นพมาศ และคณะ (2543) ได้ทำการวิจัยควบคุมคุณภาพของสารสำคัญกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ในวัตถุดิบขมิ้นชัน โดยทำการทดลองที่คล้ายครึ่งกับการทดลองในครั้งนี้คือ สกัดด้วยแอลกอฮอล์ และแยกสารสกัดด้วยวิธีโครมาโตรกราฟีแบบผิวบาง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน curcumin โดยใช้ Solvent system คือ n-hexane : chloroform : 95% ethanol = 41:49:10 พบว่า TLC chromatogram ของสารมาตรฐาน curcumin ประกอบด้วย 3 จุด ซึ่งได้แก่สาร curcumin (R_f=0.73), demethoxycurcumin (R_f=0.63) และ bisdemethoxycurcumin (R_f=0.53) ซึ่งค่า R_f ที่ได้แตกต่างจากในการทดลองนี้เล็กน้อยเนื่องจากวัฏภาคเคลื่อนที่อยู่ในสภาวะอิ่มตัวที่อาจแตกต่างกัน ส่วนสารสกัดจากขมิ้นชันจะประกอบด้วยสารทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว และสารกลุ่ม sesquiterpenes (R_f=0.92) เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่ม curcuminoid เท่ากับ 21.51% w/w โดยวิธี TLC/densitometry ซึ่งปริมาณสารกลุ่ม curcuminoid ที่พบมีปริมาณมากกว่าที่พบในการทดลองนี้เนื่องจากอายุของเหง้าขมิ้นที่นำมาวิเคราะห์มีอายุน้อยกว่าจึงทำให้มีปริมาณสารที่สะสมอยู่น้อยกว่าเช่นเดียวกันอีกทั้งยังมีสภาพแวดล้อมในการปลูก และสายพันธุ์ที่แตกต่างกันด้วย ทำให้ปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ที่ได้แตกต่างกัน

การที่พบสารเคอร์คูมินอยด์เฉพาะส่วนของรากจากธรรมชาติ รากจากการย้ายออกปลูก และเหง้าจากธรรมชาติ เนื่องมาจากขมิ้นชันจะมีการผลิต และสะสมสารในกลุ่มนี้มากที่สุดบริเวณเหง้าและราก ตามลำดับ แต่ในรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะไม่พบสารเคอร์คูมินอยด์เนื่องมาจากการเก็บตัวอย่างพืชเพื่อนำมาสกัดสารนั้น ชนิด และปริมาณของสารสำคัญในพืชจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ช่วงปี ช่วงวัน อายุพืช ระยะเวลาของพืช และสถานที่ปลูกพืชหรือ สภาพแวดล้อม เทคนิคการปลูก และการบำรุงรักษา วิธีการปลูกที่เหมาะสม ในที่นี้น่าจะเป็นเพราะสภาพแวดล้อมของพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์นั้นมีความแตกต่างกับสภาพในธรรมชาติอย่างมาก อีกทั้งน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้ค่า water potential สูง พืชดูดน้ำ และอาหารไปใช้ได้ยากขึ้น พืชเกิดความเครียดเนื่องจากการขาดน้ำ การใช้ gelling agent เช่น agar หรือ gelrite ทำให้ก๊าซโดยเฉพาะออกซิเจนมีอัตราการแพร่ลงไปในอาหารได้ต่ำ (Kirdmanee *et al.*, 1995) รากขาดก๊าซที่ใช้ในการหายใจพืชจึงเจริญเติบโตช้า และมีระบบรากที่อ่อนแอ จึงน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ไม่พบสารเคอร์คูมินอยด์ในรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ส่วนการที่พบสารเคอร์คูมินอยด์ในส่วนรากจากธรรมชาติ รากจากการย้ายออกปลูก และเหง้าจากธรรมชาติ ปริมาณแตกต่างกันก็น่าจะเกิดจากปัจจัยต่างๆ ข้างต้นเช่นกันโดยชิ้นส่วนขมิ้นชันที่นำมาสกัดนั้นมีอายุแตกต่างกัน โดยเหง้า และรากที่ได้จากธรรมชาตินั้นได้มาจากต้นที่มีอายุ 3 เดือน และรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 6 แล้วย้ายออกปลูกอีก 8 สัปดาห์ (รวมอายุ 15 สัปดาห์ พืชที่มีอายุแตกต่างกันจะอยู่ในช่วงระยะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ย่อมผลิต

