185787

ศึกษาผลของสภาวะกดดันจากเอธานอลต่อการเจริญเติบโต การผลิตกรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิก (GLA) ในรา *Mucor rouxii* ATCC 24905 โดยปลูกสปอร์ราจำนวน $3x10^7$ สปอร์ลงในสารอาหาร 50 มิลลิลิตร และนำไปบ่มในตู้บ่มแบบเขย่า อุณหภูมิ 30 °C ความเร็ว 130 รอบต่อนาที

ศึกษาผลของช่วงเวลาในการเติมเอธานอลต่อรา *M. rouxii* โดยเติมเอธานอลความเข้มข้น 5% (v/v) ในระยะต่างๆ ของการเติบโต คือ ระยะ mid logarithmic phase (ชั่วโมงที่ 12 ของการเติบโต) ระยะ late logarithmic phase (ชั่วโมงที่ 21 ของการเติบโต) และระยะ secondary growth (ชั่วโมงที่ 48 ของการเติบโต) พบว่ามีผลทำให้การผลิตชีวมวลของราลดลงเหลือเพียง 3.0 3.1 และ 5.9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับที่ไม่เติมเอธานอลและได้น้ำหนักแห้ง 7.9 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 อย่างไรก็ดี พบว่าการเติม 5% (v/v) เอธานอลมีผลทำให้ความเข้มข้นของกรดไขมันทั้งหมด กรดแกมมาลิโนเลนิกลดลง และปริมาณชีวมวลลดลง โดยปริมาณกรดไขมันทั้งหมดและกรดแกมมาลิโนเลนิกในน้ำหนักเซลล์แห้งแตกต่างกันในแต่ละระยะการเติมเอธานอล การเติมเอธานอลในระยะ late logarithmic phase ทำให้ราสามารถผลิตกรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกต่อน้ำหนักแห้งได้สูงสุด คือ 11.0% (w/w) และ 1.6% (w/w) ตามลำดับ แสดงว่าเซลล์มีการตอบสนองต่อสภาวะกดดันจากเอธานอลโดยการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันภายในเซลล์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวขึ้นอยู่กับระยะการเติบโตของเซลล์ในขณะที่ได้รับเอธานอล

การเติมเอธานอลความเข้มข้น 1% 2% และ 5% (v/v) ลงไปในเซลล์ระยะ late logarithmic phase (ชั่วโมงที่ 21 ของการเติบโต) พบว่าการเติมเอธานอลที่ความเข้มข้นต่ำ คือ 1% และ 2% (v/v) ทำให้รา สามารถผลิตชีวมวลได้เพิ่มขึ้น โดยได้น้ำหนักแห้งสูงสุดใกล้เคียงกัน คือประมาณ 9.0 กรัมต่อลิตร และได้ปริมาณกรดไขมันทั้งหมดและกรดแกมมาลิโนเลนิกในน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ 17.2 และ 2.3% (w/w) ตามลำดับ เมื่อเติมเอธานอล ความเข้มข้น 2% ส่วนการเติมเอธานอลที่ความเข้มข้นอื่น ๆ (1 และ 5%, v/v) ได้ปริมาณกรดไขมันทั้งหมดและกรดแกมมาลิโนเลนิกในน้ำหนักแห้งสูงสุดเพียง 15.8% (w/w) และ 1.8 % (w/w) เมื่อเติมเอธานอล ความเข้มข้น 1% (v/v) และได้ 10.4% (w/w) และ 1.3% (w/w) เมื่อเติมเอธานอล ความเข้มข้น 5% (v/v) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าการเติมเอธานอลความเข้มข้น 2% (v/v) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมซึ่งทำให้เซลล์ราผลิตกรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกสูงสุดคือ 1523.9 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 200.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเติมเอธานอล ที่ความเข้มข้น 1% (v/v) ซึ่งให้กรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกสูงสุดเพียง 1324.7 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 161.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และการเติมเอธานอล ความเข้มข้น 5% (v/v) ให้กรดไขมันทั้งหมด และกรดแกมมาลิโนเลนิกสูงสุดเพียง 322.3 กรัมต่อลิตร และ 41.3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าการเลือกใช้สภาวะกดดันเช่นการเติมเอธานอลที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม (2%, v/v) ลงในเซลล์ ในช่วงเวลาที่เซลล์กำลังอยู่ในระหว่างการเจริญเติบโต (late logarithmic phase) อาจทำให้เซลล์สามารถตอบสนองต่อสภาวะกดดันได้โดยการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันภายในเซลล์เพื่อรักษาโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์เมมเบรน

Effects of ethanol stress to growth, total fatty acid (TFA) and γ-linolenic acid (GLA) production in *Mucor rouxii* were studied in the work. The $3x10^7$ 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 into different periods of growth 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). The biomass of 3.0, 3.1 and 5.9 g/L was obtained, when ethanol was added at 12, 21 and 48 hour cultivation times, respectively, whereas the dry weight of 7.9 g/L was obtained from the non-addition of ethanol at 120 hour of cultivation. The concentrations of total fatty acids and GLA decreased when compared with the culture without ethanol addition. Although low biomass derived at late logarithmic culture with ethanol adding, the results of TFA/DW (%, w/w) and GLA/DW (%, w/w) were higher than the ethanol addition to the other periods of growth that were 11.0% (w/w) and 1.6% (w/w) respectively. This finding indicated that *M. rouxii* cells responded to ethanol stress by changing the composition of intracellular fatty acids. The change in fatty acid composition depended on the period of cell growth when exposed to ethanol.

1, 2 and 5% (v/v) ethanol were added into the fungal cultures grown at late logarithmic phase (21 h culture). 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. Comparison between 1% and 5% (v/v) ethanol adding, TFA/DW and GLA/DW appeared only 15.8% (w/w) and 1.8% (w/w) in the culture added with 1% ethanol, respectively, whereas 10.4% (w/w) and 1.3% (w/w) of TFA/DW and GLA/DW, respectively, were found in the culture added with 5% ethanol. The highest concentrations of TFA (1523.9 mg/L) and GLA (200.8 mg/L) were also obtained when 2% (v/v) ethanol was added. The 1324.7 mg/L of TFA and 161.5 mg/L of GLA were observed in 1% (v/v) ethanol adding culture and low amount of TFA (322.3 g/L) and GLA (41.3 g/L) were found in the 5% ethanol adding culture. Althought an alternation of fatty acid composition of *M. rouxii* was result of ethanolic stress, the differential response was found depending on the growth period of ethanol adding and ethanol concentration. This might be explained by adjustment of membrane structure for appropriate function of this fungus.