บทที่ 4

บทสรุป และวิจารณ์

จากการคัดเลือกจุลินทรีย์ ที่สามารถสังเคราะห์รงควัตถุเบตา-แคโรทีน ได้คัดเลือกยีสต์ *Rhodotorula* sp. Y1621 จากจุลินทรีย์ทั้งหมด 13 สายพันธุ์ และจากการวิเคราะห์รงควัตถุที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 โดยวิธีตรวจสอบรูปแบบการดูดกลืนแสง วิธีโครมาโตกราฟีแบบผิวบาง และวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนลิควิดโครมาโตกราฟี พบว่ารงควัตถุหลักที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp.Y1621 คือเบตา-แคโรทีน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือก *Rhodotorula* sp. Y1621 มาศึกษาการผลิตเบตา-แคโรทีน โดยหาแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาถูก องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม และศึกษาผลของปัจจัยบางชนิดที่มีต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน ได้แก่ การย้ายเซลล์ลงสู่สารละลายบางชนิด ผลของการเติมสารบางชนิด และการให้แสงขณะเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเบตา-แคโรทีน ในถังหมักด้วย

จากผลการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน เมื่อใช้แหล่งคาร์บอน ได้แก่ กลูโคส แป้งไฮโดรไลส์ ซูโครส และกากน้ำตาล (ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับร้อยละ 3) พบว่า *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโต และสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ได้ดีใกล้เคียงกัน ส่วนนอร์มัล-พาราฟิน *Rhodotorula* sp. Y1621 ไม่สามารถนำไปใช้ได้ จึงไม่มีการเติบโต และไม่สามารถสังเคราะห์รงควัตถุได้

แป้งไฮโดรไลส์ เป็นแหล่งคาร์บอนชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเราสามารถผลิตขึ้นเองได้จากแป้งมันสำปะหลังที่มีราคาถูก นำมาผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ซึ่งจะสามารถย่อยโมเลกุลแป้ง จนกลายเป็นสารละลายของน้ำตาลกลูโคส และมี oligo-saccharide อยู่บ้างบางส่วน โดยแป้งไฮโดรไลส์ที่เตรียมได้นี้จะมีกลูโคสอยู่ประมาณร้อยละ 40 (44) เมื่อนำแป้งไฮโดรไลส์มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคส พบว่า

Rhodotorula sp.Y1621 มีการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ใกล้เคียงกับการใช้กลูโคส จึงเลือกใช้แป้งไฮโดรไลส์ ในงานวิจัยขั้นต่อไป ส่วนกากน้ำตาลแม้ว่าจะมีราคาถูกเช่นกัน แต่มีปัญหาในด้านที่ทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์มีสีบนเบื้อน ทำให้ไม่เหมาะสมในการนำเซลล์ไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ในงานวิจัยขั้นต่อมาได้ใช้แป้งไฮโดรไลส์ที่มีน้ำตาลรีดิวส์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอนแทนซูโครสในอาหารสูตร Costa เพื่อศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน แหล่งไนโตรเจนที่เลือกมาศึกษาได้แก่ กากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ กรดกลูตามิก กรดคาซามิโน แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย จากผลการทดลองพบว่า *Rhodotorula* sp. Y1621 สามารถสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน สูงสุดใกล้เคียงกัน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย กากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.05) กรดกลูตามิก (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.10) กรดคาซามิโน (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.10) และแอมโมเนียมซัลเฟต (มีไนโตรเจนร้อยละ 0.3) ส่วนยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนต่ำกว่าแหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น เมื่อเปรียบเทียบการเติบโต พบว่า *Rhodotorula* sp. Y1621 เติบโตเมื่อใช้กากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ได้ดีกว่า แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น เนื่องจากองค์ประกอบสำคัญในกากถั่วเหลือง จะประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน ฟอสฟอรัส (phosphorus) ไทอามีน กรดอะมิโน และวิตามินชนิดอื่นๆอีก จึงเหมาะต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน พร้อมกับให้ฟอสฟอรัส (ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญ ใน energy transduction ในปฏิกิริยาที่มี adenosine triphosphate) และไทอามีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของระบบโค-เอนไซม์ (thiamine pyrophosphate (TPP))(45 46) นอกจากนี้ยังมีราคาถูก ดังนั้นจึงเลือกใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจนในการศึกษาต่อไป