และสะสมสารสำคัญในปริมาณแตกต่างกัน เช่นเดียวกับสถาบันวิจัยสมุนไพร (2544) ได้ศึกษาปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชัน พบว่าขมิ้นชันอายุ 4, 6 และ8 เดือน จะมีปริมาณสาร 4, 6.7 และ 12.7% ตามลำดับ โดยขมิ้นชันที่ปลูกตามฤดูกาลควรมีการเก็บเกี่ยวในช่วงอายุ 9-11 เดือน (เดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์) ช่วงพักตัว เพราะจะได้ผลผลิตที่ดีเหง้ามีความสมบูรณ์เต็มที่ มีความแกร่ง สามารถรักษาเหง้าสดไว้ในสภาพปกติได้นาน แต่ถ้าปล่อยทิ้งไว้หลังจากนั้นเป็นเวลานานแล้ว อาจเกิดโรครากเน่า และผลผลิตลดลง ห้ามเก็บเกี่ยวในระยะที่ขมิ้นเริ่มแตกหน่อ เพราะจะทำให้มีสารเคอร์คูมินต่ำ เช่นเดียวกับต้นฝิ่นที่มีอายุ 2.5-3 สัปดาห์ จะมีปริมาณ morphine สูงสุด แต่ถ้าอายุต่ำกว่านี้จะมีปริมาณสารอื่นๆ เช่น codeine, thebaine, narcotine, papaverine สูงกว่า นอกจากนี้ปริมาณสารเคมีแต่ละชนิดยังขึ้นอยู่กับช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว โดยฝิ่นจะมีปริมาณ codeine สูงสุดในเวลาเที่ยง และ morphine จะสูงสุดในช่วง 8.00-10.00 น. (ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย, 2534) อีกทั้งแหล่งที่ปลูก ระดับความสูง ความเข้มแสง และการให้ปุ๋ยยังมีผลต่อปริมาณสารสำคัญด้วยเช่นกัน

นอกจากนี้สภาพการเพาะเลี้ยงยังมีผลต่อสารสำคัญในพืช โดยมีการศึกษาสาร plumbagin จากรากเพาะเลี้ยงของต้นเจตมูลเพลิงแดง และขาว พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำให้ใบอ่อนของพืชทั้ง 2 ชนิด เกิดรากได้ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร B5 ที่เติม NAA 1 มก/ล ร่วมกับ kinetin 0.1 มก/ล และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสาร plumbagin พบว่า รากเจตมูลเพลิงแดงที่เพาะเลี้ยงสามารถผลิตสาร plumbagin ได้มากกว่ารากเจตมูลเพลิงขาวที่เพาะเลี้ยง (สุปราณี และสุพัตรา, 2542) หลังจากนั้น จารีญีย์ (2543) ได้ทำการปรับปรุงสูตรอาหารเพื่อเพิ่มการสร้าง plumbagin จากรากเพาะเลี้ยงของต้นเจตมูลเพลิงแดงโดยใช้อาหารสูตร B5 ที่เติมน้ำตาล ซูโครส 1% และ $(NH_4)_2SO_4$ เพิ่มเป็นสองเท่า และเติม NAA 1 มก/ล ร่วมกับ kinetin 0.1 มก/ล ทำให้รากของเจตมูลเพลิงแดงสร้างสาร plumbagin ได้มากกว่ารากของเจตมูลเพลิงขาว

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชเป็นอีกแหล่งหนึ่งที่สำคัญเพื่อผลิตสารทุติยภูมิปริมาณสูง ซึ่งเซลล์พืชมีการสังเคราะห์แบบ Totipotent ซึ่งหมายความว่าทุกเซลล์ที่เพาะเลี้ยงประกอบด้วยข้อมูลทางพันธุกรรมที่ครบถ้วน และสามารถสร้างสารเคมีได้เช่นเดียวกับที่พบในต้นพ่อแม่ การพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์มีข้อดีเหนือกว่าการเพาะปลูกแบบดั้งเดิมด้วยเหตุผลดังต่อไปนี้

1. ไม่ขึ้นกับภูมิประเทศ ภูมิอากาศ ฤดูกาลที่เปลี่ยนแปลง และองค์ประกอบของสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย
2. สามารถผลิตเป็นระบบ ที่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อย่างต่อเนื่อง และให้ผลิตภัณฑ์ที่เหมือนกันทั้งในด้านคุณภาพ และปริมาณ
3. มีความเป็นไปได้ที่จะผลิตสารที่ปรกติไม่สามารถพบได้ในต้นพ่อแม่
4. ให้ผลผลิตได้รวดเร็ว

มีการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชหลายชนิดที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิได้ปริมาณมากกว่าในต้นพืชปรกติ อย่างไรก็ตาม ยังคงมีปัญหาในการผลิตสารสำคัญจากการเพาะเลี้ยงเซลล์เนื่องจากความไม่เสถียรของสายพันธุ์ของเซลล์ ผลผลิตต่ำ เติบโตช้า และปัญหาของการเพิ่มปริมาณ มีหลายวิธีที่ถูกใช้ในการเพิ่มปริมาณของสารสำคัญซึ่งประสพความสำเร็จในการผลิตสารทุติยภูมิปริมาณสูง เช่น ชิโคนิน (shikonin) จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Lithospermum erythrorhizon* และเบอเบอริน จาก *Coptis japonica* ซึ่งถูกผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม

การเพิ่มปริมาณการผลิตสารทุติยภูมิในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืช

1. **การคัดเลือกสายพันธุ์เซลล์ที่มีการผลิตสูง**
2. **การควบคุมสารอาหารเพื่อเพิ่มผลผลิต**

การควบคุมสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงมีผลอย่างมากในการเพิ่มการสะสมของผลผลิต การแสดงออกของวิถีการสังเคราะห์สารทุติยภูมิถูกเปลี่ยนได้ง่ายโดยอาศัยองค์ประกอบภายนอก เช่น ระดับของสารอาหาร ความเครียด แสง และสารควบคุมการเจริญเติบโต องค์ประกอบหลายชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์พืชมีความสำคัญต่อการเติบโต และการสะสมสารทุติยภูมิ (Stafford *et al.*, 1986)

ระดับของน้ำตาล (Sugar level)

การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชโดยปกติจะสังเคราะห์อาหารเองไม่ได้จึงต้องใช้น้ำตาล เป็นแหล่งของคาร์บอน และสารอนินทรีย์อื่นๆ ในสารอาหาร ซึ่งระดับของน้ำตาลมีผลการการผลิต และสะสมของสารทุติยภูมิในเซลล์ที่เพาะเลี้ยง ดังนั้นซูโครสความเข้มข้น 2.5% (w/v) และ 7.5% (w/v) ในอาหารเพาะเลี้ยง *Coleus blumei* สามารถผลิต rosmarinic acid ได้ 0.8 และ 3.3 กรัม/ลิตร ตามลำดับ (Misawa, 1985) ส่วนการเพาะเลี้ยง *Catharanthus roseus* โดยเติมซูโครสความเข้มข้น 4-12% พบว่าซูโครส 8% (w/v) เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต indole alkaloid (Knobloch and Berlin, 1980) เช่นเดียวกับการผลิต benzophenanthridine alkaloid จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *Eschscholtzia californica* เพิ่มขึ้น 10 เท่าเป็น 150 mg/l โดยการเพิ่มความเข้มข้นของซูโครสเป็น 8% (w/v) (Berlin *et al.*, 1983) ความเครียดออสโมติค (osmotic stress) ที่เกิดขึ้นจากซูโครสอย่างเดียว และจากสารออสโมติคอื่นๆ พบว่ากระตุ้นการผลิต anthocyanin ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Vitis vinifera* (Do and Cormier, 1990) หน้าที่ของซูโครสซึ่งเป็นทั้งแหล่งของคาร์บอน และเป็นสารออสโมติคพบในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Solanum melongena* (Mukherjee *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตามซูโครสความเข้มข้นมากกว่า 5% (w/v) จะ

ลดการผลิต anthocyanin ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Aralia cordata* และซูโครส 3% (w/v) จะเหมาะสมในการสะสมของ anthocyanin (Sakamoto *et al.*, 1993)

ระดับของไนเตรท (Nitrate level)

ความเข้มข้นของไนโตรเจนพบว่ามีผลต่อระดับการสังเคราะห์โปรตีน หรือกรดอะมิโน ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น MS, LS หรือ B5 มีทั้งไนเตรท และแอมโมเนียเป็นแหล่งของไนโตรเจน อย่างไรก็ตาม อัตราส่วนของ แอมโมเนีย/ไนเตรท - ไนโตรเจนและทุกระดับไนโตรเจนโดยรวมทั้งหมดมีผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิ เช่น การลดระดับของ NH_4^+ และการเพิ่มระดับของ NO_3^- ส่งเสริมการผลิต shikonin และ betacyanins ในขณะที่อัตราส่วนของ NH_4^+/NO_3^- สูงจะเพิ่มการผลิต berberine และ ubiquinone (Bohm and Rink, 1988) ส่วนการลดระดับของไนโตรเจนโดยรวมมีผลต่อการผลิต capsaicin ใน *Capsicum frutescens* , anthraquinones ใน *Morinda citrifolia* และ anthocyanin ใน *Vitis* sp. (Yamakawa *et al.*, 1980) อย่างไรก็ตามการกำจัดไนเตรททั้งหมดจากการเพาะเลี้ยง *Chrysanthemum cinerariaefolium* ชักนำให้มีการเพิ่ม pyrethrin เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า (Rajasekaran *et al.*, 1991)

