

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ตอนที่ 1 การศึกษาการผลิตโคโคซานจากเชื้อรา *Mucor rouxii* โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

1. การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Mucor rouxii* ในอาหาร BG medium และ PDB ที่มีแหล่งคาร์บอนความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. rouxii* ในอาหาร BG medium และ PDB สูตรดัดแปลงแหล่งคาร์บอนเป็นแป้งข้าวเจ้า ที่มีความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองพบว่า อาหาร BG medium ที่มีแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการผลิตโคโคซานได้สูงที่สุดในวันที่ 3 และให้ปริมาณโคโคซาน 44.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. rouxii* ในอาหาร PDB ให้ปริมาณโคโคซาน 31.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Mucor rouxii* ในอาหาร BG medium และ PDB ที่มีแหล่งคาร์บอนความเข้มข้นแตกต่างกัน

วันที่	ปริมาณโคโคซาน (mg/ml)									
	1 เปอร์เซ็นต์		2 เปอร์เซ็นต์		3 เปอร์เซ็นต์		4 เปอร์เซ็นต์		5 เปอร์เซ็นต์	
	BG	PDB	BG	PDB	BG	PDB	BG	PDB	BG	PDB
1	7.16	9.08	15.53	16.51	14.25	15.62	13.76	12.48	11.48	11.46
2	12.53	11.64	26.43	23.80	25.68	21.82	25.04	20.40	23.47	20.12
3	24.58	20.37	44.36	31.67	42.60	28.56	40.65	25.79	40.06	24.95
4	16.92	12.23	34.06	29.14	30.79	26.66	29.60	24.35	28.72	24.08
5	13.48	6.85	28.05	22.91	27.83	20.74	27.22	20.32	27.05	19.84

2. การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG medium และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ในขวดรูปชมพู่

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. rouxii* ในอาหาร BG medium และ PDB สูตรดัดแปลงแหล่งคาร์บอนเป็นแป้งข้าวเจ้า ที่มีความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองอาหาร BG medium ที่มีแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการผลิตไคโตซานได้ สูงที่สุดในวันที่ 3 พบว่า ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. rouxii* ในอาหาร BG ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 179.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณไคโตซาน 44.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดไคโตซานที่ได้มีค่า pH เท่ากับ 6.5 และค่าน้ำตาลรีดิวซ์ 749.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. rouxii* ในอาหาร PDB ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 135.40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณไคโตซาน 31.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดไคโตซานที่ได้มีค่า pH เท่ากับ 6.5 และค่าน้ำตาลรีดิวซ์ 3,978.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG medium และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ในขวดรูปชมพู่

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/ml)		ปริมาณไคโตซาน (mg/ml)		pH		น้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)	
	BG	PDB	BG	PDB	BG	PDB	BG	PDB
1	317.70	117.80	15.53	16.51	5	5	194.10	514.30
2	117.10	819.00	26.43	23.80	4	4.5	215.70	638.00
3	179.20	135.40	44.36	31.67	6.5	6.5	749.30	978.10
4	151.50	564.00	34.06	29.14	7	7.5	1,021.10	1,147.10
5	146.30	773.00	28.05	22.91	7	7	1,228.10	1,368.50

ตอนที่ 2 การศึกษาการขยายขนาดการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Mucor rouxii* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

1. การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG medium และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

เมื่อนำเซลล์เชื้อรา *M. rouxii* ไปเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 2 ลิตร เพื่อขยายขนาดเซลล์ในการเพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.0 วีวีเอ็ม และใช้

อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที พบว่า อาหาร BG medium ให้ผลการผลิตไคโตซานได้ สูงที่สุดในวันที่ 3 ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 286.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณไคโตซาน 137.73 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดไคโตซานที่ได้มีค่า pH เท่ากับ 6 และค่าน้ำตาลรีดิวซ์ 14,480.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนผลการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *M. rouxii* ในอาหาร PDB ให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 743.60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณไคโตซาน 106.69 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดไคโตซานที่ได้มีค่า pH เท่ากับ 6.5 และค่าน้ำตาลรีดิวซ์ 12,676.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.3