จากการเปรียบเทียบอัตราส่วน ระหว่างแหล่งคาร์บอน ต่อ แหล่งไนโตรเจน (C:N ratio) สำหรับองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ของ *Rhodotorula* sp.Y1621 พบว่ามีอัตราส่วนเท่ากับ 60 และดังที่มีรายงานว่าอัตราส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอน ต่อ แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อ *Rhodotorula* sp. เท่ากับ 50 (1) ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของเบตา-แคโรทีน มีคาร์บอนเป็นส่วนใหญ่ ($C_{40}H_{56}$) จึงทำให้อัตราส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอน ต่อ แหล่งไนโตรเจน สูง

การศึกษาสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ และการให้อากาศ ได้ใช้สูตรอาหาร Costa ที่มีแป้งไฮโดรไลส์ (ซึ่งมีน้ำตาลรีดิวส์ร้อยละ 3) เป็นแหล่งคาร์บอน และกากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ (ที่มีไนโตรเจนร้อยละ 0.05) เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้ใกล้เคียงกัน ที่อุณหภูมิช่วง 25°-30° ซ. ส่วนที่อุณหภูมิ 35 °ซ. เชื้อมีการเติบโตได้น้อย และไม่มีการสังเคราะห์รงควัตถุ จากผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของนักวิจัยท่านอื่น ซึ่งพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน จะไม่สูงเกิน 30 °ซ. ได้แก่ เชื้อรา *Blskeslea trispora* เท่ากับ 28 °ซ. (23) *Rhodotorula* sp. เท่ากับ 27 °ซ. (12) และ *Mycobacterium marinum* เท่ากับ 30 °ซ.(16) เป็นต้น

เนื่องจากการเติบโตของจุลินทรีย์ ถูกควบคุมโดยกระบวนการเมตาบอลิสม ซึ่งต้องอาศัยเอนไซม์ และการทำงานของเอนไซม์จะเกิดได้ เมื่อความเป็นกรดด่างเหมาะสมสำหรับ *Rhodotorula* sp. Y1621 ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เชื้อสามารถเติบโตได้ดี คือช่วงระหว่าง 5-6 ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับค่าที่เหมาะสำหรับยีสต์โดยทั่วไป (คือเท่ากับ 4.5-5.5) (25) และจากงานวิจัยของ Costa พบว่าค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับ *Rhodotorula* sp. เท่ากับ 5.5-6.5 (12) และสำหรับ *Rhodotorula* sp. TISTR 5127 เท่ากับ 4.5 (26)

การให้อากาศแก่ *Rhodotorula* sp. Y1621 โดยการเขย่าที่ความเร็วรอบต่าง ๆ จากผลการทดลองพบว่า ที่ความเร็วรอบ 200 250 300 รอบ/นาที *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ได้ดีใกล้เคียงกัน เนื่องจากการให้อากาศโดยการเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เพียงพอต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน อยู่แล้ว ดังนั้นการให้อากาศโดยการเขย่าที่ความเร็วรอบที่สูงกว่านี้ก็ไม่มีผลในการเพิ่มการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงขึ้น ส่วนการให้อากาศโดยเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบ/นาที ปรากฏว่าการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ต่ำกว่า ที่ความเร็วรอบสูงกว่านี้ เนื่องจากเชื้อได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอต่อการเติบโต และการสังเคราะห์รงควัตถุ

นอกจากแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนอีก ได้แก่ การให้แสง วิตามิน โลหะบางชนิด สภาวะการขาดสารอาหาร และผลของการเติมสารบางชนิดที่มีต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน เช่น น้ำมันพืช ดีเทอร์เจนท์ เบตา-ไอโอโนน กรดแอบซิสิค โซเดียมซัคซิเนท วิตามินเอ แอนติออกซิแดนท์ และคีโรซีน เป็นต้น จากผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบผลการเติมผงสกัดยีสต์ (ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 0.050 และ 0.100 น้ำหนัก/ปริมาตร) กับการทดลองที่ไม่มีการเติมผงสกัดยีสต์ พบว่าการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ใกล้เคียงกันอาจเนื่องจากแหล่งไนโตรเจนที่ใช้เป็นกากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ ซึ่งประกอบด้วย กรดอะมิโนและวิตามินต่างๆ หลายชนิด ซึ่งเพียงพอต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน จึงไม่จำเป็นต้องเติมผงสกัดยีสต์อีก ส่วนที่ความเข้มข้นของผงสกัดยีสต์ร้อยละ 0.300 และ 0.500 (น้ำหนัก/ปริมาตร) การสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน จะต่ำกว่าชุดควบคุม จากการเติมผงสกัดยีสต์ที่ความเข้มข้นสูงในอาหารเลี้ยงเชื้อ อาจจะมีสารบางอย่างซึ่งมีผลในการยับยั้งการสร้างผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ (47) จึงมีผลให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ลดลงเมื่อเติมผงสกัดยีสต์ในความเข้มข้นสูงขึ้น

จากการทดลองเติมไทอามีนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 พบว่าการเติมไทอามีนปริมาณ 0.05 มิลลิกรัม/กรัม ทำให้ปริมาณเบตา-แคโรทีน ที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมไทอามีน และชุดที่มีการเติมไทอามีนที่ความเข้มข้นอื่นๆ เนื่องจากไทอามีนเป็นส่วนประกอบสำคัญของระบบโคเอนไซม์และช่วยเพิ่มแอคติวิตี้ของการหมัก (29) และจากการวิจัยของ Kawakami (1956) กล่าวว่า ไทอามีนเป็นสารที่จำเป็นต่อการเติบโต และการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในเชื้อรา *Blakeslea trispora* (28) สำหรับ *Phycomyces blakesleeanus* ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีไทอามีนต่ำจะมีผลไปลดการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ (24)

ผลของอิออนของโลหะที่มีผลต่อการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ได้แก่ Fe^{2+} Cu^{2+} และ Zn^{2+} ที่ความเข้มข้นในรูปของเกลือ $FeSO_4.7H_2O$ $CuSO_4.5H_2O$ และ $ZnSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 0.2 0.1 และ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์บางชนิดภายในเซลล์ ต้องการอิออนของโลหะบาง

ชนิดเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เพื่อทำหน้าที่เป็นโค-แฟคเตอร์ ดังนั้นอิออนของโลหะบางชนิดจึงมีความจำเป็นต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน จากการวิจัยของ Grimn และ Allen (1954) พบว่า *Ustilago sphaerogena* จะสร้างและสะสมรงควัตถุแคโรทีนอยด์ เมื่อเชื้อเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Zn^{2+} 1 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยเท่านั้น (30) Will และคณะ (1982) พบว่าเซลล์ของ *Ustilago violacea* จะเปลี่ยนสีจากสีขาวเป็นสีชมพู เมื่อเติบโตในอาหารที่มี Zn^{2+} 1 กรัม/ลิตร (31)

จากการศึกษาแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม(ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ และการให้อากาศ) ผลของการเติมวิตามิน (ได้แก่ ผงสกัดยีสต์ และไทอามีน) และการเติม อิออนของโลหะบางชนิด ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงสรุปได้ว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 คืออาหารสูตรปรับปรุง ซึ่งประกอบด้วย แป้งไฮโดรไลส์ที่มีน้ำตาลรีดิวส์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน กากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ ที่มีไนโตรเจนร้อยละ 0.05 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นแหล่งไนโตรเจน ไทอามีน 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร $FeSO_4.7H_2O$ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร $CuSO_4.5H_2O$ 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ $ZnSO_4.7H_2O$ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิ เท่ากับ 25°-30° ซ. ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5-6 และอัตราการเขย่า 200-300 รอบ/นาที

