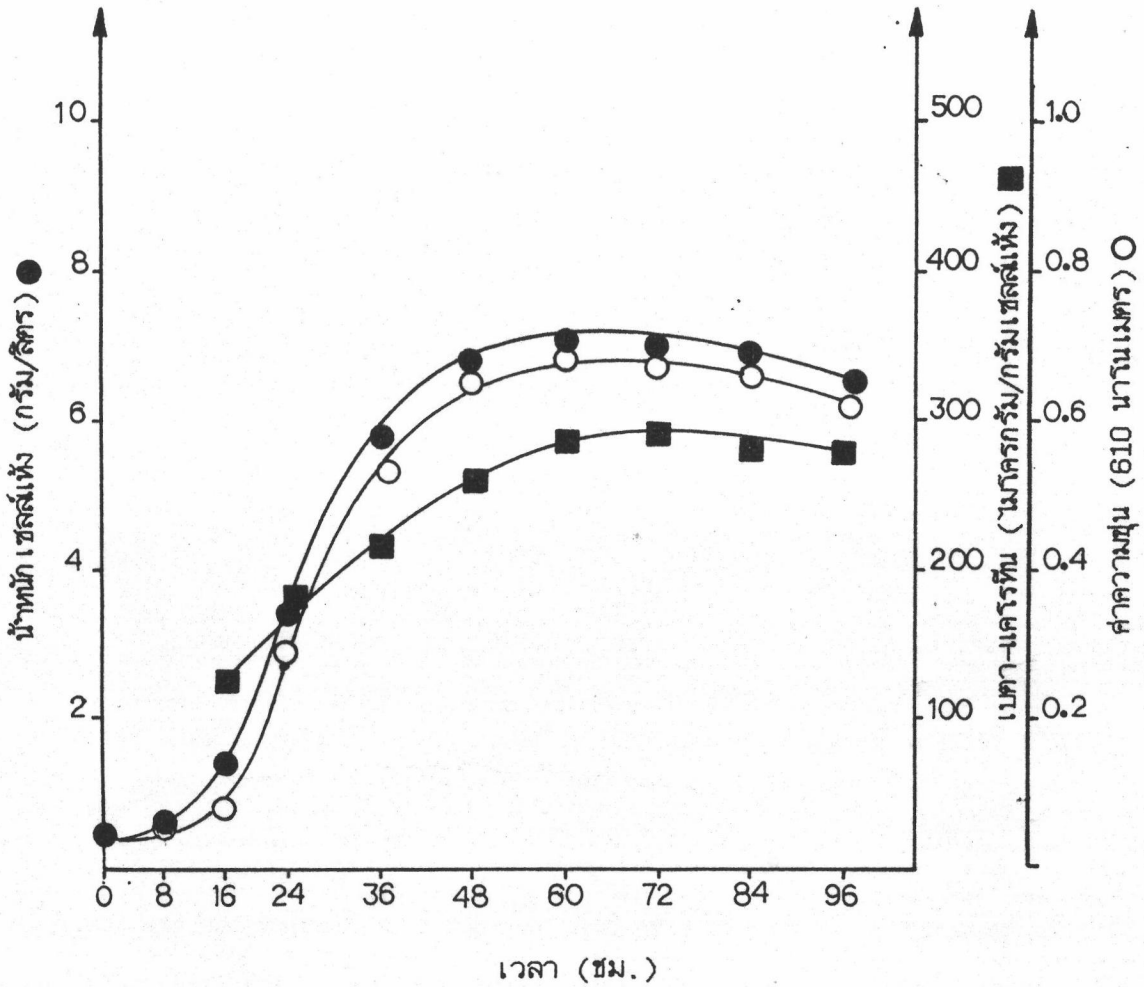
3.4 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y 1621 ในขวดเขย่า

ก่อนเริ่มการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการสังเคราะห์รงควัตถุเบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y 1621 มีความจำเป็นต้องศึกษาถึงระยะการเติบโตและการสังเคราะห์รงควัตถุ เบตา-แคโรทีน สูงสุด โดยเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Costa อุณหภูมิ 30° ซ. และอัตราการเขย่า 200 รอบ/นาที เลี้ยงเชื้อเป็นเวลานาน 96 ชม. โดยเก็บตัวอย่างที่ 0 8 16 24 36 48 60 72 84 และ 96 ชม. ตรวจวัดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน (รูปที่ 14) พบว่าการเติบโตสูงสุดอยู่ที่เวลา 60 ชม. และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงสุดอยู่ที่เวลา 72 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการทดลองขั้นต่อไปจึงเก็บตัวอย่างที่เวลา 72 ชม.ของการเลี้ยงเชื้อ มาตรวจวัดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน

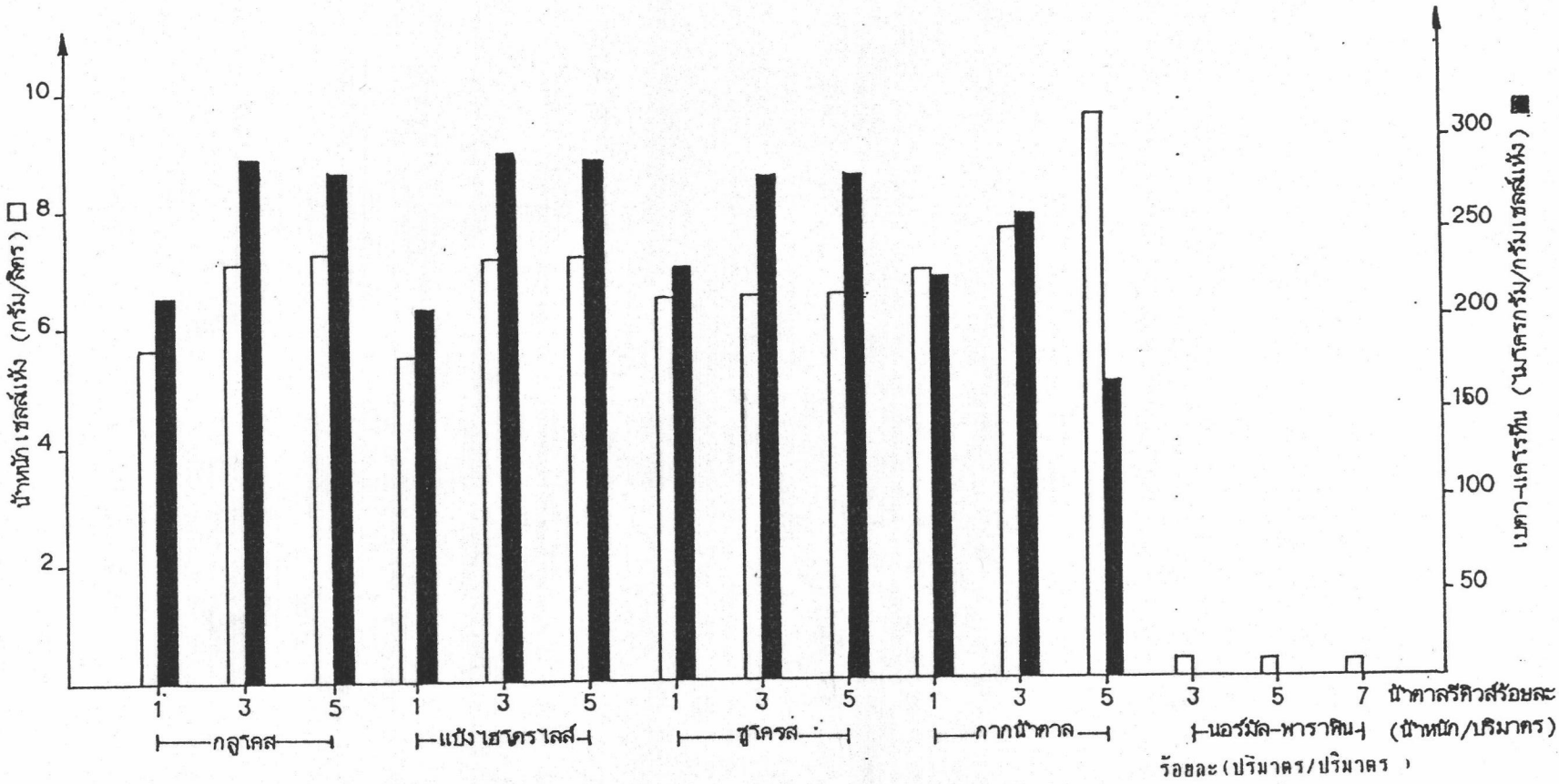
3.4.1 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน

จากข้อมูลเบื้องต้นของคณะผู้วิจัย (42) แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y 1621 คือ กลูโคส รองลงมาคือ ซูโครส และกากน้ำตาลตามลำดับ ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงเลือกใช้แหล่งคาร์บอนดังกล่าวมาศึกษาเพิ่มเติม และเปรียบเทียบกับการใช้แหล่งคาร์บอนอื่นที่มีราคาถูกคือ แป้งไฮโดรไลส์ (ซึ่งมีปริมาณกลูโคสสูงประมาณร้อยละ 40) และนอร์มัล-พาราฟิน

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y 1621 ในอาหารสูตร Costa โดยใช้กลูโคส ซูโครส กากน้ำตาล และแป้งไฮโดรไลส์เป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันความเข้มข้นต่างๆกัน โดยเปรียบเทียบจากความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งแต่ร้อยละ 1-5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และนอร์มัล-พาราฟิน ความเข้มข้นร้อยละ 3-7 (ปริมาตร/ปริมาตร) เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบ /นาที ที่อุณหภูมิ 30° ซ. ผลการทดลอง (รูปที่ 15) พบว่ากลูโคส แป้งไฮโดรไลส์ และซูโครส (ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับร้อยละ 3) ทำให้ *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโตและสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ได้ดีใกล้เคียงกัน และได้พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 ไม่สามารถนำนอร์มัล-พาราฟินไปใช้ได้จึงไม่มีการเติบโต และไม่สามารถสังเคราะห์รงควัตถุได้ จึงเลือกใช้แป้งไฮโดรไลส์



รูปที่ 14 การเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนที่เวลาต่างๆ โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหาร Costa



รูปที่ 15 การเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 เมื่อเลี้ยงในแหล่งคาร์บอนชนิดและความเข้มข้นต่างๆกัน

ในการวิจัยต่อไป เนื่องจากมีราคาถูกกว่าแหล่งคาร์บอนชนิดอื่น ๆ

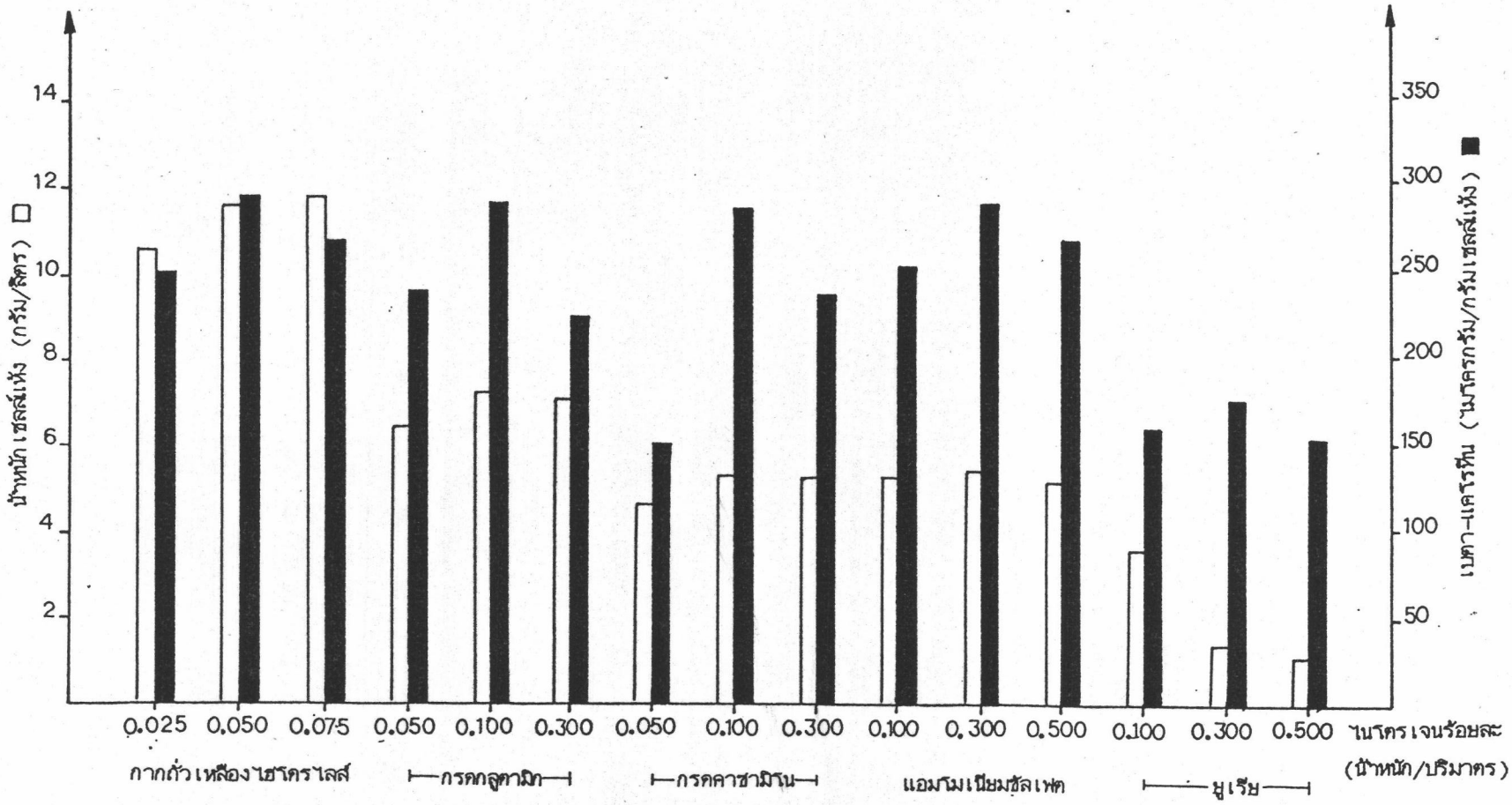
3.4.2 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน

จากข้อมูลเบื้องต้นของคณะผู้วิจัย (42) พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน คือ กรดกลูตามิก รองลงคือ กรดคาซามิโน ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนดังกล่าว มาศึกษาเพิ่มเติมพร้อมกับการศึกษาแหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต กากถั่วเหลือง-ไฮโดรไลส์ และยูเรีย โดยเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y 1621 ในสูตรอาหาร Costa ซึ่งประกอบด้วยแป้งไฮโดรไลส์ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 3 เป็นแหล่งคาร์บอนแปรผันความเข้มข้นแหล่งไนโตรเจนตั้งแต่ร้อยละ 0.025-0.500 สภาวะอื่นในการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.1 ผลการทดลอง (รูปที่ 16) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 สามารถสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน สูงสุดใกล้เคียงกันเมื่อเลี้ยงในอาหาร เลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย กากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.05) กรดกลูตามิก (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.10) กรดคาซามิโน (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.10) และแอมโมเนียมซัลเฟต (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.3) เมื่อใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนต่ำกว่าแหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น จากการเปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ พบว่ากากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.05) ทำให้ *Rhodotorula* sp. Y 1621 เติบโตได้ดีกว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในแหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น นอกจากนี้ยังมีราคาถูก ดังนั้นจึงเลือกใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์เป็นแหล่งไนโตรเจนในการศึกษาต่อไป

3.4.3 ผลของสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน

3.4.3.1 อุณหภูมิ

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y 1621 ในอาหารสูตร Costa ที่มีแป้งไฮโดรไลส์ (มีน้ำตาลรีดิวส์ร้อยละ 3) เป็นแหล่งคาร์บอน และกากถั่ว-เหลืองไฮโดรไลส์ (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.05) เป็นแหล่งไนโตรเจน ความเร็วรอบของการเขย่าเท่ากับ 200 รอบ/นาที ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6 แปรผันอุณหภูมิตั้งแต่ 25-35° ซ. ผลการทดลอง (ตารางที่ 5) พบว่าที่อุณหภูมิช่วง 25-30° ซ. *Rhodotorula* sp.Y1621 มีการเติบโต และการสังเคราะห์รงควัตถุได้ใกล้



รูปที่ 16 การเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 เมื่อเลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนชนิดและความเข้มข้นต่างๆกัน

