

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตและแยก โคลิโดมจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ATCC 24905
โดยใช้อาหารแข็ง



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2539

รพ.
ค 138ค
2539

เลขหมึก.....
เลขทะเบียน..... 28147
วัน, เดือน, ปี 17 ก.ค. 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Production and Isolation of Chitosan from *Mucor rouxii* ATCC 24905
in Starch medium.**

**Mr. Jaturong Ratwittayakorn
Miss Thitima Srisagunee**

**A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for The Degree of Bachelor of Science**

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1996

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตและแยกโคโคแซนจากเชื้อรา <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 โดยใช้อาหารแป้ง
นักศึกษา	นายจตุรงค์ รัตน์วิทยากรณ์ นางสาวสุติมา ศรีสุกณี
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.นवलพรรณ ณ ระนอง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.คุณณี ชนะบรรพินันท์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2539

บทคัดย่อ

โคโคแซนเป็นสารพอลิเมอร์ของกลูโคซามีนนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆมากมาย เช่น การเกษตร การแพทย์ ด้านอาหาร ในทางการค้า โคโคแซนผลิตได้จากโคคิน ที่ได้จากเปลือกปูและกุ้ง โดยการต้มกับสารละลายต่างเข้มข้นซึ่งต้องใช้ต้นทุนการผลิตสูง นอกจากนี้โคโคแซนยังพบในผนังเซลล์ของราในสกุล *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* เป็นต้น โครงการงานปัญหาพิเศษนี้เป็นการผลิตโคโคแซนจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ATCC 24905 โดยใช้อาหาร BG คัดแปลงที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างเดียว เมื่อเลี้ยงในฟลาสก์แบบเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียสพบว่า อาหาร BG คัดแปลงที่มีแป้งข้าวเจ้า 20 กรัมต่อลิตร ให้โคโคแซนได้สูงสุดในวันที่ 3 คือ 0.949 กรัมต่อลิตร หรือ 12.96 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักโคโคแซนแห้งต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาด 2 ลิตร ที่ระดับการกวน 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 วัตต์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้การผลิตโคโคแซนสูงสุดคือ 1.007 กรัมต่อลิตร หรือ 12.31 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักโคโคแซนแห้งต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจาก ผศ. นवलพรรณ ณ ระนอง ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ซึ่งได้สละเวลาอันมีค่าให้ความเอาใจใส่และให้คำปรึกษาด้วยดีมาโดยตลอด ขอขอบคุณ คุณอจรรย์ นักศึกษาปริญญาโท ปีที่ 1 ที่ได้เสียสละถังหมัก (Fermenter) ขนาด 2 ลิตร ให้ผู้เขียนได้ใช้ก่อน ทำให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงมาได้ด้วยดี

นอกจากนี้ขอขอบคุณท่านผู้มีอุปการคุณทุกท่านที่มีได้กล่าวนามได้ครบถ้วน ณ ที่นี้ที่ได้เป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
- วัตถุประสงค์	2
- ของเขตการศึกษา	2
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
2.1 สาร ไคตินและ ไคโตแซน	3
2.1.1 ไคติน	3
2.1.2 ไคโตแซน	3
2.1.3 กรรมวิธีการผลิต ไคโตแซนจาก ไคติน	5
2.2 คุณสมบัติต่างๆของ ไคโตแซน	6
2.2.1 คุณสมบัติความเป็นประจุบวกของ ไคโตแซน	6
2.2.2 คุณสมบัติทางชีวภาพ	7
2.2.3 คุณสมบัติทางเคมี	7
2.2.4 คุณสมบัติทางการละลาย	8
2.3 การใช้ประโยชน์	11
2.3.1 ด้านเกษตรกรรม	11
2.3.2 ด้านเครื่องสำอาง	13
2.3.3 ด้านอาหารและเครื่องสำอาง	14
2.3.4 ด้านการแพทย์	16
2.3.5 การตรึงเซลล์และการเพาะเลี้ยงเซลล์	18
2.3.6 การบำบัดกากของเสียและน้ำเสีย	18
2.4 ชีวิตสังเคราะห์ ไคตินและ ไคโตแซน ในรา	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	หน้า
2.4.1 ชีวิตกำเนิดของเวชikelและผนังเซลล์	19
2.4.2 ไคโทโซมและการสังเคราะห์ไคติน	21
2.4.3 การสังเคราะห์ไคโตแซน	23
2.5 ลักษณะของ <i>Mucor rouxii</i>	28
- ลักษณะของ <i>Mucor rouxii</i>	29
- เหตุผลที่เลือกใช้ <i>Mucor rouxii</i>	30
- ลักษณะทั่วไปของ <i>Mucor rouxii</i>	30
- งานวิจัยที่ผ่านมา	31
2.6 องค์ประกอบของแป้งชนิดต่างๆ	32
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	36
- เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	36
- อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	36
- เชื้อที่ใช้ในการทดลอง	37
- สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	37
- วิธีการทดลอง	38
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	40
4.1 การศึกษาชนิดของแป้งและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตไคโตแซนของ <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905	40
4.2 การศึกษาลักษณะการเจริญและการผลิตไคโตแซนจากอาหารแป้งที่คัดเลือก	44
4.3 การศึกษาการผลิตไคโตแซนในถังหมัก	48
บทที่ 5 สรุปลผลการทดลอง	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก ก สูตรอาหาร BG	56
ภาคผนวก ข การเตรียม DNS reagent	57
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์หาฟิเออร์ น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำหนักไคโตแซนแห้ง	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
บทที่ 2	
2-1 คุณสมบัติทางด้านการละลายของ ไคโตแซน ที่อยู่ในรูป เอมีนอิสระ (NH ₂) กับเอมีนที่มีประจุบวก (NH ₃)	8
2-2 แสดงรูปแบบ ไคโตแซน ในธรรมชาติ	10
2-3 แสดงวัฏจักรที่เกี่ยวข้อง ในการสร้างผนังเซลล์ในรา	20
2-4 การสังเคราะห์ ไคโตแซน โดย chitin synthetase และ chitin deacetylase	23
2-5 แสดงส่วนประกอบทางเคมีของผนังเซลล์เชื้อ <i>Mucor rouxii</i> ในสถานะที่มีลักษณะคล้ายยีสต์และเส้นใย	30
2-6 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ ไคโตแซน ที่ได้จากการหมักบน อาหารแข็งกับอาหารเหลว	31
2-7 ส่วนประกอบของหัวมันสำปะหลังที่ปลูกเปลือกแล้ว	32
2-8 องค์ประกอบข้าวสาลีเต็มเมล็ด	32
2-7 ส่วนประกอบของข้าวเจ้าสีขาว	33
2-8 การวิเคราะห์อาหารจาก Condensed fermented corn extractive	34
บทที่ 4	
4-1 การเจริญเติบโตของ <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในอาหาร BG ดัดแปลง โดยใช้แป้ง 5 ชนิด	41
4-2 การเจริญเติบโตของ <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในอาหาร BG ดัดแปลงโดยใช้แป้งข้าวสาลี, ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวที่ ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร	45
4-3 การเจริญเติบโตของ <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในอาหาร BG ดัดแปลง โดยใช้แป้งข้าวเจ้าที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ในถังหมักขนาด 2 ลิตร	48
ภาคผนวก ค-1 แสดงน้ำตาลมอลโตสมาตรฐาน	60

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
บทที่ 2 2-1 แสดงลักษณะโครงสร้างที่คล้ายคลึงกันของไคติน ไคโตแซน และเซลลูโลส	4
2-2 แผนผังแสดงการผลิตไคตินและไคโตแซน	6
2-3 โครงสร้างและการละลายของไคตินและไคโตแซน	9
2-4 โมเดลแสดงที่ว่างการควบคุมของชีวิตสังเคราะห์ไคตินและไคโตแซน	25
2-4 วิธีการสังเคราะห์ไคตินจาก THEHALOSE	27
2-5 แสดงการสังเคราะห์ไคโตแซนในรา	28
บทที่ 4 4-1 กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยง <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แป้งชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 10 25 และ 50 เป็นแหล่งคาร์บอน	42
4-2 กราฟแสดงน้ำหนักไคโตแซนแห้งที่ได้จากการเลี้ยง <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แป้งชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 10 25 และ 50 เป็นแหล่งคาร์บอน	43
4-3 กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยง <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในอาหารแป้งที่คัดเลือก	46
4-4 กราฟแสดงน้ำหนักไคโตแซนแห้งที่ได้จากการเลี้ยง <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในอาหารแป้งที่คัดเลือก	47
4-5 กราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยง <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในถังหมัก	49
4-6 กราฟแสดงน้ำหนักไคโตแซนแห้งที่ได้จากการเลี้ยง <i>Mucor rouxii</i> ATCC 24905 ในถังหมัก	50
ภาคผนวก ก-1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโตส	61

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันมีการนำสารพอลิแซ็กคาไรด์มาใช้ประโยชน์ ในทางอุตสาหกรรมกันมาก จุดประสงค์เพื่อใช้เป็นตัวเพิ่มคุณสมบัติที่ดีต่อกระบวนการผลิต หรือต่อตัวผลิตภัณฑ์ (วิทิตและลูกจันทร์, 1990) ไคโตแซนก็เป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ตัวหนึ่งที่เป็นที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ ได้แก่ ด้านการแพทย์ (Health care) การเกษตร (Agriculture) การผลิตเครื่องสำอาง (Cosmetic) การตรึงเซลล์และการเพาะเลี้ยงเซลล์ (Immobilization and cell culture) การบำบัดกากของเสียและน้ำเสีย (Waste and water treatment) เป็นต้น

ไคโตแซน (Chitosan: Poly- β -(1 \rightarrow 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucan) เป็นสารอนุพันธ์ของไคติน ซึ่งสามารถผลิตได้โดยการแยกเอาหมู่อะเซทิลออก (Deacetylation) จากไคติน สาเหตุที่เราต้องเปลี่ยนไคตินเป็นไคโตแซน เนื่องจากไคตินเป็นสารโมเลกุลที่ไร้ประจุ (Non-electrolytic polymer) ซึ่งทำให้ไคตินไม่สามารถละลายน้ำได้ แต่เมื่อนำไคตินมากำจัดหมู่อะเซทิลออกแล้ว ได้ไคโตแซนซึ่งพบว่าสามารถมีประจุบวกบนหมู่เอมีน ทำให้ไคโตแซนละลายน้ำและในสารละลายหลายชนิด (วิทิตและลูกจันทร์, 1990)

เนื่องจากไคโตแซนที่ผลิตได้ทางการค้ามักได้มาจากกากของเสียพวกเปลือกกุ้ง เปลือกปู โดยการนำมาสกัดด้วยด่างเข้มข้นซึ่งเป็นวิธีทางเคมี โดยด่างจะเข้าทำปฏิกิริยากับไคตินกำจัดหมู่อะเซทิล (Deacetylation) จนได้ไคโตแซนออกมา การสกัดไคโตแซนด้วยวิธีทางเคมีดังกล่าวทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารไคโตแซน ซึ่งมีผลต่อการยอมรับในอุตสาหกรรมบางประเภท เช่น การผลิตแผ่นฟิล์มย่อยสลายสารชีวภาพ (Biodegradable film) การผลิตสารเพิ่มความแข็งแรงแก่กระดาษ (Paper-strengthening agent) เป็นต้น กอปรกับข้อจำกัดเรื่องความเหมาะสมของฤดูกาลของแหล่งผลิต ดังนั้นจึงมีการผลิตไคโตแซนด้วยวิธีทางชีวภาพขึ้น โดยการแยกไคโตแซนจากเชื้อรา ซึ่งมีข้อดีคือสามารถควบคุมคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physiochemical characteristic) ของไคโตแซน เนื่องจากสามารถควบคุมกระบวนการหมักและพารามิเตอร์ต่างๆ ในกระบวนการผลิตได้

ในการทดลองนี้จะมุ่งเน้นที่การผลิตและสกัดไคโตแซนจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ATCC 24905 โดยจะใช้แป้ง (Starch) เป็นแหล่งคาร์บอน เนื่องจากแป้งเป็นวัตถุดิบที่หาง่ายและราคาไม่แพงซึ่งสามารถนำมาใช้ผลิตไคโตแซนได้เป็นอย่างดีจะเป็นแนวทางไปสู่การขยายขนาดการผลิต (Scale-up) ไปสู่ระดับอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

การทดลองนี้จะใช้อาหารที่มีองค์ประกอบแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง 5 ชนิด ได้แก่ แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลี จากนั้นจะทำการคัดเลือกชนิดของแป้งและสภาวะที่เหมาะสมที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์และปริมาณโคโคแซนสูงสุด

วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

เพื่อผลิตและสกัด โคโคแซนจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ATCC 24905 ซึ่งใช้อาหารแป้งที่หาได้ง่ายและราคาถูก โดยจะคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และให้ผลผลิตได้สูงสุด แล้วจึงขยายสเกลการผลิตลงถึงหมักขนาด 2 ลิตรต่อไป

ขอบเขตของโครงการพิเศษ

- 1.สามารถผลิตและสกัด โคโคแซนจากเชื้อรา *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหารแป้งที่เหมาะสม
- 2.เปรียบเทียบชนิดของแป้งที่เหมาะสมต่อการผลิต โคโคแซนว่า แป้งชนิดใดที่ให้ปริมาณเซลล์และปริมาณโคโคแซนสูงสุด
3. ศึกษาลักษณะการเจริญและการผลิต โคโคแซนจากอาหารแป้งที่คัดเลือก
4. ศึกษาการผลิต โคโคแซนในระดับถึงหมัก

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.เพื่อเป็นแนวทางในการนำแป้งซึ่งเป็นวัตถุดิบที่หาง่ายและมีราคาถูกมาใช้ในการเลี้ยงเชื้อราสำหรับผลิต โคโคแซน
- 2.เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสาร โคโคแซนให้ได้ปริมาณสูงสุด ซึ่งจะเป็นแนวทางในการทำงานวิจัยเกี่ยวกับการผลิต โคโคแซนต่อไป

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 สารไคตินและไคโตแซน

2.1.1 ไคติน

ไคตินเป็นสารโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ (Homopolysaccharide) ประกอบด้วย 2-deoxy-2-acetamino glucose เชื่อมต่อกับ β -1,4-glycoside linkage มีโครงสร้างลำดับที่ 1 (primary structure) คล้ายเซลลูโลส โครงสร้างของไคตินประกอบด้วยโปรตีน และแคลเซียมคาร์บอเนตอยู่ในเยื่อหุ้มชั้นนอกหรือเอ็นของแมลง

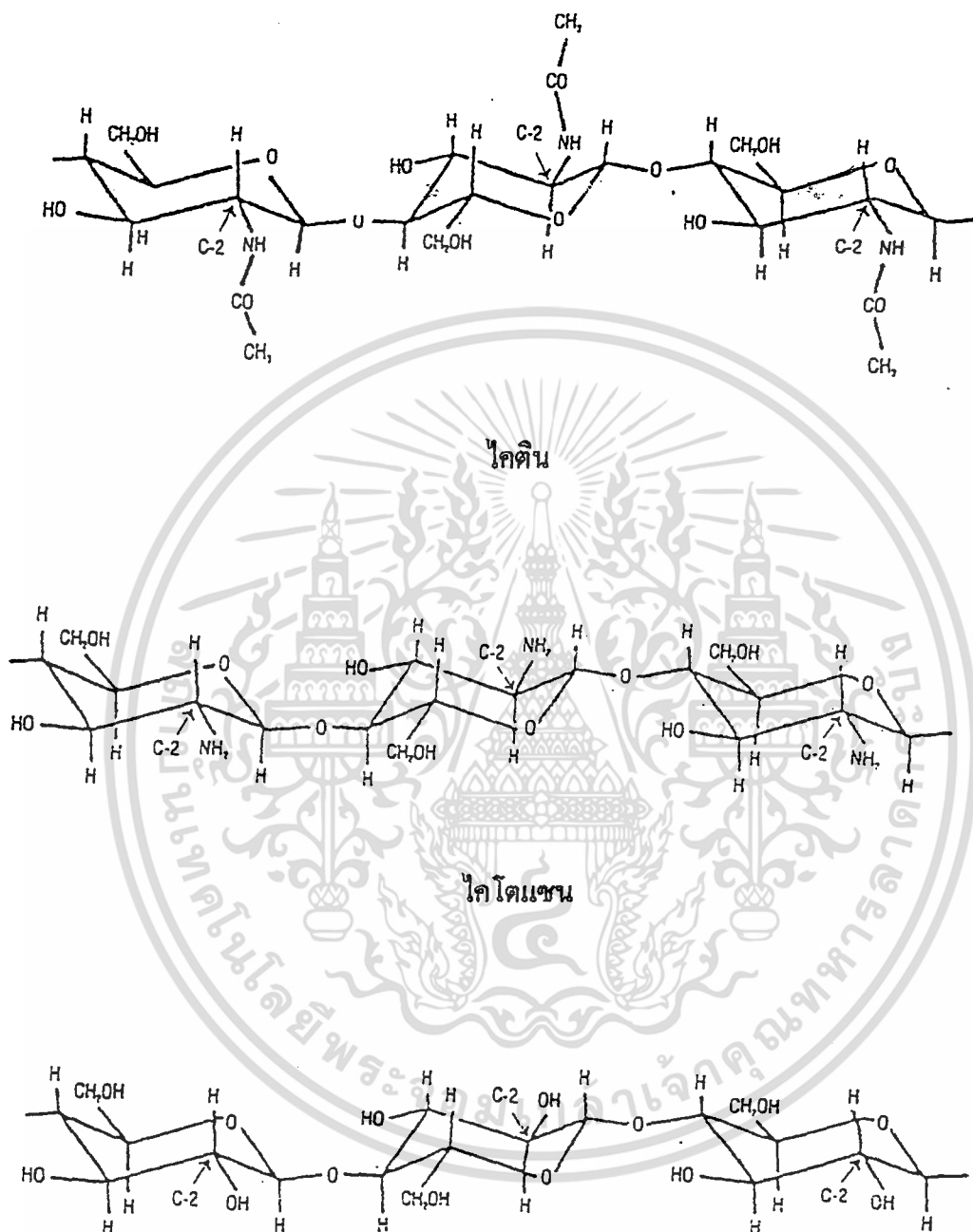
โครงสร้างผลึกของไคตินมี 3 แบบคือ α , β และ γ -chitin วิเคราะห์โดย X-Ray diffraction ผลึก α -chitin พบมากที่สุดในการเปลี่ยนของสัตว์อาร์โทรพอดเช่น ปู กุ้งและแมลง ผลึกของ β -chitin ถูกตรวจพบในสาหร่ายบางชนิด ผลึก β -chitin ไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็น α -chitin ด้วยกรดไฮโดรคลอริกได้ ไคตินเกิดจากผลึก β -chitin สารละลายกรดฟอร์มิก จะได้ผลึก α -chitin การเติมหมู่อะเซทิลของ ไคโตแซนที่หมู่เอมีนจะทำให้ได้ไคตินที่มีโครงสร้างผลึก α -chitin เป็นการยืนยันว่า α -chitin เสถียรกว่า β -chitin

โมเลกุลของไคตินถ้านำมาแยกออก จะพบโครงสร้างเป็นเกลียวส่ววนซ้อนกัน เกิดจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลระหว่าง C3-OH และอะตอมออกซิเจนของ C5 ในวงแหวนในสถานะที่เป็นของแข็งซึ่งคล้ายกับ โมเลกุลเซลลูโลสที่อยู่ในสถานะของแข็งเช่นกัน

2.1.2 ไคโตแซน

ไคโตแซนเกิดจากไคตินที่ถูกกำจัดหมู่อะเซทิล (Deacetylation) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น โดยทั่วไปเรียกไคโตแซนหรือดีอะเซทิลไคติน (Deacetylated chitin) ซึ่งประกอบด้วยหมู่อะมิโนโกลูโคส โดยปกติไคโตแซนมีเปอร์เซ็นต์ของการดีอะเซทิลเลชันประมาณ 75-95 เปอร์เซ็นต์และมีโครงสร้างเป็น Heterogeneous primary structure อาจเตรียมไคโตแซนให้ได้เปอร์เซ็นต์ดีอะเซทิลเลชันเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ได้โดยการทำปฏิกิริยากำจัดหมู่อะเซทิลซ้ำ และเมื่อได้ไคโตแซนออกมาก็คจะเป็นไคโตแซนที่ประกอบด้วยโมเลกุลกลูโคซามีมันอย่างเดี่ยวซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะ β -1,4-glycoside เนื่องจากไคโตแซนหรือดีอะเซทิลเลทไคตินมี

