

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากจำนวนเชื้อราที่แยกได้จากดิน บริเวณชายหาด บริเวณน้ำพุร้อน หาดแห่งป็นเบื่อนเชื้อรา และจากแหล่งต่างๆ พบว่ามีคุณสมบัติเป็น thermotolerant ทั้งหมด 70 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่ อุณหภูมิช่วง 20-45 °C เมื่อนำมาผลิตไคตินเอสในอาหารเหลว EPM ร่วมกับเชื้อ *Lactobacillus* sp. PJ15 พบว่า มี CK10, CK56, A4, SP4, SP5, SP6, SP7 และ SP9 ทั้งหมด 8 ไอโซเลทที่ให้ค่า การทำงานของไคตินเอสสูงสุดช่วง 85.86-171.57 mU/ml และนำทั้ง 8 ไอโซเลทมาทดสอบการผลิต ไคตินเอสโดยเฉพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งบดเปรียบเทียบกับอาหารแข็งกระดองปูบด พบว่าเชื้อรา ไอโซเลท SP6 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งบดบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 7 วันมีค่า chitinase activity สูงสุด 10.31 mU/gIDS และ specific activity 5.00 mU/mg protein จึงคัดเลือก เชื้อราไอโซเลท SP6 มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งบดที่มีการเติมข้าวโพดหมักมาเชื้อหรือ ไม่มาเชื้อ หรือ กรดแลคติก หรือ *Lactobacillus* sp. PJ15 ผสมเข้าไปในระบบ มี 4 ชุดการทดลองให้ ค่า chitinase activity สูงช่วง 1.35-14.14 mU/ml crude extract คือ เชื้อราเพาะเลี้ยงในเปลือกกุ้งบด, เชื้อราเพาะเลี้ยงในเปลือกกุ้งบดผสม *Lactobacillus* sp. PJ15, เชื้อราเพาะเลี้ยงในเปลือกกุ้งบดผสม กรดแลคติก และเชื้อราเพาะเลี้ยงในเปลือกกุ้งบดผสมข้าวโพดหมักมาเชื้อ เลือกทั้ง 4 ชุดการทดลอง นำมาทดลองเปรียบเทียบการผลิตไคตินเอสโดยใช้เปลือกกุ้งบดเปรียบเทียบกับเปลือกกุ้งสกัดพบว่า เชื้อราไอโซเลท SP6 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งสกัดผสมข้าวโพดหมักให้ค่า chitinase activity สูงสุด 26.33 mU/ml และ specific activity 2.20 mU/mg protein หลังจากนั้นจึงนำ เชื้อราไอโซเลท SP6 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไคตินเอส

การศึกษหาสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อราไอโซเลท SP6 โดยทำการเปรียบเทียบการใช้วัสดุ เหลือทิ้งทางการเกษตรต่างๆ ผสมในระบบหมักแทนข้าวโพดหมัก พบว่าฟางข้าวให้ค่า chitinase activity สูงสุด 10.88 mU/gIDS และ specific activity 14.36 mU/mg protein จึงใช้เปลือกกุ้งสกัด ผสมฟางข้าวเป็นสับสเตรทในการผลิตไคตินเอสต่อ และเมื่อผสมอัตราส่วนของสับสเตรทระหว่าง เปลือกกุ้งสกัดต่อฟางข้าว 2 g : 2 g ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 7 วัน ใช้ เชื้อตั้งต้นในรูป mycelium และ spore suspension (1.02×10^8 spores/ml) ปริมาตร 3 ml มีค่า chitinase activity สูงสุด 9.95 mU/gIDS และ specific activity 20.41 mU/mg protein และเมื่อเปรียบเทียบการหมักในอาหารแข็งเปลือกกุ้งสกัดผสมฟางข้าวกับอาหารแข็งเปลือกกุ้งสกัด

ผสมฟางข้าวที่มีการเติมอาหารพื้นฐาน พบว่า การหมักในอาหารแข็งเปลือกกุ้งสกัดผสมฟางข้าวที่ไม่เติมอาหารพื้นฐานให้ค่า chitinase activity สูงสุด 19.40 mU/gIDS และ specific activity 36.96 mU/mg protein

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของ crude enzyme ไคตินเอสจากเชื้อราไอโซเลท SP6 พบว่า ผลของเวลาที่ใช้บ่มเอนไซม์กับสับสเตรทที่เหมาะสมคือ 40 นาที ที่อุณหภูมิ 45°C มี pH ที่เหมาะสม 7.0 ให้ค่า chitinase activity สูงสุด 222.68 mU/ml และ specific activity 353.46 mU/mg protein

การศึกษาลักษณะและการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อราไอโซเลท SP6 พบว่าเป็นเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus fumigatus* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 20-45°C มีคุณสมบัติเป็น thermotolerant fungi