

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญภาพประกอบ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	14
บทที่ 4 ผลการวิจัย	27
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	50
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	54
เอกสารอ้างอิง	56
ภาคผนวก	59
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีเตรียม	61
ภาคผนวก ข การเตรียมสับสเตรท	68
ภาคผนวก ค วิธีเตรียมน้ำยาทดสอบและบัฟเฟอร์	69
ภาคผนวก ง กราฟมาตรฐานของสารละลาย N-acetylglucosamine และ bovine serum albumin	72
ภาคผนวก จ การคำนวณที่ใช้ในการทดลอง	76
ภาคผนวก ฉ การเพาะเลี้ยงเชื้อราบนสไลด์	78
ภาคผนวก ช % saturation ของแอมโมเนียมซัลเฟต	79
ภาคผนวก ซ ตารางผลการทดลอง	80
ประวัติผู้เขียน	87

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ปริมาณและน้ำหนักของเนื้อกุ้งและส่วนประกอบต่างๆ เมื่อแยกส่วน	2
2 สภาพที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสของจุลินทรีย์บางชนิด	9
3 สภาพที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ไคตินเนสของจุลินทรีย์บางชนิด	10
4 เชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างต่างๆ ที่สามารถเจริญได้บน chitin overlay plate	27
5 Enzyme activity และ specific activity ของเอนไซม์ไคตินเนสจากเชื้อรา 20 ไอโซเลท ที่ให้ค่าการทำงานของเอนไซม์สูงสุดในอาหารเหลว	28
6 Enzyme activity และ specific activity ของเอนไซม์จากเชื้อรา 20 ไอโซเลทเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งผสมอาหารพื้นฐานเป็นเวลา 15 วัน	29
7 Enzyme activity และ specific activity ของเชื้อราที่เก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการ MSCMU เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเปลือกกุ้งผสมอาหารพื้นฐานเป็นเวลา 15 วัน	30
8 การเจริญของ <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄ บนอาหาร MYG ที่อุณหภูมิห้อง 20, 30, 37 และ 45 °C เป็นเวลา 5 วัน	33
9 การเจริญของ <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄ บนอาหาร MYG ที่ pH ต่างกันเป็นเวลา 5 วัน	33
10 ผลของการ treated เปลือกกุ้งด้วยกรดและด่างเพื่อใช้ในการเตรียมอาหารที่มีต่อการผลิตไคตินเนสของ <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	43
11 ชนิดของไคตินที่ใช้เป็นสับสเตรตต่อการทำงานของไคตินเนสจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	48
12 ผลของการตกตะกอน culture filtrate ของ <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄ ด้วย (NH ₄) ₂ SO ₄ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการทำงานของไคตินเนส	48
13 ผลของการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยการตกตะกอนด้วย (NH ₄) ₂ SO ₄	49
14 เปรียบเทียบสภาพที่เหมาะสมในการผลิตไคตินเนสของจุลินทรีย์บางชนิดกับ <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	52
15 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน N-acetylglucosamine เข้มข้น 0-0.20mg/ml	72
16 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย NAG ที่ความเข้มข้นต่างๆ	73

17	การเตรียมสารละลายมาตรฐานbovine serum albumine(BSA) ที่ความเข้มข้น 0-350 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	74
18	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้นต่างๆ	75
19	% saturation ของแอมโมเนียมซัลเฟต	79
20	ผลของปริมาณความชื้นของการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตไคตินของ <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	80
21	ผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตไคตินจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	80
22	ผลของปริมาณ NaNO ₃ ที่มีต่อการผลิตไคตินจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	81
23	ผลของแหล่งคาร์บอนที่มีต่อการผลิตไคตินจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	81
24	ผลของปริมาณ Colloidal chitin ที่มีต่อการผลิตไคตินจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	82
25	ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของ <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄ ในอาหารแข็งเปลือกกุ้ง เพื่อผลิตไคติน	82
26	ผลของ pH เริ่มต้นของ BSM ต่อการผลิตไคตินจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	83
27	ผลของชนิดของสารสกัดต่อการผลิตไคตินจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	83
28	ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ที่มีต่อการผลิตไคตินจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	84
29	ผลของระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่มีต่อการผลิตไคตินของ <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	84
30	ชนิดของเชื้อตั้งต้นที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยง <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄ เพื่อผลิตไคติน	85
31	ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเอนไซม์กับสับสเตรทที่มีต่อการทำงานของไคติน จาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	85
32	ผลของระยะเวลาในการบ่มเอนไซม์กับสับสเตรท ที่อุณหภูมิ 40°C ที่มีต่อการทำงานของไคตินจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	86
33	ผลของ pH ที่ใช้ในการบ่มเอนไซม์กับสับสเตรทที่มีต่อการทำงานของไคติน จาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	86

สารบัญภาพประกอบ

ภาพ	หน้า
1 A. โครงสร้างไคติน B. เปรียบเทียบโครงสร้างของไคติน ไคโตซาน และเซลลูโลส	4
2 ลักษณะ โคนิเดียของ <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄ (ย้อมติดสี cotton blue)	32
3 ลักษณะการเจริญของ <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄ บน MYG agar อายุ 5 วัน	32
4 ลักษณะการเจริญของ <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄ บนอาหารแข็งเปลือกกุ้ง อายุ 15 วัน	32
5 ลักษณะการเจริญของ <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄ บนอาหาร MYG agar (A) Czapeks' (B) chitin overlay plate (C) และ chitin agar (D) อายุ 5 วัน	34
6 การเจริญของ <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄ บนอาหาร MYG ที่อุณหภูมิห้อง, 20 °C, 30 °C, 37 °C และ 45 °C เป็นเวลา 5 วัน	35
7 ผลของปริมาณความชื้นของการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตไคตินเนสของ <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	36
8 ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตไคตินเนสจาก <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	37
9 ผลของปริมาณ NaNO ₃ ที่มีต่อการผลิตไคตินเนสจาก <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	38
10 ผลของแหล่งคาร์บอนที่มีต่อการผลิตไคตินเนสจาก <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	38
11 ผลของปริมาณ colloidal chitin ที่มีต่อการผลิตไคตินเนสจาก <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	39
12 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของ <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄ ในอาหารแข็งเปลือกกุ้ง เพื่อผลิตเอนไซม์ไคตินเนส	40
13 ผลของ pH เริ่มต้นของ BSM ต่อการผลิตไคตินเนสจาก <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	41
14 ผลของชนิดของสารสกัดที่มีต่อการผลิตไคตินเนสจาก <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	42
15 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ที่มีต่อการทำงานของไคตินเนสจาก <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	43
16 ผลของระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄ เพื่อผลิตไคตินเนส	44
17 ผลของชนิดเชื้อเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄ เพื่อผลิตไคตินเนส	45
18 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเอนไซม์กับสับสเตรตต่อการทำงานของไคตินเนสจาก <i>Basipetospira</i> sp CK ₄₄	46

19	ผลของระยะเวลาในการบ่มเอนไซม์กับสับสเตรทที่อุณหภูมิ 40°C ที่มี ต่อการทำงานของโคติเนสจาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	47
20	ผลของ pH ที่ใช้ในการบ่มเอนไซม์กับสับสเตรทต่อการทำงานของโคติเนส จาก <i>Basipetospora</i> sp CK ₄₄	47
21	กราฟมาตรฐาน N-acetylglucosamine	73
22	กราฟมาตรฐาน bovine serum albumin	75