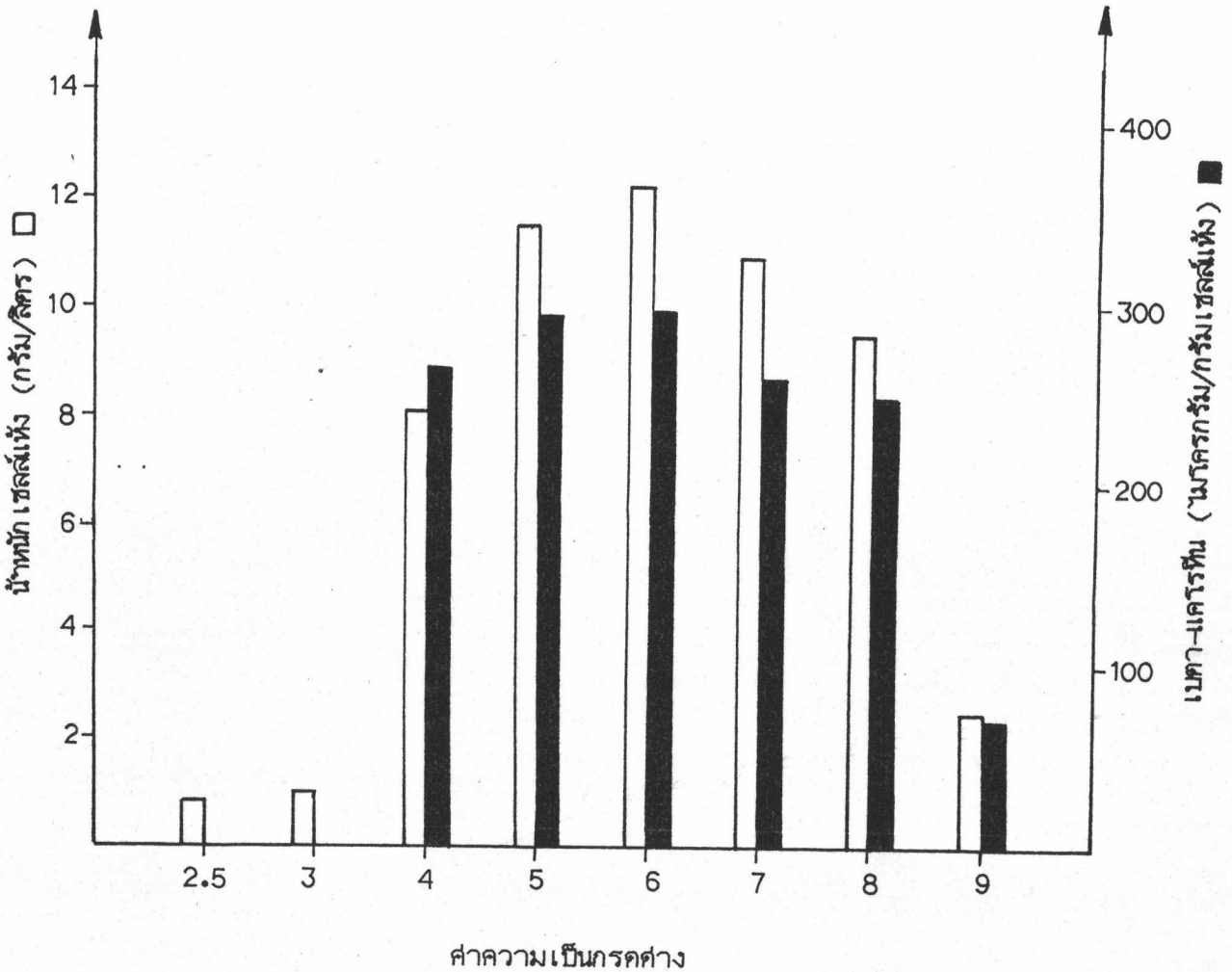
เคียงกัน โดยที่อุณหภูมิ 28° ซ. *Rhodotorula* sp. Y1621สังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้สูงกว่าที่อุณหภูมิอื่นเล็กน้อย ในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้อุณหภูมิ 28° ซ.ส่วนที่อุณหภูมิ 35° ซ. เชื้อมีการเติบโตได้น้อย และไม่มีการสังเคราะห์รงควัตถุ

ตารางที่ 5 ผลของอุณหภูมิต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y 1621

อุณหภูมิ	การเติบโต	ปริมาณรงควัตถุ
(°ซ.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
25	12.16	295.67
28	12.22	308.65
30	12.12	294.95
35	00.92	-

3.4.3.2 ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp.Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3.1 ที่อุณหภูมิ 28° ซ.ความเร็วรอบของการเขย่าเท่ากับ 200 รอบ/นาที แปรผันค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่ 2.5-9.0 ผลการทดลอง (รูปที่ 17) ได้พบว่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เชื้อสามารถเติบโต และสังเคราะห์รงควัตถุได้คือช่วงระหว่าง 4-8 *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโต และสังเคราะห์รงควัตถุได้ดี ที่ช่วงความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5-6 ส่วนที่ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 9 เชื้อเติบโตและสังเคราะห์รงควัตถุได้น้อย และที่ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 2.5 และ 3.0 เชื้อเติบโตได้น้อย และไม่มีการ



รูปที่ 17 ผลของความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนโดย *Rhodotorula* sp. Y1621

สังเคราะห์รงควัตถุได้เลย

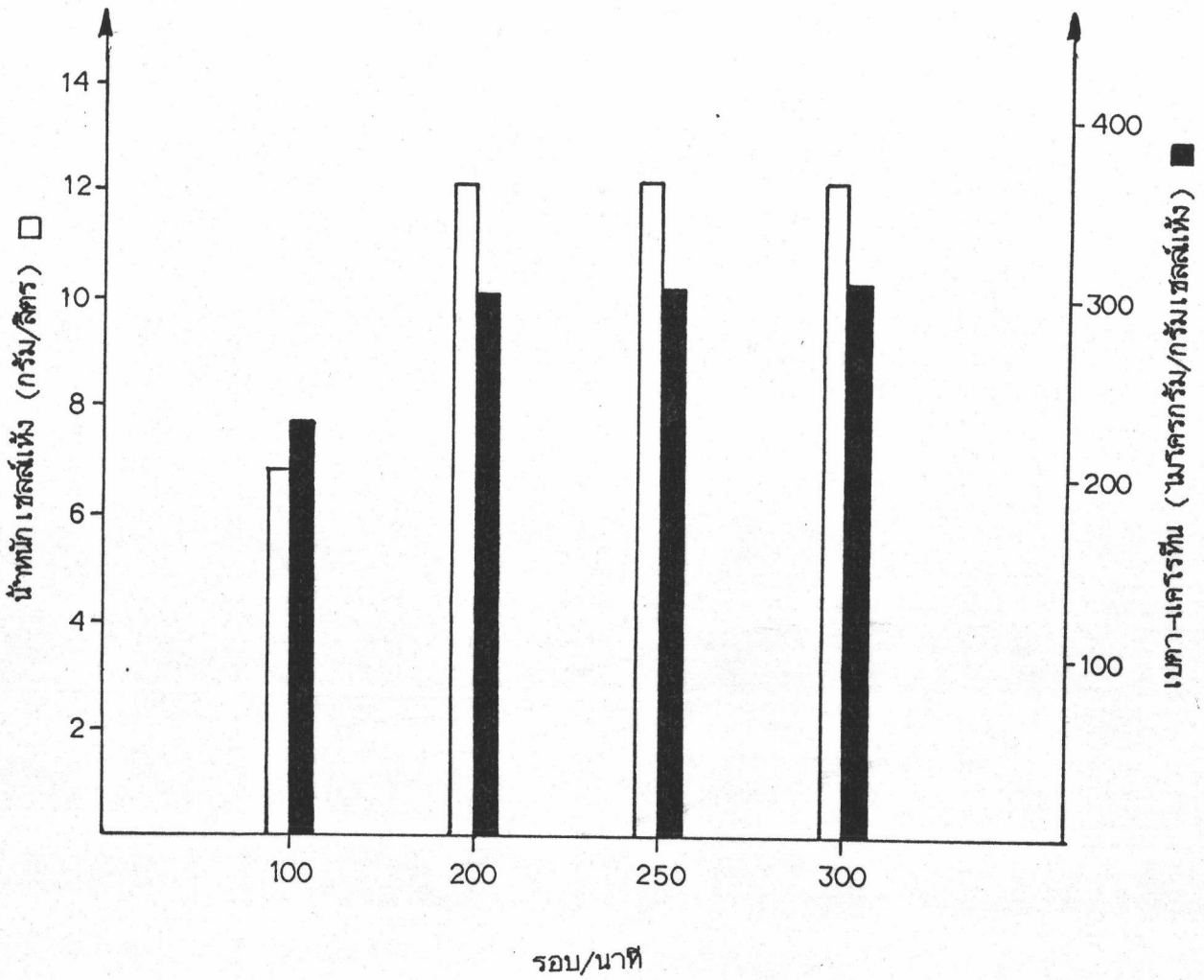
3.4.3.3 ความเร็วรอบของการเขย่า

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3.1 ที่อุณหภูมิ 28° ซ.และความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6 แปรผันความเร็วรอบของการเขย่าตั้งแต่ 100-300 รอบ/นาที ผลการทดลอง (รูปที่ 18) ได้พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อโดยการเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 250 และ 300 รอบ/นาที *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้ดีใกล้เคียงกัน ส่วนเมื่อเลี้ยงเชื้อโดยการเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบ/นาที ทำให้ *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้ต่ำกว่า

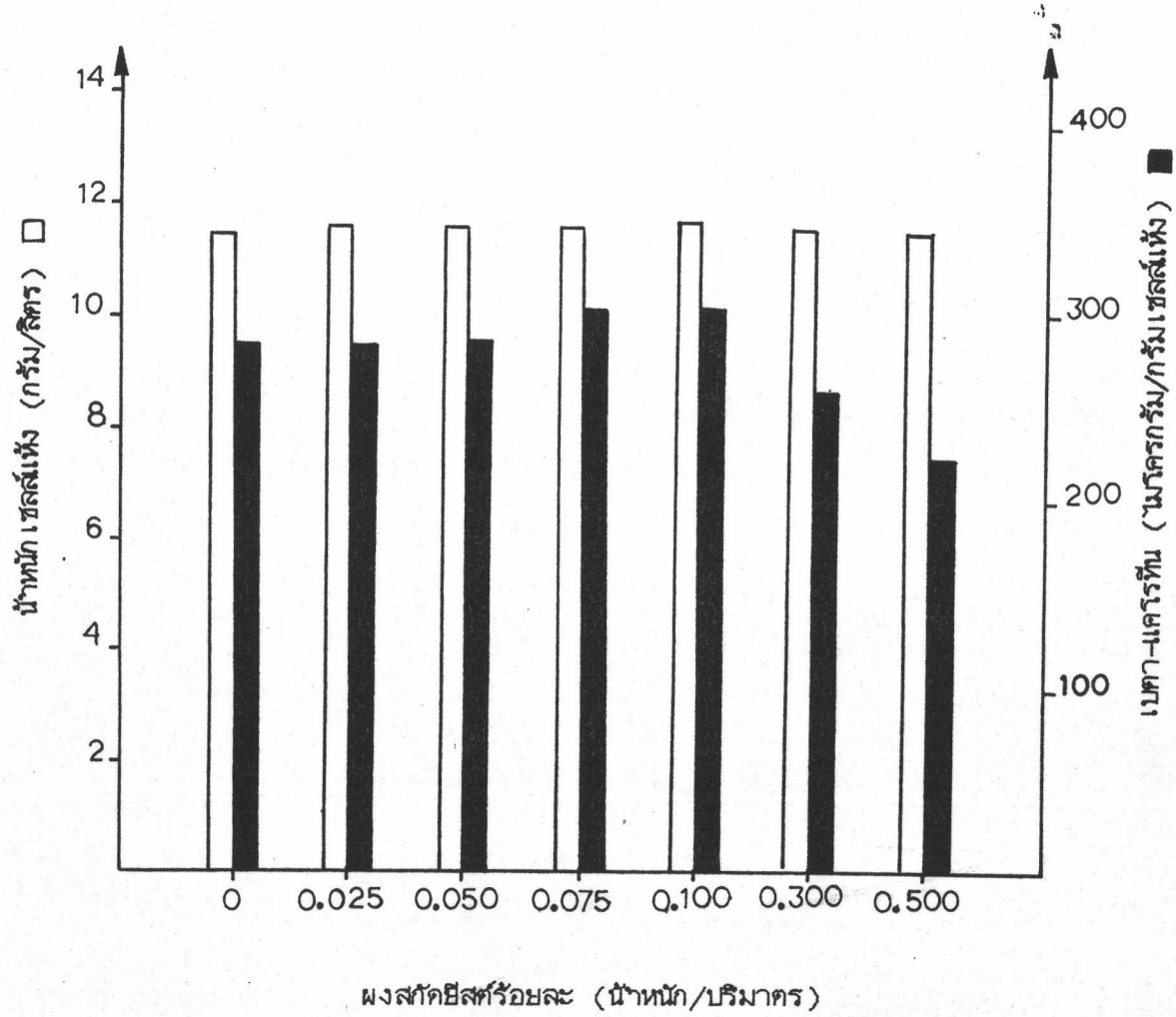
3.4.4 องค์ประกอบอื่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.4.1 ผงสกัดยีสต์

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหารเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3.1 และสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.4.3 ที่อุณหภูมิ 28° ซ. ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6 และความเร็วรอบของเครื่องเขย่า 200 รอบ/นาที แปรผันความเข้มข้นของผงสกัดยีสต์ตั้งแต่ร้อยละ 0.025-0.500 (กรัม/ปริมาตร) จากผลการทดลอง (รูปที่ 19) เมื่อเปรียบเทียบการเติมผงสกัดยีสต์ (ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 0.050 0.075 และ 0.100 กรัม/ปริมาตร) กับการทดลองที่ไม่มีการเติมผงสกัดยีสต์ (ชุดควบคุม) ได้พบว่าปริมาณเบตา-แคโรทีน ที่สังเคราะห์ได้ใกล้เคียงกัน ส่วนที่ความเข้มข้นของผงสกัดยีสต์ร้อยละ 0.300 และ 0.500 กรัม/ปริมาตร การสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนจะต่ำกว่าชุดควบคุม แสดงว่าผงสกัดยีสต์ในความเข้มข้นที่ศึกษาไม่มีผลต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน แต่กลับมีผลให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนลดลง เมื่อเติมผงสกัดยีสต์ความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 0.100 (กรัม/ปริมาตร) ดังนั้นไม่จำเป็นต้องเติมผงสกัดยีสต์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการวิจัยขั้นต่อไป



รูปที่ 18 ผลของความเร็วรอบของการเขย่าที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621



รูปที่ 19 ผลของการเติมผลสกัดยีสต์ที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

3.4.4.2 ไทอามีน

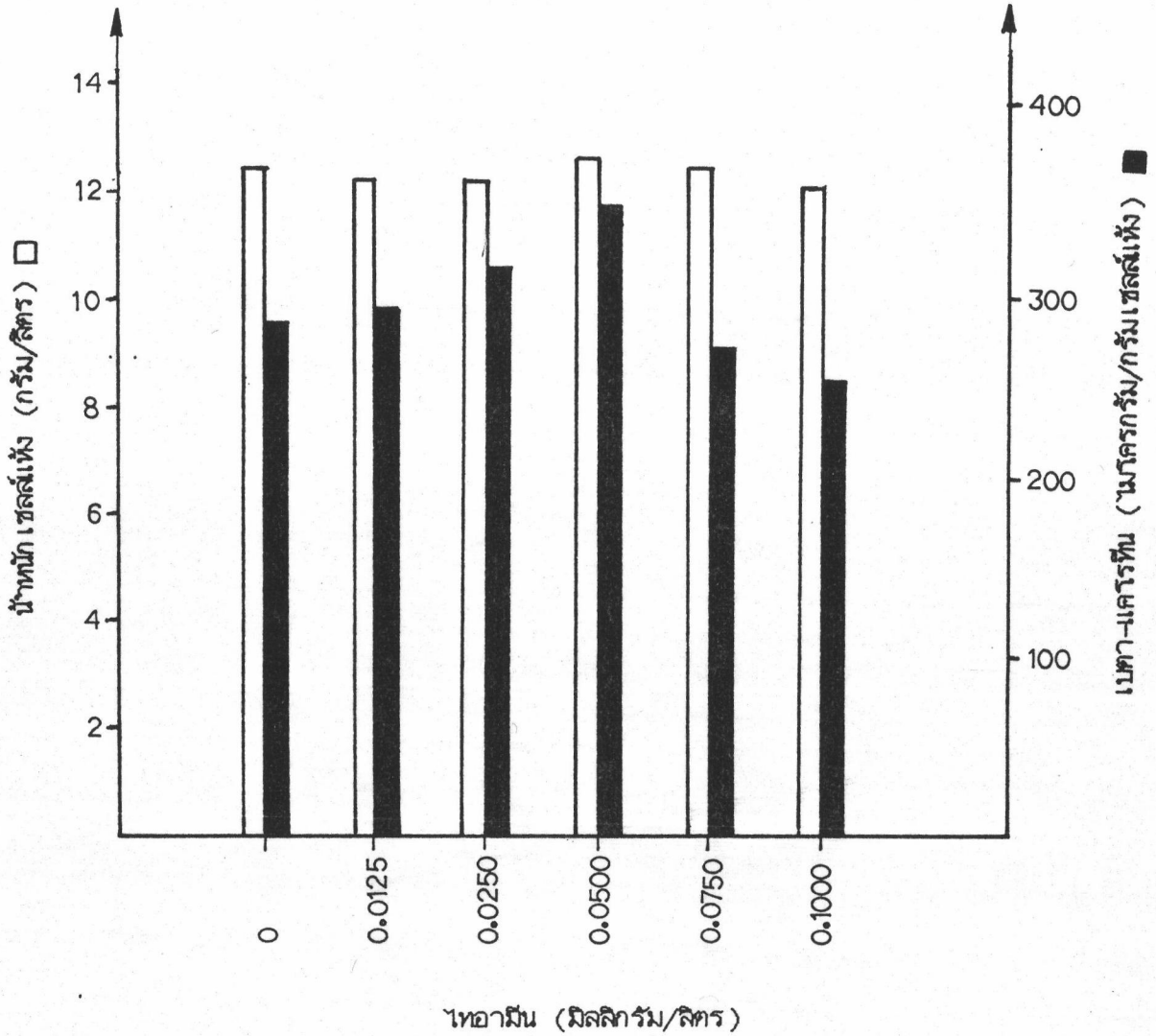
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับข้อ 3.4.3.1 และสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.4.3 แปรผันความเข้มข้นของไทอามีนตั้งแต่ 0.0125-0.1000 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการทดลอง (รูปที่ 20) ได้พบว่าการเติมไทอามีนปริมาณ 0.0500 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ปริมาณเบตา-แคโรทีน (349 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง) ที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp.Y1621 สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไทอามีน (287.02 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง) และชุดที่มีการเติมไทอามีนที่ความเข้มข้นอื่น ๆ

3.4.4.3 ผลของการเติมอิออนของโลหะที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

