ไคตินและไคโตแซน จาก *Aspergillus niger* ที่เลี้ยงในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย

นางสาว ฉัตรฤดี สุวรรณชาติ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-639-668-4

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 18283966

CHTIN AND CHITOSAN FROM *Aspergillus niger* CULTURED IN CASSAVA STARCH HYDROLYSATE

Miss Chatrudee Suwannachart

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Chulalongkorn University

Academic Year 1998

ISBN 974-639-668-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ไคตินและไคโตแซน จาก *Aspergillus niger* ที่เลี้ยงในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย
โดย	นางสาว ฉัตรฤดี สุวรรณชาติ
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อ. สุวลี จันทร์กระจ่าง)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ฉัตรฤดี สุวรรณชาติ : ไคติน และ ไคโตแซนจาก *Aspergillus niger* ที่เลี้ยงในแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สุมาลี พิชญางกูร , 115 หน้า ISBN 974-639-668-4.

สายพันธุ์ *Aspergillus niger* ที่ใช้ในการทดลองเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตกรดซิตริกในระดับอุตสาหกรรม พบว่า ภาวะที่เหมาะสมที่สร้างเส้นใย และ ให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบไปด้วย แป้งมันสำปะหลัง 8% ที่ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 150 หน่วย ภายในเวลา 30 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 9.7 มก./มล. แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5% สารสกัดจากยีสต์ 0.3% และ แมกนีเซียมซัลเฟต-เฮปตะไฮเดรต 0.01% ในอาหารเหลวปริมาตร 100 มล. โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.6 ที่อุณหภูมิห้อง เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน ด้วยภาวะดังกล่าว *A.niger* สามารถให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 18.372 มก./มล. และสกัดปริมาณไคตินได้ 13.842 มก./มล. คิดเป็น 75.34% ของน้ำหนักแห้ง

จากการเลี้ยง *A.niger* ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้สูตรอาหารและภาวะเดียวกันกับระดับขวดเขย่าโดยให้อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อ 1 ลิตรของอาหารต่อนาที ให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 9.13 มก./มล. ให้ปริมาณไคติน 5.64 มก./มล. คิดเป็น 61.77% ของน้ำหนักแห้ง ในระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 30 ชั่วโมง

การตรวจสอบรูปแบบกราฟของไคตินจากราโดยใช้เครื่องอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ไคตินที่สกัดได้จากรา *A.niger* แสดงอินฟราเรดสเปกตรัมเหมือนกันและให้ตำแหน่งหมู่ฟังก์ชันนัลที่สำคัญคล้ายกับอินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินที่ได้จากเปลือกกุ้ง โดยมีพีกของ N-H ที่เลขคลื่น 1550 cm^{-1} และ พีกของ C = O ที่เลขคลื่น 1650 cm^{-1} และ พีกของ CH_3C =O ที่เลขคลื่น 2970-2940 cm^{-1} และ พีกของ C =O และ (N-H) interaction ที่เลขคลื่น 3255-3100 cm^{-1} และได้คำนวณค่า Degree of Acetylation (%D.A.) ของไคตินจากรากับไคตินจากกุ้ง มีค่าเท่ากับ 83.59% และ 98.25% ตามลำดับ

ไคตินสามารถเปลี่ยนเป็นไคโตแซนโดยวิธีทางเคมี ไคโตแซนที่สกัดได้จากราให้อินฟราเรดสเปกตรัมที่ตำแหน่งหมู่ฟังก์ชันนัลที่สำคัญคล้ายกับไคโตแซนจากเปลือกกุ้ง โดยพบว่า Absorption band ของ C =O ของไคตินมีความเข้มลดลง แต่จะพบ Absorption band ของ primary amine ที่เลขคลื่น 1650-1590 cm^{-1} เพิ่มขึ้น คำนวณค่า Degree of Deacetylation (%D.D.) ของไคโตแซนจากรา และ ไคโตแซนจากเปลือกกุ้ง มีค่าเท่ากับ 68.24% และ 72.21% ตามลำดับ

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ฉัตรฤดี สุวรรณชาติ

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2541 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C 826478 : MAJOR INDUSTRAIL MICROBIOLOGY
KEY WORD: *Aspergillus niger* / CHITIN / CHITOSAN / CASSAVA STARCH HYDROLYSATE

CHATRUDEE SUWANNACHART : CHITIN AND CHITOSAN FROM *Aspergillus niger* CULTURED IN CASSAVA STARCH HYDROLYSATE.THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUMALEE PICHYANGKURA, Ph.D. 115 pp. ISBN 974-639-668-4.