หมู่เอมีโนอันดับแรก (Primary amine group) ทำให้มีการนำไคโตเซนมาใช้เป็นสารพอลิเมอร์ที่มี
 ประจุบวกที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ (Biodegradable cationic polymer)



รูปที่ 2-1 แสดงลักษณะ โครงสร้างที่คล้ายคลึงกันของ ไคติน , ไคโตเซนและเซตลูโลส

ที่มา : Skjak-Braek และคณะ, 1989

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

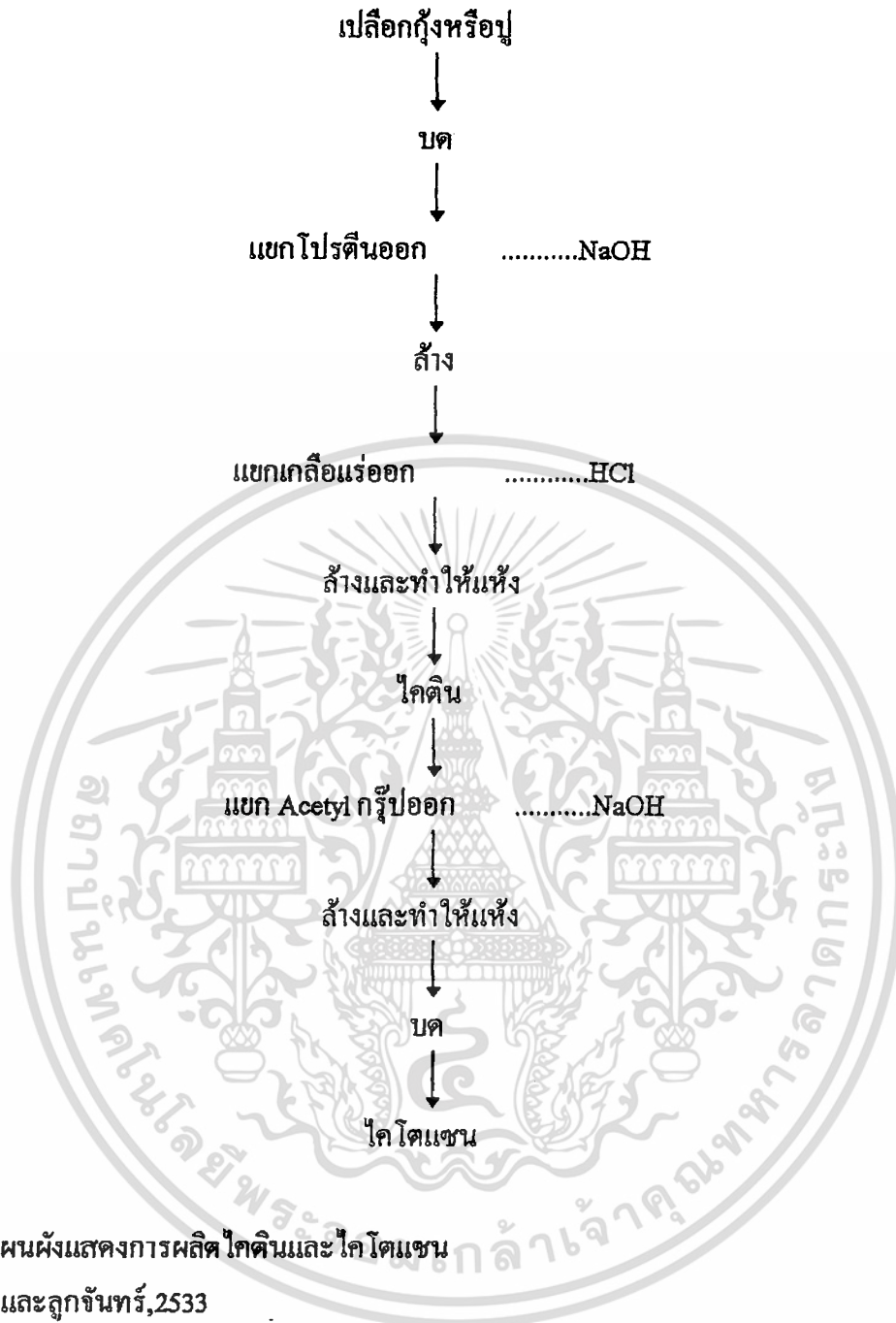
2.1.3 กรรมวิธีการผลิต โคโคแซนจาก โคติน(วิสิตและลูกจันทร์,2533)

ทั้ง โคตินและ โคโคแซนหรือเรียกได้ว่าเป็นโคตินที่ปราศจากอะเซทิลทำมาจากเปลือกกุ่มและปฐพีเหลือทิ้ง ในสหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่นได้มีการผลิตโคโคแซนจากเปลือกกุ่มและปฐพีเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารเป็นการค้าอย่างเป็นทางการ

กรรมวิธีการผลิตจะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนที่สำคัญคือขั้นที่ 1 จะแยกเอาโปรตีนออกไป และขั้นที่ 2 จะเป็นการแยกแคลเซียมคาร์บอเนต

แรกที่ देखจะเป็นการนำกากเหลือทิ้งเหล่านั้นมาบดให้ละเอียด จากนั้นผสมกับสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH)เพื่อละลายเอาโปรตีนออกมา(หากท่านใดต้องการจะนำโปรตีนที่แยกออกไปใช้ประโยชน์อีกก็จะทำได้โดยการลดความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช)ให้เหลือ 4.0 ก็จะได้ตะกอนโปรตีนจากนั้นนำไปอบให้แห้ง

เมื่อละลายโปรตีนออกแล้วนำกากที่เหลือมาล้างด้วยน้ำกรดเกลือ(HCl)ที่เจือจาง(ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์)เพื่อชะล้างเอาแคลเซียมคาร์บอเนตออกไปในรูปของแคลเซียมคลอไรด์ ถึงขั้นนี้สารที่ได้คือโคติน นำโคตินที่ได้มาดึงเอากลุ่มอะเซทิล (acetyl) ออกซึ่งเรียกว่า Deacetylation โดยใช้สารละลายด่างที่ร้อน (NaOH 40-50 %) จากนั้นล้างและทำให้แห้ง บดให้ละเอียดก็จะได้โคโคแซนผง



รูปที่ 2-2 แผนผังแสดงการผลิต ไคตินและ ไคโตแซน

ที่มา : วิไลตและลูกจันทร์,2533

2.2 คุณสมบัติต่างๆของไคโตแซน(Skjak-Braek และคณะ,1989)

2.2.1 คุณสมบัติความเป็นประจุบวกของไคโตแซน

- มีความเป็นพอลิเมอร์สูง
- มีความหนาแน่นของประจุสูง
- มีความสามารถในการจับกันเป็นกลุ่ม ได้ดีเลิศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- คงอยู่อย่างเป็นอิสระต่อเส้นผม
- สามารถก็เลด (ดูดจับ) กับไอออนของโลหะได้ เช่น
 - ไอออนเหล็ก, ทองแดง
 - โลหะที่เป็นพิษ ได้แก่ แคดเมียม ปรอท ตะกั่ว โครเมียม
 - สารกัมมันตรังสี เช่น ยูเรเนียม พลูโตเนียม

ไคโตแซนเป็นสารพอลิเมอร์สายตรงที่มีขั้วที่พิเศษเป็นกรด มีความหนาแน่นของประจุสูง หนึ่งประจุต่อหน่วยกลูโคซามีน มีองค์ประกอบที่เป็นประจุลบ เช่น โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ กรดนิวคลีอิก เป็นต้น

ประจุบวกของไคโตแซนจะทำปฏิกิริยาอย่างรุนแรงกับพื้นผิวที่มีประจุลบ เพื่อทำให้เกิดประจุที่เป็นกลาง ไคโตแซนมีความสามารถในการเกาะเป็นกลุ่มได้ดีเยี่ยม เนื่องจากมันมีหมู่เอมีน (NH_2) มากมาย ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับอนุภาคคอลลอยด์ที่มีประจุลบ เช่น โปรตีนและสารพวกมิวโคพอลิแซ็กคาไรด์ (Mucopolysaccharide)

2.2.2 คุณสมบัติทางชีวภาพ

ไคโตแซนสามารถนำมาประยุกต์ใช้ทางชีวภาพได้มากมาย เนื่องจากมันมีคุณสมบัติไม่เป็นพิษและย่อยสลายทางชีวภาพได้ (Biodegradable) ได้ การนำไคโตแซนมาใช้รักษาบาดแผล ลดระดับเซรั่มคอเลสเตอรอล (Serum cholesteral) และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน สามารถทำได้ง่าย เมื่อใช้ไคโตแซนหุ้มเม็ดสีจะช่วยเพิ่มผลผลิตพืช เนื่องจากไคโตแซนจะชักนำการตอบสนองการป้องกันโดยการงอกของพืช

คุณสมบัติทางกายภาพของ ไคโตแซน

- ความไม่เป็นพิษ
- เป็นพอลิเมอร์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ
- สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้

กิจกรรมชีวภาพ

- เร่งการรักษาบาดแผล(เร่งการสมานบาดแผล)
- ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด
- กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน

2.2.3 คุณสมบัติทางเคมี

ไคโตแซนเป็นพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนัก โมเลกุลสูงเป็นสารพอลิเอมีน (Polyamine) สายตรง ซึ่งมีหมู่เอมิโนพอลิที่ จะใช้การ ได้สะดวกสำหรับการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการฟอร์มตัวอยู่ในรูปเกลือกับกรด

ไคโตแซนเมื่อเทียบกับอนุพันธ์ของเซลลูโลส ต่างกันที่หมู่ไฮดรอกซิล ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และ 3

คุณสมบัติทางเคมีของไคโตแซนสรุปได้ดังนี้คือ

- เป็นสารพอลิเอมีนสายตรง (Polyglucosamine)
- ประกอบด้วยหมู่อะมิโน
- ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล

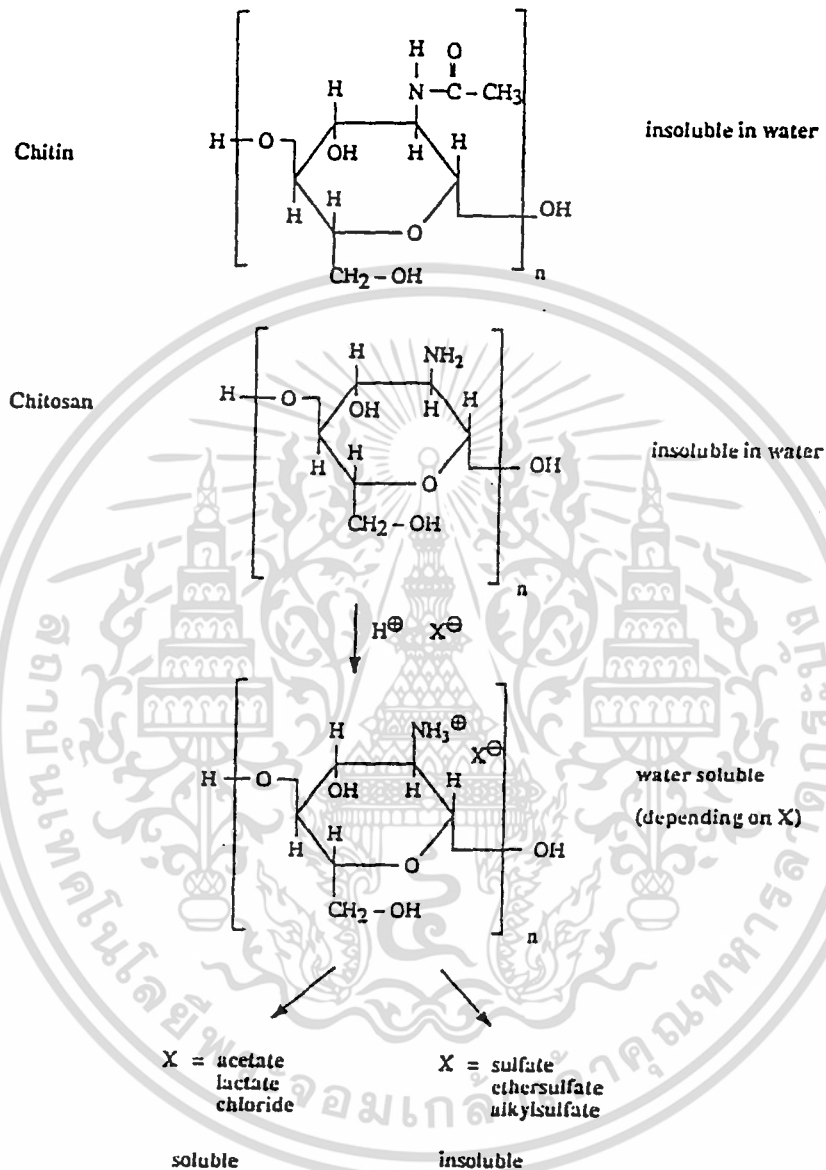
2.2.4 คุณสมบัติทางการละลาย

ไคโตแซนค่อนข้างจะมีความจำเพาะต่อคุณสมบัติในการละลาย ขึ้นแรกเมื่อฟอร์มอยู่ในรูปเอมีนอิสระ ไคโตแซนไม่ละลายน้ำที่พีเอชกลาง ที่พีเอชเป็นกรดหมู่เอมีนอิสระ(-NH₂)จะเปลี่ยนฟอร์มอยู่ในรูปเอมีนที่มีประจุบวก (NH₃⁺)

ตารางที่ 2-1 แสดงคุณสมบัติทางการละลายของไคโตแซนที่อยู่ในรูปเอมีนอิสระ(-NH₂) และเอมีนที่มีประจุบวก(-NH₃⁺)

เอมีนอิสระ (-NH ₂)	เอมีนที่มีประจุบวก (NH ₃ ⁺)
-ละลายในสารละลายกรด	-ละลายที่พีเอชน้อยกว่า 6.5
-ไม่ละลายที่พีเอชมากกว่า 6.5	-ฟอร์มในรูปสารละลายที่มีลักษณะหนืด
-ไม่ละลายใน H ₂ SO ₄	-Solution shear thinning
-ละลายได้จำกัดใน H ₃ PO ₄	-ฟอร์มตัวอยู่ในรูปเจลซึ่งมีประจุมากมาย
-ส่วนใหญ่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์	-คงอยู่ในของผสมระหว่างแอลกอฮอล์กับน้ำ

ที่มา : Skjak-Brack และคณะ,1989



รูปที่ 2-3 โครงสร้างและการละลายของไคตินและไคโตแซน

ที่มา : Skjak-Braek และคณะ, 1989

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2-2 แสดงรูปแบบโคโตแซนในธรรมชาติ

รูปแบบ	ลักษณะ/คุณสมบัติ
แป้ง	<ul style="list-style-type: none"> - หยาบ - ใช้ในการห่อหุ้ม - ละลายได้รวดเร็ว - มีความบริสุทธิ์สูง
ฟิล์ม	<ul style="list-style-type: none"> - เหนียว ใส งามได้ - มีการซึมผ่านของออกซิเจน - ดำรงอยู่อย่างอิสระบนผิวที่มีประจุลบ
เส้นใย	<ul style="list-style-type: none"> - แข็ง - งามได้ - ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ
รูปร่างวัตถุ	<ul style="list-style-type: none"> - เหมาะสมสำหรับศัลยกรรมกระดูก - การกักคร่อนทางชีวภาพ - ก่อเป็นรูปร่างขึ้นจากแม่พิมพ์ได้อย่างรวดเร็ว
เจล	<ul style="list-style-type: none"> - มีความแข็งของเจลสูง - พอร์มตัวได้ง่ายกับพอลิเอมีน
เม็กล	<ul style="list-style-type: none"> - ทำได้ง่าย - ใช้ห่อหุ้ม - สามารถเลือกขนาดได้ - สามารถทำให้มีรูพรุนขนาดต่างๆได้ - ง่ายต่อการเชื่อมต่อกับเอนไซม์
แป้งเปียก/ไลซีน	<ul style="list-style-type: none"> - วัสดุที่ดี - คงความชุ่มชื้น - ตั้งเป็นตุ๋นได้ง่าย
สารละลาย	<ul style="list-style-type: none"> - มีความหนืดต่ำถึงสูง - พอร์มตัวอยู่ในรูปเกล็ดได้มากมาย - มีลักษณะใสสูง

ที่มา : Skjak-Braek และคณะ, 1989

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การใช้ประโยชน์ (ที่มา : Technical Insight Inc.,1989)

การใช้ประโยชน์จากไคตินและไคโตแซนโดยมากมีอยู่ 7 ประเภท ได้แก่ ด้านเกษตร ด้านเครื่องสำอาง และเครื่องแต่งตัว อาหารและเครื่องดื่ม ด้านการแพทย์ การรีไซเคิลและการเพาะเลี้ยงเซลล์ ด้านการแยกแยะผลิตภัณฑ์และการฟื้นฟู ด้านการบำบัดของเสียและน้ำเสียไคตินและไคโตแซนยังมีประโยชน์อื่นๆอีกด้วย

2.3.1ด้านเกษตรกรรม

การใช้ประโยชน์จากไคตินและไคโตแซนในทางเกษตรกรรม โดยทั่วไปมักเป็นเรื่องการรักษาเมล็ดพืชใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืชและเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์

2.3.1.1.การรักษาเมล็ดพืช

หน่วยงานคุ้มครองสภาพแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา (The U.S. Environmental Protection Agency) ได้ยืนยันว่า การบำรุงรักษาเมล็ดพืชของไคโตแซนสามารถเพิ่มผลผลิตได้ในข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต เมล็ดถั่ว ถั่วเหลืองและข้าวโพด ไคโตแซนไม่เพียงแต่จะมีบทบาทในการเป็นสารฆ่าเชื้อรา (Fungistatic agent) เท่านั้น แต่ยังสามารถชักนำการแสดงออกของยีนในพืชได้อีกด้วยซึ่งจะทำให้พืชสามารถต้านทานโรคได้มากขึ้น เมล็ดพืชที่บำรุงรักษาด้วยไคโตแซนจะเจริญไปเป็นพืชที่มีระบบรากที่แข็งแรงขึ้น มียอดที่สมบูรณ์และลำต้นที่แข็งแรงขึ้น จากผลเหล่านี้ก็จะช่วยให้พืชต้องการสารอาหาร ความชื้นในปริมาณที่มากขึ้น และยังลดการกักตุนดินอีกด้วย ปัญหาการตายของพืชก็จะลดลงไป การตายของพืชโดยทั่วไปมีสาเหตุมาจากสารเคมีทำให้รากพืชผุกร่อน (Root-rotting agent) ซึ่งมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudocercospora herpotrichoides* ซึ่งเป็นเชื้อโรคของข้าวสาลี เป็นต้น

ไคโตแซนมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากความสามารถในการเป็นตัวควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulator) ไคโตแซนสามารถทำหน้าที่เป็นตัวที่มีความสำคัญต่อจิบเบอเรลลินซึ่งเป็นฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ปฏิกริยาซึ่งพืชเมแทบอลิซึมไคโตแซนและสร้างสารโอลิโกแซ็กคาไรน (Oligosaccharin) ซึ่งควบคุมเอนไซม์ที่จำเพาะต่อกระบวนการเจริญเติบโต (Enzymatic-specific growth process) ไคโตแซนอาจเร่งการงอกของเมล็ดพืชได้ด้วย

ไคโตแซน โอลิโกแซ็กคาไรนสามารถนำไปประยุกต์โดยการแช่เมล็ดพืชในสารละลายที่ประกอบด้วยสารโอลิโกแซ็กคาไรนหรือโดยการฉีดพ่นสารละลายลงบนดินหรือใบของพืช ถือว่าเป็นความสะดวกสบายและประหยัดค่าใช้จ่าย เมื่อประยุกต์ใช้ไคโตแซนกับเมล็ดพืช ก่อนที่จะนำไปเพาะลงดินระหว่างการเพาะปลูกในโครงการบำรุงรักษาเมล็ดพืช

2.3.1.2. ใช้เป็นยาฆ่าหนอนตัวกลม

ไคตินจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในดิน ยกตัวอย่างเช่น พวกแอกทิโนมัยซีท (Actinomycetes) แบคทีเรียและฟังไจซึ่งล้วนแต่สามารถสร้างเอนไซม์ไคตินเนส (Chitinase) และเอนไซม์อื่นๆ ได้ เอนไซม์เหล่านี้สามารถทำลายไข่ของหนอนตัวกลมซึ่งเป็นพาหะของโรคพืชซึ่งจะใช้กับพืชพวกฝ้าย ผัก ไม้สวน ผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว ราสเบอร์รี่และสตรอเบอร์รี่ หนอนตัวกลมจะส่งผลกระทบต่อระบบรากของพืชทำให้ลดผลิตผลหรือทำให้พืชตายได้