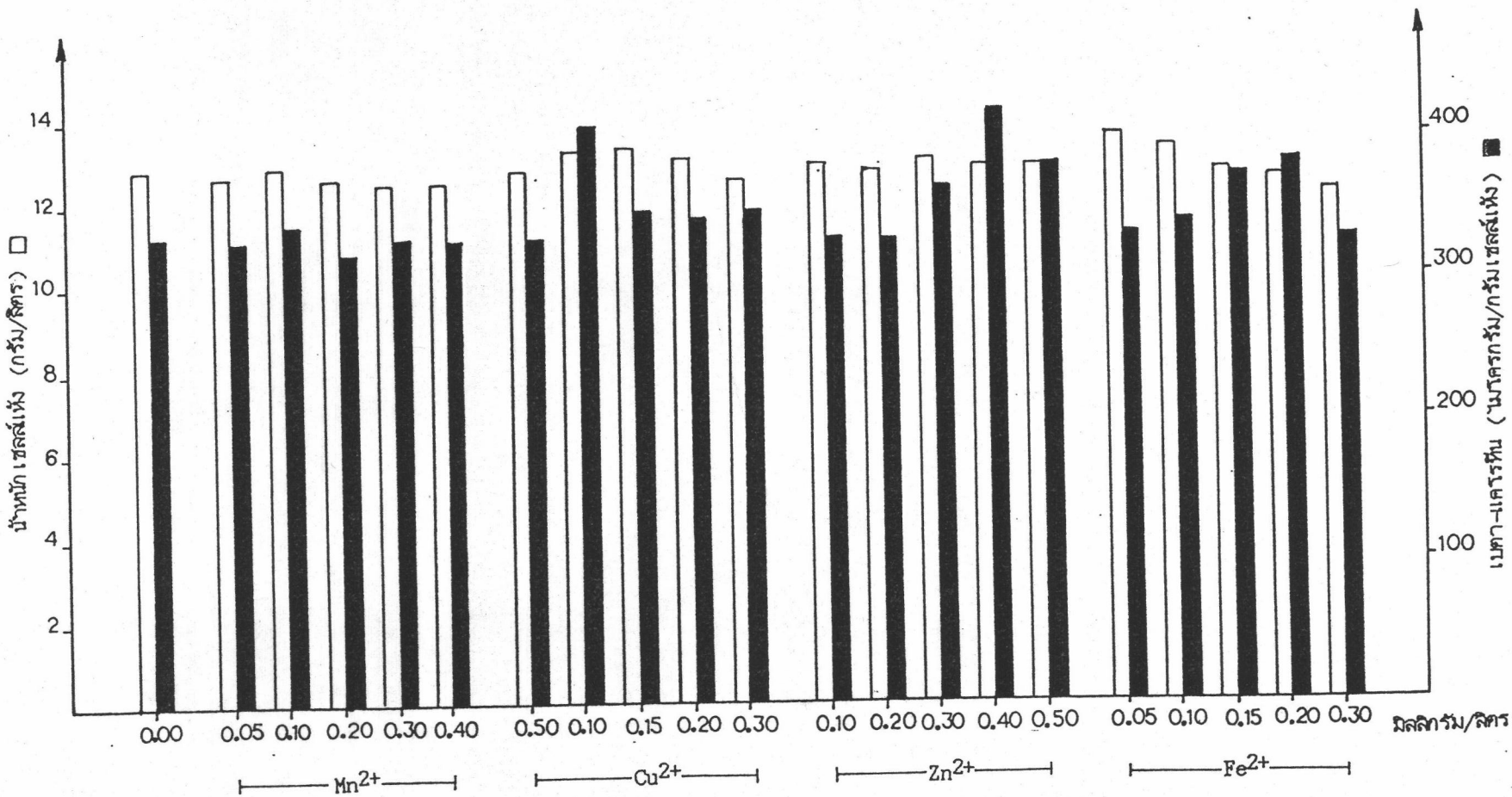
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหารเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3.1 และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3 และเติมไทอามีน 0.50 มิลลิกรัม/ลิตร อิออนของโลหะที่ต้องการศึกษาได้แก่ Fe^{2+} Cu^{2+} Zn^{2+} และ Mn^{2+} โดยแปรผันความเข้มข้นตั้งแต่ 0.05-0.50 มิลลิกรัม/ลิตร ในรูปของเกลือ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ และ $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ตามลำดับ ผลการทดลอง (รูปที่ 21) ได้พบว่าอิออนของโลหะที่มีผลต่อการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนโดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ได้แก่ Fe^{2+} Cu^{2+} และ Zn^{2+} ที่ความเข้มข้นในรูปของเกลือ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ และ $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ เท่ากับ 0.2 0.1 และ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วน Mn^{2+} (ในรูปของเกลือ $MnSO_4 \cdot 4H_2O$) ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ เบตา-แคโรทีน

3.4.4.4 ผลของการเติมอิออนของโลหะร่วมกัน

จากผลการทดลองข้อ 3.4.4.3 พบว่าอิออนของโลหะได้แก่ Fe^{2+} Cu^{2+} และ Zn^{2+} ในความเข้มข้น (ในรูปของเกลือ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ และ $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) เท่ากับ 0.2 0.1 และ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับมีผลต่อการเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp.Y1621 การทดลองนี้จึงต้องการศึกษาผลของการเติมอิออนของโลหะแต่ละชนิดร่วมกัน โดยเลี้ยง



รูปที่ 20 ผลของการเติมไทอามีนที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621



รูปที่ 21 ผลของการเติมอิออนของโลหะที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

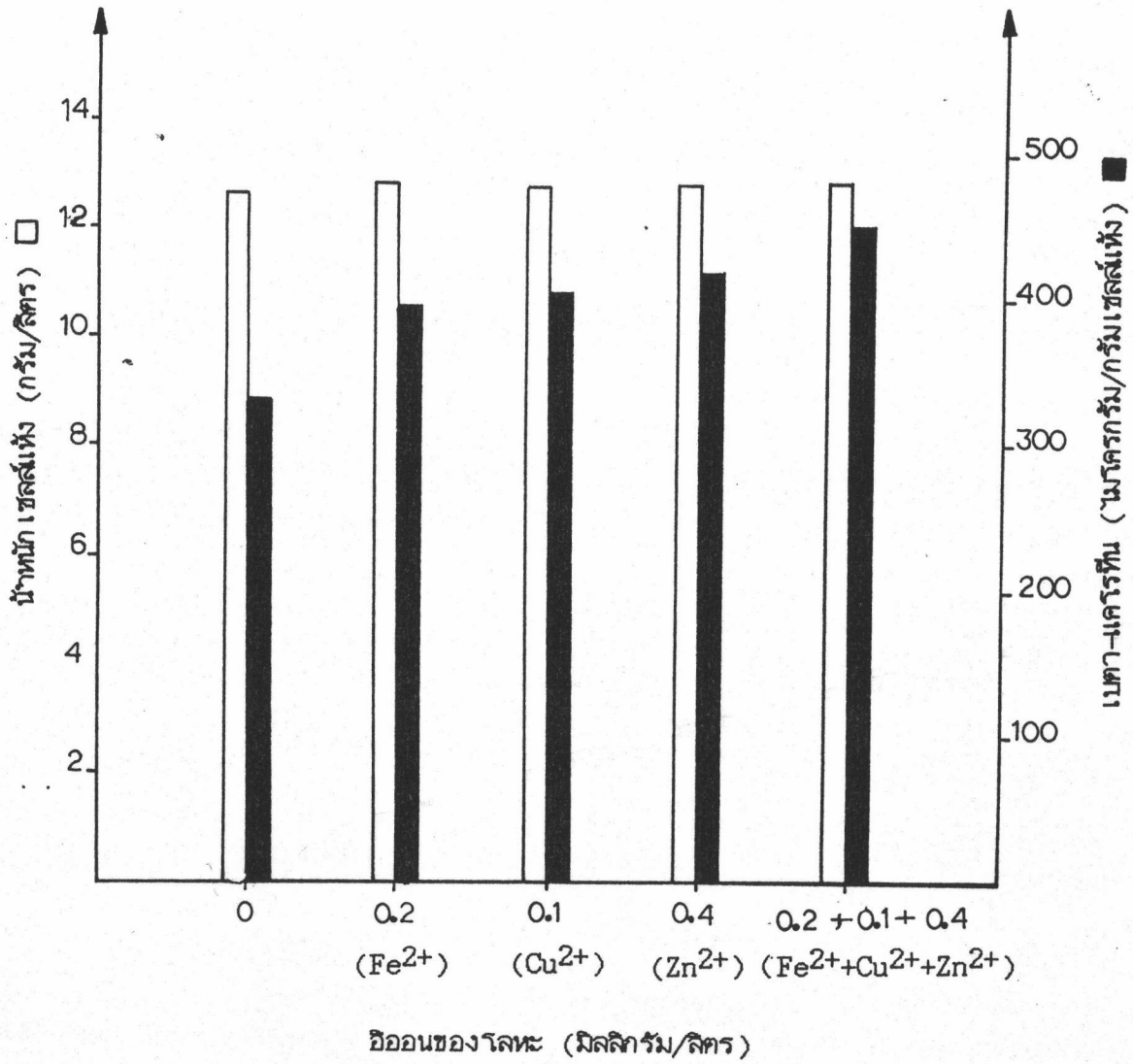
เชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหารเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3.1 และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3 เติมไทอามีน 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการทดลอง (ตารางที่ 6 และ รูปที่ 22) พบว่าการเติมอิออนของโลหะ ได้แก่ (Fe^{2+} Cu^{2+} และ Zn^{2+}) แต่ละชนิดร่วมกันมีผลในการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน (450 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง) มากกว่าการเติมอิออนของโลหะเพียงชนิดเดียว (396.63 403.8 และ 418.27 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ)

ตารางที่ 6 ผลของการรวมอิออนของโลหะที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

อิออนของโลหะ	การเติบโต	ปริมาณรงควัตถุ
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
ชุดควบคุม	12.60	331.73
Fe^{2+}	12.85	396.63
Cu^{2+}	12.72	403.80
Zn^{2+}	12.80	418.27
Fe^{2+}+ Cu^{2+} + Zn^{2+}	12.85	450.00

3.4.5 ระยะเวลาการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหารเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3.1 และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3 เติมไทอามีน 0.05



รูปที่ 22 ผลของการรวมอิออนของโลหะที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

มิลลิกรัม/ลิตร เติมอิออนของโลหะ Fe^{2+} Cu^{2+} และ Zn^{2+} (ในรูปของเกลือ) ปริมาณ 0.2 0.1 และ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อเป็นเวลานาน 96 ชม. โดยเก็บตัวอย่างที่ 0 8 16 24 36 48 60 72 84 และ 96 ชม. ตรวจวัดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ผลการทดลอง (รูปที่ 23) พบว่าการเติบโตสูงสุดที่เวลา 48 ชม. และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน สูงสุดที่เวลา 72 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อตามลำดับ ดังนั้นการทดลองขั้นต่อไปจึงเก็บตัวอย่างที่ 72 ชม. มาศึกษาถึงการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน

3.5 ผลของปัจจัยบางชนิดที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์รงควัตถุโดย *Rhodotorula* sp. Y1621

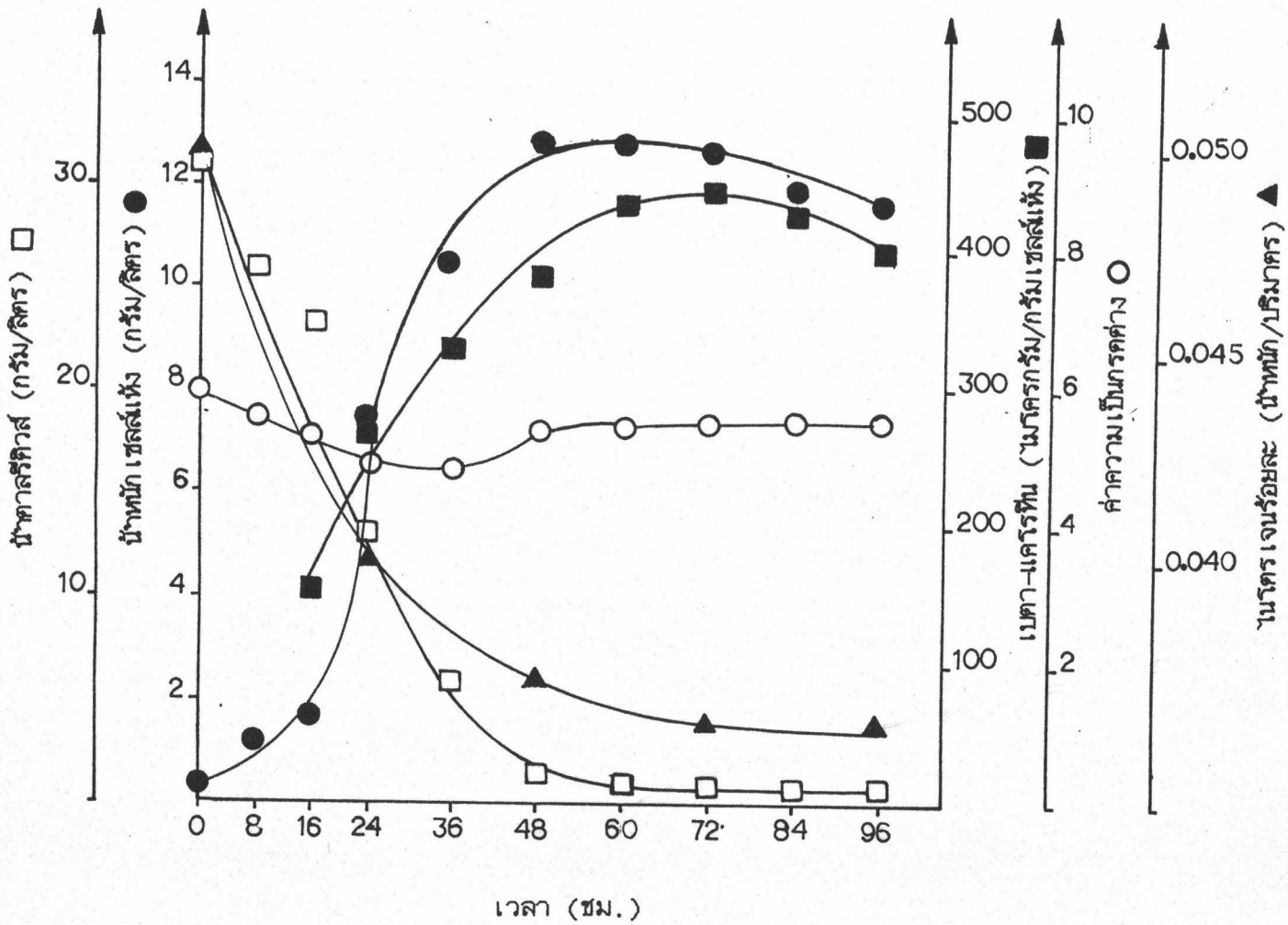
3.5.1 การย้ายเซลล์จากอาหารเลี้ยงเชื้อลงในสารละลายบางชนิด

จากรายงานการวิจัยของคณะผู้วิจัย (42) ซึ่งได้ทำการย้ายเซลล์ *Rhodotorula* sp. Y1621 ที่เติบโตเต็มที่แล้วลงสู่สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ผสมน้ำตาลกลูโคส ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ผสมน้ำตาลซูโครส (ปรับค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายที่กล่าวมาแล้วทุกชนิดให้เท่ากับ 7) และน้ำกลั่น ปรากฏว่าผลที่ได้ไม่แตกต่างจากการเลี้ยงเซลล์ต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อเดิม (เมื่อเชื้อเติบโตสูงสุดแล้วไม่ได้ทำการย้ายเซลล์ ยังคงเลี้ยงต่ออีก 24 ชม. ในอาหารเลี้ยงเชื้อเดิม) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงศึกษาถึงผลของสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่างๆกัน ตั้งแต่ 2-9 โดยเลี้ยง *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหาร และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 เลี้ยงเชื้อเป็นเวลานาน 48 ชม.(เป็นเวลาที่เชื้อมีการเติบโตสูงสุด) แล้วจึงย้ายเซลล์ลงสู่สารละลายบัฟเฟอร์ ที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ พร้อมทั้งมีการเขย่าเป็นเวลา 24 ชม. ผลการทดลอง (ตารางที่ 7) ได้พบว่าการเลี้ยงเชื้อต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อเดิมได้ปริมาณเบตา-แคโรทีน สูงกว่าเมื่อทำการย้ายเซลล์ลงสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ

3.5.2 ผลของการเติมสารบางชนิดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5.2.1 น้ำมันพืช

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหาร



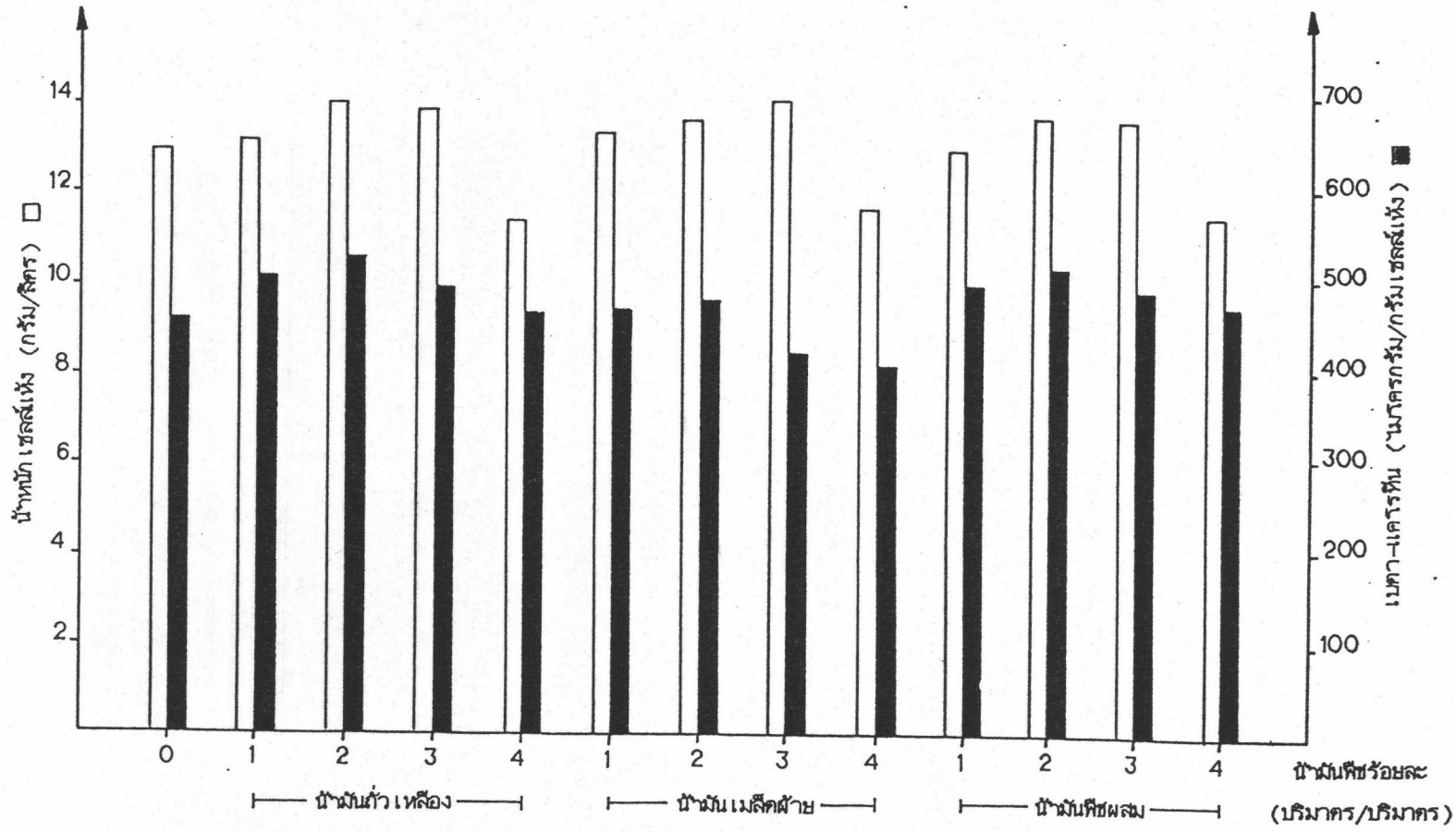
รูปที่ 23 การเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ที่เวลาต่างๆ โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง

ตารางที่ 7 การสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 เมื่อเซลล์อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และเมื่อย้ายเซลล์ไปยังสารละลายที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่างกัน

สภาวะในการทดลอง	ปริมาณรงควัตถุเบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
อาหารเลี้ยงเชื้อเดิมที่ 72 ชม.	434.13
อาหารเลี้ยงเชื้อเดิมที่ 48 ชม.	359.13
ซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (2)	341.83
ซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (3)	337.49
ซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (4)	328.85
ซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (5)	331.00
ซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (6)	326.68
ซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (7)	323.08
ทริสอะมิโนมีเทนบัฟเฟอร์ (8)	294.95
ทริสอะมิโนมีเทนบัฟเฟอร์ (9)	276.92

หมายเหตุ ( ) คือค่าความเป็นกรดด่างของสารละลาย

และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 เติมน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดฝ้าย โดยแปรผันความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 1-4 (ปริมาตร/ปริมาตร) และแปรผันความเข้มข้นของน้ำมันพืชผสมระหว่างน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดฝ้ายตั้งแต่ร้อยละ 1-4 (ปริมาตร/ปริมาตร) ผลการทดลอง (รูปที่ 24) ได้พบว่าน้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) ให้ผลในการเพิ่มการเติบโต และเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน เป็น 526.44 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ได้ใกล้เคียงกับน้ำมันผสมร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ปริมาณเซลล์เท่ากับ 14.00 และ 13.60 กรัม/ลิตร ปริมาณเบตา-แคโรทีนเท่ากับ



รูปที่ 24 ผลของการเติมน้ำมันพืชที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน

โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

526.44 และ 512.62 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ) ส่วนเมื่อเติมน้ำมันเมล็ดฝ้ายที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 *Rhodotorula* sp. Y1621 สังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้ปริมาณใกล้เคียงกับการทดลองที่ไม่ได้เติมน้ำมันพืช (ชุดควบคุม) และพบว่าทุกการทดลองที่มีการเติมน้ำมันพืชมากกว่าร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) มีผลให้การสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ลดลง

3.5.2.2 ดีเทอร์เจนต์

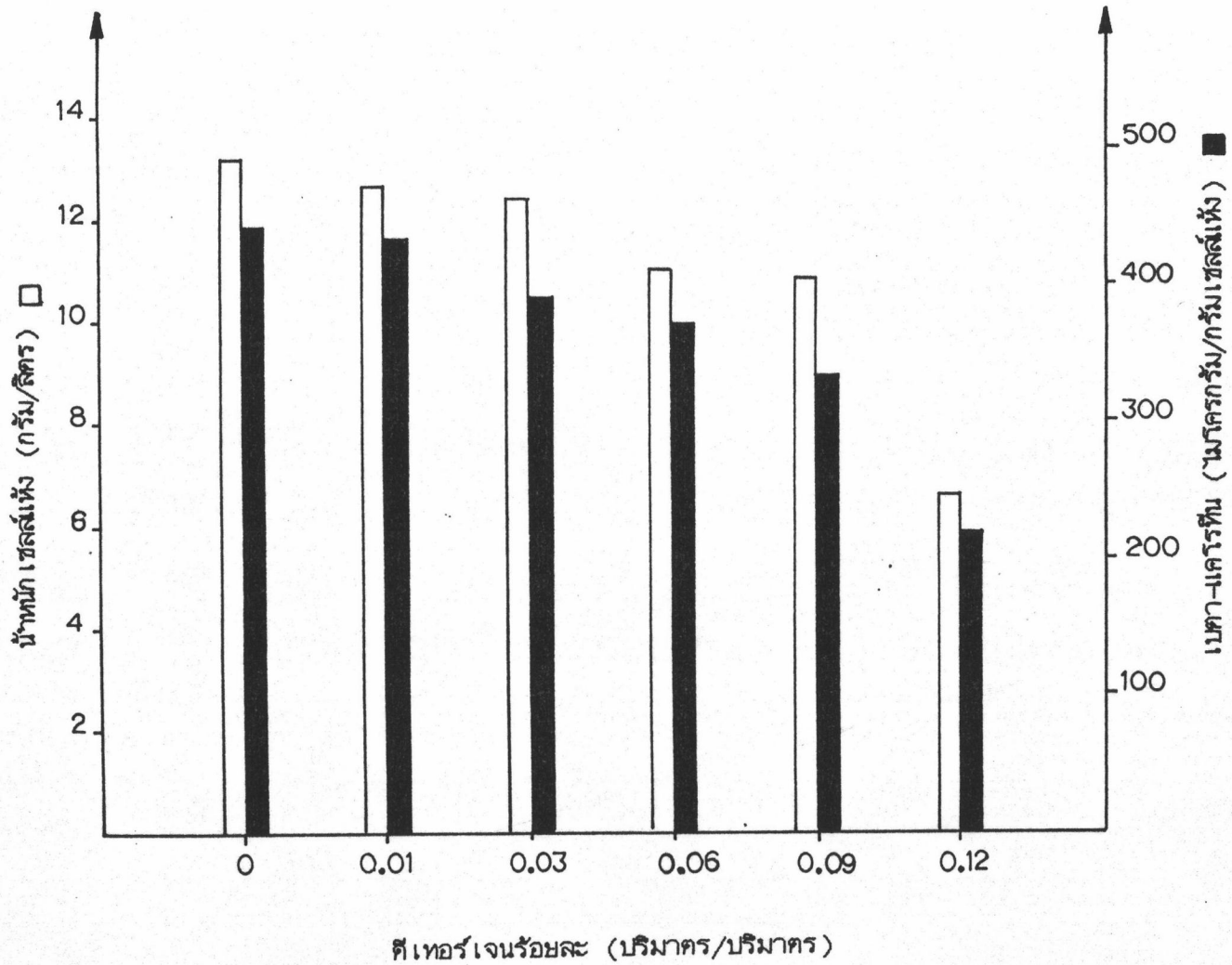
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 แปรผันความเข้มข้นของดีเทอร์เจนต์ (triton X-100) ตั้งแต่ร้อยละ 0.01-0.12 (ปริมาตร/ปริมาตร) ดังแสดงผลในรูปที่ 25 ซึ่งได้พบว่าการเติมดีเทอร์เจนต์ทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเพิ่มการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน และยังได้พบว่าการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนกลับมีค่าลดลง เมื่อความเข้มข้นของดีเทอร์เจนต์สูงขึ้น

3.5.2.3 เบตา-ไอโอโนน

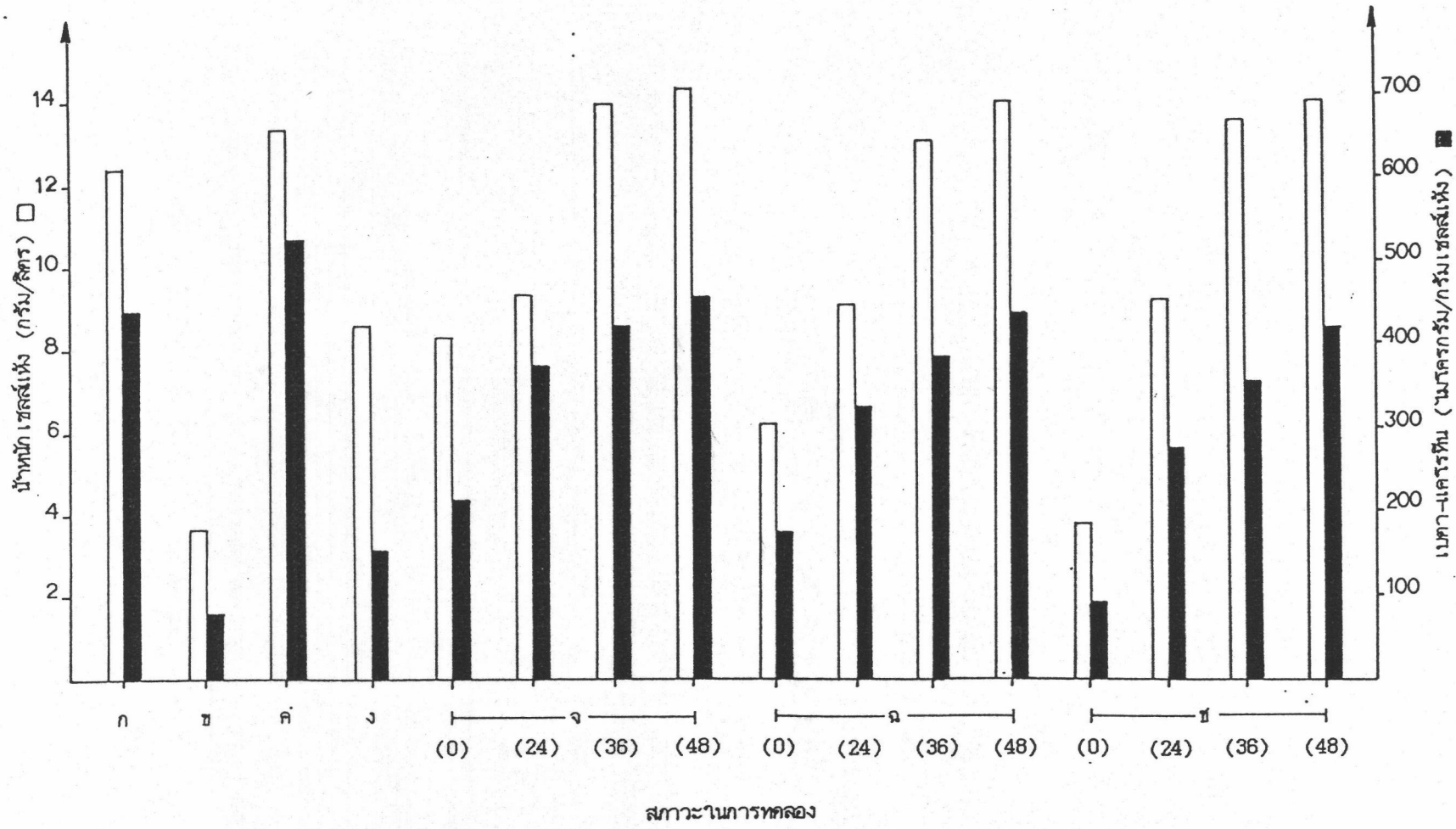
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 แปรผันความเข้มข้นของ เบตา-ไอโอโนน และแปรผันเวลาที่เติม เบตา-ไอโอโนน ผลการทดลอง (รูปที่ 26) ได้พบว่าการเติม เบตา-ไอโอโนน ทุกความเข้มข้น และทุกระยะเวลาที่เติมไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 โดยเฉพาะเมื่อเติม เบตา-ไอโอโนน ที่เวลา 0 ชม. จะมีผลไปลดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ด้วย

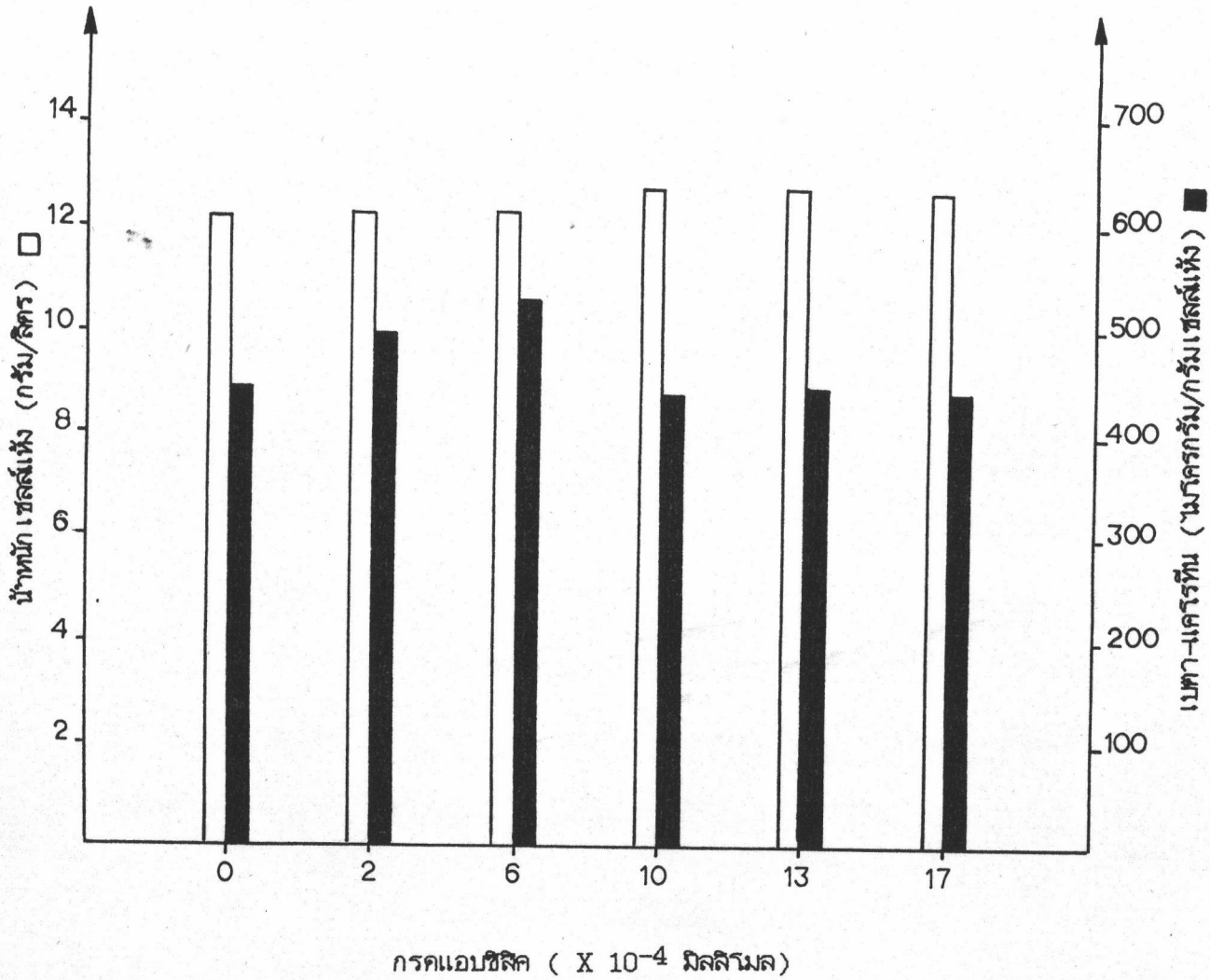
3.5.2.4 กรดแอบซิสิค

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะการเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 แปรผันความเข้มข้นของกรดแอบซิสิค ตั้งแต่ $2x10^{-4}$ ถึง $17X10^{-4}$ มิลลิโมล ผลการทดลองที่ได้ (รูปที่ 27) พบว่ากรดแอบซิสิคที่ความเข้มข้น $2x10^{-4}$ และ $6x10^{-4}$ มิลลิโมลให้ผลในการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน และที่ความเข้มข้น $6x10^{-4}$ มิลลิโมล เป็นความเข้มข้นที่ทำให้มีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน เพิ่มขึ้นจาก 442.79 เป็น 527.16 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง



รูปที่ 25 ผลของการเติมดีเทอร์เจนต์ที่มีต่อการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621


น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) □
14
12
10
8
6
4
2
700
600
500
400
300
200
100
■ เมล็ดแตงกวา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
ก
ข
ค
ง
จ
ฉ
ช
(0)
(24)
(36)
(48)
(0)
(24)
(36)
(48)
(0)
(24)
(36)
(48)
สภาวะในการทดลอง



รูปที่ 27 ผลของการเติมกรดแอบซิสิค ที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

3.5.2.5 โซเดียมซัคซิเนท

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 แปรผันความเข้มข้นของโซเดียมซัคซิเนทตั้งแต่ร้อยละ 0.1-0.3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ผลการทดลองที่ได้ (รูปที่ 28) พบว่าการเติมโซเดียมซัคซิเนทที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน มากกว่าที่ความเข้มข้นอื่นๆเพียงเล็กน้อย