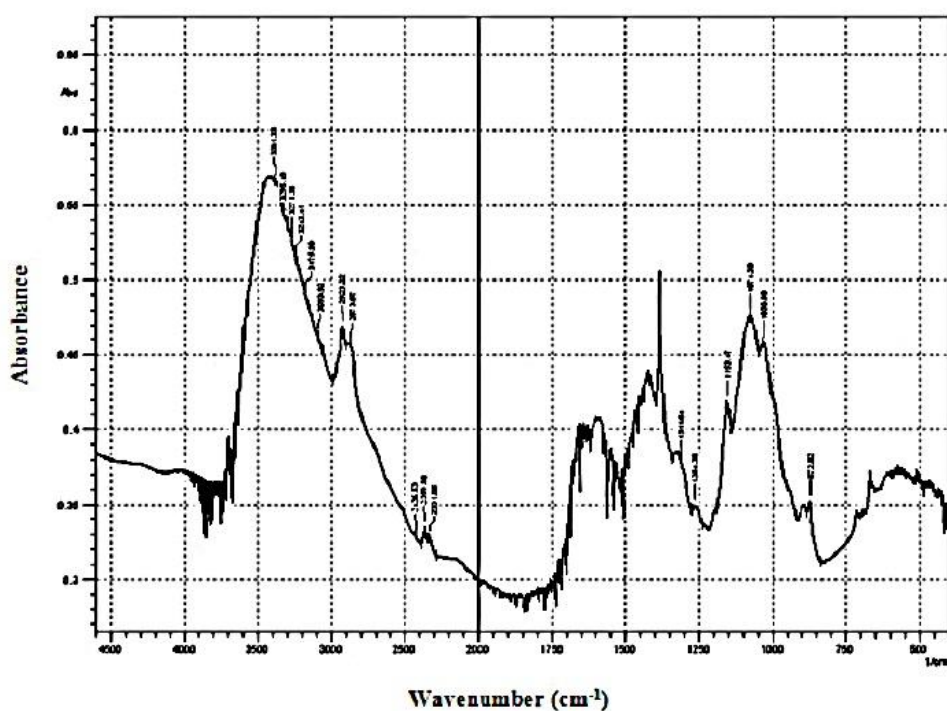
ตารางที่ 4.3 การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG medium และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

วันที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/ml)		ปริมาณไคโตซาน (mg/ml)		pH		น้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)	
	BG	PDB	BG	PDB	BG	PDB	BG	PDB
1	317.70	746.70	94.11	76.90	5	5	4,140.00	5,760.70
2	186.00	461.60	96.99	89.82	4.8	4.8	8,280.30	8,876.10
3	286.10	743.60	137.73	106.69	6	6	14,480.10	12,676.00
4	459.30	761.60	89.43	93.14	7.5	7.5	15,570.10	16,450.30
5	442.80	896.50	85.52	79.87	7.8	7	17,960.40	14,507.30