ระดับของฟอสเฟต (Phosphate level)

ความเข้มข้นของฟอสเฟสในอาหารมีผลต่อการผลิตสารทุติยภูมิในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืช ฟอสเฟสระดับสูงพบว่าสามารถเพิ่มการเติบโตของเซลล์ แต่ทำให้การสะสมของสารทุติยภูมิลดลง Sasse *et al.* (1982) ยกตัวอย่างที่แสดงให้เห็นว่าอาหารซึ่งจำกัดฟอสเฟสไม่สามารถชักนำหรือกระตุ้นทั้งผลิตภัณฑ์ และระดับของเอนไซม์ที่สำคัญในการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการลดระดับของฟอสเฟสจะชักนำให้เกิดการสร้าง ajmalicine และ phenolic จาก *Cath. Roseus* การผลิต caffeoyl putrescines ของ *Nicotiana tabacum* และ harman alkaloid จาก *Peganum harmala* เช่นเดียวกับที่พบในการศึกษาการสร้าง betacyanins ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสของ *Beta vulgaris* (Bohm and Rink, 1988) ในทางตรงกันข้ามการเพิ่มฟอสเฟสสามารถกระตุ้นการสังเคราะห์ digitoxin จาก *Digitalis purpurea* และ betacyanin จาก *Chenopodium rubrum* และ *Phytolacca Americana* (Bohm and Rink, 1988)

สารควบคุมการเจริญเติบโต (Growth regulators)

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการผลิตสารทุติยภูมิ (DiCosmo and Tower, 1984) ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน (Auxin) หรือไซโตไคนิน (Cytokinin) หรืออัตราส่วนของ ออกซิน (Auxin) /ไซโตไคนิน (Cytokinin) มีบทบาทต่อทั้งการ

เติบโต และการสร้างผลิตภัณฑ์ในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืช (Mantell and Smith, 1984) สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) สามารถยับยั้งการสร้างสารทุติยภูมิได้ในหลายกรณี เช่น การกำจัด 2,4-D หรือ การเติม naphthalene acetic (NAA) หรือ indole acetic acid (IAA) แทน 2,4-D พบว่าสามารถเพิ่มการสร้าง anthocyanins ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Populus D. carota* , การสร้าง betacyanins ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Portulaca*, nicotine ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *N. tabacum*, shikonin ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *L. erythrorhizon* และ Anthraquinones จาก *M. citrifolia* (Rajendran *et al.*, 1992) อย่างไรก็ตามการกระตุ้นโดย 2,4-D ก็สามารถพบได้ในการสังเคราะห์ carotenoid จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสของ *D. carota* (Mok *et al.*, 1976) และในการสร้าง anthrocyanins ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสของ *Oxalis linearis* (Meyer and van Staden, 1995)

ไซโตไคนินให้ผลที่แตกต่างออกไปขึ้นอยู่ประเภทของสารสำคัญ และชนิดของพืช ดังเช่น ไคเนติน (kinetin) สามารถกระตุ้นการสร้าง anthrocyanins ใน *Haplopappus gracilus* แต่จะยับยั้งการสร้าง anthrocyanins ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Populus* เป็นต้น (Seitz and Hinderer, 1988) กรดจิบเบอรีลิน (Gibberellic acid) และ กรดแอบไซซิค (Abscisic acid) พบว่าสามารถส่งเสริมการสร้าง anthrocyanins ได้ในพืชบางชนิด (Bohm and Rink, 1988)

การเติมสารตั้งต้น (Precursor feeding)