3.5.2.6 วิตามินเอ

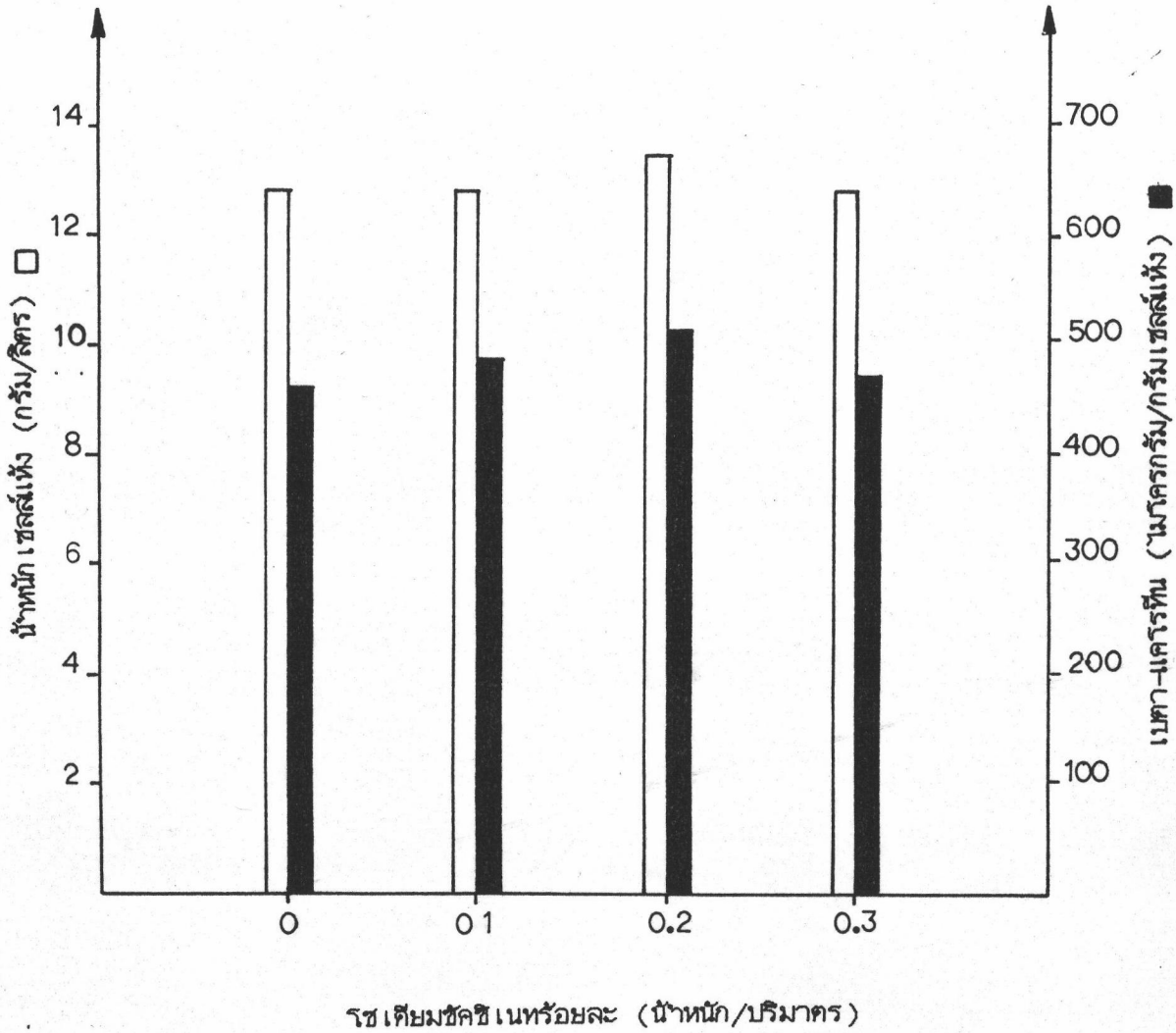
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 แปรผันความเข้มข้นของวิตามินเอ ตั้งแต่ 0.06-0.42 มิลลิโมล ผลการทดลอง (รูปที่ 29) พบว่าวิตามินเอที่ความเข้มข้น 0.32 และ 0.42 มิลลิโมล มีผลในการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนได้เล็กน้อย

3.5.2.7 แอนติออกซิแดนท์

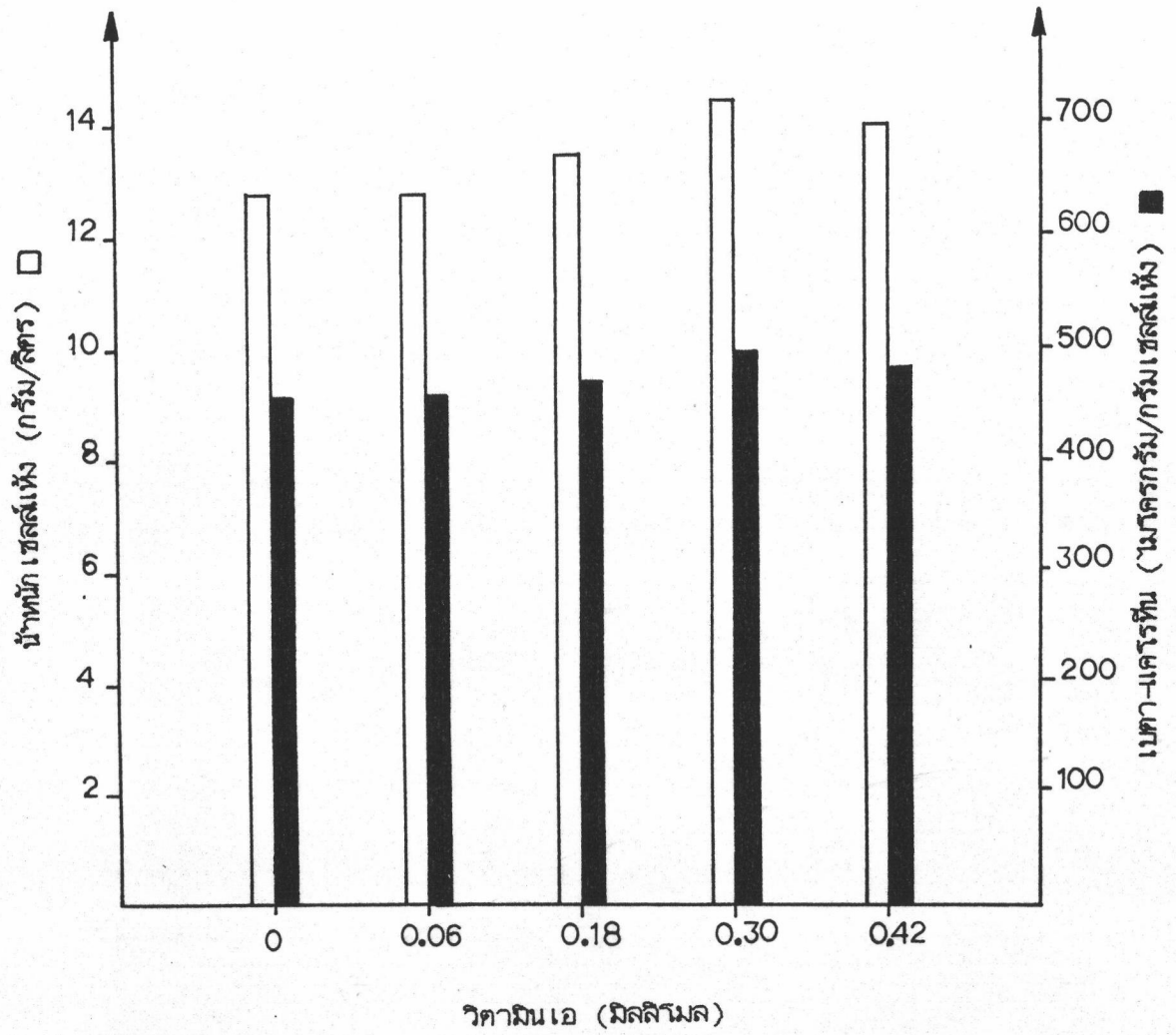
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 แปรผันความเข้มข้นของ แอนติออกซิแดนท์ (2,6-ditertiarybutyl-4-methylphenol) ตั้งแต่ 0.1-0.5 กรัม/ลิตร ผลการทดลอง (ตารางที่ 8 และรูปที่ 30) ได้พบว่าการเติมสารแอนติออกซิแดนท์ทุกความเข้มข้นมีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน และที่ความเข้มข้น 0.2 กรัม/ลิตร มีผลให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นมาก จาก 447.12 เป็น 666.35 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

3.5.2.8 คีโรซีน

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 แปรผันความเข้มข้นของคีโรซีนตั้งแต่ 2.5-20 มิลลิลิตร/ลิตร ผลการทดลอง (ตารางที่ 9 และรูปที่ 31) พบว่าการเติมคีโรซีนปริมาณ 2.5 และ 5.0 มิลลิลิตร/ลิตร มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน และที่ความเข้มข้น 5.0 มิลลิลิตร/ลิตร ทำให้การสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน เพิ่มขึ้นจาก 447.12 เป็น 536.54 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง



รูปที่ 28 ผลของการเติมโซเดียมซัคซิเนทที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621



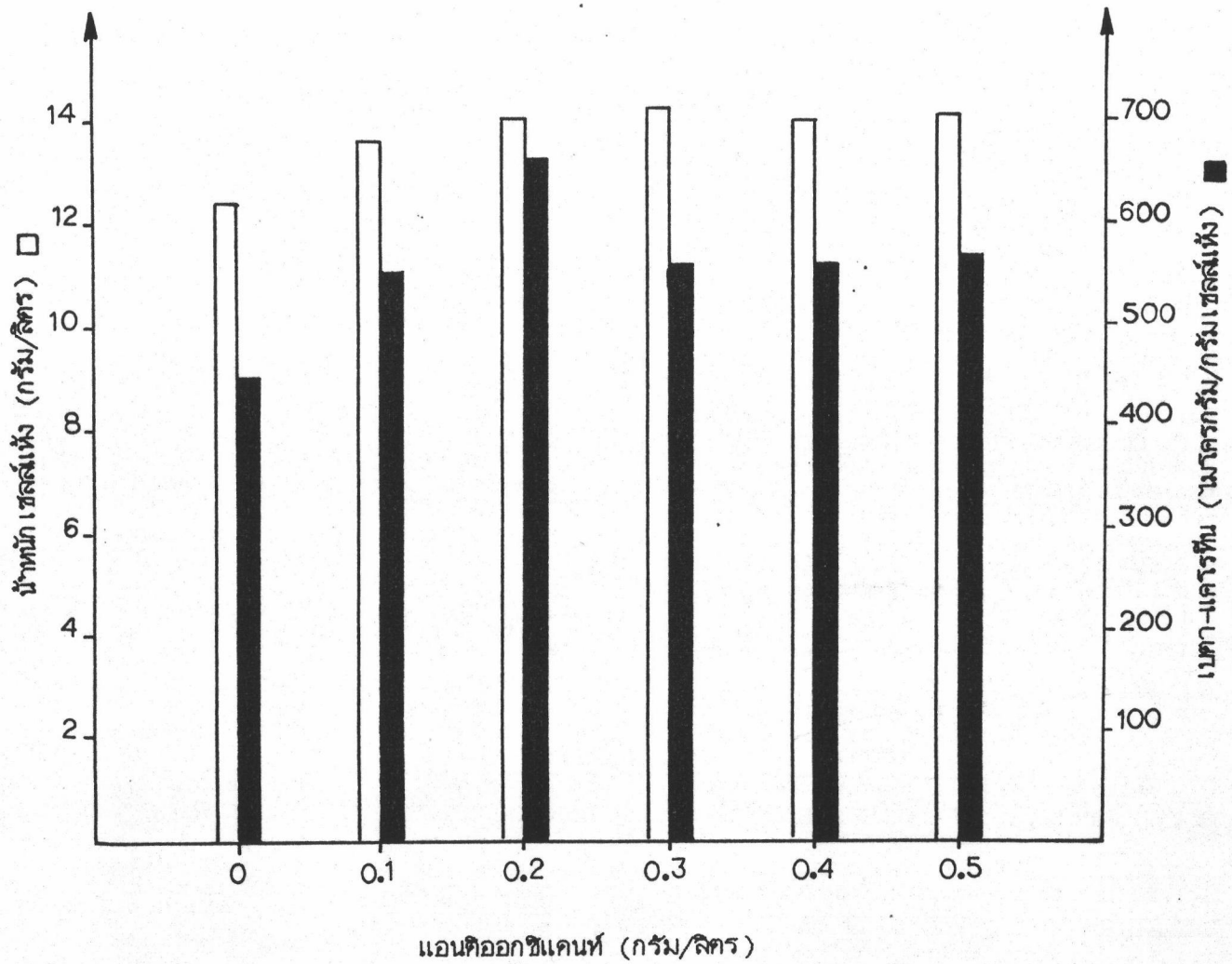
รูปที่ 29 ผลของการเติมวิตามินเอที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

ตารางที่ 8 ผลของการเติมแอนติออกซิแดนท์ที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

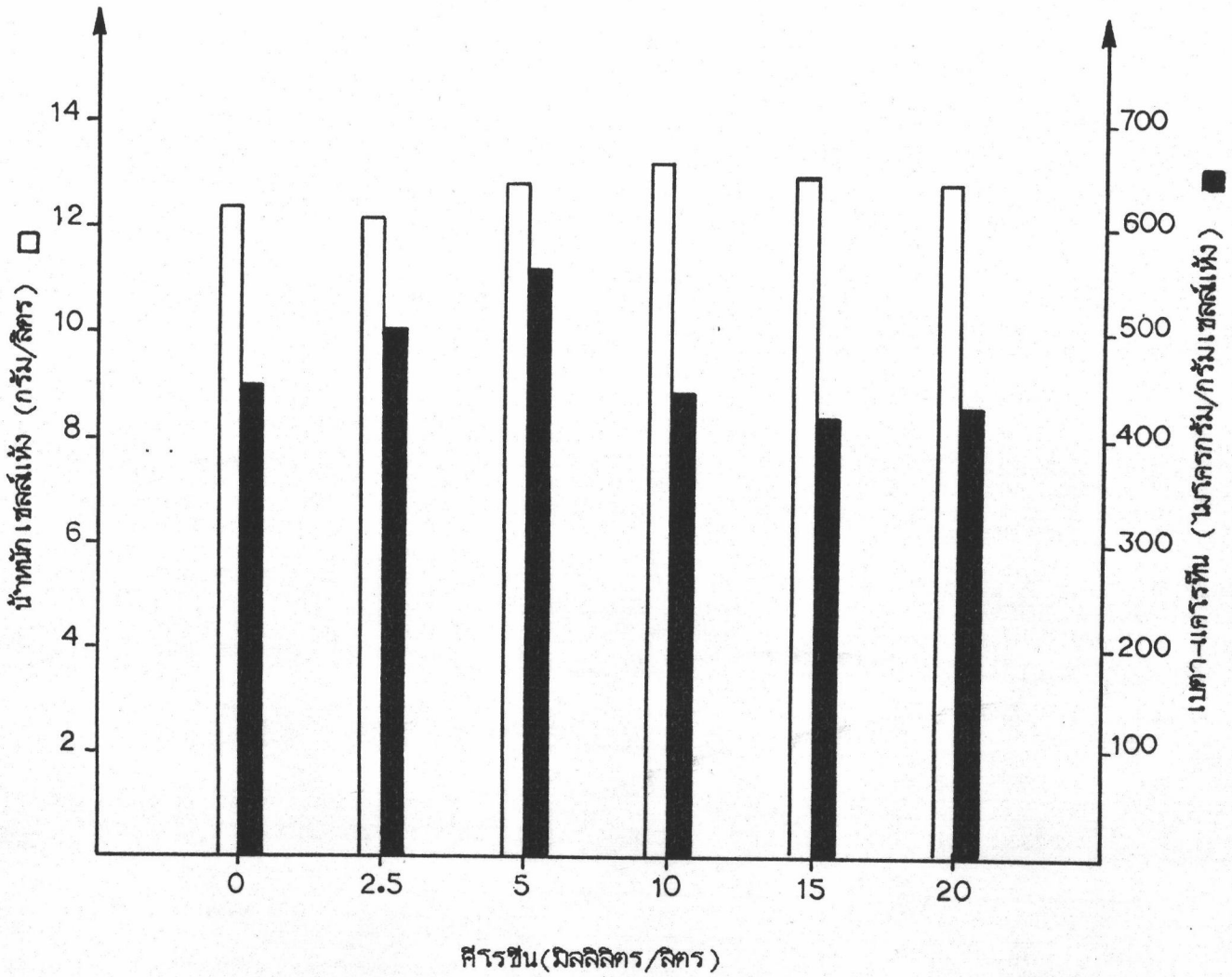
สารแอนติออกซิแดนท์ (กรัม/ลิตร)	การเติบโต น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณรงควัตถุ เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
ชุดควบคุม	12.40	447.12
0.1	13.14	554.57
0.2	14.10	666.35
0.3	14.40	556.00
0.4	14.00	561.78
0.5	14.20	568.99

ตารางที่ 9 ผลของการเติมคีโรซีนที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

คีโรซีน (มิลลิลิตร/ลิตร)	การเติบโต น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณรงควัตถุ เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
ชุดควบคุม	12.40	447.12
2.5	12.20	504.08
5.0	12.84	536.54
10.0	13.28	442.79
15.0	13.00	419.71
20.0	12.50	430.53



รูปที่ 30 ผลของการเติมแอนติออกซิแดนท์ที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621



รูปที่ 31 ผลของการเติมศีโรซีนที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

3.5.2.9 ผลของการเติมสารบางชนิดร่วมกัน

จากผลการทดลองข้อ 3.5.2.1-3.5.2.8 สารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนมากขึ้น ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง กรดแอบซิสิค แอนติออกซิแดนท์ และ คีโรซีน การศึกษาขั้นต่อไปต้องการศึกษาผลของการเติมสารแต่ละชนิดดังกล่าวร่วมกัน โดยเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหารและสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.5.1 โดยที่ความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดที่ใช้เลือกมาจากผลการทดลองในข้อ 3.5.2.1 3.5.2.4 3.5.2.7 และ 3.5.2.8 กล่าวคือความเข้มข้นของน้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) กรดแอบซิสิค $6x10^{-4}$ มิลลิโมล แอนติออกซิแดนท์ 0.2 กรัม/ลิตร และคีโรซีน 5.0 มิลลิลิตร/ลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้ (ตารางที่ 10) พบว่าทุกการทดลองมีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน ให้สูงขึ้น การทดลองที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน สูงขึ้นเกินกว่า 550 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง โดยเรียงจากมากไปหาน้อยมีดังนี้ 1. แอนติออกซิแดนท์ 2. กรดแอบซิสิค + แอนติออกซิแดนท์ 3. คีโรซีน + แอนติออกซิแดนท์ 4. น้ำมันถั่วเหลือง + แอนติออกซิแดนท์ 5. กรดแอบซิสิค + คีโรซีน + แอนติออกซิแดนท์ 6. น้ำมันถั่วเหลือง + กรดแอบซิสิค + แอนติออกซิแดนท์ 7. น้ำมันถั่วเหลือง + คีโรซีน + แอนติออกซิแดนท์ และ 8. น้ำมันถั่วเหลือง + กรดแอบซิสิค + คีโรซีน + แอนติออกซิแดนท์ สิ่งที่น่าสังเกตุคือ การทดลองที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน สูงเกินกว่า 550 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง นั้นจะมีสารแอนติออกซิแดนท์รวมอยู่ด้วยทุกครั้ง และพบว่าการเติมแอนติออกซิแดนท์ เพียงอย่างเดียว มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน มากกว่าการทดลองอื่นๆ