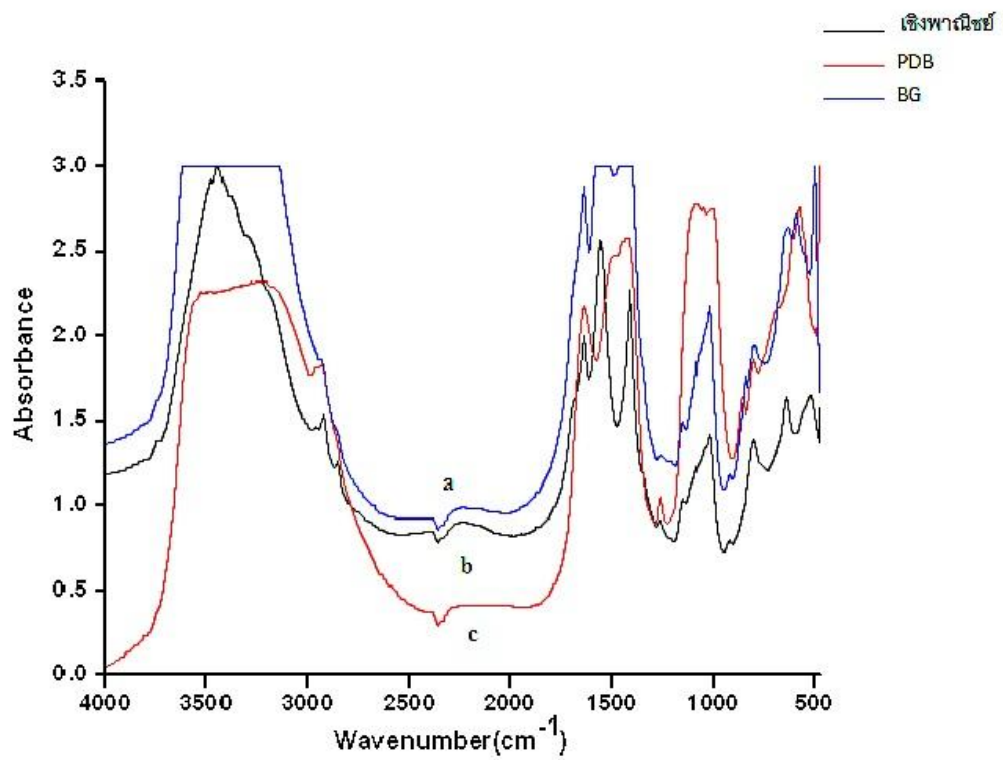
2. การศึกษาคุณสมบัติของสารละลายไคโตซานที่สกัดได้ จากเชื้อรา *Mucor rouxii* ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

จากการศึกษาการผลิตไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG medium และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่เติมแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการผลิตไคโตซานได้สูงที่สุดในวันที่ 3 การศึกษานี้ ได้นำตัวอย่างสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* มาวิเคราะห์และเปรียบเทียบโดยเครื่อง FTIR analysis กับไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) เพื่อดูความเหมือนหรือความแตกต่างระหว่างสารประกอบของไคโตซานที่สกัดได้กับไคโตซานมาตรฐาน(เชิงพาณิชย์) จากผล absorbance ของสาร พบว่า สารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* ที่ได้มี functional group ใกล้เคียงกับไคโตซานมาตรฐาน(เชิงพาณิชย์) โดยมีหมู่สำคัญเหมือนกัน เช่น C=O stretching ของหมู่ amide ที่ประมาณ $1400-1650\text{ cm}^{-1}$ และหมู่ NH stretching ที่ประมาณ $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ และหมู่ OH stretching ที่ประมาณ $1080-2885\text{ cm}^{-1}$ ดังภาพที่ 4.2

เมื่อพิจารณาพื้นที่ระหว่าง C=O stretching ที่ประมาณ $1030-1070\text{ cm}^{-1}$ หมู่ amide ที่ประมาณ $1400-1650\text{ cm}^{-1}$ สามารถบอกถึงความเป็นไคตินและไคโตซานของสารว่ามีมากน้อยเพียงใด จากภาพที่ 4.1 ซึ่งเป็นค่า absorbance ของไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) พบว่า พื้นที่ของหมู่ C=O stretching มีพื้นที่น้อยกว่า amide แสดงว่าสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* มีหมู่ acetyl อยู่่น้อย จึงมีสารประกอบของไคโตซาน ที่สูงกว่าไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์)



ภาพที่ 4.1 FT-IR spectrum ของไคโตซานเชิงพาณิชย์จากเปลือกหอยเปลือกปู
ที่มา : World Journal of Science and Technology/www.worldjournalofscience.com/
2013/1(4):43-48



ภาพที่ 4.2 FTIR spectrum ของไคโตซานจากเชื้อรา *Mucor rouxii*

- (a) *M. rouxii* เติบโตบนอาหาร BG (b) ไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์)
 (c) *M. rouxii* เติบโตบนอาหาร PDB

ตอนที่ 3 การศึกษาผลของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *Mucor rouxii* และไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคลำไย

1. ประสิทธิภาพของ ไคโตซาน ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. จากลำไย

ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. จากลำไย ของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* และไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 1.5, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* ทุกระดับความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. จากลำไย ได้สูงกว่าไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา สูงกว่า ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพของไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. จากลำไย

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ไคโตซานจากเชื้อรา <i>M. rouxii</i>		ไคโตซานเชิงพาณิชย์	
	การเจริญของเส้นใย (mm)	% การยับยั้ง	การเจริญของเส้นใย (mm)	% การยับยั้ง
1	47.39 ± 0.41	36.55	48.66 ± 0.34	14.43
1.5	43.54 ± 0.38	46.42	46.01 ± 0.22	23.52
2	39.31 ± 0.63	56.35	43.52 ± 0.37	31.58
2.5	37.44 ± 0.44	60.38	39.34 ± 0.39	44.09

2. ประสิทธิภาพของ ไคโตซานต่อ การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* จากลำไย

ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* จากลำไย ของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* และไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 1.5, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* ทุกระดับความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus niger* จากลำไย

ได้สูงกว่าไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราสูงกว่า ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพของไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus niger* จากลำไย

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ไคโตซานจากเชื้อรา <i>M. rouxii</i>		ไคโตซานเชิงพาณิชย์	
	การเจริญของเส้นใย (mm)	% การยับยั้ง	การเจริญของเส้นใย (mm)	% การยับยั้ง
1	48.72 $\pm$ 0.21	36.01	48.31 $\pm$ 0.30	20.88
1.5	45.54 $\pm$ 0.34	44.09	46.34 $\pm$ 0.41	27.20
2	43.02 $\pm$ 0.27	50.10	43.20 $\pm$ 0.69	36.73
2.5	40.23 $\pm$ 0.45	56.37	40.70 $\pm$ 0.40	43.84

3. ประสิทธิภาพของไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* จากลำไย

ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* จากลำไย ของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* และไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 1.5, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* ทุกระดับความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus flavus* จากลำไยได้ต่ำกว่าไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราต่ำกว่า ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ประสิทธิภาพของไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus flavus* จากลำไย

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ไคโตซานจากเชื้อรา <i>M. rouxii</i>		ไคโตซานเชิงพาณิชย์	
	การเจริญของเส้นใย (mm)	% การยับยั้ง	การเจริญของเส้นใย (mm)	% การยับยั้ง
1	45.43±0.37	24.16	27.71±0.21	28.24
1.5	43.48±0.40	30.52	25.46±0.25	39.02
2	40.39±0.29	40.04	23.35±0.35	49.05
2.5	37.18±0.25	48.26	23.01±0.72	50.52

4. ประสิทธิภาพของไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. จากลำไย

ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. จากลำไยของสารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* และไคโตซานมาตรฐาน (เชิงพาณิชย์) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 1.5, 2 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัดไคโตซานจากเชื้อรา *M. rouxii* ทุกระดับความเข้มข้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Penicillium* sp. จากลำไย ได้ต่ำกว่าไคโตซานมาตรฐาน(เชิงพาณิชย์) โดยให้ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราต่ำดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ประสิทธิภาพของไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Penicillium* sp. จากลำไย

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ไคโตซานจากเชื้อรา <i>M. rouxii</i>		ไคโตซานเชิงพาณิชย์	
	การเจริญของเส้นใย (mm)	% การยับยั้ง	การเจริญของเส้นใย (mm)	% การยับยั้ง
1	48.89±0.69	30.92	25.32±0.28	39.97
1.5	45.80±0.37	39.38	23.36±0.47	43.11
2	43.07±0.67	43.39	22.85±0.73	45.57
2.5	40.05±0.67	53.49	20.55±0.31	56.10