การเติมสารตั้งต้นเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเพิ่มการสร้างสารทุติยภูมิในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืช โดยแนวคิดที่ว่าสารต่างๆซึ่งเป็นสารตัวกลาง หรือ สารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของผลิตภัณฑ์ ความพยายามที่จะชักนำ หรือเพิ่มการสร้างสารทุติยภูมิในพืชโดยการเติมสารตั้งต้น หรือสารตัวกลาง ซึ่งได้ผลในหลายกรณี เช่น การเติม phenylalanine เป็นสารตั้งต้นในการชักนำให้เพิ่มการสร้าง rosmarinic acid ในการเลี้ยงเซลล์ *Col. blumei* (Ibrahim, 1987) การเติม phenylalanine ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Salvia officinalis* กระตุ้นการสร้าง rosmarinic acid และลดเวลาในการสร้างให้เร็วขึ้น (Ellis and Towers, 1970) นอกจากนี้ phenylalanine ยังเป็นสารตั้งต้นของโซ่ข้าง N-benzoylphenylisoserine ของ Taxol , และการเติม phenylalanine ในการเพาะเลี้ยง *Taxus cuspidate* ส่งผลในการเพิ่มปริมาณของ Taxol (Fett-Neto *et al.*, 1970) การใช้สารตั้งต้นของ phenylalanine และสารตั้งต้นที่ใกล้เคียง เช่น isocapric acid มีผลในการเพิ่มปริมาณของ capsaicin ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Ca. frutescens* (Lindsey and Yeoman, 1985) การเติม ferulic acid ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ ของ *Vanilla planifolia* มีผลในการเพิ่มปริมาณ vanillin (Romagnoli and Knorr, 1988) เช่นเดียวกับ การสังเคราะห์

anthocyanin ในการเพาะเลี้ยงแครอทเพิ่มขึ้นโดยการเติม dihydroquarcetin (naringen) ยิ่งกว่านั้น การเติม leucine สามารถชักนำให้เพิ่มการสร้าง α- และ β-pinine ในการเพาะเลี้ยง *Perilla frutescens* (Mulder-Krieger *et al.*, 1988)

3. การจัดการสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม

สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง เช่น แสง อุณหภูมิ ค่า pH ของอาหาร และ ออกซิเจน มีผลในการผลิตสารทุติยภูมิในพืชหลายชนิด

อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิระหว่าง 17-25 °C ปกติใช้เพื่อชักนำแคลลัส และการเติบโตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตาม พืชแต่ละชนิดอาจมีอุณหภูมิที่เหมาะสมแตกต่างกันได้ Toivonen *et al.* (1992) พบว่าการลดอุณหภูมิในการเพาะจะช่วยเพิ่มปริมาณกรดไขมันโดยรวมต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์ เมื่อให้อุณหภูมิคงที่ที่ 19 °C พบว่าสามารถเปลี่ยน digitoxin เป็น digoxin ได้เพิ่มมากขึ้น, ในขณะที่อุณหภูมิ 32 °C ส่งเสริมการสร้าง purpureaglycoside A ใน การเพาะเลี้ยงเซลล์ *Digitalis lanata* (Kreis and Reinhard, 1992) Ikeda *et al.* (1977) พบว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเขือเทศสามารถสร้าง ubiquinone ได้ปริมาณสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 32 °C เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิ 24 °C และ 28 °C

การให้แสง (Illumination)

การสร้าง anthrocyanin ถูกกระตุ้นอย่างมากโดยแสงในการเพาะเลี้ยงเซลล์ของ *D. carota* และ *Vitis* hybrids (Seitz and Hinderer, 1988) การให้แสงพบว่ามีผลต่อการรวมตัวของ sesquiterpenes ในการเลี้ยงแคลลัสของ *Marticuria chamomilla* (Mulder-Krieger *et al.*, 1988)

ค่า pH ของอาหาร (Medium pH)

ค่า pH ของอาหารปกติจะปรับให้อยู่ระหว่าง 5 และ 6 ก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อ และ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน (Hydrogen ion) ในอาหารมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการพัฒนาของเซลล์ที่เพาะเลี้ยง ค่า pH ของอาหารจะลดลงระหว่างที่มีการสะสมของแอมโมเนีย และเพิ่มขึ้นระหว่างที่มีการนำไนเตรทเข้าสู่เซลล์ (McDonald and Jackman, 1989) การเพาะเลี้ยงเซลล์ที่สังเคราะห์แสงได้ของ *Cheno rubrum* แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของ pH ภายนอกจาก 4.5

เป็น 6.3 จะเพิ่มค่า pH ในไซโตรพลาสซึมขึ้น 3.0 หน่วย และเพิ่มค่า pH ในแวคิวโอขึ้นประมาณ 1.3 หน่วย (Husemann *et al.*, 1992)

การปั่น และการให้อากาศ (Agitation and aeration)

การปั่น และการให้อากาศมีความสำคัญมากกับการผลิตในปริมาณมาก Kreis and Reinhard (1989) อธิบายว่าผลของระดับออกซิเจนที่ละลาย 50% จะทำให้ได้ปริมาณอัลคาลอยด์ประมาณ 3 กรัม/ลิตร หลังจากที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 20 วันในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) การให้อากาศระดับสูง