3.5.3 ผลของการให้แสง

3.5.3.1 ความเข้มของแสงที่เหมาะสม

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะการเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 ให้แสงขณะเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มแสงต่างๆ ตั้งแต่ 0-3000 ลักซ์ ผลการทดลอง (ตารางที่ 11 และรูปที่ 32) ได้พบว่าความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน อยู่ระหว่าง 900-1100 ลักซ์ และที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ทำให้ *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ได้มากกว่าที่ความเข้มแสงอื่น ๆ ส่วนความเข้มแสงที่ต่ำหรือสูงกว่านี้ กลับมีผล

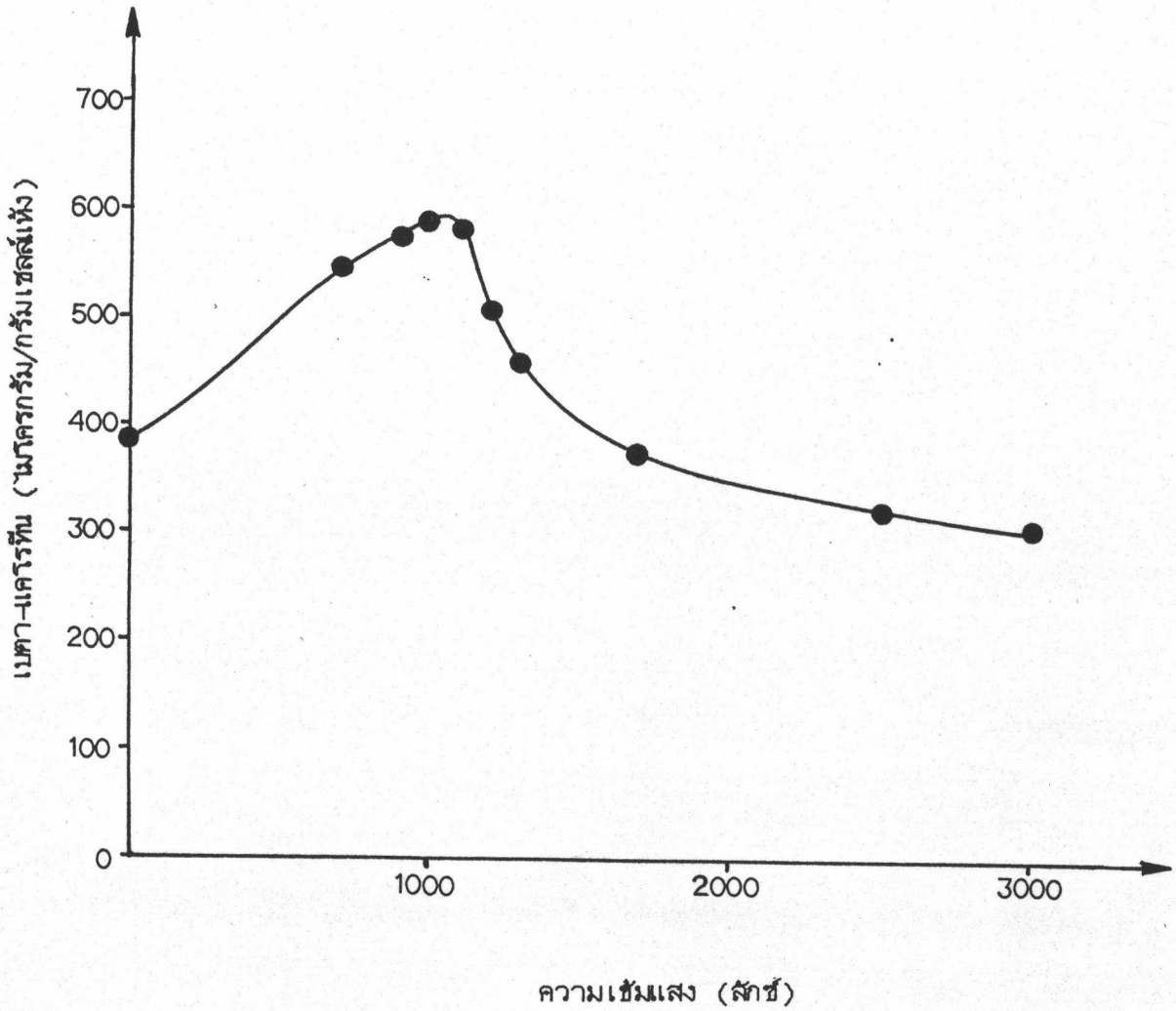
ให้ปริมาณเบตา-แคโรทีน ลดลง

ตารางที่ 10 ผลของการเติมสารบางชนิดร่วมกัน ที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

ชนิดของสาร	ปริมาณรงควัตถุ
	เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
ไม่เติมสาร	434.13
น้ำมันถั่วเหลือง	503.36
กรดแอบซิสิค	537.26
คีโรซีน	522.12
แอนติออกซิแดนท์	645.43
น้ำมันถั่วเหลือง+กรดแอบซิสิค	504.81
น้ำมันถั่วเหลือง+คีโรซีน	514.90
น้ำมันถั่วเหลือง+แอนติออกซิแดนท์	574.04
กรดแอบซิสิค+คีโรซีน	530.77
กรดแอบซิสิค+แอนติออกซิแดนท์	627.40
คีโรซีน+แอนติออกซิแดนท์	584.85
น้ำมันถั่วเหลือง+กรดแอบซิสิค+คีโรซีน	522.84
น้ำมันถั่วเหลือง+กรดแอบซิสิค+แอนติออกซิแดนท์	563.94
น้ำมันถั่วเหลือง+คีโรซีน+แอนติออกซิแดนท์	554.57
กรดแอบซิสิค+คีโรซีน+แอนติออกซิแดนท์	565.38
น้ำมันถั่วเหลือง+แอนติออกซิแดนท์+คีโรซีน+กรดแอบซิสิค	551.68

ตารางที่ 11 ผลของแสงที่ความเข้มแสงต่างๆที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

ความเข้มของแสง (ลักซ์)	การเติบโต	ปริมาณรงควัตถุ
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
0	11.82	389.42
700	11.74	548.08
900	11.52	576.92
1000	11.72	591.35
1100	11.60	584.13
1200	11.56	512.02
1300	11.62	461.54
1700	11.60	375.00
2500	11.58	324.52
3000	11.68	302.88



รูปที่ 32 ผลของแสงที่ความเข้มแสงต่างๆที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

3.5.3.2 ระยะเวลาให้แสงที่เหมาะสม

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหารและสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 (ทำการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 72 ชม.) ให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ โดยแปรผันระยะเวลาการให้แสงเป็น 5 แบบการทดลองดังนี้

1. ไม่ให้แสงตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (ชุดควบคุม)
2. ให้แสงตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
3. ให้แสง 12 ชม. ตามด้วยการไม่ให้แสง 12 ชม. สลับกัน
4. ให้แสง 48 ชม. ตามด้วยการไม่ให้แสง 24 ชม. (ก)
5. ไม่ให้แสง 48 ชม. ตามด้วยการให้แสง 24 ชม. (ข)

ผลการทดลอง (ตารางที่ 12 และรูปที่ 33) ได้พบว่าการให้แสงตามแบบการทดลองข้อ 2-4 ให้ผลใกล้เคียงกัน ส่วนแบบการทดลองที่ 5 ให้เบตา-แคโรทีน ต่ำกว่าแบบการทดลองที่ 2-4 แต่สูงกว่าชุดควบคุม แสดงว่าแสงมีผลต่อการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดยที่เชื้อที่ได้รับแสงขณะที่มีการเติบโต จะมีการสังเคราะห์รงควัตถุได้มากกว่าเมื่อเติบโตในที่ไม่มีแสง

3.5.4 ผลของการเติมสารแอนติออกซิแดนท์ พร้อมกับการให้แสง

จากผลการทดลองข้อ 3.5.2.9 พบว่าการเติมสารแอนติออกซิแดนท์เพียงอย่างเดียว มีผลในการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน มากกว่าการเติมสารชนิดอื่นๆและจากผลการทดลองข้อ 3.5.3.1 และ 3.5.3.2 พบว่าการให้แสงที่ความเข้มแสง 900-1100 ลักซ์ ขณะเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเพิ่มปริมาณรงควัตถุมากกว่าการไม่ให้แสงหรือการให้แสงที่ความเข้มแสงสูงหรือต่ำกว่านี้ ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จะรวมผลของปัจจัยทั้งสองโดยทำการเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในสูตรอาหาร และสภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 เติมสารแอนติออกซิแดนท์ 0.2 กรัม/ลิตร และให้แสงที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 13 และรูปที่ 34 พบว่าการรวมปัจจัยทั้งสอง (เติมสารแอนติออกซิแดนท์ 0.2 กรัม/ลิตร และให้แสง 1000 ลักซ์ ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ) มีผลให้รงควัตถุ เบตา-แคโรทีน สูงขึ้นกว่าการเติมสารแอนติออกซิแดนท์ หรือการให้แสงเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง

ตารางที่ 12 ผลของระยะเวลาการให้แสงที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

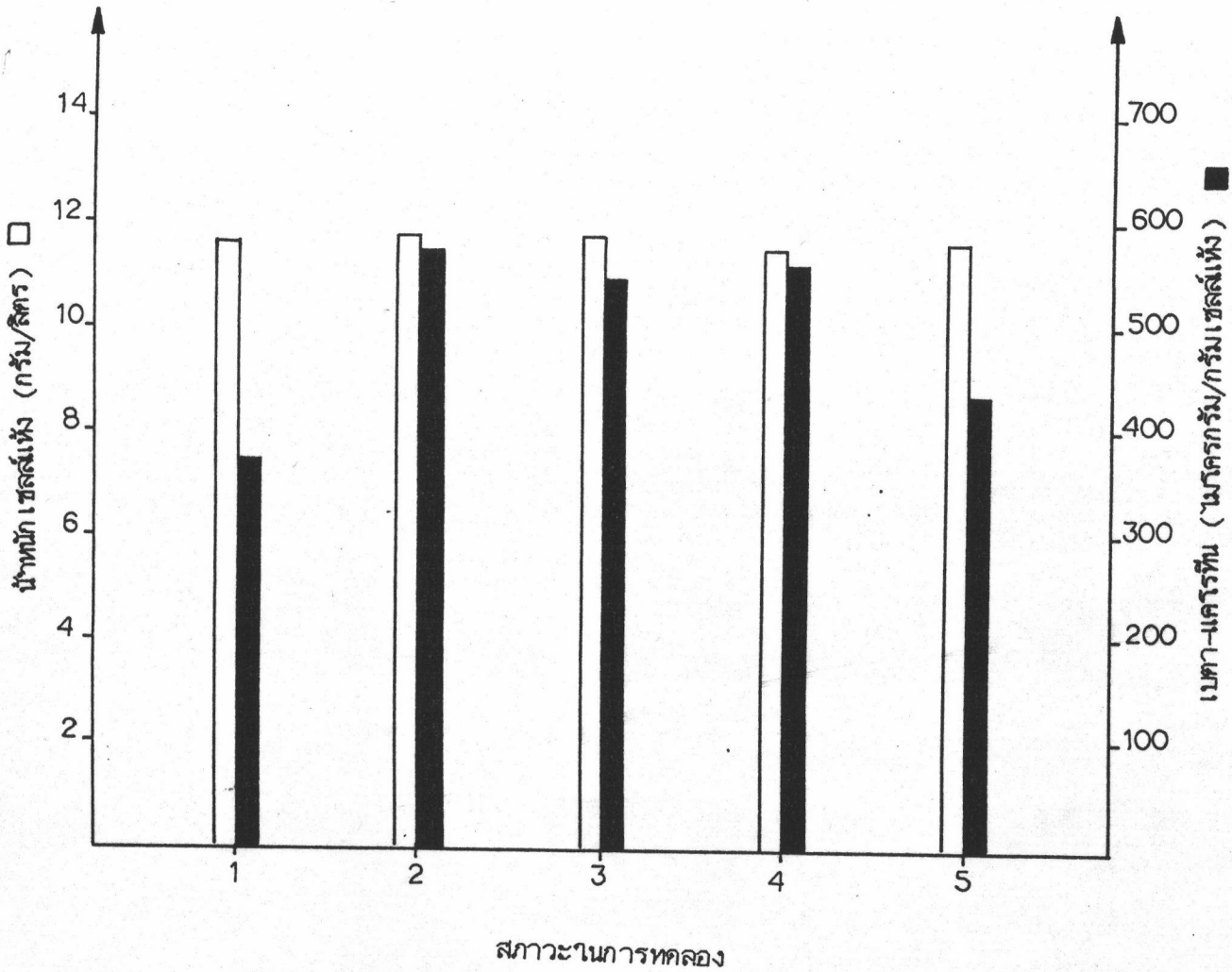
ช่วงเวลาการให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ (ชม.)	การเติบโต	ปริมาณรงควัตถุ
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
0	11.52	368.51
72	11.70	574.04
12-12	11.72	545.19
48-24(ก)	11.44	565.38
48-24(ข)	11.64	434.85

3.6 การผลิตรงควัตถุเบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y 1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง (จากข้อ 3.4.5) ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการศึกษาในระดับขวดเขย่า ที่อุณหภูมิเท่ากับ 28°ซ.และควบคุมสภาวะการเลี้ยงเชื้อ พร้อมทั้งศึกษาผลของปัจจัยบางประการ ที่คาดว่าจะมีส่วนเพิ่มการสังเคราะห์รงควัตถุให้มากขึ้น ลักษณะการเติบโตของ *Rhodotorula* sp. Y1621ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ได้แสดงดังรูปที่ 35

3.6.1 ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง โดยปรับค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากับ 6.0 แล้วปรับค่าความเป็น



รูปที่ 33 ผลของระยะเวลาการให้แสงที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

1 = ไม่ให้แสงตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

2 = ให้แสงตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

3 = ให้แสง 12 ชม. ตามด้วยการไม่ให้แสง 12 ชม. สลับกัน

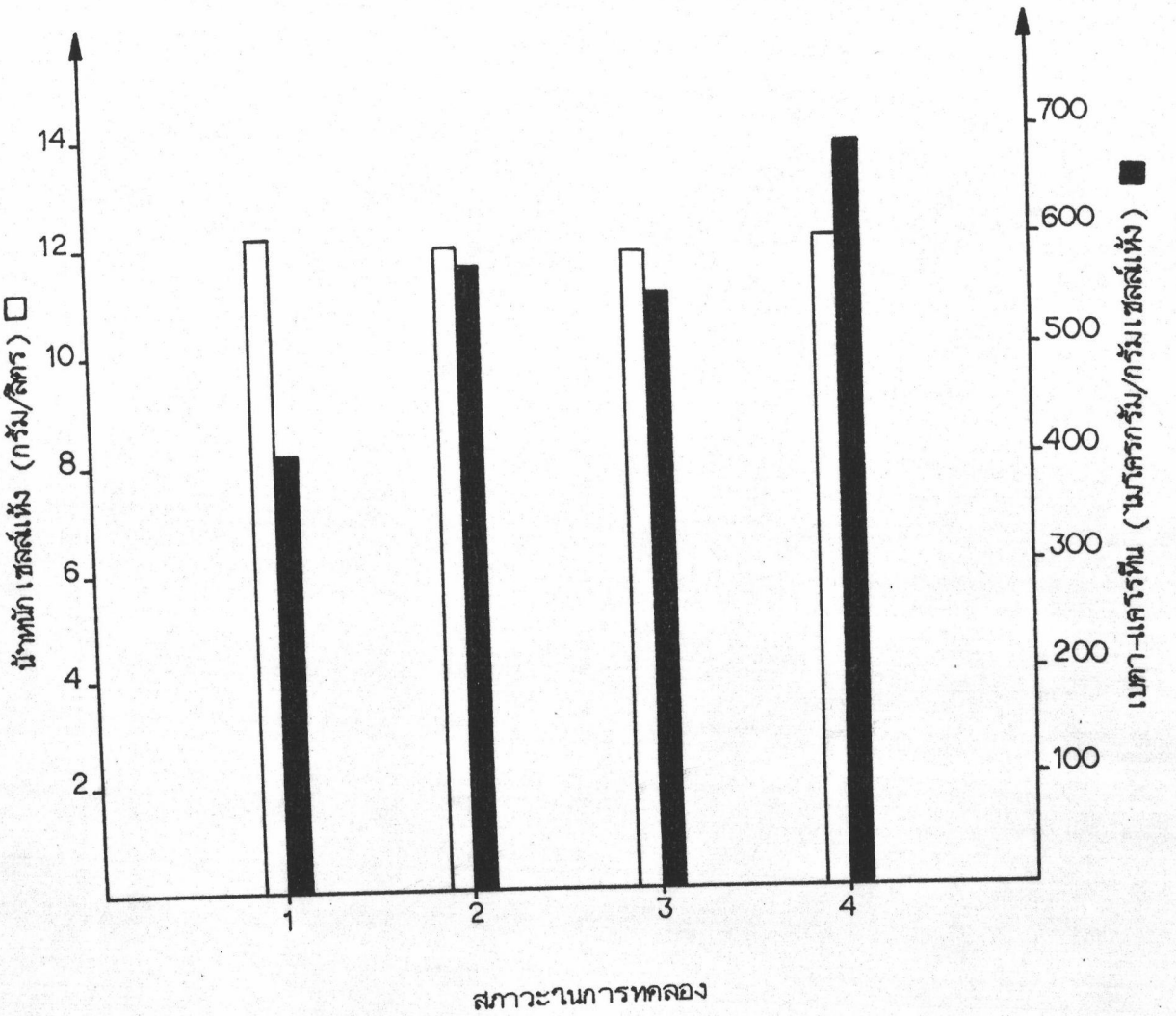
4 = ให้แสง 48 ชม. ตามด้วยการไม่ให้แสง 24 ชม.