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของปัจจัยบางอย่าง ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน เช่น การย้ายเซลล์ลงสู่สารละลายบางชนิด การให้แสงขณะเลี้ยงเชื้อ การเติมสารบางชนิด เป็นต้น พบว่าการย้ายเซลล์ *Rhodotorula* sp. Y1621 หลังจากที่เชื้อมีการเติบโตสูงสุด (48 ชม.) ลงสู่สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ กัน ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน ซึ่งผลที่ได้ต่างจากงานวิจัยของ Costa ที่ทำการย้ายเซลล์ *Rhodotorula* sp. แล้วทำให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนสูงขึ้น อาจเนื่องจากสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ศึกษาต่างกัน

เมื่อเติม น้ำมันพืช (น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดฝ้าย) ดีเทอร์เจนต์

เบตา-ไอโอโนน กรดแอบซิสิค โซเดียมซัคซิเนท วิตามินเอ แอนติออกซิแดนท์ และคีโรซีน ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน พบว่าสารที่ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน ได้แก่ ดีเทอร์เจนต์ และเบตา-ไอโอโนน ส่วนสารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนเพียงเล็กน้อย ได้แก่ โซเดียมซัคซิเนท และวิตามินเอ และสารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนสูงขึ้น ได้แก่ น้ำมันพืช กรดแอบซิสิค แอนติออกซิแดนท์ และคีโรซีน

ดีเทอร์เจนต์ที่เลือกใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ ไตรตอนเอ็กซ์-100 พบว่าการเติมดีเทอร์เจนต์ ทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเพิ่มการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน และยังได้พบว่าการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน กลับมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของดีเทอร์เจนต์มากขึ้น อาจเนื่องมาจากเซลล์ของ *Rhodotorula* sp. Y1621 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีเซลล์เดี่ยว ดังนั้นจะกระจายตัวได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่จำเป็นต้องอาศัยสารลดแรงตึงผิว เพื่อให้เซลล์กระจายได้ดีในน้ำหมักเหมือนพวกเชื้อราที่เป็นเส้นใย และการที่การเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ของ *Rhodotorula* sp. Y1621 ลดลงเมื่อความเข้มข้นของดีเทอร์เจนต์ที่ใช้สูงขึ้น อาจเป็นเพราะว่าดีเทอร์เจนต์ที่ความเข้มข้นสูงเป็นพิษต่อเซลล์ จึงทำให้การเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนลดลง Sureeluk และ Yoshiki (1988) ได้เติมไตรตอนเอ็กซ์-100 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลปรากฏว่า ไตรตอนเอ็กซ์-100 จะไปลดการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนของเชื้อ *Rhodotorula pallida* (48)

การเติมเบตา-ไอโอโนนเพื่อเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ผลปรากฏว่าการเติมเบตา-ไอโอโนนทุกความเข้มข้น และทุกระยะเวลาที่เติม (เนื่องจากผลของการเติมเบตา-ไอโอโนนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ปริมาณที่เติม และการมีน้ำมันพืชร่วมอยู่ด้วย) ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 โดยเฉพาะเมื่อเติมเบตา-ไอโอโนนที่เวลา 0 ชม. จะมีผลไปลดการเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนด้วย แสดงว่าเบตา-ไอโอโนนไม่มีผลในการเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 แต่มีผลในการกระตุ้นการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ในเชื้อรา *Blakeslea trispora* (27) มีผู้รายงานว่าการเติมเบตา-ไอโอโนนปริมาณ 250 มิลลิกรัม/ลิตร

ในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Rhodotorula rubra* ทำให้การสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ถูกยับยั้ง และเมื่อเติมเบตา-ไอโอโนนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติบโตสูงสุดแล้ว เบตา-ไอโอโนนจะไปทำลายโทลูลาโรดิน (torularhodin) และเบตา-แคโรทีน (1) และจากการวิจัยของ Sureeluk และ Yashiki (1988) พบว่าการเติมเบตา-ไอโอโนนร้อยละ 1 (ปริมาตร/ปริมาตร) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Rhodotorula pallida* ที่เวลา 0 ชม. หรือการเติมเบตา-ไอโอโนน ที่เวลา 48 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อ จะไปยับยั้งการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนเช่นกัน (48)

การเติมโซเดียมซัคซิเนทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Rhodotorula* sp.Y1621 พบว่าการเติมโซเดียมซัคซิเนทที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนมากกว่าที่ความเข้มข้นอื่นๆ เพียงเล็กน้อย จากงานวิจัยของ Somnuke และ Duangporn (1990) ได้เติมโซเดียมซัคซิเนทในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula rubra* TISTR 5127 พบว่าปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มสูงขึ้น (26) การเติมวิตามินเอในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 พบว่าการเติมวิตามินเอ ความเข้มข้น 0.32 มิลลิโมล มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนเพียงเล็กน้อย จากงานวิจัยของ Satya และคณะ (1980)ได้เติมวิตามินเอความเข้นข้น 0.18 มิลลิโมล ในอาหารเลี้ยงเชื้อ *blakeslea trispora* พบว่ามีการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 82 (33) การที่ผลการเติมวิตามินเอ และผลของการเติมโซเดียมซัคซิเนทในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 มีความแตกต่างจากงานวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ อาจเนื่องจากสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้แตกต่างกัน

เมื่อเติมน้ำมันพืชลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp.Y1621 พบว่าน้ำมันถั่วเหลืองความเข้นข้นร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) และน้ำมันผสมร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) มีผลในการเพิ่มการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ใกล้เคียงกันเนื่องจากน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันเมล็ดฝ้ายมีกรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิกอยู่มาก อาจมีผลไปเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 เช่นเดียวกับการเติมน้ำมันพืชในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Blakealea trispora* (23) ส่วนการเติมน้ำมันเมล็ดฝ้ายความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 2 เพียงชนิดเดียว (ไม่ได้ผสมกับน้ำมันถั่วเหลือง) ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน

ถึงแม้ว่าในน้ำมันเมล็ดฝ้ายจะมีกรดไอเลอิก และกรดลิโนเลอิกเหมือนกับน้ำมันถั่วเหลือง แต่ชนิดของน้ำมันพืชที่ต่างกัน ก็อาจมีปริมาณกรดดังกล่าวต่างกันด้วย จุลินทรีย์บางชนิดสามารถใช้น้ำมันพืชเป็นแหล่งคาร์บอนได้ (49) ดังนั้นการเติมน้ำมันพืชลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Rhodotorula* sp. Y1621 แล้วมีผลให้การเติบโตเพิ่มขึ้น อาจมีผลเนื่องจาก *Rhodotorula* sp. Y1621 สามารถใช้น้ำมันพืชเป็นแหล่งคาร์บอนได้ด้วย แต่การทดลองที่มีการเติมน้ำมันพืชมากกว่าร้อยละ 2 มีผลให้การเติบโตและการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนลดลง อาจเนื่องจากการเติมน้ำมันพืชปริมาณมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้การละลายของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำลง มีผลให้ *Rhodotorula* sp. Y1621 ได้รับออกซิเจนน้อยลง ซึ่งมีผลต่อการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน

เมื่อเติมกรดแอบซิสิคลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Rhodotorula* sp. Y1621 พบว่ากรดแอบซิสิคที่ความเข้มข้น 2 X 10^{-4} และ 6 X 10^{-4} มิลลิโมล มีผลต่อการเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนโดย *Rhodotorula* sp. Y1621 เนื่องจากโครงสร้างของกรดแอบซิสิคคล้ายกับโครงสร้างของกรดไตรสปอริค (กรดไตรสปอริคเป็นสารที่สร้างขึ้นมาจากเชื้อราในกลุ่ม Mucorales ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน) (33) อาจทำให้มีผลในเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน ซึ่งสอดคล้องกับผลงานของ Satya และคณะ (1980) ซึ่งพบว่าการเติมกรดแอบซิสิคลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Blakeslea trispora* มีผลในการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนร้อยละ 100 (33)