หน่วยงานคุ้มครองสภาพแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา (The U.S. Environmental Protection Agency) ได้ห้ามให้มีการใช้สารเคมีฆ่าหนอนตัวกลม เอทิลีนไดโบรไมด์ และไดโบรโมคลอโรโพรเพน (Dibromide and dibromochloropropane) ซึ่งมีข้อเสียข้อดีน้อยกว่าผลิตภัณฑ์จากไคติน ส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนของสารไคติน-โปรตีน คอมเพล็กซ์มีปริมาณในโตรเจน 10 % ซึ่งเป็นพิษต่อหนอนตัวกลมและเป็นการลดปริมาณการใช้ปุ๋ยไปในตัว

2.3.1.3. เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์

การใช้ไคตินและไคโตแซนเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์มีประโยชน์ 3 ประการ คือ ไคตินและไคโตแซนสามารถนำไปรีไซเคิลโปรตีนจากกากของเสียที่ได้จากกระบวนการผลิตอาหารเพื่อทำอาหารสัตว์ได้ สารไคตินมีองค์ประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมันยังสามารถควบคุมการย่อยอาหารในกระเพาะของสัตว์อีกด้วย

ความสามารถในการมีประจุบวกของไคโตแซน ทำให้มันสามารถทำหน้าที่เป็นตัวตกตะกอนโปรตีน (flocculate protein) โปรตีนที่ได้นี้ประกอบด้วยตะกอนไคโตแซนที่สามารถนำมาใช้เป็นอาหารเสริม (diet supplement) ไคโตแซนที่ได้จะไม่มีพิษภัยอย่างใด ไคโตแซนจะถูกนำไปปรับปรุงคุณภาพอาหารสำหรับใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา ในฐานะที่เป็นส่วนประกอบในอาหารสัตว์

ในฐานะที่เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์ (feed supplement) ไคตินสามารถกินได้ สัตว์นั้นไม่สามารถเผาโบทอาหารเสริมที่มีองค์ประกอบเป็นแลคโตส (Lactose - containing feed supplement) เมื่อกินอาหารที่ประกอบด้วยข้าวสาลี

ไคตินทำงานโดยไปกระตุ้นการทำงานของแบคทีเรียที่มีเอนไซม์แลคโตส (Lactose - containing Bacteria) แบคทีเรียเหล่านี้จะไปทำให้โมเลกุลแลคโตสในข้าวสาลีแตกสลายเพื่อป้องกันภาวะการไม่ทนต่อแลคโตส (Lactose intolerance) ที่อาจเกิดขึ้น จากการทดลองโดยใช้เครื่องคั้นน้ำที่ป้อนไคตินหลายๆชนิดเข้าไปพบว่า ไคตินป้องกันปัญหาภาวะโรคท้องร่วง (diarrhea) ซึ่งเป็นเรื่องปกติที่เกิดขึ้นเมื่อใช้ข้าวสาลีเป็นอาหารสัตว์

2.3.1.4. เป็นขำฆ่าแมลง

เอนไซม์ไคตินเนส (Chitinase) มีศักยภาพในการเป็นขำฆ่าแมลงหรือสารส่งเสริมในขำฆ่าแมลง (Insecticide adjuvants) ได้ โดยมันจะทำปฏิกิริยากับไคตินที่มีโครงสร้างแข็งภายนอก (Exoskeleton) ของแมลง กระบวนการผลิตเอนไซม์ไคตินเนส ที่มีต้นทุนต่ำควรได้รับการพัฒนาเพื่อที่จะผลิตเอนไซม์ไคตินเนสในทางการค้าเพื่อนำมาใช้เป็นขำฆ่าแมลงได้

2.3.1.5. เป็นปุ๋ย

ไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในไคตินหรือ ไคโตแซนจะถูกปล่อยออกมาช้าๆ เพื่อเป็นสัปสเตรทที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ไคตินเนส ซึ่งเติมลงไปไนปุ๋ยหรือถูกย่อยโดยเอนไซม์ที่เกิดจากจุลินทรีย์ในดิน

2.3.1.6. ปรับปรุงคุณภาพดิน

ไคโตแซนสามารถนำมาใช้ในการบำรุงรักษาดินที่มีความเหนียวปนอยู่ในปริมาณมากได้ โดยจะส่งเสริมคุณสมบัติในการซึมผ่านอากาศ การซึมผ่านน้ำ การอุ้มน้ำและการทนต่อการกัดเซาะของดินได้ สิ่งที่ทำให้ไคโตแซนต่างจากสารอื่นๆที่ใช้ปรับปรุงดินเหนียวคือ ไคโตแซนสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้

2.3.1.7. เป็นพาหะของจุลินทรีย์ในดิน

ไคโตแซนสามารถถูกนำมาใช้เป็นพาหะของจุลินทรีย์ซึ่งป้องกันการเกิดโรคในพืช

2.3.1.8. เป็นอาหารปลา

ไคโตแซนที่เติมลงในอาหารปลาจะช่วยป้องกันอนุภาคที่กระจายตัวอยู่ในน้ำ

2.3.1.9. การควบคุมการปล่อยสาร

ไคโตแซนสามารถปล่อยสารอะโกรเคมีคอล (Agrochemical) เช่น สารเมทิบูซิน (metribuzin) ซึ่งเป็นขำฆ่าหญ้า (herbicide) ออกสู่ดิน แล้วจึงควบคุมการปลดปล่อยของสารที่ไคโตแซนปล่อยออกมา ความก้าวหน้าของระบบนี้ก็คือ จำกัดการปล่อยสารอะโกรเคมีคอลออกสู่ดิน ซึ่งเป็นต้นเหตุของปัญหาสิ่งแวดล้อม

2.3.2 ด้านเครื่องสำอาง

ไคติน ไคโตแซนและอนุพันธ์ของมันมีศักยภาพในการเป็นเครื่องสำอาง ใช้ดูแลรักษาผิวดมผิวดและรักษาากลิ้นปาก

2.3.1.1 ดูแลรักษาเส้นผม

เนื่องจาก ไคโตแซนเป็นสารที่มีอนุภาคประจุบวกและเส้นผมมีประจุลบ ไคโตแซนจึงเข้ากันได้ดีกับผม สารละลายที่ประกอบด้วยไคโตแซนจะอยู่ในลักษณะใส เคลือบบนเส้นผมเป็นการเพิ่มกลไกความแข็งแรงและความอ่อนนุ่มให้กับเส้นผม ไคโตแซนสามารถฟอร์มตัวเป็นเจลได้เมื่อเติมลงในส่วนผสมของแอลกอฮอล์และน้ำ หน้าที่ของไคโตแซนก็คือ ปกป้องเส้นผมจากน้ำยาตัดผมและน้ำยาฟอกผม ที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำๆ ไคโตแซนจะช่วยรักษาความชื้นและที่ความชื้นสัมพัทธ์สูงๆ ไคโตแซนจะช่วยรักษาทรงผมให้อยู่ทรง

ไคโตแซนสามารถใช้เป็นแชมพู น้ำยาซักล้าง น้ำยาตัดผมเป็นจอถาวร น้ำยากัดสีผม โลชั่น สเปรย์ฉีดผมและน้ำยาถูแลผม คุณสมบัติอื่นๆของไคโตแซนได้แก่ การฟอร์มตัวในรูปโฟม และเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์

2.3.1.2 ถนอมผิว

เนื่องจากไคโตแซนมีประจุบวกมันจึงเข้ากันได้ดีกับผิวหนัง ไคโตแซนทำหน้าที่เป็นสารให้ความชุ่มชื้น (Moisturizer) และมีคุณสมบัติในการให้ความชุ่มชื้นอย่างมีประสิทธิภาพ ในฐานะที่เป็นสารให้ความชุ่มชื้น ไคโตแซนอาจเป็นคู่แข่งที่สำคัญของกรดไฮยาลูโรนิก (Hyaluronic acid) เนื่องจากมันมีราคาต่ำกว่าทำให้ไคโตแซนและไคตินสามารถผลิตในรูปครีม โลชั่น ยาทาเล็บ อายแชโดว์ ลิปสติก น้ำยาทำความสะอาดและครีมอาบน้ำ

สารที่ทำจากไคโตแซนส่วนใหญ่มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เข้ากันได้ดีกับสารอื่นๆ เนื่องจากมันมีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งสามารถซึมซาบเข้าสู่ผิวหนังได้ สารอนุพันธ์ของไคโตแซนหลายตัวสามารถนำมาใช้ดูแลรักษาผิวหนังรวมถึงบำรุงเส้นผมได้ด้วย สารอนุพันธ์ไคโตแซนอื่นๆ จะนำมาทำปฏิกิริยาเติมหมู่เอซิล (Acylated) จากสารอินทรีย์ไดแอซิดแอนไฮไดรด์ (Diacid anhydride) และอนุภาคละเอียดของไคตินหรือไคโตแซน

2.3.1.3. ขจัดกลิ่นปาก

ไคตินและไคโตแซนสามารถใช้เป็นยาสีฟัน น้ำยาขจัดกลิ่นปากและหมากฝรั่ง เพื่อให้ลมหายใจสดชื่นและยังป้องกันการก่อตัวของหินปูนและป้องกันฟันผุในยาสีฟัน กลิ่นของไคโตแซนจะปิดบังรสชาติที่ไม่พึงปรารถนาของซิลิกอนออกไซด์และจับกับแป้ง ดังนั้นกลิ่นไคโตแซนจะอยู่ในรูปแอมูลเมื่อมันอยู่ในน้ำ ไคตินและไคโตแซนสามารถใช้ทำความสะอาดฟันปลอม โดยมันจะทำลายเชื้อ *Candida Albicans* ซึ่งเป็นเชื้อราที่เกาะแน่นกับฟัน ไคตินสามารถเป็นสารที่ใช้ในทันตกรรมด้วย

2.3.3. อาหารและเครื่องดื่ม

ไคตินและไคโตแซนสามารถใช้ประโยชน์โดยเติมลงในอาหารเป็นสารชะลออายุการเก็บรักษา เป็นตัวส่งเสริมรสชาติเครื่องดื่มและเป็นตัวเก็บเกี่ยวเซลล์

2.3.3.1. เป็นสารป้องกันคลอเลสเทอรอลและการจับตัวกับไขมัน

โมเลกุล ไคโตแซนทำหน้าที่เสมือนคนกวาดถนนในระบบย่อยอาหาร (Digestive system) โดยจะเข้าจับกับไขมันที่มีมากเกินไปซึ่งอยู่ในกระเพาะอาหาร

2.3.3.2. ยับยั้งการไม่ทนต่อน้ำตาลแลคโตส

ภาวะการไม่ทนต่อน้ำตาลแลคโตสเป็นปัญหาที่เกิดขึ้นเป็นประจำของประชากรโดยทั่วไป โดยเฉพาะวัยผู้ใหญ่ในออฟริกา เอเชีย ลาตินอเมริกาและสหราชอาณาจักร ประชากรส่วนใหญ่ไม่สามารถย่อยผลิตภัณฑ์นมได้ ปัญหานี้สามารถกำจัดได้ด้วยการเติมสารอนุพันธ์ไคตินคือ อัลทิล-เอ็น-อะเซทิล-ดี-กลูโคซามีน ไกลโคไซด์ (Alkyl-N-acetyl-D-glucosamine glycoside)

2.3.3.3. การผลิตสารปรุงรสและสารแต่งกลิ่น

ไคตินที่ถูกทำให้เป็นโมเลกุลเล็กๆจะเรียกว่า ไมโครคริสทอลล์ไคติน (Microcrystalline chitin) จะมีคุณสมบัติเป็นสารปรุงรสอาหาร (food additive) ไคตินที่ไม่ถูกทำให้เป็นโมเลกุลเล็กๆจะไม่สามารถละลายน้ำหรือกระจายตัวในได้ ไคตินจะกระจายตัวก็ต่อเมื่ออยู่ในสารละลายซึ่งละลายได้เพียงเล็กน้อย แต่ไมโครคริสทอลล์ไคตินเมื่อถูกความร้อนจากการหุงต้มจะฟอร์มตัวเป็นไพราซีน (Pyrazine) ซึ่งใช้ปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหารประเภทขงและอาหารต่างๆ

2.3.3.4. เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ

2.3.3.5. เป็นส่วนประกอบในอาหาร

ไคติน ไมโครคริสทอลล์ไคตินและไคโตแซนล้วนมีปริมาณน้ำสูงกว่าไมโครคริสทอลล์ไคตินเซลลูโลส สารเหล่านี้สามารถทำให้เกิดไขมันและสร้างอิมัลชัน ไคโตแซนสามารถควบคุมเนื้อสัมผัสของอาหารและสามารถฟอร์มตัวเป็นเจลเพื่อเปลี่ยนแปลงความหนืดของอาหาร

2.3.3.6. เป็นตัวพาในอาหาร

2.3.3.7. สารกันเสีย

N-carboxymethyl chitosan ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคโตแซนสามารถยับยั้งการเกิดกลิ่นอับในเนื้อสัตว์ได้ การปิดอายุการเก็บเนื้อสัตว์นี้จะเกิดจากการผ่านการทำอาหารและการให้ความเย็นซ้ำหลายครั้ง ไคโตแซนและสารอนุพันธ์สามารถปกป้องอาหารเหล่านี้ได้แก่ อาหารหมักดอง ปลาเค็ม ผักสด แป้งหรือเส้นบะหมี่ บางครั้งไคโตแซนจะใช้ร่วมกับสารประกอบปฏิชีวนะดูดซับโลหะและกรดอินทรีย์

2.3.3.8. สารให้ความหวาน

ไคตินสามารถถูกไฮโดรไลต์เป็น N-acetyl-D-glucosamine ได้ด้วยกรดและจากนั้นด้วยเอนไซม์ไคตินเนสและไคโตบีเอสผลจากการผสมสามารถทำให้บริสุทธิ์ด้วยสารคาร์บอนกัมมันต์

และเครื่อง ion exchange resin ไปเป็นสาร N-acetyl-D-glucosamine เพื่อใช้เป็นสารให้ความหวาน โคตินหรือโคโตแซนสามารถเติมลงในสารให้ความหวาน เพื่อควบคุมพีเอชเป็นการป้องกันฟันผุ

2.3.3.9. การผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยว (Single - cell protein)

สารที่ได้จากการไฮโดรไลต์ เอนไซม์ (Enzymatic hydrolysate) สามารถถูกเปลี่ยนเป็นโปรตีนเซลล์เดี่ยวได้

2.3.3.10. การบรรจุอาหาร

โคโตแซนมี 2 ลักษณะ ซึ่งเป็นที่ต้องการของอุตสาหกรรมคือ สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ (Biodegradability) และสามารถซึมผ่านออกซิเจนได้ดี (Low Oxygen permeability) ในทางพันธุวิศวกรรม การผลิตโคโตแซนจากราสามารถนำมารับประทานได้ เมื่อปรับน้ำหนักโมเลกุลตามต้องการแล้ว

ในทางกลับกัน โคโตแซนสามารถนำมาใช้เป็นสารปฏิชีวนะหรือสารต้านเชื้อราสำหรับใช้ในการสังเคราะห์แผ่นฟิล์มสังเคราะห์ โคโตแซนสามารถนำมาใช้ผลิตเป็นผงและโรยลงบนแผ่นหรือทำเป็นสารละลายแล้วฉีดผ่านลงบนแผ่นฟิล์ม

โคโตแซนยังมีศักยภาพ ในการเป็นสารเคลือบผลไม้เรียก สาร N , O-carboxymethyl chitosan (NOCC) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์จะทำปฏิกิริยากับกรด โมโนคลอโรแอซติก แล้วจะฟอร์มฟิล์มที่แข็งแรงซึ่งมีคุณสมบัติเลือกผ่านก๊าซ เช่น ก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์

2.3.3.11. การผลิตเครื่องดื่ม

องค์กรคุ้มครองสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกาได้แสดงผลการทดลองระดับนำร่อง (Pilot-scale) โดยนำโคโตแซนไปผลิตเป็นของเหลวที่กินได้ปริมาณ 10 มก./ลิตร โคโตแซนจะซึมซับโลหะ ขางาแมลงและมวลสารอื่นๆที่ปะปนมากับน้ำและสามารถลดความขมและทำเป็นน้ำผลไม้ได้อีกด้วย กลุ่มฟองที่ประกอบด้วยโคโตแซนสามารถเพิ่มประสิทธิภาพแก่กระบวนการทำให้ใส (Clarifying) ในเครื่องดื่มได้อีกด้วย

2.3.4. ด้านการแพทย์

โคตินและโคโตแซนมีประโยชน์อย่างมากทางการแพทย์ ที่สำคัญที่สุดก็คือการรักษาบาดแผล การปลูกถ่ายอวัยวะ ขาลดไขมันและคอเลสเตอรอลและอื่นๆ

2.3.4.1. รอยเย็บบาดแผลจากการผ่าตัด

รัฐบาลญี่ปุ่น ได้ยื่นข้อผลของการรักษาแผลผ่าตัดด้วยโคติน ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองและยังสามารถคงสภาพได้ในของเหลวที่หลั่งออกมาจากร่างกายซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างอ่อนๆ จากสาลีเล็กและท่อปัสสาวะ คอลลาเจนจะถูกสังเคราะห์ขึ้นรอบๆบาดแผลอย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4.2. การตกแต่งบาดแผล

เส้นไหมไคตินสามารถนำมาถักทอเป็นแผ่น เพื่อนำมาใช้ตกแต่งบาดแผล ทำหน้าที่เร่งการสมานแผลและลดความเจ็บปวด แผ่นไคโตแซนนี้ไม่ละลายโดยง่ายจากของเหลวจากร่างกาย ซึ่งต่างจากผิวหนังที่ซึม แผ่นไคตินสามารถนำมาใช้ตกแต่งบาดแผลที่เกิดที่ใบหน้าและตำแหน่งที่มีการปลุกถ่ายอวัยวะ

2.3.4.3. ยาฆ่าเชื้อรักษาแผล

2.3.4.4. สารห้ามเลือด

ไคโตแซนทำหน้าที่เป็นสารห้ามเลือด เมื่อขาดตัวห้ามเลือด (Clotting factor) ซึ่งทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงที่ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือด นอกจากนี้ไคโตแซนยังสามารถซึมเข้าเส้นเลือดเพื่อทำให้เลือดแข็งตัวได้ เนื่องจากการสร้างเม็ดเลือดโดยตัวห้ามเลือดถูกปิดกั้นไว้

2.3.4.5 การรักษาทางทันตกรรม

ไคตินมีผลกระทบต่อการทำงานของเนื้อเยื่อที่เคลือบบนตัวฟันที่อยู่ใกล้เหงือก การทดลองในชั้นเนื้อจากกรากฟันของมนุษย์พบว่า อนุพันธ์ของไคตินที่ละลายน้ำได้สามารถเกิดการงอกของเซลล์เพอริโอสตีตัมได้

2.3.4.6 สารจับกับไขมันและสารด้านการสร้างคอเลสเตอรอล

ไคโตแซนทำหน้าที่เป็นตัวย่อยสลายไขมัน โดยจะจับกับไขมันที่เกาะปะอาหารซึ่งมากเกินไป และตกตะกอนที่พิเศษในลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม ดังนั้นไคโตแซนจึงทำหน้าที่ดักจับทั้งไขมันและคอเลสเตอรอล

2.3.4.7 การปลุกถ่ายเซลล์

2.3.4.8 การบำรุงผิว

ผู้เชี่ยวชาญด้านผิวหนังได้ทำการรักษาโดยใช้สารละลายไคโตแซน 1-2% ในกรดแอสซิติค 1-2% ไคโตแซนมีประสิทธิภาพในการบำบัดโรคเอทเลทส์ ฟูดในมนุษย์ ถ้ามีการฟอรัมตัวเป็นไคโตแซนแอสซิติคซึ่งอยู่ในลักษณะแผ่นฟิล์ม

2.3.4.9 สารต้านมะเร็ง

โมเลกุลของไคโตแซนสามารถถูกนำมาใช้เพียงลำพังหรือใช้ร่วมกับยาป้องกันการเกิดเนื้องอกบลิโอมัยซิน (Bleomycin) เพื่อรักษาเนื้องอก โมเลกุลของไคตินและไคโตแซนมีผลต่อสารด้านการเกิดเนื้องอก (Synergistic antitumor) เพื่อเป็นการลดปริมาณยาบลิโอมัยซิน แต่ยานี้มีผลข้างเคียงเนื่องจากมีส่วนประกอบที่ละลายน้ำได้

2.3.4.10. ช่วยการทำงานของระบบย่อยอาหาร

อนุพันธ์ของ ไคโตแซน สาร N-acetyl-D-glucosamine จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bifidobacteria* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ช่วยย่อยอาหาร เมแทบอลิซึมสังเคราะห์ของโปรตีน และช่วยสังเคราะห์วิตามินในลำไส้เล็ก