5 = ไม่ให้แสง 48 ชม. ตามด้วยการให้แสง 24 ชม.

ตารางที่ 13 ผลของสารแอนติออกซิแดนท์ และการให้แสงที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

สภาวะการทดลอง	การเติบโต	ปริมาณรงควัตถุ
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	เบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง)
ไม่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ และไม่ให้แสง	12.10	408.89
ไม่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ และให้แสง	11.96	575.48
เติมสารแอนติออกซิแดนท์ และไม่ให้แสง	11.72	550.24
เติมสารแอนติออกซิแดนท์ และให้แสง	12.00	685.09

กรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ลดลงตามลำดับจนมีค่าเท่ากับ 2.5 แล้วให้อากาศที่อัตรา 0.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที (vvm) อัตราเร็วในการกวน 300 รอบ/นาที ตรวจวัดการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนทุก 6 ชม. ผลการทดลอง (รูปที่ 36) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36-42 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อโดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 12.32 กรัม/ลิตร และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงสุดที่เวลา 42-60 ชม. ซึ่งได้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเท่ากับ 810.40 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง



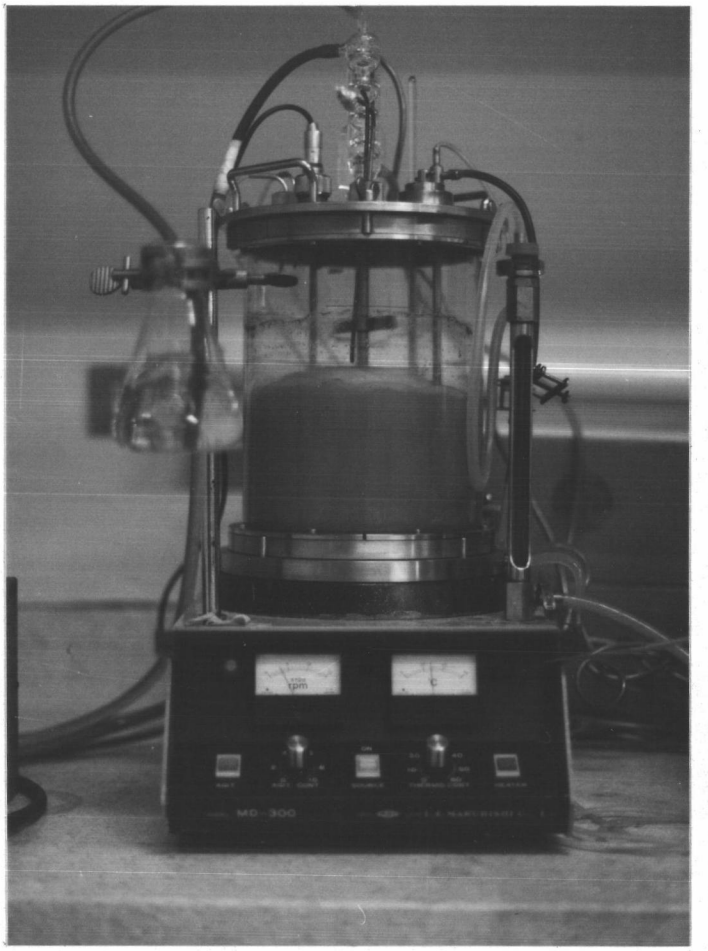
รูปที่ 34 ผลของสารแอนติออกซิแดนท์ และการให้แสงที่มีต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621

1 = ไม่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ และไม่ให้แสง

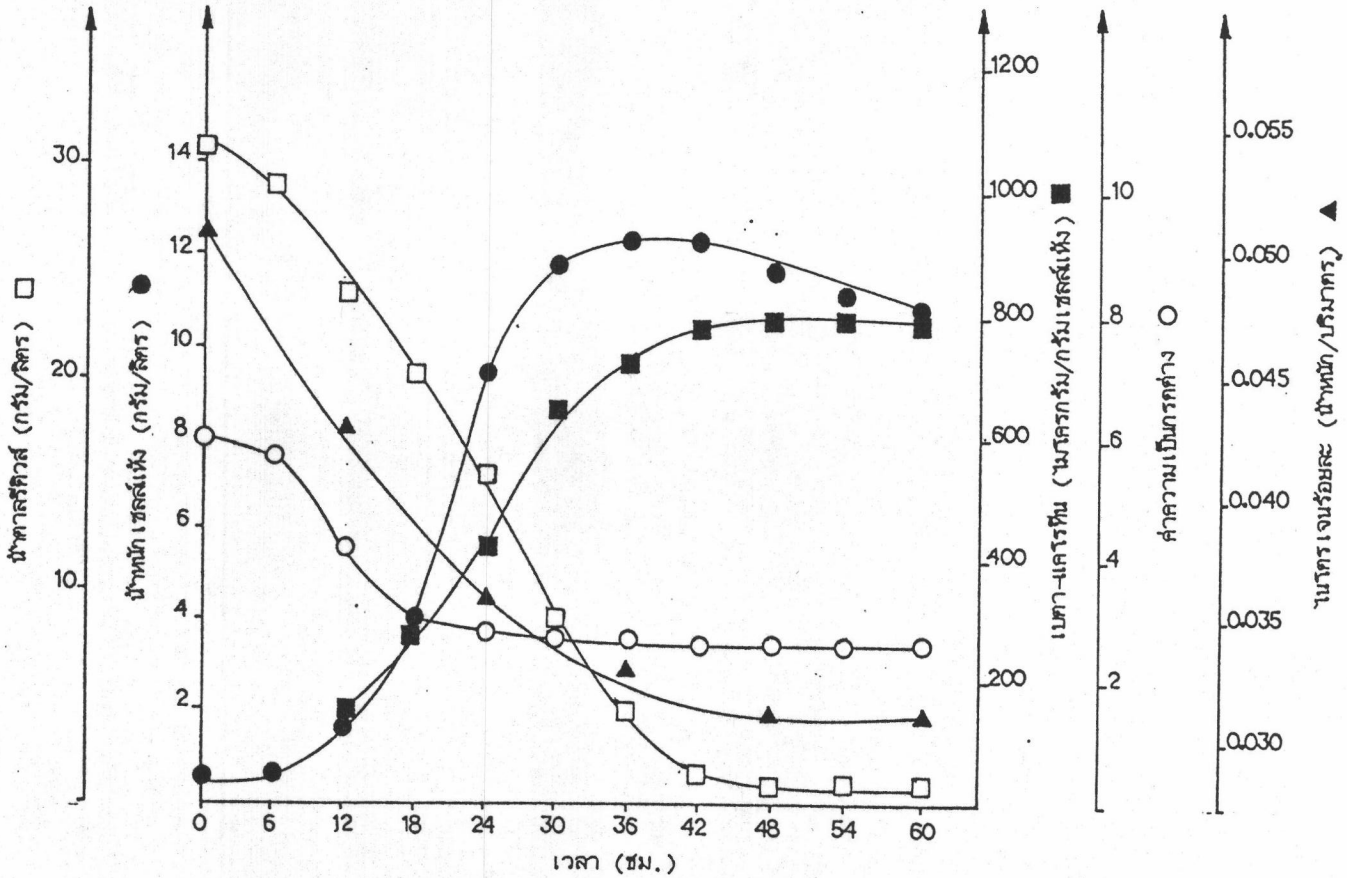
2 = ไม่เติมสารแอนติออกซิแดนท์ และให้แสง

3 = เติมสารแอนติออกซิแดนท์ และไม่ให้แสง

4 = เติมสารแอนติออกซิแดนท์ และให้แสง



รูปที่ 35 ลักษณะการเติบโตของ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 36 การเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 0.5 ปริมาตรอากาศ /ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 300 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.6.2 ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อและแปรผันปริมาตรของอากาศ

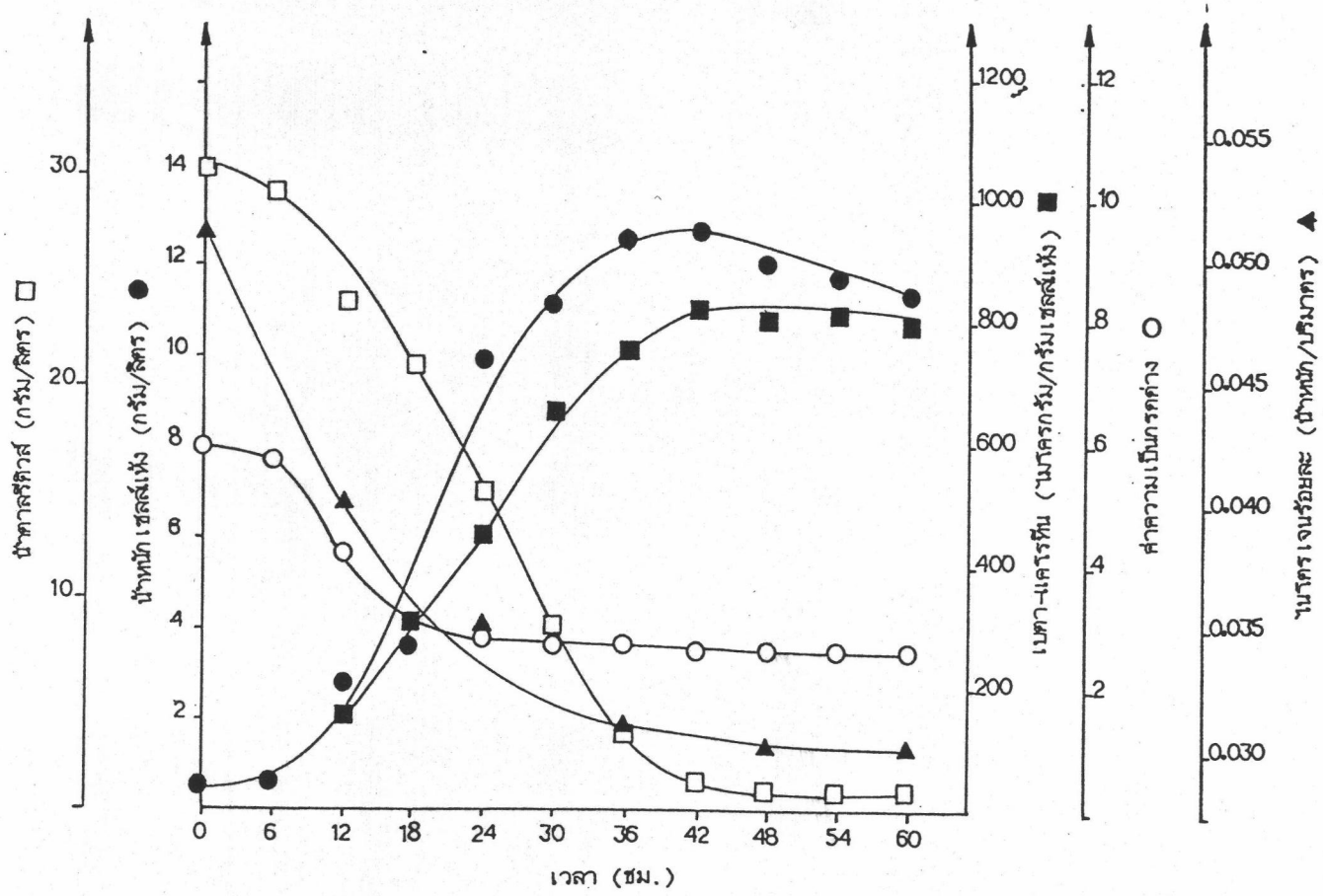
จากผลการทดลองข้อ 3.6.1 เมื่อมีการปรับค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ลดลงตามลำดับจาก 6.0 เป็น 2.5 พบว่าปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับระดับขวดเขย่าเพิ่มขึ้นจาก 450 เป็น 810.40 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง แสดงว่าการควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงเชื้อ มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน ดังนั้นการทดลองขั้นต่อไปจึงควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อดังสภาวะการทดลองในข้อ 3.6.1 แล้วแปรผันอัตราการให้อากาศ และอัตราเร็วในการกวน ดังต่อไปนี้

3.6.2.1 แปรผันอัตราการให้อากาศ 0.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที

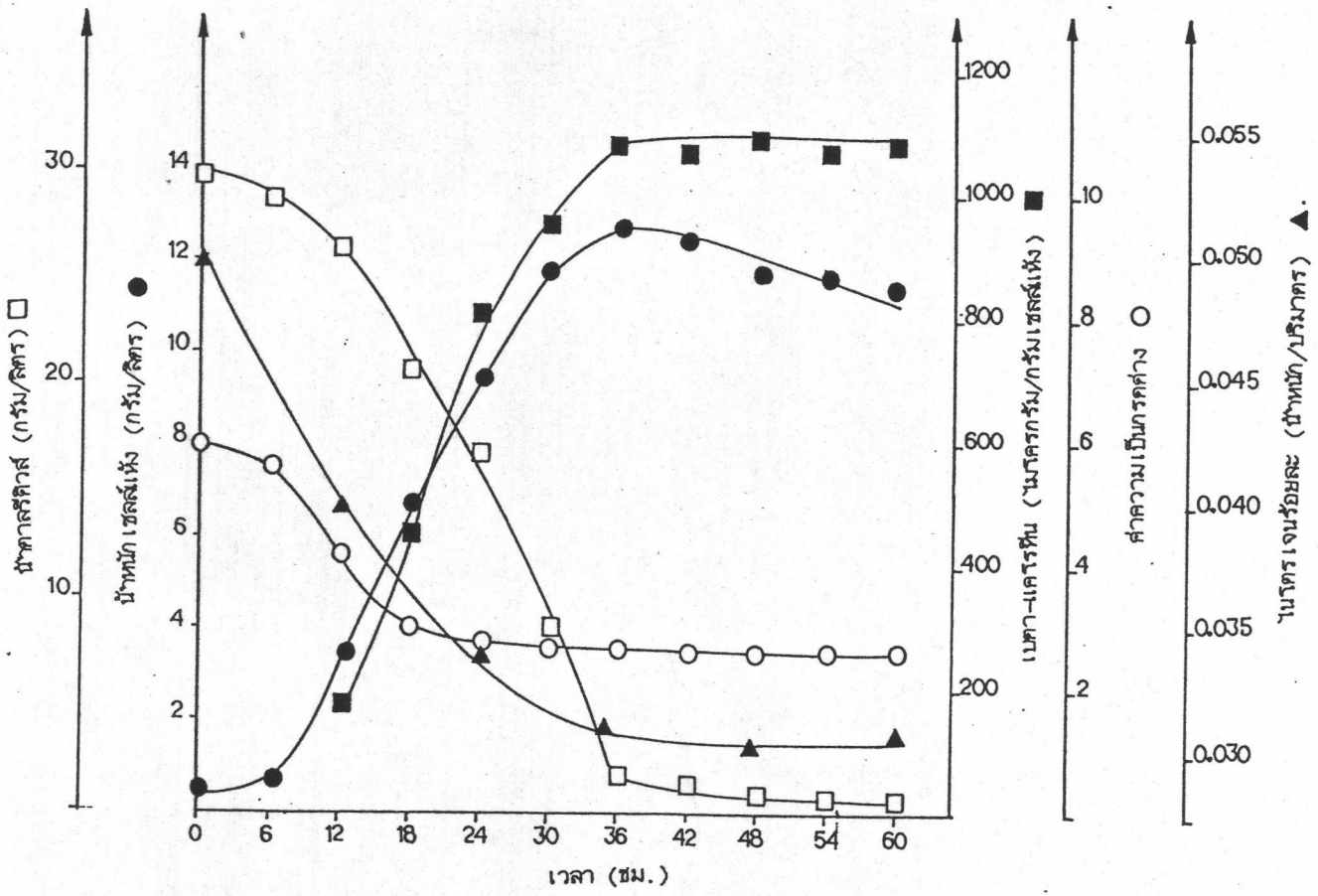
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp.Y1621 ในสูตรอาหารปรับปรุง ที่อุณหภูมิ 28^0 ซ. อัตราการให้อากาศ 0.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที และอัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ (เช่นเดียวกับข้อ 3.6.1) ตรวจวัดการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนทุก 6 ชม. ผลการทดลอง (รูปที่ 37) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36-42 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อโดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 12.66 กรัม/ลิตร และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงสุดที่เวลา 42-60 ชม. เท่ากับ 820.67 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

3.6.2.2 แปรผันอัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 300 รอบ/นาที

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง ที่อุณหภูมิ 28^0 ซ. อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 300 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ (เช่นเดียวกับข้อ 3.6.1) ตรวจวัดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนทุก 6 ชม. ผลการทดลอง (รูปที่ 38) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อ โดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 12.76



รูปที่ 37 การเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 0.5 ปริมาตรอากาศ /ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 38 การเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ /ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 300 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ

กรัม/ลิตร และการสังเคราะห์รงควัตถุเบตา-แคโรทีน สูงสุดที่เวลา 36-60 ชม. โดยปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นเป็น 1097.50 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