Aspergillus niger strain used in this experiment was introduced from citric acid production factory. The optimal conditions for the cultivation were studied. It was found that the medium, which provided the highest biomass was composed of 8% Cassava starch which hydrolyzed by 150 unit of α-amylase within 30 minutes which produced 9.7 mg/ml of reducing sugar, 0.4% $(NH_4)_2SO_4$, 0.5% KH_2PO_4 , 0.3% yeast extract , 0.01% $MgSO_4.7H_2O$ and 100 ml of H_2O. Optimal conditions of cultivation were at pH 5.6 , room temperature and 200 rpm on rotary shaker. Under these conditions *A.niger* produced 18.372 mg/ml of biomass and 13.842 mg/ml of chitin (75.34% of biomass) within 4 days of cultivation.

The cultivation of *A.niger* in 5 L jar fermenter was also observed by using the same conditions as shaking flask culture with agitation rate 200 rpm and aeration rate 1 vvm. It was found that *A.niger* produced 9.13 mg/ml of biomass and 5.64 mg/ml of chitin (61.77% of biomass) within 30 hrs of cultivation.

Investigation of the infrared spectrum (IR-spectrum) of fungal chitin was isolated from *A.niger* gave important functional group similar to chitin from shrimp shell at peak of N-H at 1550 cm^{-1} , peak of C =O at 1650 cm^{-1} , peak of CH_3C =O at 2970-2940 cm^{-1} and peak of C =O และ (N-H) interaction at 3255-3100 cm^{-1} and Degree of Acetylation (%D.A.) of chitin from *A.niger* and chitin from shrimp shell evaluated from absorbance of IR-spectrum were 83.59% and 98.25% , respectively.

IR-spectrum of chitosan from *A.niger* showed an important functional group similar to chitosan from shrimp shell at low transmittance at C =O of chitin but found that the absorption band of primary amine at 1650-1590 cm^{-1} was increased and Degree of Deacetylation (% D.D.) of chitosan from *A.niger* and chitosan from shrimp shell as calculated were 69.24% and 72.21% , respectively.

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ฉัตรฤดี สุวรรณชาติ

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2541 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือและความกรุณาอย่างยิ่งของท่านรองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนให้ความดูแลเอาใจใส่ ให้ความรัก และ ความช่วยเหลือทุก ๆ ด้านต่อข้าพเจ้าเป็นอย่างยิ่ง รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ข้าพเจ้าจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และ ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ อ.สุวลี จันทร์กระจ่าง ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบ และให้ความรู้ในเรื่องไคตินและไคโตแซน รวมทั้งขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และช่วยแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่ได้ให้ความรู้และการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษาในครั้งนี้

ขอขอบคุณ บริษัท อายิโนะโมโตะ จำกัด ที่กรุณาให้เอนไซม์เพื่อนำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT) ที่ให้ความร่วมมือในการวิจัยตลอดจนแลกเปลี่ยนความรู้และความคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย และให้ความรู้เกี่ยวกับการใช้เครื่องมือในการวิจัย

ขอขอบคุณ คุณอรอนงค์ พริ้งศุลกะ คุณสุกัลยา ทาโบราณ คุณจารุรัตน์ เอี่ยมศิริ คุณอดิศักดิ์ หิรัญรัตนากร ที่ช่วยเหลือในทุกๆด้าน และ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ นิสิตปริญญาโทภาควิชาจุลชีววิทยาตลอดจนเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาทุกท่านที่ช่วยให้การวิจัยดำเนินไปได้ด้วยดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ชาย และ น้องสาว รวมทั้งบุคคลในครอบครัวสุวรรณชาติ ที่รักยิ่งของข้าพเจ้า ซึ่งได้ให้กำลังใจ ช่วยเหลือและสนับสนุนทุก ๆ ด้านต่อข้าพเจ้าจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ญ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย	22
3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย	37
4. สรุปและข้อเสนอแนะในการวิจัย	90
รายการอ้างอิง	94
ภาคผนวก	98
ประวัติผู้เขียน	115