เมื่อเติมสารแอนติออกซิแดนท์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Rhodotorula* sp. Y1621 พบว่าสารแอนติออกซิแดนท์ทุกความเข้มข้นมีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน และที่ความเข้มข้น 0.2 กรัม/ลิตร มีผลให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มมากขึ้นจาก 447.12 เป็น 666.25 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง เนื่องจากเบตา-แคโรทีนเป็นรงควัตถุที่ถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย (2) ดังนั้นการเติมสารแอนติออกซิแดนท์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อป้องกันเบตา-แคโรทีนถูกออกซิไดซ์ (9) ทำให้เบตา-แคโรทีนที่สังเคราะห์ได้ไม่สลายตัวไปและยังพบว่า สารแอนติออกซิแดนท์ชนิดเดียวกันนี้มีผลในการเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนในเชื้อ *Blakeslea trispora* (35)

เมื่อเติมคีโรซีนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Rhodotorula* sp. Y1621 พบว่าคีโรซีนที่ความเข้มข้น 2.5 และ 5.0 มิลลิลิตร/ลิตร มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน

โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 และที่ความเข้มข้น 5.0 มิลลิลิตร/ลิตร มีผลให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นจาก 447.12 เป็น 536.54 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง Ciegler และคณะ (1962) พบว่าการเติมคีโรซีนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Blakeslea trispora* มีผลให้การสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้น 2 เท่า (34) หน้าที่ของคีโรซีนในการเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด สันนิษฐานว่าอาจจะไปชักนำเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ หรืออาจจะไปเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของผนังเซลล์ทำให้มีการปลดปล่อยรงควัตถุแคโรทีนอยด์ออกมา เป็นการป้องกันการยับยั้งการสร้างผลิตภัณฑ์แบบ end product inhibition

จากการศึกษาผลของการเติมสารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนร่วมกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง (ร้อยละ 2 ปริมาตร/ปริมาตร) กรดแอบซิสิค (6×10^{-4} มิลลิโมล) แอนติออกซิแดนท์ (0.2 กรัม/ลิตร) และคีโรซีน (5.0 มิลลิลิตร/ลิตร) พบว่าทุกการทดลองมีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนให้สูงขึ้น และการเติมแอนติออกซิแดนท์เพียงอย่างเดียว มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนมากกว่าการทดลองอื่นๆ

นอกจากสารบางชนิดที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนแล้ว ปัจจัยของการให้แสงขณะเลี้ยงเชื้อก็มีส่วนสำคัญต่อการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน จากการทดลองให้แสงขณะเลี้ยงเชื้อ พบว่าความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนอยู่ระหว่าง 900-1000 ลักซ์ และที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ทำให้ *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้มากกว่าที่ความเข้มแสงอื่นๆ ส่วนที่ความเข้มแสงต่ำหรือสูงกว่านี้ กลับมีผลให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนลดลง ผลของการให้แสงจะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ และความเข้มแสงที่ให้ขณะเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการแสงในการเติบโตอาจจะสร้างรงควัตถุแคโรทีนอยด์ขึ้นเพื่อป้องกันตัวเองจากแสง โดยที่รงควัตถุแคโรทีนอยด์จะไปลดสภาวะการถูกกระตุ้นของออกซิเจนอะตอมเดี่ยว ทำให้ยับยั้งการเกิดไลปิดเพอออกไซด์ และฟรีแรดิคอล ผลทำให้ผนังเซลล์ไม่ถูกทำลาย (36 37) Lampila(1985) ได้รายงานว่าการให้แสงขณะเลี้ยงเชื้อ *Blakeslea trispora* จะเพิ่มการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนได้ (21) Somnuke และ Duangporn (1990) ทำการให้แสงความเข้ม 3000 ลักซ์ ขณะเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula rubra* TISTR 5127 พบว่าปริมาณเบตา-

แคโรทีนเพิ่มขึ้น (26) นอกจากความเข้มแสงที่เหมาะสมแล้ว ระยะเวลาให้แสงต้องเหมาะสมด้วย