3.6.2.3 อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที

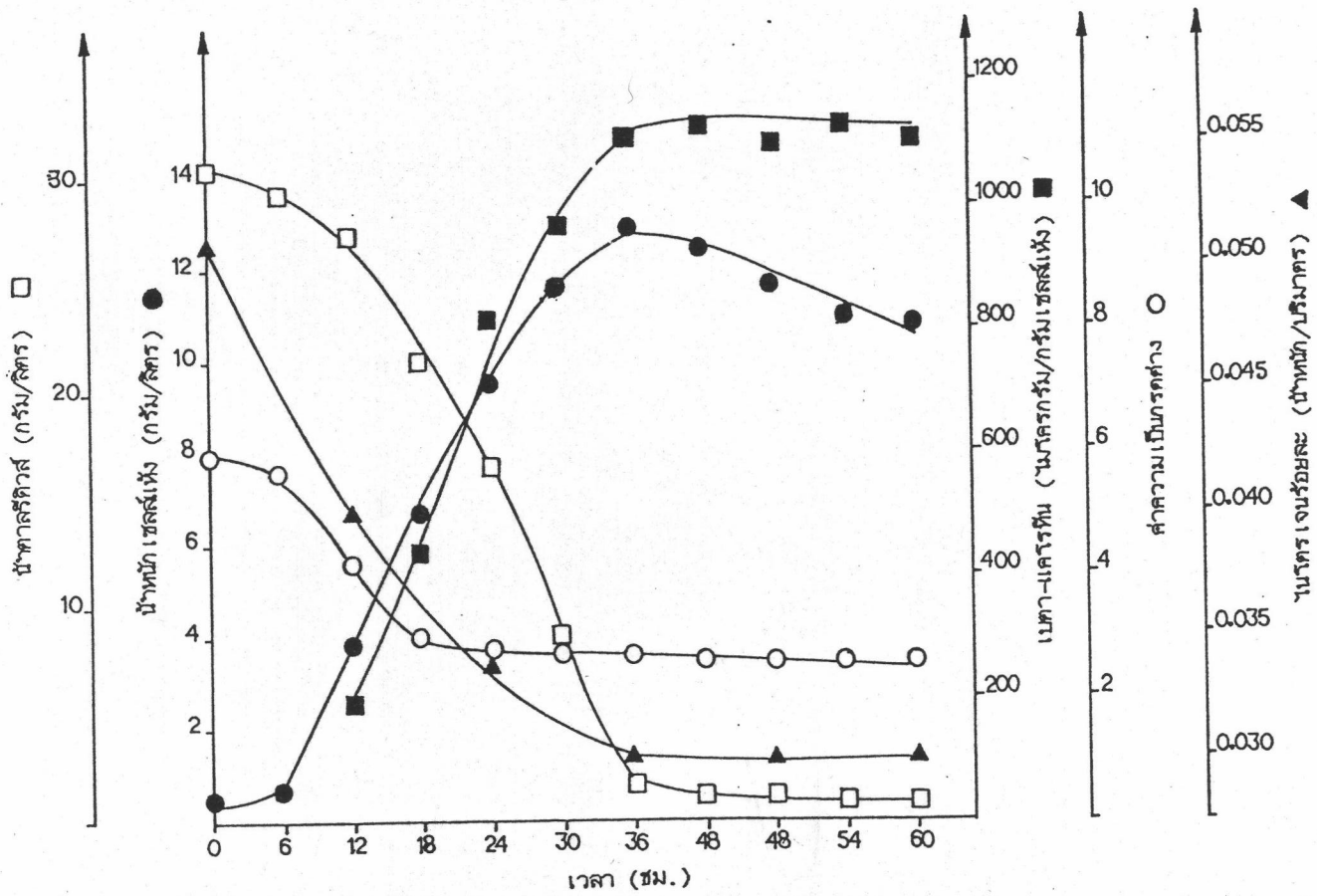
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง ที่อุณหภูมิ 28^0 ซ. อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง (เช่นเดียวกับข้อ 3.6.1) ตรวจวัดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนทุก 6 ชม. ผลการทดลอง (รูปที่ 39) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อ โดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 12.82 กรัม/ลิตร และมีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน สูงสุดที่เวลา 36-60 ชม. ปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้เท่ากับ 1129.32 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

3.6.2.4 อัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 600 รอบ/นาที

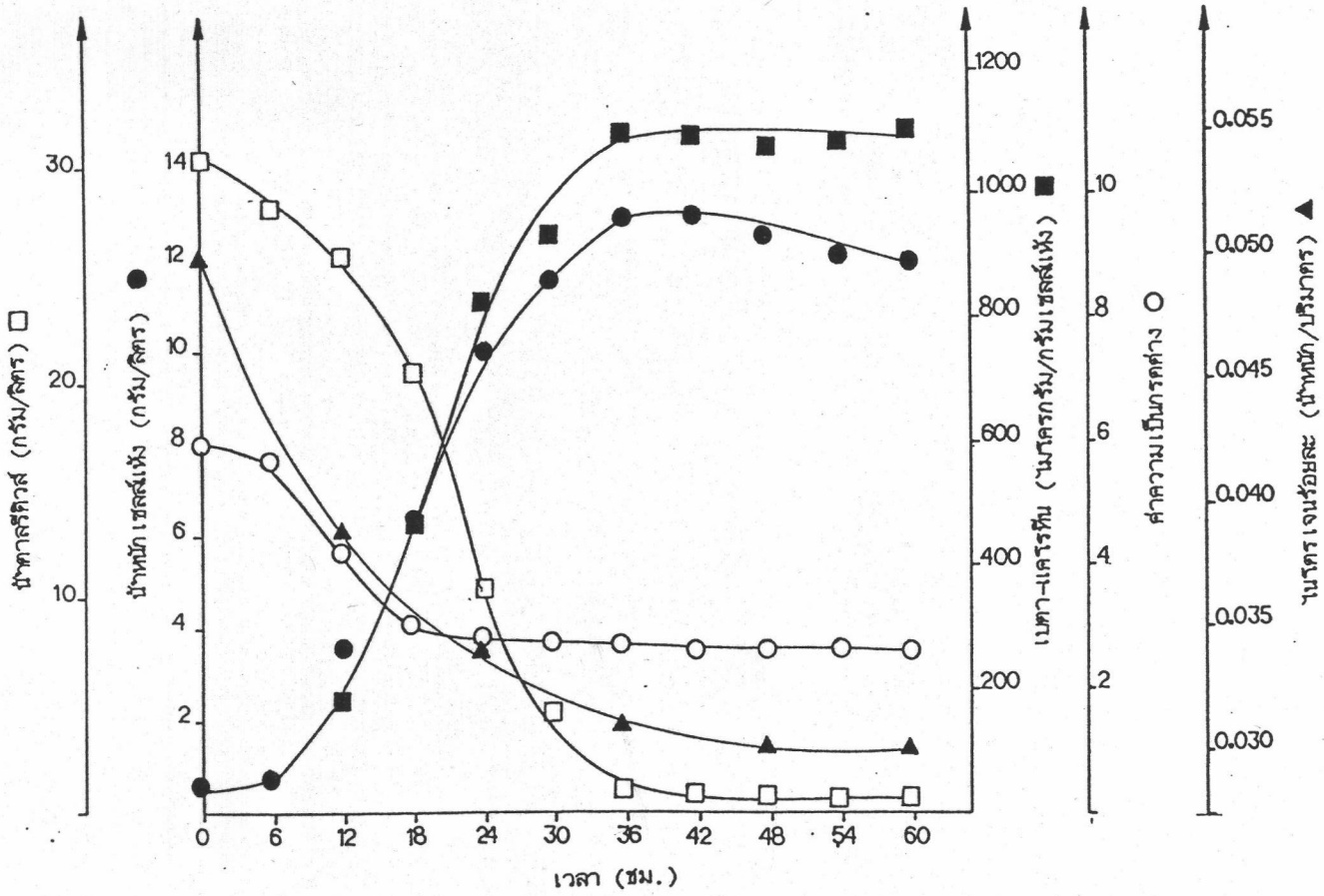
เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y 1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง ที่อุณหภูมิ 28^0 ซ. อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 600 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง (เช่นเดียวกับข้อ 3.6.1) ตรวจวัดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนทุก 6 ชม. ผลการทดลอง (รูปที่ 40) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36 ชม.ของการเลี้ยงเชื้อ โดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 12.94 กรัม/ลิตร และมีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน สูงสุดที่เวลา 36-60 ชม. ปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้เท่ากับ 1103.36 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

3.6.2.5 อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 600 รอบ/นาที

เลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง ที่อุณหภูมิ 28^0 ซ. อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 600 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง (เช่นเดียวกับ



รูปที่ 39 การเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ /ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ



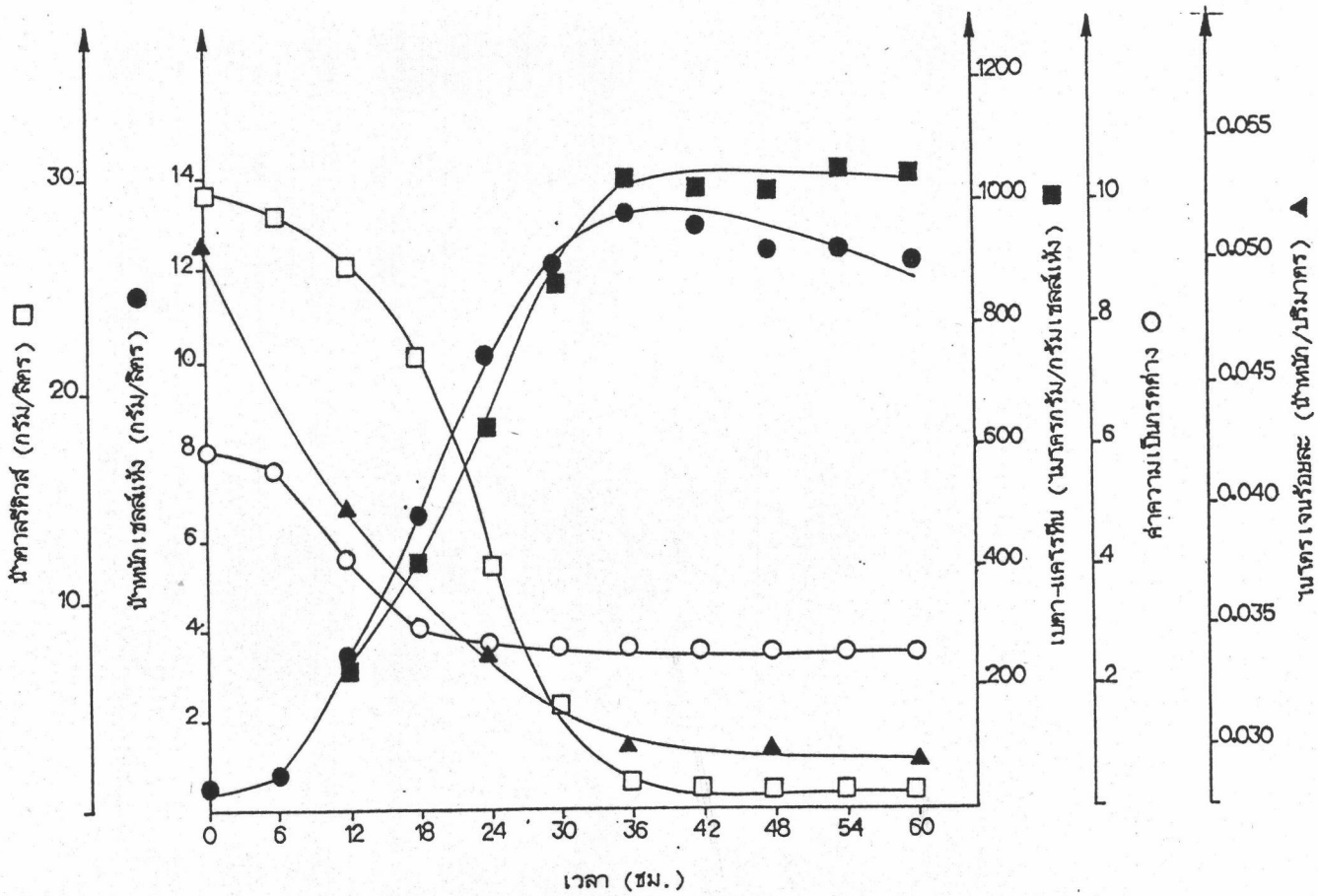
รูปที่ 40 การเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ /ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 600 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข้อ 3.6.1) ตรวจวัดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนทุก 6 ชม. ผลการทดลอง (รูปที่ 41) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36 ชม.ของการเลี้ยงเชื้อ โดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 13.24 กรัม/ลิตร และมีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน สูงสุดที่เวลา 36-60 ชม.โดยได้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเท่ากับ 1050.50 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

3.6.3 ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้อากาศในปริมาณที่เหมาะสม และเติมสารแอนติออกซิแดนท์ พร้อมทั้งให้แสงในความเข้มแสงที่เหมาะสม

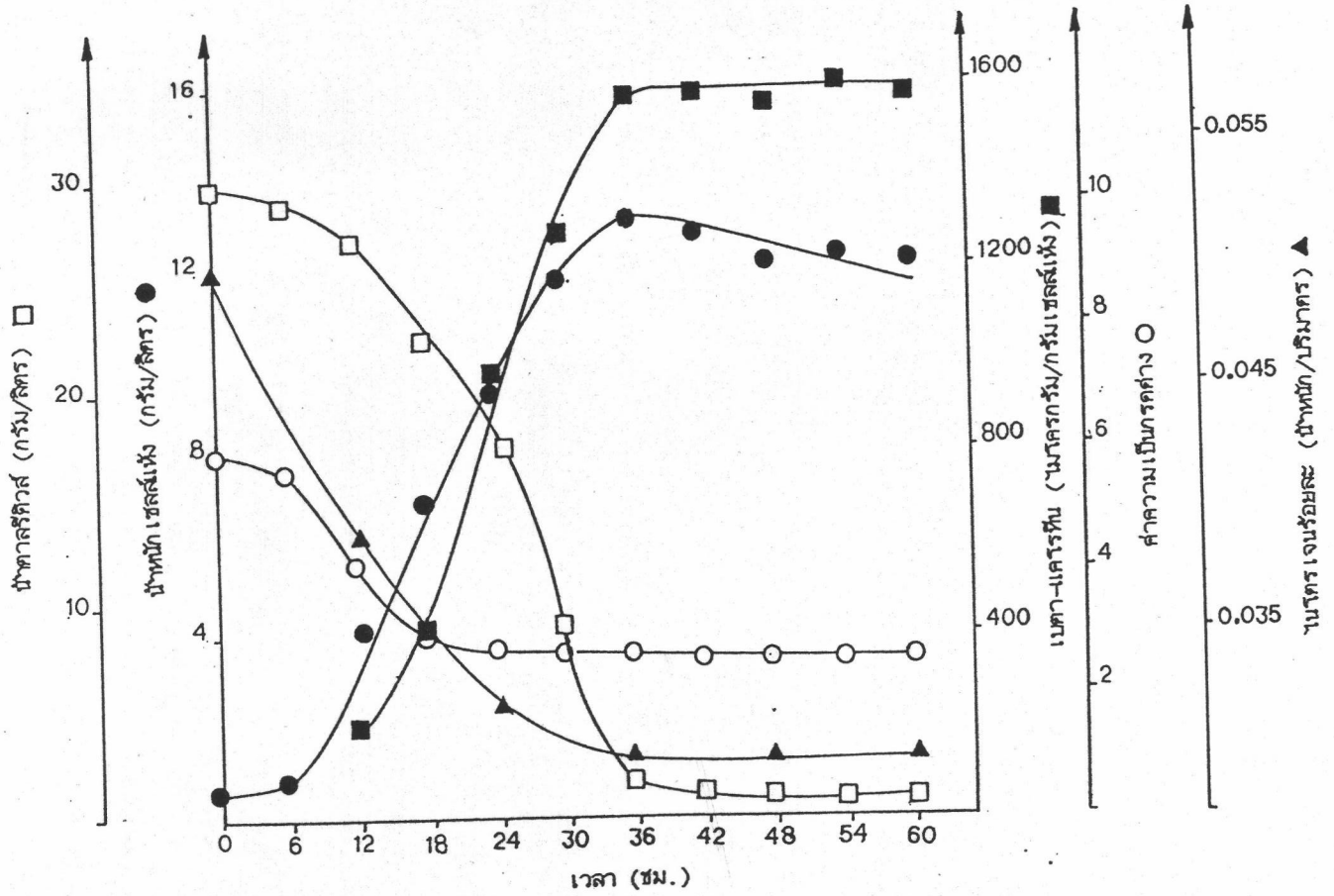
จากผลการทดลองข้อ 3.6.2.1-3.6.2.5 พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 มีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้ปริมาณสูงสุดที่เวลา 36-60 ชม.เมื่อให้อากาศปริมาณเท่ากับ 1 และ 1.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที และพบว่าได้เบตา-แคโรทีนปริมาณสูงสุด ที่เวลา 42-60 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อเมื่อให้อากาศปริมาณเท่ากับ 0.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที นอกจากนี้พบว่าปริมาณรงควัตถุที่ได้เมื่อให้อากาศ ปริมาณเท่ากับ 1 และ 1.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที ที่อัตราในการกวน 600 รอบ/นาที (เท่ากับ 1103.36 และ 1050.50 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ) สูงกว่าเมื่อให้อากาศปริมาณเท่ากับ 0.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที ที่อัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที (820 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง) จากการเปรียบเทียบผลการทดลองข้อ 3.6.2.2-3.6.2.5 พบว่าการเลี้ยงเชื้อในสภาวะการทดลองข้อ 3.6.2.3 ซึ่งให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที และอัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที ทำให้ *Rhodotorula* sp. Y1621 สังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้ปริมาณสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในสภาวะอื่น ๆ (1129.32 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง) ดังแสดงในรูปที่ 39

ดังนั้นในการศึกษาผลรวมของการเติมแอนติออกซิแดนท์ และการให้แสงในถังหมักขนาด 5 ลิตร จะให้อากาศอัตราเท่ากับ 1 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที และอัตราการกวน 450 รอบ/นาที โดยเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y 1621 ในอาหารสูตรปรับปรุง ที่อุณหภูมิ 28° ซ. เติมแอนติออกซิแดนท์ 0.2 กรัม/ลิตร และให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ ตรวจวัดการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-



รูปที่ 41 การเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรอากาศ /ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 600 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ

แคโรทีน ทุก 6 ชม. ผลการทดลอง (รูปที่ 42) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y 1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36 ชม. โดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 12.96 กรัม/ลิตร และมีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงสุดที่เวลา 36-60 ชม. โดยได้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นเป็น 1612.50 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง



รูปที่ 42 การเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เติมแอนติออกซิแดนท์ 0.2 กรัม/ลิตร และให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ อัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