บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกโดยเชื้อ *Gibberella fujikuroi* N9-34 โดยใช้กระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์เพื่อเพิ่มผลผลิตกรดจิบเบอเรลิกในระดับถังหมัก 5 ลิตร จากงานวิจัยของศุภชัย สมัปปิโต (2537) เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Gibberella fujikuroi* N9-34 ในถังหมัก 5 ลิตร เชื้อจะผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ 1,091 และ1,534 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 และ11 ของการเลี้ยง จึงทำการทดลองผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้สูตรอาหาร และภาวะเดียวกับ ศุภชัย สมัปปิโต (2537) พบว่า เชื้อผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ 750.85 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการหมัก และให้กรดจิบเบอเรลลิกสูงสุด 862.90 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 10 ของการเลี้ยง ซึ่งได้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในปริมาณที่ต่ำกว่าการทดลองของศุภชัย สมัปปิโต (2537) จึงได้ทำการแปรปริมาณซูโครส และปริมาแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อในระดับขวดเขย่า เพื่อให้ได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกยิ่งขึ้น

จากผลการทดลอง เมื่อเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น 1.89 กรัมต่อลิตรร่วมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วปริมาณ 5.9 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจนในระดับขวดเขย่า พบว่า เชื้อ *Gibberella fujikuroi* N9-34 สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณที่ต่ำกว่านี้ เนื่องจากเมื่อปริมาณอนินทรีย์ไนโตรเจนในอาหารต่ำจะไม่เพียงพอต่อการเจริญของเชื้อ นอกจากนั้นสารอาหารแหล่งคาร์บอนจะมีความสำคัญต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีปริมาณซูโครสเริ่มต้น 100 กรัมต่อลิตรการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกจะสูงกว่าการเลี้ยงในอาหารที่มีซูโครส 80 และ120 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของอัครวิทย์ กาญจนโอภาษ (2536) ที่กล่าวว่า เมื่อมีซูโครสในอาหารต่ำ เชื้อสามารถใช้ซูโครสที่มีอยู่เป็นสารตั้งต้นสำหรับใช้ในกระบวนการสังเคราะห์กรดจิบเบอเรลลิกได้อย่างรวดเร็ว ทำให้คาร์บอนในอาหารหมดไม่เพียงพอที่จะนำไปสร้างผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังเกิดการสลายตัวของเชื้อด้วย ขณะเดียวกันในอาหารที่มีซูโครสสูงจะทำให้เชื้อเจริญช้าจึงใช้เวลาสร้างผลิตภัณฑ์นานกว่าปกติ

ผลการศึกษาปริมาณซูโครส และแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่า สรุปได้ว่า ในสูตรอาหารที่มีปริมาณซูโครสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น 1.89 และ 1.68 กรัมต่อลิตร จะให้ผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกใกล้เคียงกัน คือ 1,089.22 และ1,046.38 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 216 และเมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับขวดเขย่าซึ่งคิดเป็นค่าอัตราส่วนโดยมวลระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 71 และ81 ตามลำดับ สำหรับการเพาะเลี้ยง

เชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในถังหมัก 5 ลิตรภายใต้ภาวะการหมักที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm พบว่า การเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนโดยมวลระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 81 สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่าการเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนโดยมวลระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 71 โดยเชื้อจะผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงสุด 1,162.31 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 216 และเมื่อพิจารณาการเจริญของเชื้อในถังหมัก 5 ลิตรจะมีการเจริญได้สูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในระดับขวดเขย่าทำให้น้ำหมักมีความหนืดสูงเป็นผลให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลงอย่างรวดเร็วจนเป็น 0 เปอร์เซ็นต์ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก และมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักในระดับที่ต่ำเป็นเวลานาน

เมื่อเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารที่มีอัตราส่วนโดยมวลระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 81 ในภาวะที่มีการควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กำหนดให้อัตราการกวนเริ่มต้นเป็น 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1vvm เมื่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลงต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ จะทำการควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ตลอดการทดลอง โดยควบคุมอัตราการกวนเป็นแบบอัตโนมัติ เชื้อสามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่าการเลี้ยงที่ไม่มีการควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก คือ 1,203.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 192 ส่วนการเลี้ยงเชื้อในภาวะที่มีการควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลงต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ทำให้อัตราการกวนเพิ่มขึ้นมากเป็นผลให้ไมซีเลียมของเชื้อราแตกสลายได้เชื้อจึงผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ต่ำ

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงแบบเฟดแบตช์ที่มีการควบคุมปริมาณน้ำตาลในถังหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อในภาวะดังกล่าวข้างต้น พบว่า การควบคุมปริมาณน้ำตาลในถังหมักที่ 40 กรัมต่อลิตร เชื้อจะมีการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ 968.43 มิลลิกรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 192 และเพิ่มขึ้นเป็น 1,244.43 มิลลิกรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 264 โดยอัตราการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุดได้ 5.250 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงในชั่วโมงที่ 168 ซึ่งมีค่าสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีการควบคุมปริมาณน้ำตาลในถังหมักที่ 50 และ 60 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อจะผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงสุดเท่ากับ 804.24 มิลลิกรัมในชั่วโมงที่ 192 และ 642.14 มิลลิกรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 216 ตามลำดับ

การเพาะเลี้ยงแบบเฟดแบตช์โดยการควบคุมปริมาณน้ำตาลในถังหมักเท่ากับ 40 กรัมต่อลิตร และมีการเติมสารอาหารแหล่งไนโตรเจน คือแอมโมเนียมซัลเฟตในชั่วโมงที่ 168-216 โดยการควบคุมให้มีปริมาณไนโตรเจนในถังหมักเท่ากับ 0.05 กรัมต่อลิตร พบว่า สามารถเพาะเลี้ยงได้ปริมาณเซลล์สูงสุด คือ 61.75 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงสุด คือ 1,321.44 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกมีค่าสูงสุด 5.824 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ชั่วโมง 216 ของการหมัก และผลผลิตกรดจิบเบอเรลลิกต่อน้ำตาลที่ใช้(Yp/s) มีค่าสูงสุดเท่ากับ 12.574 มิลลิกรัม

กรดจิบเบอเรลลิกต่อกรัมน้ำตาลที่ชั่วโมงที่ 240 ของการหมัก ซึ่งจะมีค่าสูงกว่าการหมักแบบเฟดแบตช์ที่เติมสารอาหารแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว เนื่องจากในกระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ที่มีการเติมน้ำตาล และไนโตรเจนในปริมาณที่เหมาะสมจะทำให้เชื้อมีการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ และเชื้อจะมีการสลายตัวในปริมาณที่ต่ำจึงยังมีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้

ดังนั้นการนำกระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์มาใช้สำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกจะช่วยในการเลี้ยงเชื้อให้มีความสามารถในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน เนื่องจากเซลล์มีการสลายตัวต่ำ จึงเป็นวิธีที่น่าจะศึกษาต่อไป เพื่อเป็นการลดระยะเวลา และค่าใช้จ่ายที่ใช้สำหรับการเตรียมหัวเชื้อ และอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย