

ศึกษาสภาวะกีดกันจากเอธานอลต่อการเจริญเติบโต การผลิตกรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิก (GLA) ในรา *Mucor rouxii* ATCC 24905 โดยปลูกสปอร์ราลงในสารอาหาร 50 มิลลิลิตร และนำไปบ่มในตู้บ่มแบบเขย่า อุณหภูมิ 30 °C ความเร็ว 130 รอบต่อนาที

ศึกษาผลของช่วงเวลาในการเติมเอธานอลต่อรา *M. rouxii* โดยเติม 5 % (v/v) เอธานอลในระยะต่างๆ ของการเติบโต คือ mid logarithmic phase (ชั่วโมงที่ 12) late logarithmic phase (ชั่วโมงที่ 21) และระยะ secondary growth (ชั่วโมงที่ 48) พบว่า ทำให้ชีวมวลของราลดลงเหลือเพียง 3.0, 3.1 และ 5.9 กรัมต่อลิตรในการเติมระยะ mid logarithmic , late logarithmic และระยะ secondary growth ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่เติมเอธานอลและได้น้ำหนักแห้ง 7.9 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120

นอกจากนี้ การเติม 5% (v/v) เอธานอลมีผลทำให้ความเข้มข้นของกรดไขมันทั้งหมด, กรดแกมมาลิโนเลนิกและชีวมวลลดลง โดยปริมาณกรดไขมันทั้งหมดและกรดแกมมาลิโนเลนิกในน้ำหนักเซลล์แห้ง แตกต่างกัน การเติมเอธานอลใน late logarithmic phase ทำให้เราสามารถผลิตกรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกต่อน้ำหนักแห้งได้สูงสุด คือ 11.0% (w/w) และ 1.6% (w/w) ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าเซลล์มีการตอบสนองต่อสภาวะกีดกันจากเอธานอล โดยมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันภายในเซลล์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวขึ้นอยู่กับระยะการเติบโตของเซลล์ในขณะที่ได้รับเอธานอล

ส่วนการเติมเอธานอลความเข้มข้น 1% 2% และ 5% (v/v) ลงไปในเซลล์ late logarithmic phase พบว่าการเติมเอธานอลที่ความเข้มข้นต่ำ คือ 1% และ 2% (v/v) ทำให้เราสามารถผลิตชีวมวลได้เพิ่มขึ้น โดยได้น้ำหนักแห้งสูงสุดใกล้เคียงกันประมาณ 9.0 กรัมต่อลิตร และเมื่อเติม 2% (v/v) เอธานอล จะได้ปริมาณกรดไขมันทั้งหมดและกรดแกมมาลิโนเลนิกในเซลล์แห้งสูงสุดคือ 17.2 และ 2.3% (w/w) ตามลำดับ

ส่วนการเติมเอธานอลที่ความเข้มข้นอื่นๆ เช่น 1% (v/v) เอธานอลในเซลล์ late logarithmic phase ได้ปริมาณกรดไขมันทั้งหมดและกรดแกมมาลิโนเลนิกในเซลล์แห้งสูงสุด 15.8% (w/w) และ 1.8 % (w/w) แต่เมื่อเติม 5 % (v/v) เอธานอล จะได้ปริมาณกรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกในเซลล์แห้ง คือ 10.4% (w/w) และ 1.3% (w/w) ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม พบว่าการเติม 2% (v/v) เอธานอล เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมซึ่งทำให้เซลล์ราผลิตกรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกสูงสุดคือ 1523.9 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 200.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเติม 1% (v/v) เอธานอล ซึ่งให้กรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกสูงสุดเพียง 1324.7 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 161.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และการเติม 5% (v/v) เอธานอล ให้กรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกสูงสุดเพียง 322.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 41.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลองสรุปว่าการเลือกใช้สภาวะกีดกัน เช่น การเติมเอธานอลที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม (2%, v/v) โดยเติมลงในเซลล์ที่อยู่ใน late logarithmic phase ทำให้เซลล์ตอบสนองต่อสภาวะกีดกันโดยเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบกรดไขมันภายในเซลล์เพื่อรักษาโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์เมมเบรนและทำให้มีการผลิตกรดแกมมาลิโนเลนิกเพิ่มขึ้นได้

Effects of ethanol as stress condition on growth, total fatty acid (TFA) and  $\gamma$ -linolenic acid (GLA) production in *Mucor rouxii* were studied in the work. The spores were inoculated into 50 ml medium and incubated in an incubator shaker at 30 °C with the agitation speed of 130 rpm.

The addition of ethanol to different growth period was investigated by adding of 5% (v/v) ethanol at mid logarithmic phase (12 h culture), late logarithmic phase (21 h culture) and secondary growth phase (48 h culture). After addition of ethanol, decreasing fungal biomass of 3.0, 3.1 and 5.9 g/L was found, at mid logarithmic, late logarithmic and secondary growth phases, respectively. Whereas the dry weight of 7.9 g/L was obtained from the non-addition of ethanol at 120 hour of cultivation time.

Addition of 5 % (v/v) ethanol resulted to the lower concentrations of total fatty acids, GLA and dry cell weight. Among 3 concentrations of ethanol, 1,2 and 5 % (v/v), however, results of TFA/DW (% w/w) and GLA/DW (% w/w) were the highest ones after addition of 5 % (v/v) ethanol into late logarithmic phase which obtained TFA/DW and GLA/DW at 11.0% (w/w) and 1.6% (w/w) respectively. This finding indicated that *M. rouxii* responded to ethanol stress by changing the composition of intracellular fatty acids inside cells. Moreover, change in fatty acid composition depended on the period of cell growth when exposed to ethanol.

The addition of 1, 2 and 5% (v/v) ethanol into late logarithmic fungal cultures were studied. The low concentrations of ethanol at 1% and 2% (v/v) led to the similar increase of fungal biomass (about 9 g/L). Surprisingly, the contents of TFA and GLA in dry weight was significantly increased to 17.2% (w/w) and 2.3% (w/w), respectively, when 2% (v/v) ethanol was added.

The other concentrations of ethanol, 1 and 5 % (v/v) for addition into late logarithmic phase were observed. At 1 % (v/v) ethanol, TFA/DW and GLA/DW appeared only 15.8% (w/w) and 1.8% (w/w), respectively, whereas at 5 % (v/v) ethanol, TFA/DW and GLA/DW were 10.4% (w/w) and 1.3% (w/w) respectively.

The highest concentrations of TFA (1523.9 mg/L) and GLA (200.8 mg/L) were obtained after addition of 2% (v/v) ethanol. The 1 % (v/v) ethanol gave the concentrations of TFA and GLA at 1324.7 mg/L and 161.5 mg/L, respectively, while 5 % (v/v) ethanol gave the concentration of TFA and GLA at 322.3 mg/L and 41.3 mg/L.

It was suggested that the stress condition such as an optimal concentration of ethanol (2%, v/v) added into the culture at the particular period of growth in late logarithmic phase, might be a result of alteration of fatty acid composition to maintain the membrane structure for appropriate function of *M. rouxii* and increasing of GLA in cells.