จากการศึกษาผลของการเติมสารที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน พบว่าการเติมแอนติออกซิแดนท์ความเข้มข้น 0.2 กรัม/ลิตร เพียงชนิดเดียว มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนมากกว่าการทดลองอื่นๆ และการให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ มีผลให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นมากกว่าการไม่ให้แสง หรือการให้แสงที่ความเข้มสูงกว่านี้ ดังนั้นจึงศึกษาผลของการเติมแอนติออกซิแดนท์พร้อมกับการให้แสง พบว่าปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้จะสูงกว่าการเติมแอนติออกซิแดนท์เพียงอย่างเดียว หรือการให้แสงเพียงอย่างเดียว

จากข้อมูลเบื้องต้นในระดับขวดเขย่า ทำให้ได้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมและสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ดังนั้นจึงนำปัจจัยดังกล่าวมาศึกษาการเติบโต และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อเพิ่มผลผลิต และลดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ ขั้นตอนแรกของการศึกษาการผลิตเบตา-แคโรทีน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ได้ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจากการวิจัยเบื้องต้นในระดับขวดเขย่า ได้พบว่าค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *Rhodotorula* sp. Y1621 มีค่าเท่ากับ 5-6 และจากรายงานของ Goodwin 1959 (24) ซึ่งได้รายงานว่าการเติบโตของ *Phycomyces blakesleeanus* จะเกิดได้ดีที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.2 แต่การสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน จะเกิดได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วงเป็นกรดประมาณ 2.3 - 3.0 ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมัก และควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากับ 6.0 แล้วปรับค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ลดลงตามลำดับ จนมีค่าเท่ากับ 2.5 ให้อากาศที่อัตรา 0.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 300 รอบ/นาที ผลการทดลองพบว่า *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36-42 ชม. โดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 12.32 กรัม/ลิตร และการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงสุดที่เวลา 42-60 ชม. ได้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเท่ากับ 810.40 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ซึ่งปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับระดับขวดเขย่า

พบว่าปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้เพิ่มขึ้นอย่างมาก (จาก 450 เป็น 810.40 ไมโครกรัม /กรัมเซลล์แห้ง) แสดงว่าการควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงเชื้อ มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน ดังนั้นการทดลองขั้นต่อไปจึงควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อในสภาวะดังกล่าว แล้วแปรผันอัตราการให้อากาศ และอัตราเร็วในการกวน จากผลการทดลองพบว่าการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที และอัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนมากกว่าการให้อัตราการให้อากาศและอัตราเร็วในการกวนอื่นๆ โดยมีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อ ปริมาณเซลล์ที่ได้เท่ากับ 12.82 กรัม/ลิตร และมีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงสุดที่เวลา 36-60 ชม. ปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้เท่ากับ 1129.32 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณไนโตรเจนในถังหมักที่ลดลงของแต่ละการทดลองคล้ายกัน โดยที่น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นประมาณ 30 กรัม/ลิตร จะลดลงเกือบต่ำสุดที่เวลา 36 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อ และเหลือน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ประมาณ 0.7 กรัม/ลิตร ส่วนปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นประมาณร้อยละ 0.05 (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะลดลงต่ำสุดที่เวลา 36 ชม. ของการเลี้ยงเชื้อ และเหลือไนโตรเจนอยู่ประมาณร้อยละ 0.03 (น้ำหนัก/ปริมาตร)

หลังจากได้ผลของการให้อากาศและอัตราเร็วในการกวนที่เหมาะสมแล้ว จึงทดลองเติมสารแอนติออกซิแดนท์ความเข้มข้น 0.2 กรัม/ลิตร และการให้แสงความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อพบว่า *Rhodotorula* sp. Y1621 มีการเติบโตสูงสุดที่เวลา 36 ชม. โดยได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 12.96 กรัม/ลิตร และมีการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีนสูงสุดที่เวลา 36-60 โดยได้ปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นสูงถึง 1612.50 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