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ให้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	5
2. ปริมาณไคตินที่พบในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ	10
4. ปริมาณเปอร์เซนต์แป้งที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 150 หน่วย ในระยะเวลา 30 นาที	39
16. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของ *Aspergillus niger* เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรปรับปรุงโดยใช้อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร	77
3. เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งที่ใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นในรูปของสปอร์กับกล้าเชื้อในรูปของกลุ่มสายใย (pellet)	105
5. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวที่ใช้ปริมาณแป้ง 2 เปอร์เซนต์เป็นแหล่งคาร์บอน	105
6. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวที่ใช้ปริมาณแป้ง 4 เปอร์เซนต์เป็นแหล่งคาร์บอน	106
7. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวที่ใช้ปริมาณแป้ง 6 เปอร์เซนต์เป็นแหล่งคาร์บอน	106
8. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลวที่ใช้ปริมาณแป้ง 8 เปอร์เซนต์เป็นแหล่งคาร์บอน	107
9. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างชนิดกัน	108

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

10. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน..... 109

11. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณสารสกัดจากยีสต์ต่างกัน..... 110

12. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต-เฮปตะไฮเดรตต่างกัน.. 111

13. น้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นแตกต่างกัน..... 113

14. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณไคติน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเลี้ยง *Aspergillus niger* ในอาหารเหลวสูตรปรับปรุงเป็นระยะเวลา 7 วัน 113

15. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าแตกต่างกัน... 114

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. ระยะในการเกิดเจลาติไนเซชัน.....	2
2. อัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 (1) แป้งข้าวโพด (2) แป้งสาลี (3) แป้งมันฝรั่ง (4) แป้งมันเทศ (5) แป้ง arrow root (6) แป้งมันสำปะหลัง (7) แป้ง waxy corn	3
3. การย่อยสลายภายในโมเลกุลของแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส.....	4
4. สูตรโครงสร้างของไดดินเปรียบเทียบกับสูตรโครงสร้างของเซลลูโลส..	8
5 ขั้นตอนการสกัดไดดินออกจากเซลล์ราอบแห้ง.....	34
6 ขั้นตอนการกำจัดหมู่อะซิติลออกจากไดดินของรา.....	35
7 น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้รูปแบบกล้าเชื้อเริ่มต้นแตกต่างกัน.....	37
8. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณแป้ง 2 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งคาร์บอน...	41
9. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดที่เกิดขึ้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณแป้ง 4 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งคาร์บอน...	42
10. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณแป้ง 6 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งคาร์บอน...	43
11. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกรดที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณแป้ง 8 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งคาร์บอน...	44
12. กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่มี เปอร์เซนต์ของแป้งมันสำปะหลังแตกต่างกัน.....	45
13.อินฟราเรดสเปกตรัมของไดดินจากราที่เลี้ยงในอาหารที่มี แป้งมันสำปะหลัง 2 %.....	47
14. อินฟราเรดสเปกตรัมของไดดินที่สกัดจากเซลล์ราที่เลี้ยงใน แป้งมันสำปะหลัง 2% เปรียบเทียบกับ แป้งมันสำปะหลัง 8%.....	48

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

15. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินที่ได้จากเซลล์ราที่เลี้ยงในอาหารที่มีแป้ง 2 เปอร์เซนต์ เปรียบเทียบกับไคตินที่ได้จากกุ้ง..... 49

16. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อเลี้ยง *Aspergillus niger* โดยแปรผันแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิด..... 50

17. ปริมาณกรด เมื่อเลี้ยง *Aspergillus niger* โดยแปรผันแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิด..... 51

18. ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเลี้ยง *Aspergillus niger* โดยแปรผันแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิด..... 51

19. น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยง *Aspergillus niger* โดยแปรผันแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิด..... 52

20. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์เปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของเปลือกกุ้ง..... 54

21. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมซัลเฟตเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของเปลือกกุ้ง..... 55

22. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมไนเตรตเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของเปลือกกุ้ง..... 56

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

23. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นโซเดียมไนเตรตเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของเปลือกกุ้ง..... 57

24. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อใช้ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 0.1 , 0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 %..... 59

25. ปริมาณกรดที่เกิดขึ้นเมื่อใช้ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 0.1 ,0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 %..... 59

26. ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 0.1 , 0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 %..... 60

27. น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 0.1 ,0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 %..... 60

28. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อใช้ปริมาณสารสกัดจากยีสต์เป็น 0.1 ,0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 62

29. กราฟแสดงปริมาณกรดที่เกิดขึ้น เมื่อใช้ปริมาณสารสกัดจากยีสเป็น 0.1 , 0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 %..... 62

30. ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้ปริมาณสารสกัดจากยีสต์เป็น 0.1 ,0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 %..... 63

31. น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้ปริมาณสารสกัดจากยีสต์เป็น 0.1 , 0.2 , 0.3 , 0.4 และ 0.5%..... 64

32. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินจากเซลล์ราที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณสารสกัดจากยีสต์ 0.1 % เปรียบเทียบกับไคตินจากเปลือกกุ้ง..... 65

33. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต-เฮปตะไฮเดรตจาก 0.05% ถึง 0.035%..... 67

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

34. ปริมาณกรด เมื่อใช้ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต-เฮปตะไฮเดรต จาก 0.05% ถึง 0.035%..... 67

35. ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อใช้แมกนีเซียมซัลเฟต-เฮปตะไฮเดรต จาก 0.05% ถึง 0.035%..... 68

36. น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต-เฮปตะไฮเดรต จาก 0.05% ถึง 0.035%..... 68

37. เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้ปริมาณสปอร์เริ่มต้นต่างกัน..... 70

38. ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Aspergillus niger* ในสูตรอาหารปรับปรุงแล้ว..... 72

39. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อความเร็วรอบของเครื่องเขย่าเป็น 150 รอบต่อนาที 74

40. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อความเร็วรอบของเครื่องเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที 74

41. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อความเร็วรอบของเครื่องเขย่าเป็น 250 รอบต่อนาที 75

42. เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าเป็น 150 , 200 และ 250 รอบต่อนาที..... 75

43. น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณไคติน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเลี้ยง *Aspergillus niger* ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีอัตราการกวน 200รอบต่อนาที..... 78

44. สายใยรา *Aspergillus niger* ที่เลี้ยงในอาหารสูตรปรับปรุงเป็นเวลา 4 วัน อบแห้งที่ 50 $^{\circ}$C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง..... 79

45. เปรียบเทียบระหว่างไคตินจากกุ้ง (Unicord Co.Ltd.) กับไคตินที่สกัดได้จากเซลล์รา *Aspergillus niger*..... 80

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

46.อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินที่สกัดได้จากสายใยรา *Aspergillus niger*..... 81

47. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินจากเปลือกกุ้ง(Unicord Co.Ltd.) 82

48. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินจากเปลือกกุ้ง(Unicord Co.Ltd.) เปรียบเทียบกับไคตินที่สกัดได้จากเซลล์รา *Aspergillus niger*..... 82

49.ค่าการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของไคตินจากรา *Aspergillus niger* และคำนวณค่า %D.A..... 84

50.ค่าการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของไคตินจากกุ้ง (Unicord Co.Ltd.) และคำนวณค่า %D.A..... 85

51. ไคโตแซนจากกุ้ง (Sigma,U.S.A.) กับไคโตแซนที่ได้จากเซลล์รา *Aspergillus niger*..... 86

52. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคโตแซนจากรา *Aspergillus niger*..... 87

53. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคโตแซนจากกุ้ง (Sigma,U.S.A.)..... 87

54. อินฟราเรดสเปกตรัมของไคโตแซนจากกุ้ง (Sigma,U.S.A.) เปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของไคโตแซนจากรา *Aspergillus niger*... 88

55. กราฟมาตรฐานการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดีเอ็นเอสเอ..... 102