2.3.5 การตรึงเซลล์และการเพาะเลี้ยงเซลล์

ไคโตแซนมีประสิทธิภาพในการตรึงเอนไซม์ (Immobilization) ในการตรึงเซลล์แบบเอนแคปซูลชัน (Encapsulation) และเอนแทรมเมนต์ (Entrapment) เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นตัวส่งเสริมการสังเคราะห์สารอินทรีย์และการตรึงตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นโลหะ (Metal catalyst)

2.3.5.1. การตรึงเซลล์ (Enzyme immobilization)

ความสามารถของ ไคโตแซน ในการดูดซับ โปรตีนเป็นประโยชน์ในการตรึงเอนไซม์ หมู่มินที่ว่องไวสูงของโมเลกุลทำให้มันสามารถเชื่อมต่อกับเอนไซม์ ไคโตแซนเม็ด (Chitosan bead) ใช้ในการตรึงเอนไซม์สร้างขึ้นโดยการละลายไคโตแซนในตัวทำละลาย เช่น กรดแอสซิติคเจือจาง และหดยาสารที่ทำให้เกิดตะกอน เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิห้อง

2.3.5.2. การเพาะเลี้ยงเซลล์พืช

เม็ดแคปซูลเจลที่ทำมาจากส่วนผสมของไคโตแซนกับพอลิเมอร์ตัวอื่น เช่น แอลจิเนต สามารถดักเซลล์พืชในการเลี้ยงเซลล์ได้เพื่อป้องกันแรงเฉือน ไคโตแซนเพิ่มความสามารถนำสารในกระบวนการสร้างและสลาย (metabolite) จากพืชออกมาได้ ช่วยในการผลิตสารชนิดต่างๆ เช่น ไข (wax) กัม (gum) เม็ดสี (pigment) น้ำหอม (fragrance)

2.3.5.3. ส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3.5.4. การตรึงตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นโลหะ

2.3.6. การบำบัดกากของเสียและน้ำเสีย

คุณสมบัติในการเกิดตะกอน (Flocculation) และการจับกับโลหะของไคโตแซน จะเป็นประโยชน์ในการบำบัดน้ำดื่ม ระบายน้ำและบ่อน้ำแร่ รวมทั้งน้ำเสียชนิดต่างๆ

2.3.6.1. การบำบัดน้ำดื่ม

การนำไคโตแซน (รวมทั้งอนุพันธ์) เข้ากับ Activated carbon สามารถทำให้น้ำดื่มบริสุทธิ์ได้ ไคโตแซนมีหน้าที่ 2 ประการคือ กำจัดสารประกอบอินทรีย์ เช่น o-dichlorobenzene และกำจัดโลหะหนัก เช่น ตะกั่วปรอท แคดเมียมและสังกะสีได้ สำหรับตะกั่วถือเป็นปัญหาที่เกิด

ขึ้นเป็นประจำ สำหรับระบบสูบน้ำในชุมชน ต้องกำจัดให้ปริมาณต่ำกว่า 10 ppb จึงถือว่าอยู่ในระดับปลอดภัยที่กำหนดไว้

2.3.6.2. การบำบัดน้ำในสระว่ายน้ำและบ่อน้ำแร่

โคโคแซนและอนุพันธ์ สามารถตกตะกอนได้เช่น น้ำมัน สบู่ สิ่งสกปรก ผู้คนที่ปะปนอยู่ในน้ำ ทำให้น้ำในสระว่ายน้ำ บ่อน้ำแร่ บ่อน้ำร้อน น้ำพุ ทะเลสาบและแหล่งน้ำใสขึ้น

2.3.6.3. การบำบัดกากของเสียประเภทอาหาร

โคโคแซนจะจับกับอนุภาคที่เป็นคอลลอยด์ ซึ่งแพร่กระจายอยู่ในน้ำเสียโดยจะดึงโปรตีนกลับคืนมาเพื่อใช้ผลิตอาหารสัตว์ กระบวนการกู้เอาโปรตีนกลับมาจะใช้วิธีการฉีดสารละลายโคโคแซน 0.25-1.0% ลงในน้ำเสีย กลุ่มตะกอนโปรตีน ประกอบด้วยโคโคแซน 0.5-8.0% และโปรตีน 30-70 % (น้ำหนักแห้ง)

2.4 ชีวสังเคราะห์ที่โคตินและโคโคแซนในรา (ที่มา : Skjak-Braek และคณะ, 1989)

2.4.1 ชีวกำเนิดของเวซิกเคิลและผนังเซลล์

ในราเช่นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต เวซิกเคิล (vesicle) ที่อยู่ในไซโทพลาซิมมีบทบาทสำคัญในการเจริญของผนังเซลล์ เวซิกเคิลนำสารผิวเซลล์ (precursor ผลิตภัณฑ์ เอนไซม์) ที่จำเป็นต่อการสร้างผนังเซลล์ การศึกษาบนโครงสร้างในราเพื่อดูการสะสมของเวซิกเคิลที่อยู่ในไซโทพลาซิมข้างในบริเวณปลายของการเจริญของเส้นใยและพบว่ามีความเกี่ยวพันกันอย่างแน่นชัดกับเวซิกเคิลเหล่านี้เสมือนเป็นออร์แกเนลล์สำคัญของการเจริญของผนังเซลล์ การศึกษาดูการดำรงอยู่ของ 2 เวซิกเคิลซึ่งมีขนาดแตกต่างกันคือ แมโครเวซิกเคิลและไมโครเวซิกเคิล ปัจจุบันมีความชัดเจนขึ้นพบว่า 2 เวซิกเคิลทำหน้าที่ต่างกันหน้าที่เฉพาะของเวซิกเคิลเหล่านี้แสดงอย่างย่อๆดังตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 แสดงเวสิเคิลที่เกี่ยวข้อง ในการสร้างผนังเซลล์ในรา^a

ลักษณะ	เมโครเวสิเคิล	ไมโครเวสิเคิล
ชื่อเฉพาะ	Apical vesicle Wall vesicle Secretory vesicle	ไคโทโซม
ขนาด	มากกว่า 100 นาโนเมตร ^b	น้อยกว่า 100 นาโนเมตร
ส่วนประกอบ	ก่อนฟอร์มตัวเป็นพอลิเมอร์	Zymogen
การสังเคราะห์พอลิเมอร์	พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่เป็นเส้นใย, ไกลโคโปรตีน	เส้นใยพอลิแซ็กคาไรด์ขนาดเล็ก (ไคติน)
แหล่งสังเคราะห์	ในทางตลอดไซโทพลาซึม	ใน <i>Sinu</i> ที่พลาสมาเมมเบรน หรือระหว่างผนังเซลล์

^b ตารางประกอบข้อมูลคุณสมบัติเวสิเคิลจำกัด ; กล่าวถึงการทดลองอย่างกว้างๆ

^a ขนาดเวสิเคิลที่วัดได้ใน electron micrograph เตรียมได้โดยการตรึงทางเคมีธรรมดา การตรึงเซลล์โดยการผ่านการแช่แข็ง ขนาดของเมโครเวสิเคิลเป็นถึง ๆ หนึ่งที่มีขนาดเล็กกว่า

การแบ่งงานอย่างชัดเจนในการสร้างเวสิเคิลที่ผนังรา พอลิเมอร์และเอนไซม์ซึ่งประกอบด้วยระยะที่ยังไม่มีรูปร่างของผนังอยู่ที่ลับในไมโครเวสิเคิล ด้วยเหตุนี้เอนไซม์ซึ่งใช้ทำโครงสร้างจุลเส้นใยไคติน(microfibrillar chitin)ของผนังร่าส่วนมากคือ chitin synthetase ใช้บรรยายการแยกในไมโครเวสิเคิล ไมโครเวสิเคิลเหล่านี้เรียกว่าไคโทโซม ถูกแยกให้อยู่ในรูปบริสุทธิ์และวิเคราะห์อย่างคร่าวๆ เมโครเวสิเคิลยังมีลักษณะพิเศษที่ดี บางทีอาจเป็นเพราะว่าเต็มไปด้วยการขาดแคลนของประสิทธิภาพวิธีการแยกพวกมันออกจากโครงสร้างเวสิเคิลอื่น ๆ ที่มีอยู่ใน cell homogenates

เหตุผลหลักสำหรับว่ามีเวสิเคิล 2 รูปแบบ ซึ่งเกี่ยวข้องในการเจริญของผนังในความต้องการชีวสังเคราะห์ทั้งหมดที่แตกต่างกันซึ่งอาจจะพบการผลิตส่วนประกอบโครงสร้าง 2 ส่วนที่แตกต่างกันอย่างมากของผนังราชื่ออันแรกคือ แม่แบบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่เส้นใย (nonfibrillar matrix polysaccharide) จุลเส้นใยไม่ถูกทำในไซโทพลาซึมแต่ถูกประกอบกันใน *Sinu* ที่หรือใกล้เคียงผนัง/ระหว่างผิวเมมเบรน ด้วยเหตุที่ส่วนประกอบผนังที่ไม่ใช่เส้นใย ตัวอย่างเช่น ไกลโคโปรตีนถูกสังเคราะห์ภายในระหว่างกระบวนการของ endomembrane ต่างๆ(endoplasmic reticulum \Rightarrow Golgi apparatus หรือ equivalent \Rightarrow vesicle)ปลดปล่อยเข้าไปในผนัง ดังนั้นส่วนประกอบพื้นฐานที่แตกต่างกัน 2 รูปแบบสำหรับการสร้างถูกส่งให้เซลล์ผิวหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) ก่อนเกิดพอลิเมอร์ (พอลิแซ็กคาไรด์หรือไกลโคโปรตีน) นำเข้าไปในลูเมน(lumen) ของไมโครเวซิเคิล

2) เอนไซม์(chitin synthetase zymogen) ถูกส่งไปในไมโครเวซิเคิล

มีคำถามเกิดขึ้นว่าทำไมส่วนประกอบทั้งสองไม่สามารถส่งให้เวซิเคิลที่เหมือนกัน บางทีมีการทำกับกลไกชั่วคราวสำหรับควบคุม microfibril-forming enzyme นำเป็นไปได้เกี่ยวกับการควบคุมให้เกิดผลสำเร็จในรา โดยการสร้าง chitin synthetase คล้าย inactive zymogen ซึ่งแบ่งแยกในช่องว่างเฉพาะจากเวซิเคิลนำเอาเอนไซม์โปรตีเอสในลักษณะนี้และแม้ว่ามีสับสเตรทไคติโนอย่างสมบูรณ์(UDP-GlcNAc)ในไซโทซอลไคติโซม(cytosol chitosome)อย่างระมัดระวังไปที่ผิวเซลล์ที่ซึ่ง periplasmic protease ก่อนโดยเมโครเวซิเคิล ทำให้zymogen เคลื่อนไหวอยู่เสมอ

2.4.2 ไคติโซมและการสังเคราะห์ไคติโน

ก่อนศึกษาแหล่ง subcellular ของ chitin synthetase นำไปสู่การค้นพบไคติโซม โดยเฉพาะไมโครเวซิเคิล ไว้ใจกับการระมัดระวังการผ่านของ chitin synthetase ตลอดไซโทพลาซึมและอริบยาออร์แกเนลล์ที่ประกอบกันอย่างหนาแน่นของ chitin synthetase subunit ไปถึงบริเวณผิวหน้าซึ่งเป็นสังเคราะห์ผนัง การหาตัวหลักและการสรุปเกี่ยวกับไคติโซมอย่างย่อๆดังนี้

2.4.2.1 ส่วนหลักของ chitin synthetase ในเซลล์ราอยู่ในไซโทพลาซึมในรูปของไมโครเวซิเคิล (ไคติโซม) ถึงแม้ว่าพลาสมาเมมเบรนโดยทั่วไปเชื่อว่าเป็นที่ตั้งหลักสำหรับ chitin synthetase ใน *Saccharomyces cerevisiae* หลักฐานเมื่อเร็วๆนี้กับวิธีการดำเนินการส่วนย่อยๆ พบว่า 45-65% ของเอนไซม์มีอยู่ในไคติโซมและส่วนที่เหลืออยู่ในพลาสมาเมมเบรนอาจเป็นจุดปลายที่ไกลออกไปสำหรับ chitosomal chitin synthetase ถูกหีบขึ้นมาพิจารณาก่อนแต่หลักฐานที่ได้มายังไม่เข้มแข็ง ในกรณีอื่นไคติโซมแทนการสะสมหลักของ chitin synthetase ภายในเซลล์รอช่วยอยู่ที่ผิวเซลล์

2.4.2.2 ไคติโซมเป็น subcellular organelle ที่ไม่มีเหมือน พวกมันอยู่ระหว่างโครงสร้างเวซิเคิลที่เล็กที่สุด (เส้นผ่านศูนย์กลาง 40-70 นาโนเมตร) อยู่ใน cell homogenate และพวกมันมีความหนาแน่นของการลอยตัวต่ำกว่าเวซิเคิลของโครงสร้างเมมเบรนอื่นๆเพราะว่าลักษณะที่ไม่มีเหมือนเหล่านี้ ไคติโซมของ *Mucor rouxii* สามารถแยกได้จากส่วนประกอบเฉพาะ ส่วนมากการสกัดเซลล์อิสระอย่างหยาบๆโดยอาศัยความเร็วหรือการตกตะกอน isopycnic ใน sucrose density gradient การปรับปรุงการเตรียมวิธีการทำให้ไคติโซมตัวอย่างมีความบริสุทธิ์หรืออยู่ในระดับสูง

2.4.2.3 ปัจจุบันทราบเพียงหน้าที่ของไคโทโซมว่าเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไคติน ไคโทโซมขาดแคลนเอนไซม์ รวมถึงรูปแบบที่หลากหลายของเปออร์แกเนลล์รา (ATPase , mannosyl transferase , glucan synthetase , glucuronosyl transferase , succinic dehydrogenase , cytochrome C reductase , mannosidase , chitinase , protease)

2.4.2.4 chitin synthetase มีอยู่ในไคโทโซมในรูป zymogenic ซึ่งต้องการ proteolysis จำกัดสำหรับการเคลื่อนไหวยู่เสมอ Zymogenicity การสังเคราะห์หน่วยไคตินซ้ำๆกันจนกระทั่งไคโทโซมมาถึงปลายทาง

2.4.2.5 เปลือกหรือเมมเบรนของไคโทโซมถูกสร้างโดย chitin synthetase เริงซ้อน(16 subunit ; ca 500,000 คาลตัน) ซึ่งพอที่จะแยกออกได้ด้วยดิจิโทนิน(digitonin) การสูญเสียกิจกรรมเอนไซม์ไปส่วนน้อยบ่อยครั้ง chitosome subunit มีความสามารถภายในสำหรับการประกอบตัวเองในโครงสร้างเวซิกเคิล

2.4.2.6 เมื่อบ่มในหลอดทดลองกับสับสเตรท (UDP-GLcNAc)และตัวกระตุ้น(N-acetyl-D-glucosamine และ protease) ไคโทโซมสังเคราะห์จุลเส้นใยขนาดยาว แต่ละchitosome subunit สังเคราะห์ไคตินและการรวบรวมระหว่างเกิดผลึกสายโซ่อย่างรวดเร็วในจุลเส้นใยขนาดยาว การสังเคราะห์ของจุลเส้นใยไคตินเป็นกระบวนการอย่างผิวเผิน UDP-GLcNAc ถูกนำมาจากด้านนอกและไคตินถูกวางลงในลูเมนของไคโทโซมที่ซึ่งบางครั้งมันสามารถพบการขาดของเส้นใยขนาดเล็กหรือเส้นใยสังเคราะห์ข้างใน โดยเฉพาะไคโทโซมที่แตกแยก เส้นใยสังเคราะห์ปกติแสดงความต่อเนื่องของความยาวของจุลเส้นใยแผ่ขยายออกไป

2.4.2.7 ทั้งไคตินที่สร้างโดยไคโทโซมและโดยการแยก 16S subunit เป็น α -chitin อย่างไรก็ดี ตาม ส่วนหลักๆมีความแตกต่างในด้านลักษณะภายนอก ด้วยเหตุที่ไคโทโซมผลิตจุลเส้นใยขนาดยาวทันทัน ในตัวอย่างลักษณะที่โดดเด่นของเส้นใยขนาดเล็กที่พบในผนังถ้ำกำเนิด ไคตินที่สร้างจาก 16S subunit อยู่ในรูปของเข็มสั้นๆ ศูนย์กลางการควบคุมของ chitin synthetase subunit ในไมโครเวซิกเคิลอาจกำหนดให้จุลเส้นใยขนาดยาวประกอบกันได้ง่าย

2.4.2.8 การที่มีไคโทโซมอยู่เสมือนการเคลื่อนที่อย่างไม่ต่อเนื่องของห่อ zymogenic chitin synthetase ในไซโทพลาซึม ไคโทโซมได้ให้ความสนใจเกี่ยวกับสารสร้างอย่างคร่าวๆและที่ว่างเกี่ยวกับการควบคุมการสังเคราะห์ไคติน ไคโทโซมเป็นที่รู้จักกันเหมือนเวซิกเคิลอื่นๆ พื้นที่เป้าหมายบนผิวเซลล์สามารถจัดตั้งบริเวณต่างๆกันและเกรตียนต์ของการสังเคราะห์ผนังไม่เพียงเกิดในรูปแบบ apical ของลักษณะการเจริญอื่นๆจำเป็นต้องแยกลักษณะทางกายภาพออกเป็นต่างๆของราแต่ละชนิด

2.4.3 การสังเคราะห์ไคโตแซน

Araki และ Ito (1975) ได้เสนอความเห็นเห็นว่าไคโตแซนราเกิดจากไคตินโดยเอนไซม์คืออะเซทิล แต่หลักฐานนี้เป็นการสรุปบางอย่าง ตั้งแต่การละลาย deacetylase ที่พวกเขาแยกได้จากรา *Mucor rouxii* เป็นเพียงผลต่อต้านการละลาย สับสเตรทเทียม ไกลคอลไคติน (glycol chitin) และทางความเป็นจริงไม่มีผลต่อต้านไคตินแท้ ดังนั้นการสังเคราะห์ไคโตแซนในหลอดทดลองที่ทำการศึกษายังไม่บรรลุผลสำเร็จ

การค้นหอย่างกว้างๆ สำหรับวิธีอิสระเกี่ยวกับการสังเคราะห์ไคโตแซน โดยผ่าน polymerization โดยตรงของ unacetyled glucosamine residue จาก UDP-GlcNAc (ยูรีดีนไดฟอสเฟต-ดี-กลูโคซามีน) ในการพิสูจน์ยังไม่เป็นผล แต่ความเป็นจริงแล้วไคตินแท้จากแหล่งต่างๆ ไม่เป็นสับสเตรทที่ดีสำหรับเอนไซม์คืออะเซทิล หลักฐานทางอ้อมบอกได้ว่าไคโตแซนเป็นอนุพันธ์จาก UDP-GlcNAc; สับสเตรทสำหรับการสังเคราะห์ไคติน เรื่องที่เข้าใจยากได้ถูกแก้ไขได้เมื่อ David และ Barknicki-Garcia (1984) ค้นพบว่าเอนไซม์ deacetylase โดย Araki และ Ito (1975) เป็นความสามารถประสิทธิภาพการดึงหมู่อะเซทิลออกจากไคตินที่ได้จากสภาวะที่สำคัญ พบว่า deacetylase ขอมกระทำในสายโซ่ไคตินเหมือนให้พวกมันรวมตัวกันขึ้น ตัวอย่างเช่นการกระตุ้นและการกระทำของ chitin synthetase และ chitin deacetylase เป็นที่ต้องการสำหรับการสังเคราะห์ไคโตแซน เป็นที่ปรากฏอย่างแน่ชัดว่าเอนไซม์ 2 ชนิดกระทำในลักษณะตามกัน การต่อ 1 หน่วย GlcNAc จาก UDP-GlcNAc เคลื่อนย้ายอะเซทิลระหว่างเกิดสายโซ่