สรุปผลการทดลอง

1. คัดเลือกได้เชื้อยีสต์ *Rhodotorula* sp. Y1621 ซึ่งมีความสามารถในการสังเคราะห์เบตา-แคโรทีน
2. จากการวิเคราะห์ทางเคมี พบว่ารงควัตถุหลักที่สังเคราะห์โดย *Rhodotorula* sp. Y1621 คือเบตา-แคโรทีน
3. แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม ได้แก่ แป้งไฮโดรไลส์ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และกากถั่วเหลืองไฮโดรไลส์ที่มีไนโตรเจนอยู่ร้อยละ 0.05 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ
4. สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิเท่ากับ 25-30° ซ. ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5-6 และอัตราการเขย่าเท่ากับ 200-300 รอบ/นาที
5. องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณรงควัตถุ ได้แก่ ไทอามีน 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร $FeSO_4$ $7H_2O$ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร $CuSO_4$ $5H_2O$ 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร และ $ZnSO_4$ $7H_2O$ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้เท่ากับ 450 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง
6. การย้ายเซลล์ยีสต์ลงสู่สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีน
7. ผลของการเติมสารบางชนิดที่มีต่อการเพิ่มปริมาณรงควัตถุ ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) กรดแอบซิสิค 6×10^{-4} มิลลิโมล แอนติออกซิแดนท์ 0.2 กรัม/ลิตร และคีโรซีน 5.0 มิลลิลิตร/ลิตร ส่วนสารที่ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณรงควัตถุ ได้แก่ ดีเทอร์เจนท์ เบตา-ไอโอโนน โซเดียมซัคซิเนท และวิตามินเอ
8. การเติมแอนติออกซิแดนท์ความเข้มข้น 0.2 กรัม/ลิตรเพียงชนิดเดียวมีผลในการเพิ่มปริมาณเบตา-แคโรทีนมากกว่าการเติมสารชนิดอื่นร่วมกัน
9. การให้แสงความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ขณะที่เชื้อมีการเติบโต จะมีการสังเคราะห์รงควัตถุได้มากกว่าที่ความเข้มแสงอื่นๆ ส่วนที่ความเข้มแสงที่ต่ำหรือสูงกว่านี้กลับมีผลให้ปริมาณเบตา-แคโรทีนลดลง

10. การเติมแอนติออกซิแดนท์ 0.2 กรัม/ลิตร ร่วมกับการให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ ขณะเลี้ยงเชื้อ มีผลให้เบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นจาก 450 เป็น 685.09 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

11. การเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อาหารสูตรปรับปรุงควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6 แล้วปรับค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ลดลงตามลำดับ จนมีค่าเท่ากับ 2.5 ที่อุณหภูมิ 28° ซ. อัตราการให้อากาศเท่ากับ 0.5 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 300 รอบ/นาที เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้กับระดับขวดเขย่า พบว่าปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นจาก 450 เป็น 810.40 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

12. สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในถังหมักขนาด 5 ลิตร ได้แก่ อุณหภูมิ 28° ซ. อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศ/ปริมาตรน้ำหมัก/นาที อัตราเร็วในการกวน 450 รอบ/นาที ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6 แล้วปรับค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ลดลงตามลำดับจนมีค่าเท่ากับ 2.5 ปริมาณเบตา-แคโรทีนที่ได้เพิ่มขึ้นจาก 450 เป็น 1129.32 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

13. เมื่อใช้สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในถังหมักขนาด 5 ลิตร และเติมสารแอนติออกซิแดนท์ 0.2 กรัม/ลิตร รวมทั้งให้แสงความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ พบว่าปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นเป็น 1612.50 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง

14. เมื่อใช้สภาวะที่เหมาะสมต่างๆที่ได้จากการวิจัย และเพาะเลี้ยง *Rhodotorula* sp. Y1621 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ปริมาณเบตา-แคโรทีน เพิ่มขึ้นจากเมื่อเริ่มทำการวิจัย คือ 280 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง เป็น 1612.50 ไมโครกรัม/กรัมเซลล์แห้ง