บทที่ 4

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อที่จะหาภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้เซลล์สายใย ที่เป็นองค์ประกอบของไคตินจากราสายพันธุ์ *Aspergillus niger* ที่ใช้อยู่ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตกรดซิตริก โดยการปรับปรุงสูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสูตรควบคุมและสภาวะในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ทำการบันทึกผลของการทดลองโดยมุ่งหวังให้สอดคล้องกับการหมักกรดซิตริกในโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อการผลิตกรดซิตริกโดยใช้แป้งมันสำปะหลัง และสายใยของราที่จะเกิดขึ้นอยู่ในส่วนที่เหลือทิ้ง ที่เรียกว่า ของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม (industrial waste)ประโยชน์จากงานวิจัยนี้เพื่อนำไปสู่การนำของเหลือทิ้งที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตกรดซิตริกนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์โดยนำมาสกัดให้เป็นไคตินโดยถือว่าไคตินเป็นไบโอพอลีเมอร์ (biopolymer) ตัวใหม่ที่เกิดอยู่ในธรรมชาติออกมาใช้ให้เกิดประโยชน์นั่นเอง หลังจากสกัดกรดซิตริกออกไปแล้วโดยได้ผลการทดลองดังนี้

1. จากการเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยง *Aspergillus niger* พบว่าใช้กล้าเชื้อในรูปของสปอร์ได้น้ำหนักแห้งสูงกว่าใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นในรูปของกลุ่มสายใยให้น้ำหนักแห้ง การใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นในรูปของสปอร์จึงดีกว่าการใช้กลุ่มสายใยในรูปของเพลเลต

2. ปริมาณเปอร์เซนต์แป้งมันสำปะหลังสูงสุดที่สามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 150 หน่วย ภายในเวลา 30 นาที คือ ปริมาณแป้ง 8 % ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 9.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่จะใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า แป้งมันสำปะหลัง 8% ให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด เท่ากับ 23.010 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถสรุปได้ว่าปริมาณแป้งที่ 8 % นั้นเป็นแหล่งคาร์บอนที่สามารถเตรียมได้ในสภาวะที่ใช้เอนไซม์และใช้ในการเลี้ยง *Aspergillus niger*

3. สูตรอาหารใหม่ที่เหมาะสมในการเลี้ยงรา *Aspergillus niger* โดยมีส่วนประกอบดังต่อไปนี้ คือ แป้งมันสำปะหลัง 8 % ที่ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 150 หน่วย ภายในระยะเวลา 30 นาที แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4 % โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5 % สารสกัดจากยีสต์ 0.3 % และแมกนีเซียมซัลเฟต-เฮปตะไฮเดรด 0.01 % ได้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นในรูปสปอร์ $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร และ ความเร็วรอบของเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

4. สภาวะที่ใช้สกัดไคตินจากเซลล์สายใย ได้กระบวนการ คือ การกำจัดโปรตีนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ และ ล้างสีและไขมัน ด้วยเอทานอลและไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์ 3% อบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยได้น้ำหนักของไคตินจากการสกัดมีค่าเท่ากับ 13.679 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 4 วัน ในระดับขวดเขย่า

5. การทดสอบด้วยวิธีการใช้แสงอินฟราเรด ไคตินที่สกัดได้จากสายใยราอบแห้งที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 2% มาทำการทดสอบด้วยวิธีอินฟราเรด เปรียบเทียบกับ อินฟราเรดสเปกตรัมของไคตินจากเปลือกกุ้งซึ่งจากการทดลอง พบว่า ปริมาณของแป้งมันสำปะหลังไม่มีผลต่อหมู่ฟังก์ชันนัลที่สำคัญของไคตินที่ absorption band ของ N-H bending ที่เลขคลื่น 1550 cm^{-1} , absorption band ของหมู่คาร์บอนิล (C=O) ที่เลขคลื่น 1650-1625 cm^{-1} และ absorption band ของ (C=O) กับ amide (-NH) interaction acetamido group ที่เลขคลื่น 3255-3100 cm^{-1} และ absorption band ของ acetamido methyl group (CH_3C=O) ที่เลขคลื่น 2970-2940 cm^{-1}

6. ไคตินที่สกัดได้จากเซลล์ราที่มีแหล่งของไนโตรเจนในอาหารที่แตกต่างกัน 4 ชนิด คือ แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์และโซเดียมไนเตรต เมื่อทำการทดสอบด้วยแสงอินฟราเรด พบว่า แหล่งของไนโตรเจนที่แตกต่างกันไม่มีผลกับหมู่ฟังก์ชันนัลที่สำคัญของไคติน แต่จะมี absorption band ของน้ำตาลกลุ่มต่างๆ ที่เลขคลื่น 1425 cm^{-1} 1390 cm^{-1} 1310 cm^{-1} 1100-1050 cm^{-1} บางเลขคลื่นไม่ตรงกันกับไคตินจากเปลือกกุ้ง แต่ก็ให้ค่าใกล้เคียง ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากหมู่

ต้นฉบับ หน้าขาดหาย

ค่า Degree of Deacetylation (% D.D.) ของไคโตแซนที่ได้จากรา โดยการคำนวณ มีค่าเท่ากับ 68.24 % และได้ค่า % D.D.ไคโตแซนจากกุ้ง เท่ากับ 72.21 %

ข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยที่ทำมานี้นับได้ว่าเป็นจุดเริ่มต้นในการศึกษาเกี่ยวกับไคตินที่พบในเซลล์รา *Aspergillus niger* เนื่องจากเอกสารอ้างอิงในการทดลองเกี่ยวกับไคตินที่ได้จากรานั้นน้อยมากควรจะมีการศึกษาถึงไคตินที่ได้จากของเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตกรดซิตริกอย่างจริงจัง อีกทั้งควรมีการศึกษาการแยกไคตินกับไคโตแซนจากของเหลือทิ้งจาก โรงงานผลิตกรดซิตริกโดยวิธีทางเคมี กับการเปลี่ยนแปลงไคตินเป็นไคโตแซนของราโดยใช้วิธีทางชีวภาพ ด้วยการใช้เอนไซม์ แทนการใช้วิธีทางเคมี และควรจะมีการนำไคตินและไคโตแซนที่สกัดได้จากเซลล์รา ไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆเหมือนของกุ้ง เช่น การบำบัดน้ำเสีย ตกตะกอนโลหะหนักในโรงงานอุตสาหกรรม ฯลฯ