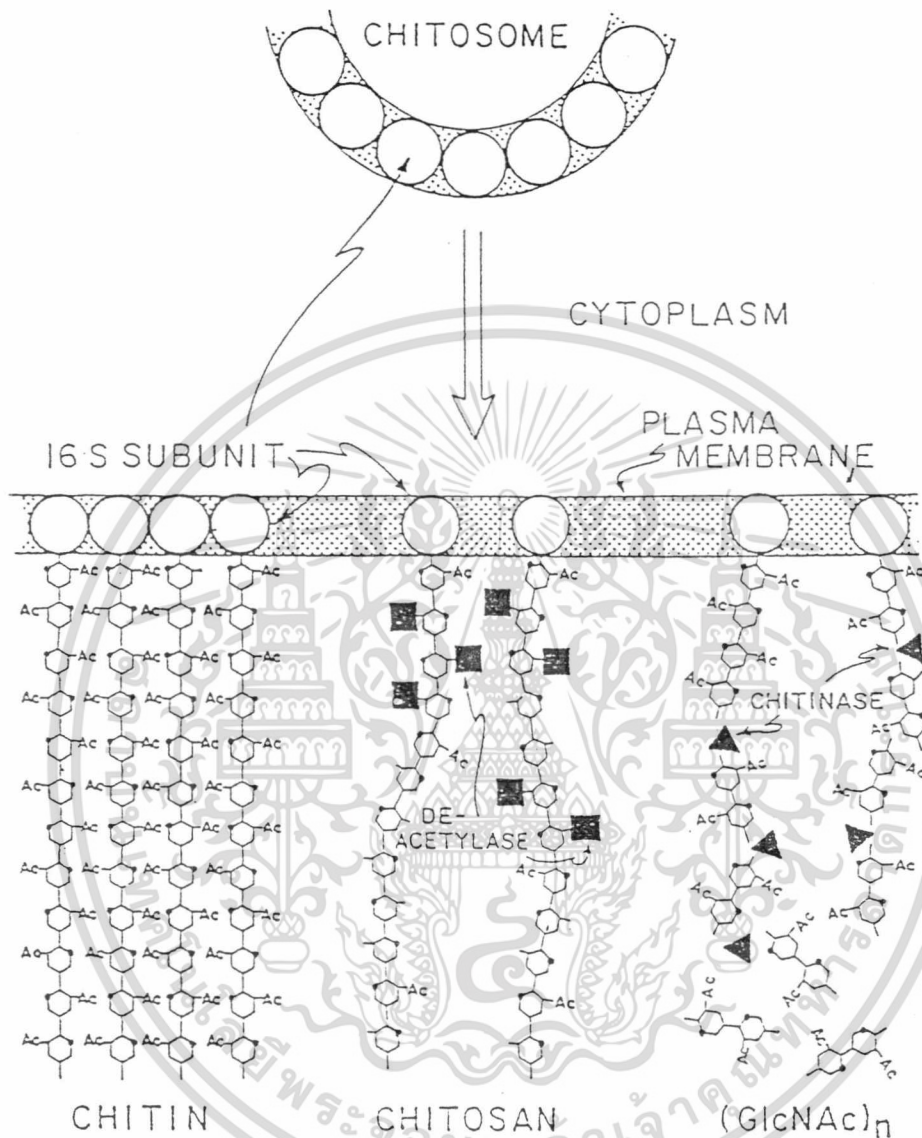
ตารางที่ 2-4 แสดงการสังเคราะห์ไคโตแซนโดย chitin synthetase และ chitin deacetylase

เอนไซม์	การสังเคราะห์ไคโตแซน (นาโนโมลต่อนาที)	การสังเคราะห์ไคติน (นาโนโมลต่อนาที)
chitin deacetylase	0.000	0.001
chitin synthetase	0.003	0.293
chitin synthetase+ chitin deacetylase	0.197	0.026

การสังเคราะห์ไคโตแซนและไคตินวัดเป็นนาโนโมลของการปลดปล่อยอะเซทิลและเกิดพอลิเมอร์ของ GlcNAc ตามลำดับในสารผสมบ่มที่ประกอบด้วย UDP-[Ac-¹⁴C]GlcNAc ที่ติดฉลาก

การสังเคราะห์ไคโตแซนจาก UDP-GLcNAc โดยการทำงานที่เชื่อมโยงกันของ chitin synthetase และ chitin deacetylase แสดงดังตารางที่ 2 เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดไม่เร่งการสังเคราะห์ไคโตแซนเดี่ยวๆ การรวมหลักฐานว่าไคตินเป็น precursor ของไคโตแซนได้โดยการเติมเอนไซม์ไคตินเนสลงไปในไคโตแซน วิเคราะห์สารผสมที่มีไคตินอยู่เป็นเหตุให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์ไคโตแซนอย่างแรง เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าภายใต้สภาวะการทดสอบไคตินนั้นมีผลต่อการแข่งขันมากกว่า deacetylase สำหรับสับสเตรทที่เหมือนกัน: ไคติน Calvo-Mendez และ Ruiz-Herrera (1987) ได้ยืนยันว่าทั้ง chitin synthetase และ deacetylase เป็นที่ต้องการสำหรับการสังเคราะห์ไคโตแซนใน *Mucor rouxii* พวกเขาพบ deacetylase ทั้งสองในส่วนที่ละลายและในส่วนเมมเบรน และคาดคะเนว่าขอบเขตเมมเบรน deacetylase เริ่มต้นกระบวนการตั้งหมูอะเซทิล เกิดขึ้นในช่องว่างเพอริพลาสมิกโดย deacetylase ที่ละลายได้ ตัวอย่างที่อธิบายเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นของ deacetylase จะเห็นว่าขอบเขตเมมเบรน deacetylase เป็นเอนไซม์ที่ละลายน้ำได้มีอยู่ในลูเมนของ secretory vesicle ของเหลวที่หลั่งออกจากต่อมปลดปล่อยเอนไซม์จะนำเข้าไปในกระบวนการตั้งหมูอะเซทิลใน *situ*

การทดลองเปรียบเทียบกิจกรรมของ chitin deacetylase ในระหว่างเกิดกับก่อนเกิดไคติน พิสูจน์ให้เห็นได้ว่าการตั้งหมูอะเซทิลระหว่างการเกิดไคตินให้กิจกรรมที่เร็วกว่าก่อนเกิดไคตินมาก ผลเหล่านี้อธิบายได้ว่าทำไม deacetylase ไม่เป็นผลต่อต้าน *bona fide* chitin การเกิดไคตินเป็นสายผลิตภัณฑ์ขนาดใหญ่เป็นการประกอบกันของสายโซ่ไคตินรวมกันอย่างหนาแน่นเฉพาะตัวกับผลิตภัณฑ์อื่นๆ ตลอดจนการแผ่ขยายของพันธะไฮโดรเจน chitin deacetylase ไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปในโครงสร้างผลึกของก่อนเกิดและหมูอะเซทิล 2-3 หมูเข้าใกล้ deacetylase ได้ง่าย chitin deacetylase อาจแสดงในระหว่างการเกิดสายโซ่ไคตินก่อนที่เป็นผลึกในรูปเส้นใย

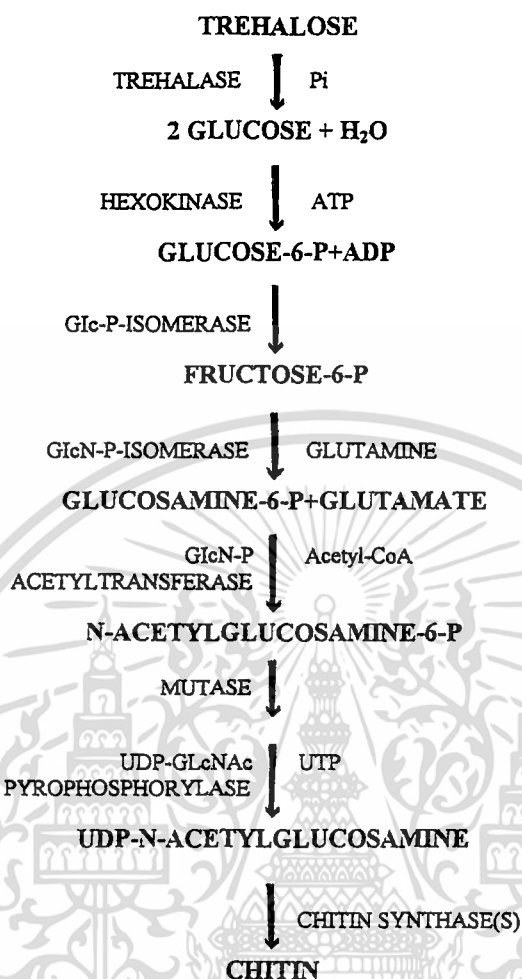


รูปที่ 2-4 โมเดลแสดงที่ว่างการควบคุมของชีวสังเคราะห์ไคตินและไคโตแซนและการสังเคราะห์ไคตินในลักษณะต่างๆกัน 3 ลักษณะที่ผิวเซลล์ของ *Mucor rouxii* ซ้าย : จุลเส้นใยไคตินผลิตโดยการประกอบกันอย่างหนาแน่นของหน่วยย่อยไคโทโซม 16S การเกิดผลึกอย่างรวดเร็วจะป้องกันการเข้ากระทำของ deacetylase หรือ ไคตินเอส กลาง : สายโซ่ไคตินอิสระผลิตโดยการแยกหน่วยย่อยไคโทโซมออกจากกันจะมีความไวสูงต่อการดั่งหมู่เอเรทิล ขวา : สายโซ่อิสระจะมีความไวคล้ายกันกับการย่อยสลายโดยไคตินเอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งแต่ไคตินและไคโตแซนถูกกระทำจากสับสเตรทที่เหมือนกัน(UDP-DLcNAc)และโดย เอนไซม์พอลิเมอไรส์ที่เหมือนกัน(chitin synthetase) พบว่าการคั่งหมูอะเซทิลอาจจะควบคุมเป็น ลำดับขั้นสำหรับการพิจารณาสัดส่วนของไคตินต่อไคโตแซน ที่เกิดขึ้นโดย *Mucor rouxii* เกิดคำถามการก่อกวนของกระบวนการคั่งหมูอะเซทิลจะควบคุมในธรรมชาติได้อย่างไร เราได้รับความ เข้าใจแจ่มแจ้งในกลไกการควบคุมที่อาจเป็นไปได้ขณะที่การศึกษาผลกระทบของคิจิโทนินในการ สังเคราะห์ไคโตแซน ตั้งแต่การนำคิจิโทนินไปกระตุ้นการสังเคราะห์ไคโตแซนคาดว่าผลการแยก ไคโทโซมออกจากกันทำให้สายโซ่ไคตินกระจายออกไปขณะที่ถูกโจมตีโดย deacetylase ก่อนผลึก จะไปอยู่ในรูปจุลเส้นใย

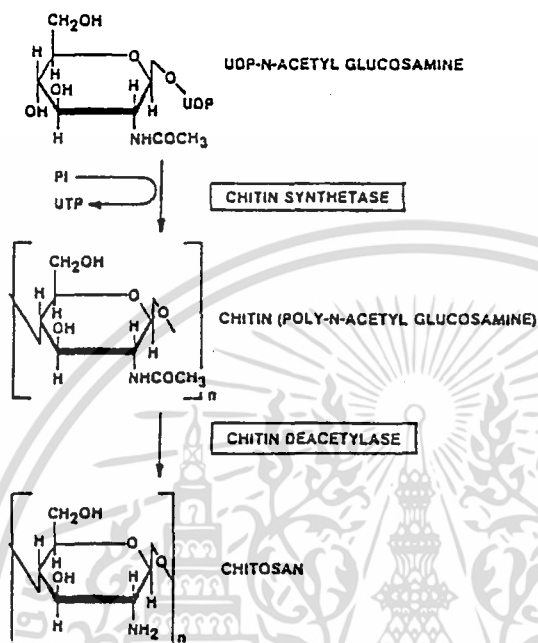
โมเดลเกี่ยวกับที่ว่างการควบคุมของชีวสังเคราะห์ไคตินและไคโตแซน ในธรรมชาติอาจ พิจารณาได้ โดยศูนย์กลางการควบคุมของโมเลกุล chitin synthetase ที่ผิวเซลล์ ดังนั้นโมเลกุล chitin synthetase เหล่านี้ส่งผลให้โดยไคโทโซมซึ่งเหลืออยู่ซ้อนกันอย่างหนาแน่นอาจดูแลเกี่ยวกับการ ผลิตเส้นใยไคติน (รูปที่ 2-4, ซ้าย) การผลิตของสายโซ่ไคติน โดยไคโทโซมเชิงซ้อนอาจ สนับสนุนผลึกอย่างรวดเร็วระหว่างการเกิดสายโซ่ ระยะระหว่างการเกิดเส้นตามด้วย chitin deacetylase เข้าโจมตีสายโซ่ไคติน ส่วนของ chitosomal chitin synthetase อาจกระจายอยู่ใกล้ผิว เซลล์ สายโซ่ไคตินผลิตโดยการกระจายตัวของหน่วยย่อยไคโทโซมเหล่านี้ อาจมีความไวต่อการคั่ง หมูอะเซทิลสูง(รูปที่ 2-4, กลาง) กิจกรรมการย่อยสลายสามารถอธิบายได้ในหลอดทดลองแต่มันมี ความสำคัญในธรรมชาติที่ยังไม่ทราบแน่ชัด ถึงแม้ว่าการกระทำของไคตินเนสและเอนไซม์ไฮโดร ไลติกอื่นๆยังไม่มีการพิสูจน์ที่บอกว่าพวกมันมีการดำเนินบทบาทในการเจริญขั้นแรกของผนัง เซลล์



รูปที่ 2-5 วิธีการสังเคราะห์ไคตินจาก TREHALOSE

ที่มา : Lezica และ Quesada, 1990

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2-6 แสดงการสังเคราะห์ไคโตแซนในรา
ที่มา : Skjak-Braek และคณะ, 1989

2.5 ลักษณะของ *Mucor rouxii*

Division	Eumycota
Sub-division	Zygomycetes
Class	Zygomycetes
Order	Mucorales
Family	Mucoraceae
Genus	<i>Mucor</i>
Species	<i>rouxii</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของ *Mucor rouxii*

Sub-division Zygomycotina

เป็นราพวก ซีโนไซติก (Coenocytic fungi) ซึ่งไม่มีเซลล์ที่ใช้ในการเคลื่อนที่ (flagella) และมีการสร้างสปอร์เรียกไซโกสปอร์ (Zygospor) ซึ่งเป็นสปอร์แบบอาศัยเพศ (Sexual spore) ไซโกสปอร์เกิดจากรวมตัวกันของเซลล์สืบพันธุ์ (Gametes) 2 เซลล์ ลักษณะเด่นของของราในลำดับชั้นนี้คือ ที่ผนังเซลล์ประกอบด้วยไคโตแซน ไคติน (Chitosan Chitin) อยู่แล้วตามธรรมชาติ

Class Zygomycetes

ดำรงชีวิตแบบย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์ (Saprobic) แบบเป็นปรสิต (Parasite) ในกรณีดำรงชีวิตแบบเป็นปรสิตจะมีเส้นใยเจริญแทงทะลุอยู่ภายในเนื้อเยื่อของเหยื่อ (Host)

Order Mucorales

มีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น ราเข็มหมุด (Pin) หรือราน้ำตาล (Sugar fungi) ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์

ความสำคัญทางเศรษฐกิจ

Mucorales ที่ดำรงชีวิตแบบย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์โดยมากมีความสำคัญทางอุตสาหกรรม เช่นกรดอินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ กรดฟูมาริก กรดแลคติก เป็นต้น กรดแลคติกสามารถผลิตได้จากเชื้อราสายพันธุ์ *Rhizopus* sp. ภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ

ทั้ง *Rhizopus* และ *Mucor* ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหมัก ในระยะเริ่มต้น เพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล (ซึ่งในขั้นต่อไปจะขาดเอนไซม์ในการสลายโมเลกุลแป้งให้เป็นน้ำตาล)

Family Mucoraceae

สายพันธุ์ *Mucor* และ *Absidia* เป็นราที่พบได้ตามดิน บางสายพันธุ์ของ *Mucor* พบได้ที่มูลสัตว์

Genus Mucor

จีโนม *Mucor* มีสายพันธุ์ย่อยลงไปอีกถึง 600 สายพันธุ์ เส้นใยมีลักษณะหยาบ อาศัยอยู่ในสภาวะที่น้ำ เส้นใยมีการแตกแขนงมากมาย แผ่นกั้นเซลล์ (septate) ปรากฏเมื่อเส้นใยมีอายุมาก สปอร์จะเกิดขึ้นใกล้ๆกับแผ่นกั้นเซลล์ ในสภาวะอาหารเหลวที่ไม่มีอากาศ (Anaerobic liquid culture) เชื้อ *Mucor* จะหยุดการสร้างเส้นใย และจะหันมาสร้างเซลล์เดี่ยวซึ่งมีลักษณะคล้ายเซลล์ยีสต์ (Yeast-like bodies) มันจะกลับมาสสร้างเส้นใยเมื่ออยู่ในสภาวะมีอากาศ

Mucor rouxii เมื่อนำไปเลี้ยงให้มีรูปร่างคล้ายกับยีสต์จะมีผนังเซลล์หนากว่าเดิมถึง 10 เท่า แต่ในขณะที่เกี่ยวกับการเรียงตัวประสานกันของ microfibrill จะอยู่กันอย่างหลวมๆคล้าย

กับจะแยกเป็นสองชั้นคือชั้นนอกและชั้นใน แต่ละชั้นเรียกว่าลามลลา(lamella)โดยทั่วไปแล้วผนังเซลล์จะมีลามลลาประมาณ 2 ชั้นขึ้นไป และจะมากน้อยเท่าใดขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ

Mucor rouxii ในสถานะที่เป็นเส้นใยและที่มีลักษณะคล้ายยีสต์พบว่าส่วนประกอบของผนังเซลล์จะแตกต่างกันไปดังแสดงในตารางที่ 2-5

ตารางที่ 2-5 แสดงส่วนประกอบทางเคมีของผนังเซลล์เชื้อ *Mucor rouxii* ในสถานะที่มีลักษณะคล้ายยีสต์และเส้นใย

ส่วนประกอบ	% เส้นใย	% yeast like
ไคติน	9.4	8.4
ไคโตแซน	32.7	27.9
Undetermine-zaminosugar	2.4	3.1
fucose	3.8	3.2
mannose	1.6	8.9
galactose	1.6	1.1
carbohydrate อื่นๆ	1.7	0.9
รวม		93.2

ที่มา : พิไลวรรณ, 2525

เหตุผลที่เลือกใช้เชื้อรา *Mucor rouxii* (ที่มา : White และคณะ , 1979)

1. มีไคโตแซนอยู่ที่ผนังเซลล์เป็นจำนวนมาก
2. สามารถสกัดไคโตแซนออกจากผนังเซลล์ได้ง่าย
3. เลี้ยงง่ายบนอาหารธรรมดา
4. เจริญได้อย่างรวดเร็วในสถานะที่มีอากาศ
5. เจริญที่พีเอช 4.0-5.0 ซึ่งยากต่อการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น

ลักษณะทั่วไปของ *Mucor rouxii* (ที่มา : Dube , 1990)

1. โดยมากพบตามพื้นดิน ดำรงชีวิตแบบข่อยสลายซากพืชซากสัตว์
2. ในสถานะที่ไม่มีอากาศจะสร้างเซลล์เดี่ยวมีลักษณะคล้ายยีสต์
3. ในสถานะที่มีอากาศจะสร้างเส้นใย
4. ผนังเซลล์ประกอบด้วยไคติน ไคโตแซนอยู่แล้วตามธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานศึกษาวิจัยที่ผ่านมา

- ปี 1962 ได้มีผู้ศึกษาพบว่า เส้นใยของ *Mucor rouxii* ประกอบด้วย ไมโครไฟบริลมากมาย ที่ผนังเซลล์ เรียงตัวแบบขนานกันไปกับผิวของเส้นใย

- Bartnicki-gracia (1972) พบว่าสารพอลิออกซิน ดี (Polyoxin D) เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโต และการสร้างสปอร์ของรา *Mucor rouxii* ซึ่งมีผลต่อการผลิต และสกัด ไคโตแซน

- White และคณะ (1979) ได้ศึกษาการผลิต และสกัด ไคโตแซนจากเชื้อ *Mucor rouxii* พบว่า ไคโตแซนถูกสกัดได้อย่างง่ายดาย จากผนังเส้นใยด้วยกรด ไคโตแซนที่สกัดได้ ประมาณ 4-8 % ของน้ำหนักผนังเซลล์แห้ง

- Arcidiacono และ Kaplan (1991) ทำการศึกษาน้ำหนักโมเลกุล ไคโตแซนที่แยกได้จาก *Mucor rouxii* ภายใต้สภาวะการหมักที่แตกต่างกัน พบว่าน้ำหนักโมเลกุล โดยเฉลี่ยของ ไคโตแซน ประมาณ 5%-10% ของน้ำหนักชีวมวลแห้งทั้งหมดและได้ 30%-40% ของผนังเซลล์

- Davoust และ Perrson (1992) พบว่า ปริมาณ ไคโตแซนที่ได้จากเชื้อ *Absidia repens* มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในช่วง Stationary phase

- Crestini และคณะ (1995) ได้ทำการศึกษาการผลิตและสกัด ไคโตแซนจากเชื้อ *Lentimur edodes* โดยเปรียบเทียบสภาวะการหมักบนอาหารแข็งกับอาหารเหลวพบว่า การหมักบนอาหารแข็งให้ปริมาณ ไคโตแซนมากกว่าการหมัก ในอาหารเหลวถึง 50 เท่า ดัง ตารางที่ 2-5

ตารางที่ 2-5 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณ ไคโตแซนที่ได้จากการหมักบนอาหารแข็งกับอาหารเหลว

ประเภทการหมัก	ปริมาณไคโตแซน
อาหารเหลว (Submerged fermentation)	120 มก./ลิตรของอาหารหมัก
อาหารแข็ง (Solid-state fermentation)	6.18 ก./กก. ของอาหารหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6. องค์ประกอบของแป้งชนิดต่างๆ

2.6.1. มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีประมาณโปรตีนต่ำ โดยเฉลี่ยแล้วหัวจะประกอบด้วยน้ำ 60-65 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 30-35 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน(Crude protein)1-2 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ปริมาณของแร่ธาตุกับวิตามินค่อนข้างต่ำ แต่มีปริมาณของแคลเซียมและวิตามินซีสูง ตารางที่ 2-7 แสดงส่วนประกอบของหัวมันสำปะหลังที่ปอกเปลือกแล้ว

ส่วนประกอบต่างๆ	วิเคราะห์โดย INCAP(1968)(%)
น้ำ	66.0
สารสกัดในโตรเจนอิสระ	30.8
สารสกัดอีเทอร์	0.3
เส้นใยหยาบ	1.4
โปรตีน	0.7
แร่ธาตุต่างๆ	0.9
แคลอรี/ 100 กรัม	127.5

ที่มา : เจริญศักดิ์, 2519

2.6.2. ข้าวสาลี

ปริมาณองค์ประกอบหลักที่กระจายในเมล็ดข้าวสาลี จะปรากฏในส่วนเนื้อของเมล็ดมีสตาร์ช โปรตีนและไขมันมากกว่าแร่ธาตุและเส้นใย ส่วนรำจะมีเส้นใยมาก แร่ธาตุรองลงมา มีไขมันและโปรตีนน้อยและเกือบไม่มีสตาร์ชเลย สำหรับคัพภะจะมีไขมัน แร่ธาตุและโปรตีนมาก มีเส้นใยน้อยและไม่มีสตาร์ช

ตารางที่ 2- 8 แสดงองค์ประกอบข้าวสาลีเต็มเมล็ด

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์
ความชื้น	9.0-18.0
โปรตีน	8.0-15.0
เซลลูโลส	2.0-2.5
ไขมันและน้ำมัน	1.5-2.0
เกลือแร่	1.5-2.0
น้ำตาล	2.0-3.0
แป้ง	60.0-68.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3. ข้าวเจ้า

ข้าวเจ้าประกอบด้วยแป้งชนิดอะไมโลสประมาณ 15-30 เปอร์เซ็นต์ แป้งอะไมโลสในเมล็ดข้าวมีความสัมพันธ์กับคุณภาพในการหุงต้มและการบริโภค ข้าวเหนียวมีแป้งอะไมโลสน้อยกว่าข้าวเจ้า ข้าวเหนียวจึงสุกเร็วกว่าข้าวเจ้าและข้าวเหนียวที่หุงสุกแล้วจะเหนียวกว่าข้าวเจ้า (ประพาส , 2517) 90% ของข้าวเจ้าประกอบด้วยอะไมโลเพคติน (พอลิเมอร์ของ D-glucose ที่ต่อกันเป็น *branc chain* ประมาณ 60-95 %และอะไมโลส(พอลิเมอร์ของ D-glucose ต่อกันแบบ *linear chain* ประมาณ 10-30 %

ตารางที่ 2-9 แสดงส่วนประกอบของข้าวเจ้าสีขาว

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์
ความชื้น	12.0
โปรตีน	6.7
ไขมัน	0.4
เถ้า	0.5
CHO	80.4
เส้นใย	0.3
แคลเซียม (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	24
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	94
เหล็ก (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	0.8
โซเดียม (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	5
โพแทสเซียม (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	92
ไทอะมีน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	0.07
ไรโบฟลาวิน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	0.03
ไนอะซิน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	1.6

ที่มา : Luh, 1980

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4. ข้าวโพด

ตารางที่ 2-10 แสดงการวิเคราะห์อาหารจาก Condensed fermented corn extractives

<u>Proximate analysis , %</u>		<u>วิตามิน , มก./ ปอนด์</u>	
โปรตีน (N*6.25)	25.0	โคลีน	320
ไขมัน	0	ไนอะซิน	40
Crude fibre	0	กรดเพนโทตีนิก	6.8
ความชื้น	47.0	ไพริดอกซิน	4.0
เถ้า	78	ไรโบฟลาวิน	2.7
ไนโตรเจนสกัดอิสระ	18	ไทอะมีน	1.3
<u>กรดอะมิโน , % ของตัวอย่าง</u>		ไบโอติน	0.025
อาร์จินีน	1.1	กรดฟอลิก	0.1
กรดแอสปาร์ติก	1.4	อินโนลิทอล	125.0
ซีลีน	0.8	<u>แร่ธาตุต่าง</u>	
กรดกลูตามิก	3.5	ทองแดง (มก./ ปอนด์)	56.7
ไกลซีน	1.1	แมงกานีส (มก./ ปอนด์)	15.3
ฮีสทีดีน	0.7	เหล็ก	0.01
ไอโซลิวซีน	0.7	แมกนีเซียม	1.0
ลิวซีน	2.0	ฟอสฟอรัส , %	1.8
ไลซีน	0.8	แคลเซียม , %	0.06
เมไทโอนีน	0.5	โพแทสเซียม , %	2.4
ฟีนิลอะลานีน	0.8	ซิลิเนียม , ppm	0.1
โพรลีน	2.0	<u>พลังงาน</u>	
เซอรัลีน	1.0	Metabolizable energy (ME) , Cal/ lb.	707
ทรีโอนีน	0.9	Total digestible nutrients(TDN) , %	40
ทริปโตเฟน	0.1		
ไทโรซีน	0.5		
แวลีน	1.2		
อะลานีน	1.8		

ที่มา : Ingle, 1976.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ข้าวเหนียว

ข้าวเหนียวประกอบด้วยอะไมโลเพคติน 95 % อะไมโลสน้อยมากบางครั้งพบว่าไม่มีเลย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องชั่ง 2 และ 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องวัดพีเอช
3. สเปกโทรโฟโตมิเตอร์(รุ่น UNICAM 8620 UV/VIS Spectrophotometer)
4. เครื่องเขย่า
5. ฮีมาไซโตมิเตอร์
6. เครื่องเขย่าหลอด
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง(รุ่น HERMLE ZK 380)
8. เครื่องระเหยแช่แข็ง(รุ่น LABCONCO)
9. ถังหมัก(รุ่น LH FERMENTATION)
10. เครื่องเคเตอร์
11. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ
12. ไมโครเวฟ
13. ตู้อบ
14. ตู้ Laminar airflow(รุ่น FASTER Bio 48)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ฟลาสก์ขนาด 250 , 500 มิลลิลิตร
2. บีกเกอร์ขนาด 100 , 250 , 500 , 1000 , 2000 มิลลิลิตร
3. กระจกตวง 100 มิลลิลิตร
4. แท่งแก้วคน
5. เทอร์โมมิเตอร์ 200 องศาเซลเซียส
6. บีเปดซ์ขนาด 1 , 2 , 5 , 10 มิลลิลิตร
7. หลอดทดลองขนาดกลาง
8. กิวเวต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. โกร่งบดขยา
10. ชุคกรอง
11. กระดาษกรองวอท์แมนเบอร์ 4
12. กระดาษกรองใยแก้ว GF/C
13. เพลท
14. หลอดปั่นเหวี่ยงขนาดใหญ่
15. ฟลอคซ์
16. ขวดสีราชขนาด 500 , 1000 , 2000 มิลลิลิตร
17. ตะเกียงแอลกอฮอล์
18. เข็มเขี่ยเชื้อ
19. ชูกยางดิงปริมาตร
20. ซ้อนดักสาร
21. ที่วางหลอดทดลอง
22. ปากคีบ
23. สำลี

เชื้อที่ใช้ในการทดลอง

Mucor rouxii ATCC 24905

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
2. แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)
3. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
4. Nutrient Broth (NB)
5. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
6. กรดแอสติก (CH_3COOH)
7. ยีสต์สกัด (Yeast Extract)
8. น้ำมันพืช
9. เอทานอล 95 %
10. DNS (3,5, Dimittrosalicylic acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. Potassium sodium tartrate tetrahydrate ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$)

12. แป้งชนิดต่างๆ ได้แก่ -แป้งข้าวเจ้าตราทานตะวัน (1/2 กก. ราคา 8 บาท)

-แป้งข้าวสาลีตราทานก(ของเกษตรรุ่งเรือง)(1/2 กก. ราคา 9 บาท)

-แป้งข้าวเหนียวตราทานตะวัน(1/2 กก. ราคา 8 บาท)

-แป้งมันสำปะหลังตราปลาดีดาว (480 กรัม ราคา 7 บาท)

-แป้งข้าวโพดตรา Micena (700 กรัม ราคา 26 บาท)

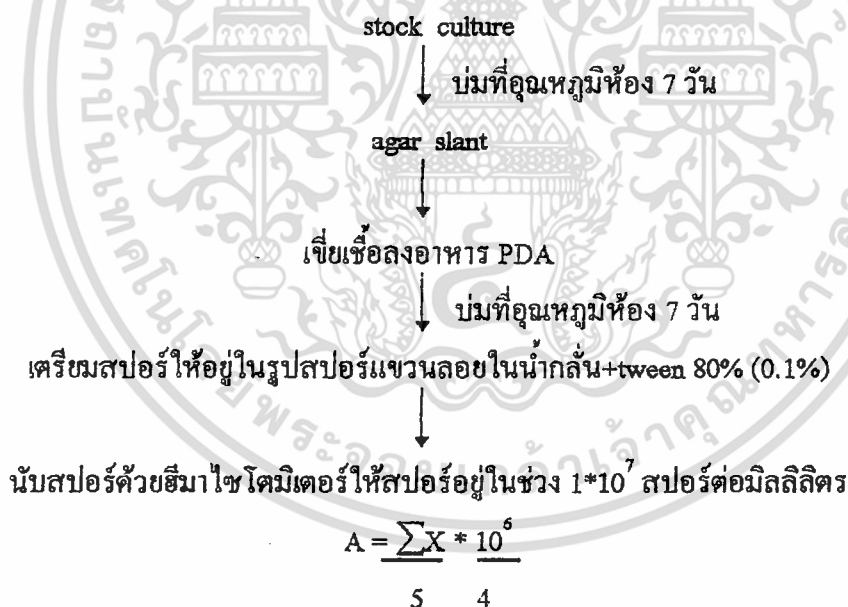
13. tween 80 %

14. Potato dextrose agar(PDA)

วิธีการทดลอง

1). การศึกษาชนิดของแป้งและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโคโคแซนจาก *Mucor rouxii* ATCC 24905

1.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น



A = สปอร์หรือเซลล์แขวนลอย (เซลล์หรือสปอร์ต่อมิลลิลิตร)

X = สปอร์หรือเซลล์ที่นับได้แต่ละช่อง (เซลล์หรือสปอร์)

1.2 ใช้อาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งข้าวเจ้า , แป้งข้าวสาลี , แป้งข้าวโพด , แป้งข้าวเหนียวและแป้งมันที่ระดับความเข้มข้น 10 , 25 , 50 กรัมต่อลิตรเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นในรูปแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสปอร์แขวนลอย 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตรจำนวน 1 มิลลิลิตรลงในอาหารที่มีปริมาตร 50 มิลลิลิตรบรรจุอยู่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ทำซ้ำละ 3 พลาสติก นำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นทำการเก็บผลโดยทำการวิเคราะห์หาพีเอช น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำหนักไคโตแซนแห้ง

2). ศึกษาลักษณะการเจริญและการผลิต ไคโตแซนจากอาหารแบ่งที่คัดเลือก

ใช้อาหาร BG ดัดแปลงโดยใช้แบ่งที่คัดเลือกเป็นแหล่งคาร์บอนเติมหัวเชื้อเริ่มต้นในรูปของสปอร์แขวนลอย 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตรจำนวน 1 มิลลิลิตรลงในอาหารซึ่งมีปริมาตร 50 มิลลิลิตรบรรจุอยู่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ทำซ้ำละ 3 พลาสติก นำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน เก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์พีเอช น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำหนักไคโตแซนแห้งทุก 24 ชั่วโมงจนครบ 5 วัน

3). ศึกษาการผลิตไคโตแซนในถังหมักขนาด 2 ลิตร

เติมหัวเชื้อเริ่มต้นในรูปของสปอร์แขวนลอย 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตรจำนวน 5 เพลอร์เซ็นต์ ลงในอาหาร BG ดัดแปลงโดยใช้แบ่งที่คัดเลือกเป็นแหล่งคาร์บอน 1 ลิตรซึ่งบรรจุอยู่ในถังหมักขนาด 2 ลิตร เติมสารป้องกันการเกิดฟอง(น้ำมันพืช) จำนวน 1 มิลลิลิตรนำไปเลี้ยงโดยใช้ความเร็วรอบการกวน 250 , 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 วีวีเอ็ม(VVM)เป็นเวลา 2 และ 3 วัน เก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์พีเอช น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำหนักไคโตแซนแห้ง

4). วิธีวิเคราะห์

4.1 วัดพีเอชของอาหารหลังเลี้ยงด้วยเครื่องวัดพีเอช

4.2 วัดน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method ใช้วิธีของ Miller, 1959

4.3 หาน้ำหนักเซลล์แห้งดัดแปลงมาจากวิธีของ White และคณะ, 1979

4.4 หาน้ำหนักไคโตแซนแห้ง.....ดัดแปลงมาจากวิธีของ White และคณะ, 1979

และ Crestini และคณะ, 1995

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผล

4.1 การศึกษาชนิดของแป้งและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโคโตแซนของ *Mucor rouxii* ATCC 24905

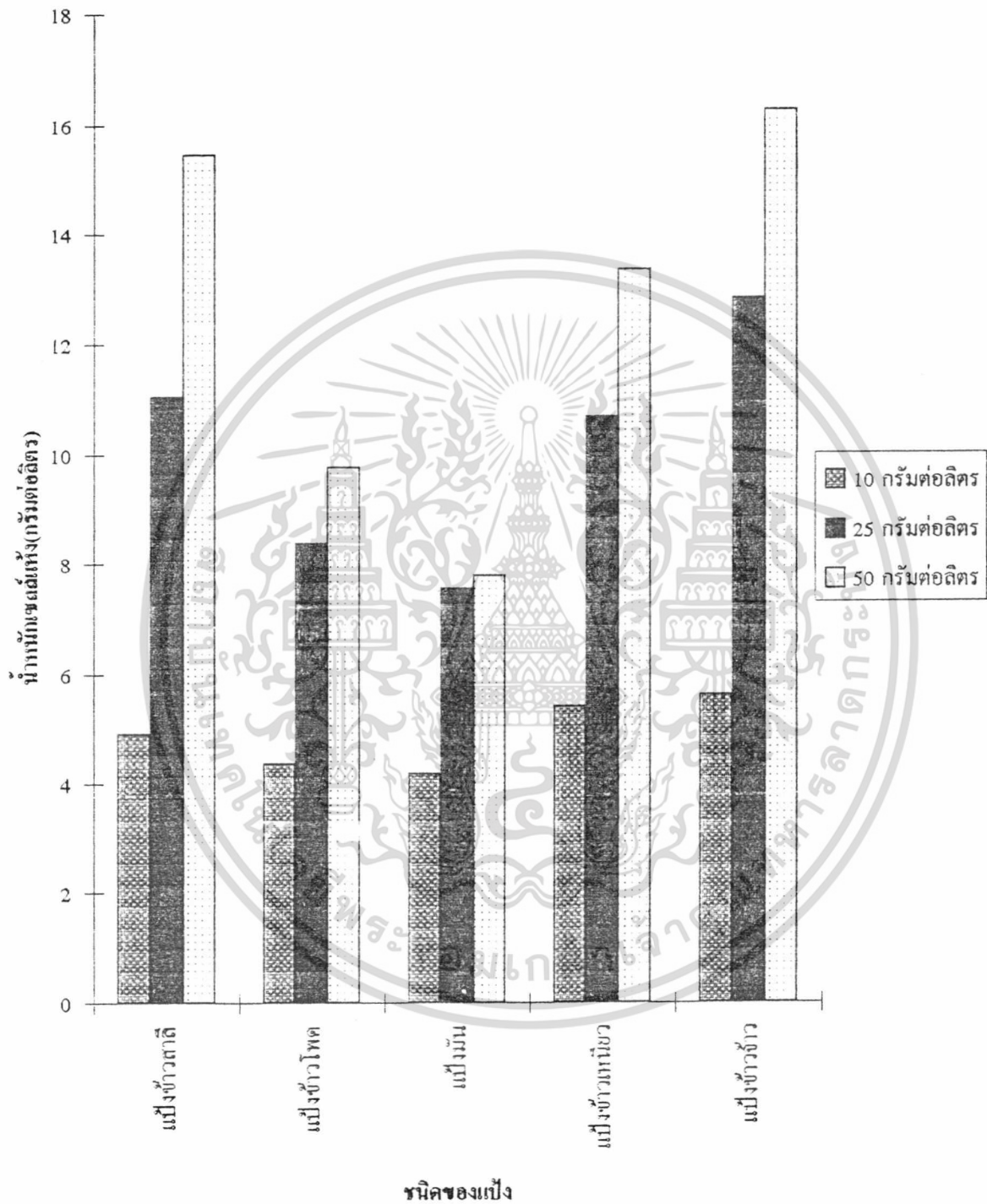
จากการทดลองเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในสูตรอาหาร BG ดัดแปลงโดยใช้แป้งชนิดต่างๆ 5 ชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนคือแป้งข้าวเจ้า , แป้งข้าวสาลี , แป้งข้าวโพด , แป้งข้าวเหนียว และแป้งมันที่ระดับความเข้มข้น 10 25 และ 50 กรัมต่อลิตรเลี้ยงที่สภาวะเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมงพบว่าแป้งข้าวโพดและแป้งมันให้น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำหนักโคโตแซนแห้งน้อยกว่าการใช้แป้งข้าวสาลี , แป้งข้าวเหนียว , แป้งข้าวเจ้าเป็นแหล่งคาร์บอนเนื่องจากแป้งแต่ละชนิดมีองค์ประกอบความแตกต่างกันจึงทำให้ปริมาณโคโตแซนที่ผลิตได้ของเชื้อดังกล่าวมีปริมาณแตกต่างกัน จากข้อมูลตารางที่ 4-1 จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแป้งชนิดต่างๆมีผลทำให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำหนักโคโตแซนแห้งมากขึ้นแต่น้ำหนักโคโตแซนที่สกัดได้จากการใช้แป้งชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนจะน้อยกว่าการใช้แป้งชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้น 25 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าน้ำหนักโคโตแซนที่สกัดได้จาก *Mucor rouxii* ATCC24905 ในอาหารที่ใช้แป้งข้าวสาลี แป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียวเป็นแหล่งคาร์บอนมีค่าใกล้เคียงกันจึงนำแป้งทั้ง 3 ชนิดมาทำการศึกษาหลักขบวนการเจริญและการผลิตโคโตแซนต่อไป นอกจากนี้เมื่อศึกษาพีเอชของอาหารหลังจากเลี้ยงพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้นพีเอชของอาหารจะลดลงเมื่อเทียบกับระดับความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร น้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการใช้แป้งข้าวโพดและแป้งมันเป็นแหล่งคาร์บอนมีน้ำตาลรีดิวซ์สูงมากที่ระดับความเข้มข้นสูงๆจึงเห็นได้ว่าเราสามารถใช่ *Mucor rouxii* ATCC24905 เปลี่ยนแป้งมันและแป้งข้าวโพดที่ระดับความเข้มข้นสูงๆให้เป็นน้ำตาลในระดับอุตสาหกรรมได้เพราะเซลล์ที่ได้จากการผลิตมีจำนวนน้อย , ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูง , สามารถนำเซลล์มาทำการสกัดเอาโคโตแซนที่มีอยู่ที่มีผนังเซลล์ได้

ตารางที่ 4-1 แสดงการเจริญเติบโตของ *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งชนิดต่างๆ 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 10 , 25 , 50 กรัมต่อลิตร

ชนิดแป้ง	ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)	ฟิเอช	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนัก ไคโตแซน แห้ง(กรัมต่อลิตร)
ข้าวสาลี	10	8.00	0.448	4.90	0.202
	25	6.30	0.355	11.04	0.730
	50	5.00	0.631	15.46	0.664
ข้าวโพด	10	7.70	0.140	4.36	0.290
	25	4.90	0.398	8.38	0.389
	50	4.60	2.548	9.76	0.379
มัน	10	7.40	0.150	4.18	0.336
	25	4.70	0.983	7.56	0.398
	50	4.65	5.169	7.80	0.381
ข้าวเหนียว	10	8.00	0.162	5.40	0.582
	25	5.30	0.167	10.68	0.609
	50	5.00	0.314	13.36	0.592
ข้าวเจ้า	10	8.10	0.279	5.62	0.251
	25	7.20	0.286	12.84	0.685
	50	6.00	0.138	16.28	0.683

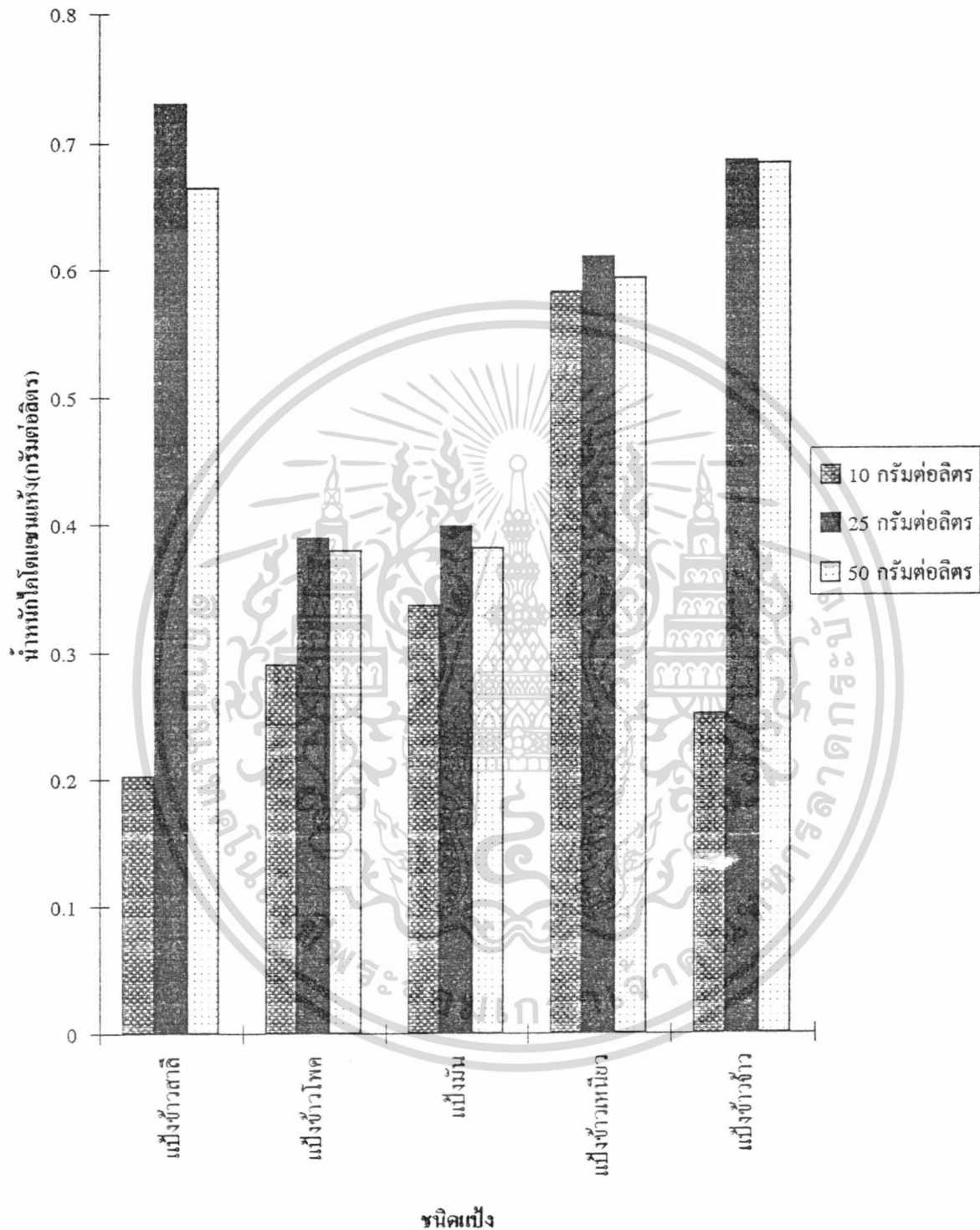
หมายเหตุ การสกัด ไคโตแซน กระทำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-1 กราฟแสดงจำนวนสปอร์แห้งที่ได้ออกจากการเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แป้งชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้น 10 25 และ 50 เป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-2 กราฟแสดงน้ำหนัก โคนิดแซนแห้งที่ได้จากการเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แป้งชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้น 10 25 และ 50 เป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาลักษณะการเจริญและการผลิตโคโคแซนจากอาหารแป้งที่คัดเลือก

จากการทดลอง 4.1 จะได้ แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวสาลี และแป้งข้าวเหนียวที่ให้น้ำหนักโคโคแซนใกล้เคียงกัน จึงนำแป้งดังกล่าวทั้ง 3 ชนิดมาหาลักษณะการเจริญและการผลิตโคโคแซนของ *Mucor rouxii* ATCC 24905 โดยใช้ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรทำการเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน โดยเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีพบว่าฟิเอซของอาหารหลังเลี้ยงจากการใช้แป้งทั้ง 3 ชนิดในวันแรกจะลดลงจากฟิเอซเริ่มต้นเล็กน้อยและจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงนานขึ้น โดยเฉพาะวันที่ 5 ฟิเอซของอาหารจะเป็นค่าเล็กน้อย ส่วนน้ำตาลรีดิวซ์ในวันแรกสูงมากและในวันต่อมาจะมีอยู่น้อยมากและไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก *Mucor rouxii* ATCC 24905 จะเจริญได้อย่างรวดเร็วในวันแรกและวันที่ 2 ซึ่งดูได้จากน้ำหนักเซลล์ ดังตารางที่ 4-2

- การใช้แป้งข้าวสาลีเป็นแหล่งคาร์บอนจะให้น้ำหนักเซลล์และน้ำหนักโคโคแซนสูงสุดในวันที่ 2 คือ 8.34 และ 0.816 กรัมต่อลิตรตามลำดับหลังจากวันที่ 2 น้ำหนักโคโคแซนจะลดลง ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งในวันที่ 3 และ 4 จะลดลงและจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 5

- การใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นแหล่งคาร์บอน จะให้น้ำหนักเซลล์และน้ำหนักโคโคแซนแห้งสูงสุดในวันที่ 3 คือ 7.32 และ 0.949 กรัมต่อลิตรตามลำดับ หลังจากวันที่ 2 ไปน้ำหนักโคโคแซนที่ได้จะลดลง ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งในวันที่ 3 จะลดลงและจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 5

- การใช้แป้งข้าวเหนียวเป็นแหล่งคาร์บอน จะให้น้ำหนักโคโคแซนสูงสุดในวันที่ 2 คือ 1.014 กรัมต่อลิตรและหลังจากวันที่ 2 ไปน้ำหนักโคโคแซนจะลดลง ส่วนน้ำหนักเซลล์จะสูงในวันที่ 2 และลดลงในวันที่ 3

จากการใช้แป้ง 3 ชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าหลังจากวันที่ให้น้ำหนักเซลล์และน้ำหนักโคโคแซนสูงสุด หลังวันดังกล่าวไปน้ำหนักโคโคแซนจะค่อยๆลดลง และลดลงมากขึ้นในวันที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบกับวันต่อวันอาจเป็นเพราะว่าหลังจากวันที่ให้การผลิตเซลล์และโคโคแซนสูงสุดไป สารอาหารต่างๆที่มีอยู่หมดไปเซลล์เกิดการตายไปบางส่วนหรือเกิดการย่อยสลายตัวเองทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำหนักโคโคแซนแห้งในวันต่อมาลดลง ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งหลังจากวันที่ให้โคโคแซนสูงสุดไป 1-2 วันจะให้น้ำหนักลดลง และเพิ่มขึ้นในวันต่อมาซึ่งอาจเป็นเพราะว่าหลังจากที่ *Mucor rouxii* ATCC 24905 ใช้สารอาหารต่างๆหมดไปแล้วจะเกิดการย่อยสลายตัวเอง บางส่วนเนื่องจากขาดสารอาหาร ส่วนเซลล์ที่เหลืออยู่จะใช้สารอาหารจากเซลล์ที่ตายไปจึงทำให้น้ำหนักเซลล์เพิ่มขึ้นมาอีกในวันต่อมา จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการผลิตโคโคแซนอยู่ในช่วงสูงสุดเมื่อเซลล์เจริญสูงสุดดูได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งในช่วงวันแรกๆก่อนที่จะลดลงในวันต่อมาและการใช้แป้งข้าวเหนียวเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหาร BG ดัดแปลงให้การผลิตโคโคแซนสูงสุดแต่เนื่องจากการทำให้แป้งดังกล่าวสุกมักจะจับตัวกันเป็นก้อนได้ง่าย ส่วนแป้งข้าวเจ้าไม่จับตัว

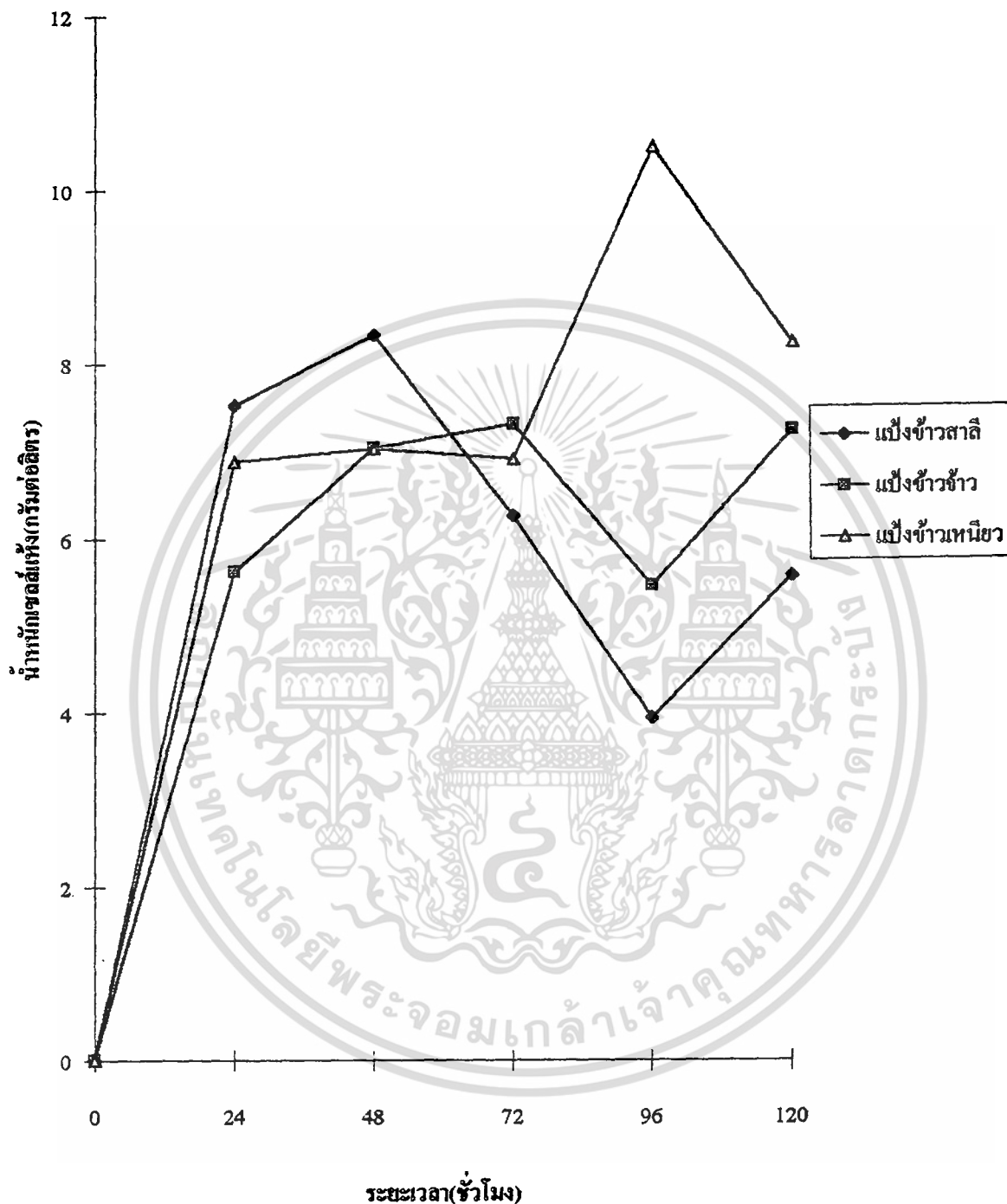
กันเป็นก้อนเมื่อให้ความร้อน น้ำหนักโคโตแซนที่ได้จากการเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 จากอาหารแป้งทั้งสองไม่ต่างกันมากนักจึงสรุปได้ว่าแป้งข้าวเจ้ามีความเหมาะสมในการผลิตและการสกัดโคโตแซนมากที่สุด

ตารางที่ 4-2 แสดงการเจริญเติบโตของ *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG ดัดแปลง โดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งข้าวสาลี, แป้งข้าวเจ้า และแป้งข้าวเหนียว ที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

ชนิดแป้ง	ชั่วโมงที่	พีเอช	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักโคโตแซนแห้ง (กรัมต่อลิตร)
ข้าวสาลี	24	4.90	0.829	7.53	0.521
	48	6.15	0.167	8.34	0.816
	72	7.50	0.167	6.27	0.771
	96	7.85	0.105	3.95	0.751
	120	7.95	0.162	5.59	0.667
ข้าวเจ้า	24	4.85	0.705	5.63	0.631
	48	5.95	0.159	7.04	0.881
	72	7.25	0.140	7.32	0.949
	96	7.70	0.114	5.47	0.908
	120	7.85	0.164	7.26	0.803
ข้าวเหนียว	24	4.85	1.017	6.88	0.729
	48	5.15	0.112	7.03	1.014
	72	5.95	0.095	6.92	0.964
	96	7.25	0.098	10.51	0.946
	120	7.60	0.124	8.26	0.791

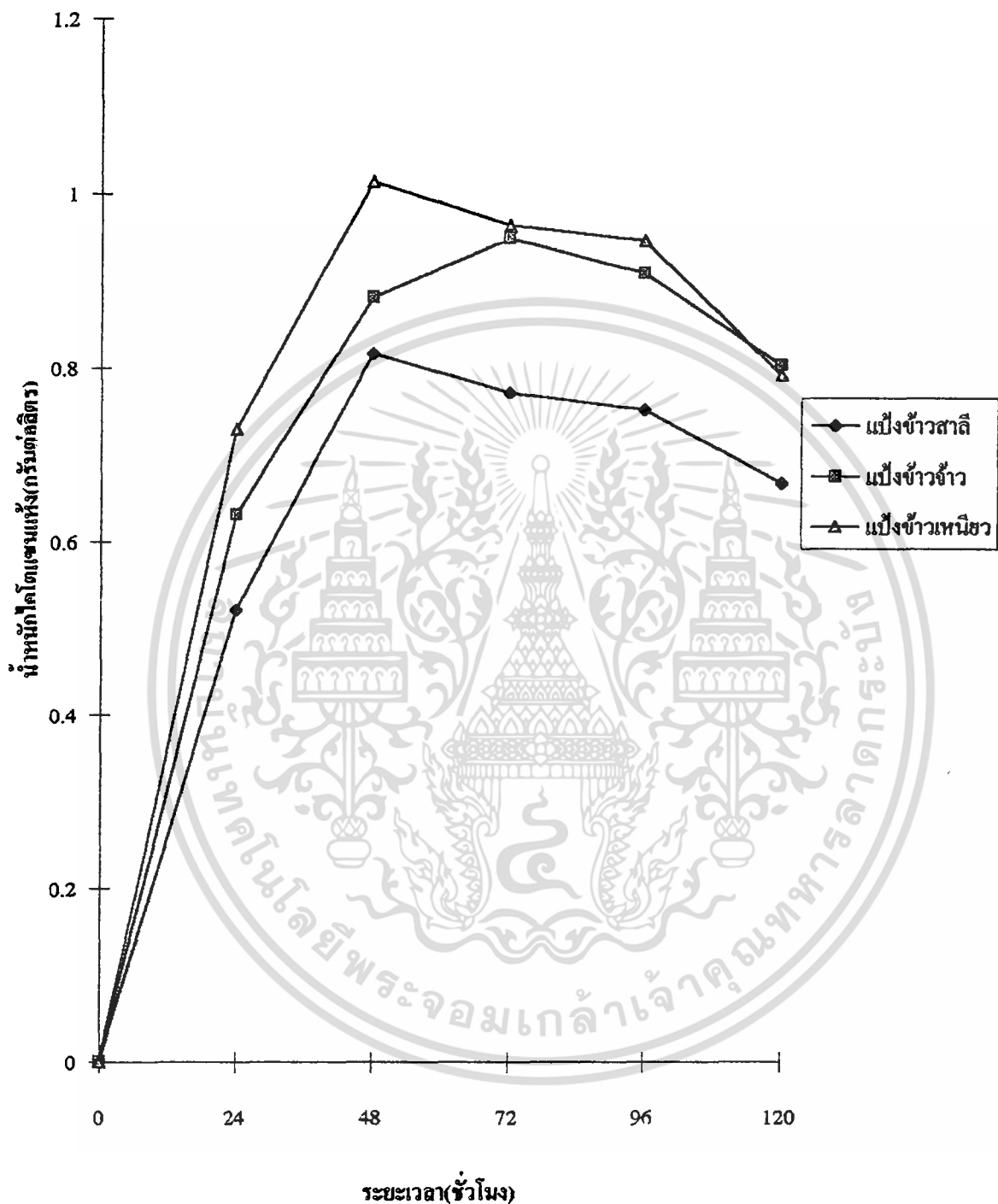
หมายเหตุ การสกัดโคโตแซน กระทำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-3 กราฟแสดงจำนวนสปอร์แห้งที่ได้จากการเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลง โดยแป้งข้าวสาร แป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียวที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-4 กราฟแสดงน้ำหนักรวมของคาร์บอนที่ใช้จากการเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG ดัดแปลงโดยแป้งข้าวสาลี แป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียวที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาการผลิตโคโคแซนในถังหมัก

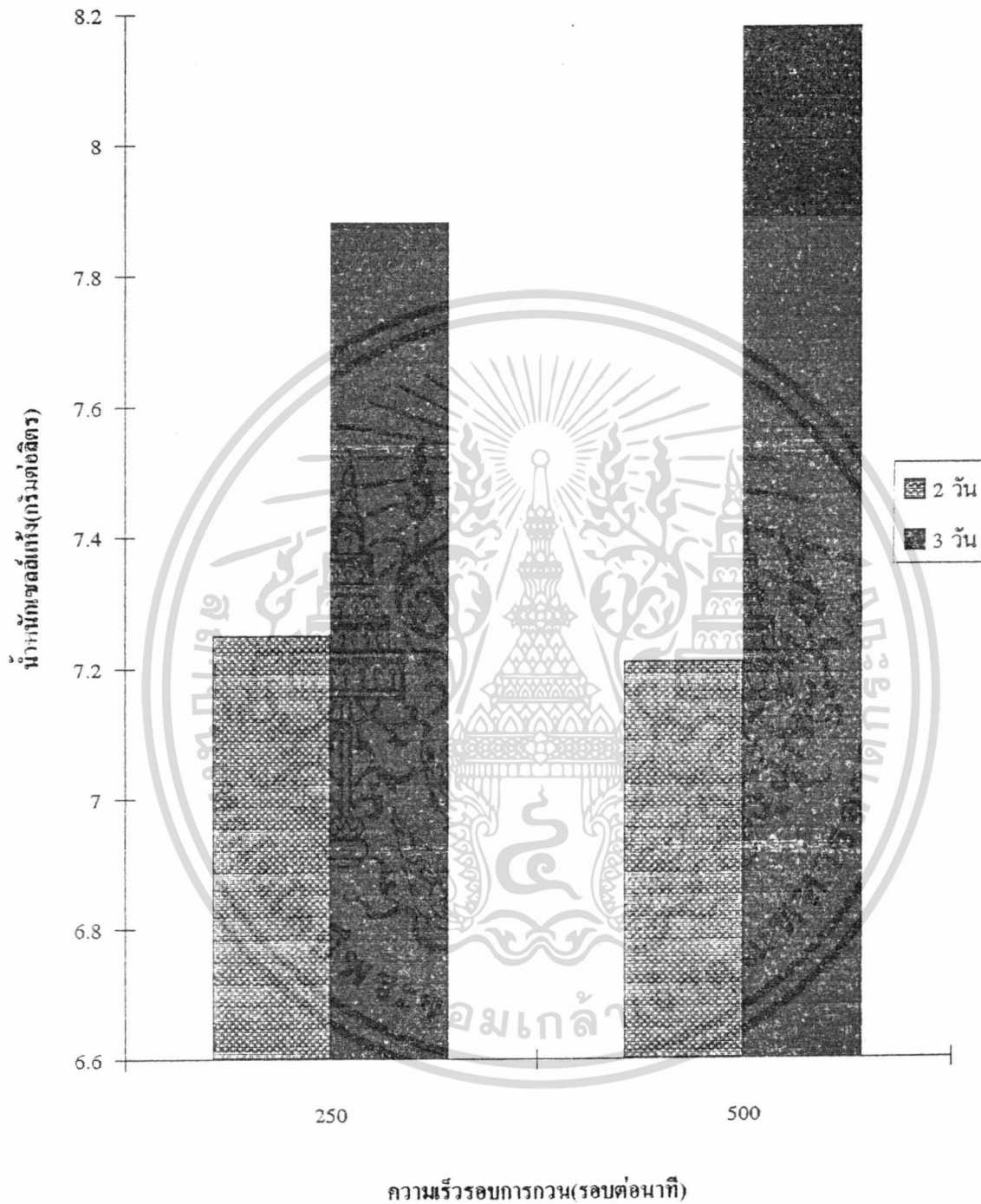
จากผลการเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลง โดยใช้แป้งข้าวเจ้าที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในระดับถังหมักขนาด 2 ลิตรเพื่อศึกษาผลของการกวนของไบฟัดที่มีต่อการผลิตโคโคแซนโดยใช้อัตราการกวนที่ความเร็ว 250 และ 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 วีวีเอ็ม ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 และ 3 วันพบว่าวันที่ 3 จะให้การผลิตโคโคแซนสูงกว่าวันที่ 2 ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาลักษณะการเจริญของแป้งคังกล่าว ขณะเดียวกันที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาทีจะให้น้ำหนักโคโคแซนแห้งในวันที่ 2 และ 3 คือ 0.828 และ 1.007 กรัมต่อลิตรตามลำดับสูงกว่าการกวนที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาทีซึ่งให้น้ำหนักโคโคแซนแห้ง 0.623 และ 0.681 กรัมต่อลิตรในวันที่ 2 และ 3 ตามลำดับซึ่งจากการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Davoust และ Persson (1992) คือเมื่อเพิ่มความเร็วรอบของการกวนจาก 200 เป็น 350 รอบต่อนาทีมีผลทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งของ *Absidia repens* เพิ่มขึ้นตามด้วยและเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Crestini และคณะ (1995) จากการผลิตและการสกัดโคโคแซนในอาหารเหลวจาก *Lentinus edodes* สายพันธุ์ SC-495 ในการเลี้ยงในถังหมักที่ความเร็วรอบ 400 รอบต่อนาทีพบว่าโคโคแซนที่ได้จาก *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงให้การผลิตโคโคแซนที่ความเร็ว 250 และ 500 รอบต่อนาทีสูงกว่า *Lentinus edodes* สายพันธุ์ SC-495 ในอาหารเหลวสังเคราะห์ (0.121 กรัมต่อลิตร) นอกจากนี้พบว่าฟิเอร์ของอาหารหลังเลี้ยงจากการกวนที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาทีมีฟิเอร์สูงกว่าการกวนที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที ซึ่งจากการทดลองบอกได้ว่าการเพิ่มความเร็วรอบของการกวนเป็นการทำให้อากาศมีการกระจายตัวในอาหารได้ดีทั่วถังหมักมากขึ้นและเป็นการดีให้อากาศมีขนาดเล็กลงจึงทำให้มีการเจริญที่ดีขึ้นและให้การผลิตโคโคแซนเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4-3 แสดงการเจริญเติบโตของ *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งข้าวเจ้าที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรในระดับถังหมักขนาด 2 ลิตร

ความเร็วการกวน (รอบต่อนาที)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ฟิเอร์	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักโคโคแซน แห้ง(กรัมต่อลิตร)
250	48	5.20	0.305	7.25	0.623
	72	5.65	0.133	7.88	0.681
500	48	5.50	0.245	7.21	0.828
	72	6.35	0.300	8.18	1.007

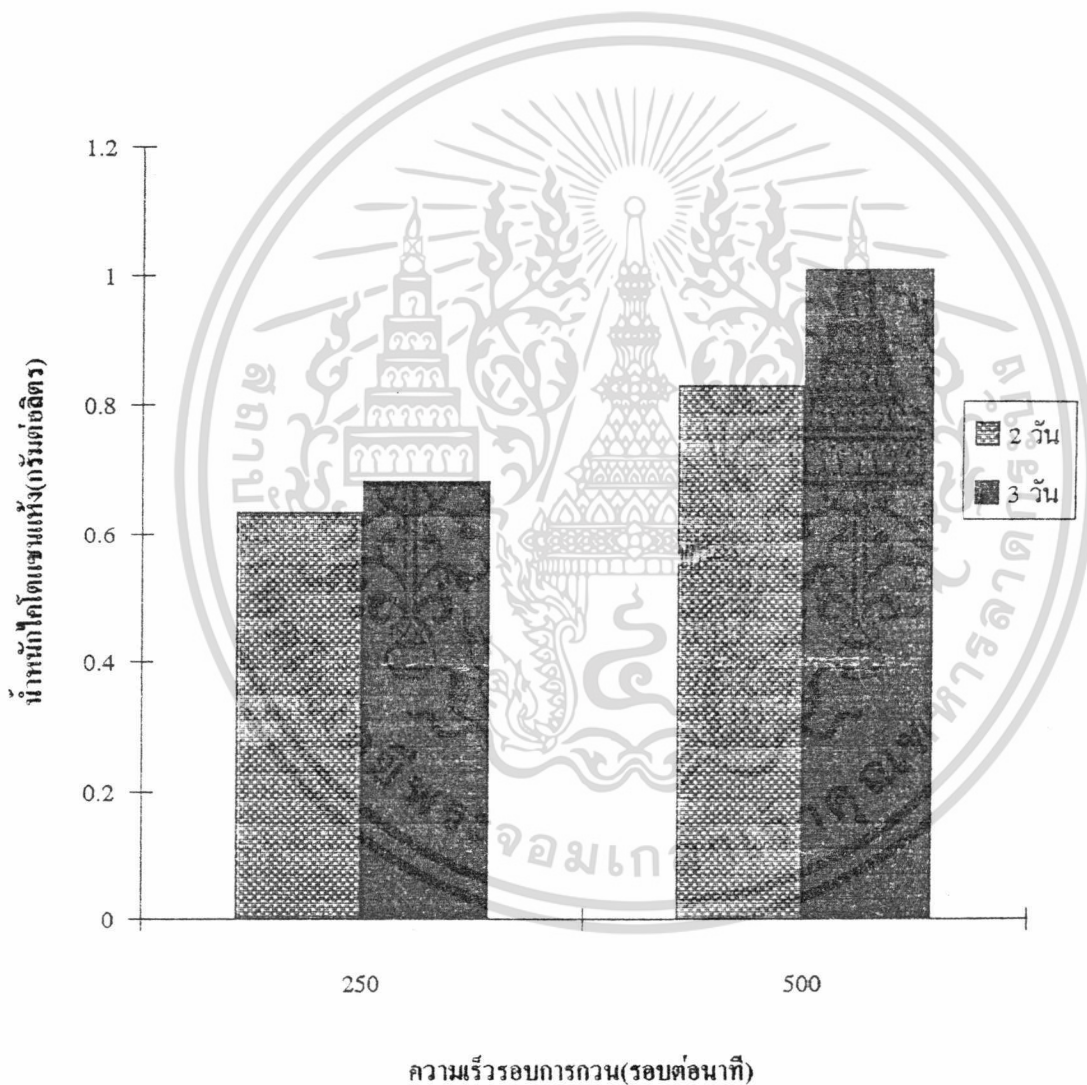
หมายเหตุ การสกัดโคโคแซนกระทำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-5 กราฟแสดงน้ำหนักเชื้อแห้งที่ได้จากการเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งข้าวเจ้าที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ในถังหมัก ขนาด 2 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-6 กราฟแสดงน้ำหนัก ไอโคโตเซนแห้งที่ได้จากการเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG คัดแปลงโดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งข้าวเจ้าที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ถังหมักขนาด 2 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG ดัดแปลง โดยใช้แป้งชนิดต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าการใช้แป้งข้าวโพดและแป้งมันเป็นแหล่งคาร์บอนให้การผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งและโคโคแซนน้อยกว่าการใช้แป้งข้าวเจ้า, แป้งข้าวสาลี และแป้งข้าวเหนียวเป็นแหล่งคาร์บอน และจากการศึกษาลักษณะการเจริญของ *Mucor rouxii* ATCC 24905 ของแป้งทั้ง 3 ชนิดที่คัดเลือกได้ โดยใช้ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรในอาหาร BG ดัดแปลงพบว่าการใช้แป้งข้าวเหนียวเป็นแหล่งคาร์บอน ให้การผลิตโคโคแซนสูงสุดในวันที่ 2 คือ 1.014 กรัมต่อลิตร หรือ 14.42 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักโคโคแซนแห้งต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ส่วนการใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นแหล่งคาร์บอน ให้น้ำหนักเซลล์แห้งและโคโคแซนสูงสุดในวันที่ 3 คือ 7.32 และ 0.949 กรัมต่อลิตรหรือ 12.96 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักโคโคแซนแห้งต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับและจากการใช้ แป้งข้าวสาลีเป็นแหล่งคาร์บอน ให้น้ำหนักเซลล์แห้งและน้ำหนักโคโคแซนแห้งสูงสุดในวันที่ 2 คือ 8.34 และ 0.816 กรัมต่อลิตรหรือ 9.78 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักโคโคแซนแห้งต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบชนิดแป้งต่างๆที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนข้างต้นพบว่าแป้งข้าวเจ้าเป็นแป้งที่เหมาะสมในการผลิตโคโคแซนมากที่สุดเพราะเป็นแป้งที่ไม่จับตัวกันเป็นก้อนเมื่อทำให้แป้งสุก และจากการศึกษาการผลิตโคโคแซนในถังหมักโดยเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 ในอาหาร BG ดัดแปลงโดยใช้แป้งข้าวเจ้า 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนที่อุณหภูมิห้อง อัตราการให้อากาศเท่ากันคือ 1 วีวีเอ็มพบว่าการกวนของใบพัดที่ความเร็ว 500 รอบต่อนาทีให้น้ำหนักโคโคแซนแห้ง 0.828 และ 1.007 กรัมต่อลิตรหรือ 11.48 และ 12.31 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโคโคแซนแห้งต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในวันที่ 2 และ 3 ตามลำดับสูงกว่าการกวนของใบพัดที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาทีซึ่งให้น้ำหนักโคโคแซนแห้ง 0.623 และ 0.681 กรัมต่อลิตรหรือ 8.59 และ 8.64 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโคโคแซนแห้งต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในวันที่ 2 และ 3 ตามลำดับ พิเศษของอาหารจะเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยง *Mucor rouxii* ATCC 24905 เป็นระยะเวลาสั้นขึ้นและความเร็วการกวนมากขึ้น

ข้อเสนอแนะ

การสกัดไคโตแซนถ้ำล้างค้างและเอทานอล 95 % ออกไม่หมดจะทำให้ประสิทธิภาพการสกัดไคโตแซนน้อยลง โดยเฉพาะเอทานอลทั้งนี้เนื่องจากไคโตแซนไม่สามารถละลายในของผสมระหว่างน้ำกับแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นคุณสมบัติข้อหนึ่งของไคโตแซน สำหรับล้างถ้ำล้างออกไม่หมด มีผลทำให้มีพีเอชของสารละลายกรดแอสติก 2% เพิ่มขึ้นซึ่งถ้ามีพีเอชสูงทำให้ประสิทธิภาพการสกัดไคโตแซนลดลงหรือสกัดไม่ได้ เพราะไคโตแซนไม่ละลายที่พีเอชมากกว่า 6.5 จะเห็นได้ว่าล้างและเอทานอลมีความเกี่ยวข้องกันในการสกัดไคโตแซน ฉะนั้นการสกัดไคโตแซนต้องทราบคุณสมบัติของไคโตแซนก่อนทำการสกัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, มันสำปะหลัง, หน้า 103,106,ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2519.

ประพาส วีระแพทย์, ความรู้เรื่องข้าว, หน้า 21, สาขาตัดพันธุ์ด้านทานศัตรูข้าว กองการข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2517.

พิไลวรรณ พงษ์พูล ราวิทยาเบื้องต้น, หน้า 28,30-31. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2525.

วราวุฒิ ครุสงฆ์ เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม, สำนักพิมพ์ โอ เอส พรินติ้งเฮาส์, 2532.

วิสิต จะวะสิตและลูกจันทร์ ภักฤษพันธ์. “ไคโตแซน(Chitosan) โพลีเมอร์ตัวใหม่จากของเหลือทิ้งอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ”, คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หน้า 4-8., 2533.

อรอนงค์ นัชวิกุล ข้าวสาลี: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, หน้า 22, ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2532.

Arcidiacono, S., Lambardi, S.J., Kaplan, D.L. “Fermentation , processing and enzyme characterization for chitosan biosynthesis by *Mucor rouxii*.” In Chitin and Chitosan, Skjak-Braek , G., Anthonsen, T., and Sandford, P.(eds), Elsevier Applied Science London and New York (1989) : 320.

Aspinll, G.O. in The Polysaccharide., pp. 386, Academic press ,Inc. , 1983.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Barnicki-Garcia, S. and Lippman, E., "Inhibition of *Mucor rouxii*. by polyoxin D.:Effects on chitin synthetase and morphological development." J. of General Microbiology. Vol.71(1972) : 301-309.

Bartnicki-Garcia, S., "The biochemical cytology of chitin and chitosan synthesis in fungi." In Chitin and Chitosan, Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. and Sandford, P.(eds), Elsevier Applied Science London and New York (1989) : 23-33.

Chitin and chitosan specialty biopolymers for foods, medicine, and industry, pp. 19-53 , Technical Insights Inc. 1989.

Crestini, C., Boris Kovac, B., and Sermanni, G., "Production and isolation of chitosan by submerged and solid-state fermentation from *Leninus edodes*." J. of Biotech and Bioengineer. Vol 50 (1996) : 207-210.

Davout, N. and Persson, A., "Effects of growth morphology and time of harvesting on the chitosan yield of *Absidia repens*." Appl. Microbiol Biotechnol. Vol: 37 (1992) : 572-575.

Dube, H.C. in An Introduction to fungi. 2 nd. ed. , pp 125-130, Vikas publishing house put Ltd. ,1990.

Hirano, S., "Production and application of chitin and chitosan in Japan." In Chitin and Chitosan, Skjak-Braek , G., Anthonsen, T., and Sandford, P.(eds), Elsevier Applied Science London and New York (1989) : 54,57-62.

Inglott, G.E. in Corn : Culture, processing, products. pp. 223, The AVI publishing ,company, Inc , 1970.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

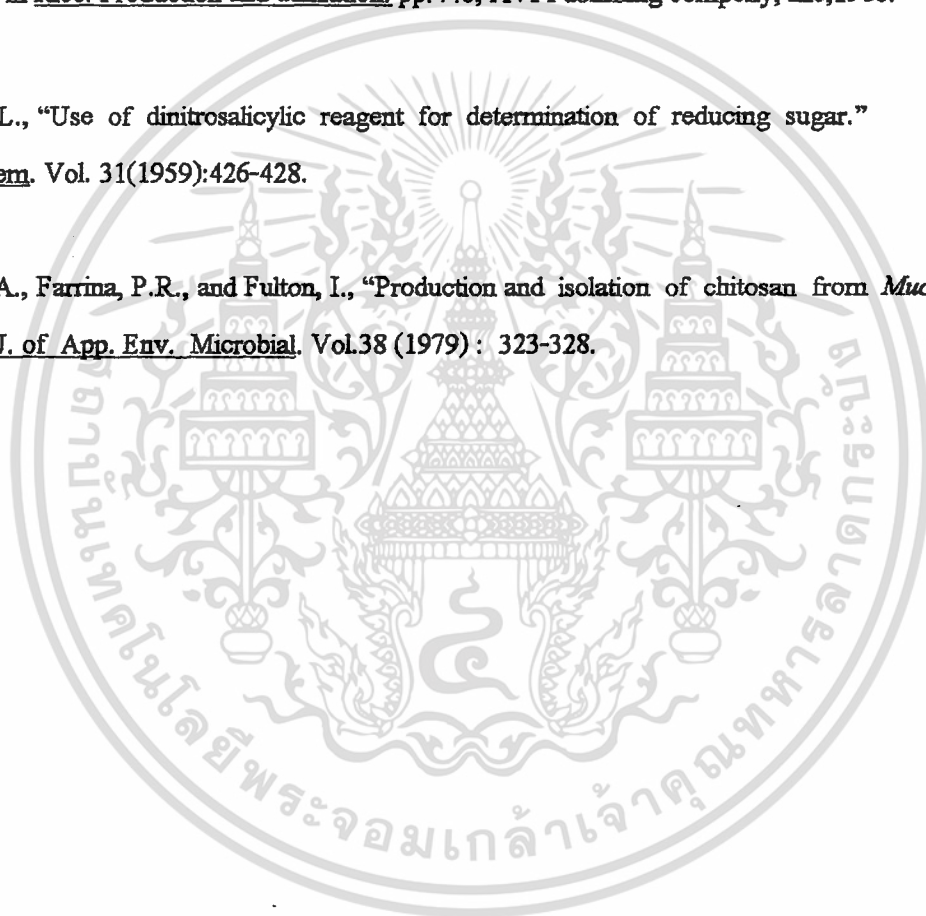
Lang, G., Clausen, T., "The use of chitosan in cosmetics." *In Chitin and Chitosan*, Skjak-Braek, G., Anthonsen, T., and Sandford, P.(eds), Elsevier Applied Science London and New York(1989): 141.

Lezica, R.P. and Quesada-Allue, L., "Chitin", *In P.M. Dey(ed.) Method in Biochemistry* Vol 2. Academic Press, London(1990): 443-481.

Luh, B.S. in *Rice: Production and utilization*, pp.440, AVI Publishing company, Inc,1980.

Miller, D.L., "Use of dinitrosalicylic reagent for determination of reducing sugar." *J.anal. chem.* Vol. 31(1959):426-428.

White, S.A., Farrina, P.R., and Fulton, I., "Production and isolation of chitosan from *Mucor rouxii*." *J. of App. Env. Microbial.* Vol.38 (1979) : 323-328.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร BG ดัดแปลงประกอบด้วย

Nutrient Broth	8.0	กรัมต่อลิตร
Yeast Extract	0.1	กรัมต่อลิตร
KCl	0.1	กรัมต่อลิตร
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.25	กรัมต่อลิตร

แป้งชนิดต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน -แป้งข้าวเจ้า

- แป้งข้าวสาลี

- แป้งข้าวเหนียว

- แป้งข้าวโพด

- แป้งมันสำปะหลัง

ปรับพีเอชให้ได้ 5.0 ด้วย 0.1 N HCL

สูตรอาหาร BG (Arcidiacono และ Kaplan,1991)

glucose	5	กรัมต่อลิตร
Nutrient Broth	8.0	กรัมต่อลิตร
Yeast Extract	0.1	กรัมต่อลิตร
KCl	0.1	กรัมต่อลิตร
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.25	กรัมต่อลิตร
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.002	กรัมต่อลิตร
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.00029	กรัมต่อลิตร

ปรับพีเอชให้ได้ 5.0 ด้วย 1 N NaOH, 0.05 M citrate buffer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียม DNS reagent (Miller, 1959)

2 M. NaOH 20 ml.



DNS 1 g. + น้ำกลั่น 50 ml.



Potassium Sodium Tartrate 30 g.



ปรับปริมาตรเป็น 100 ml.

หมายเหตุ

DNS = 3,5 - Dinitrosalicylic acid

Potassium Sodium Tartrate Tetrahydrate ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$)

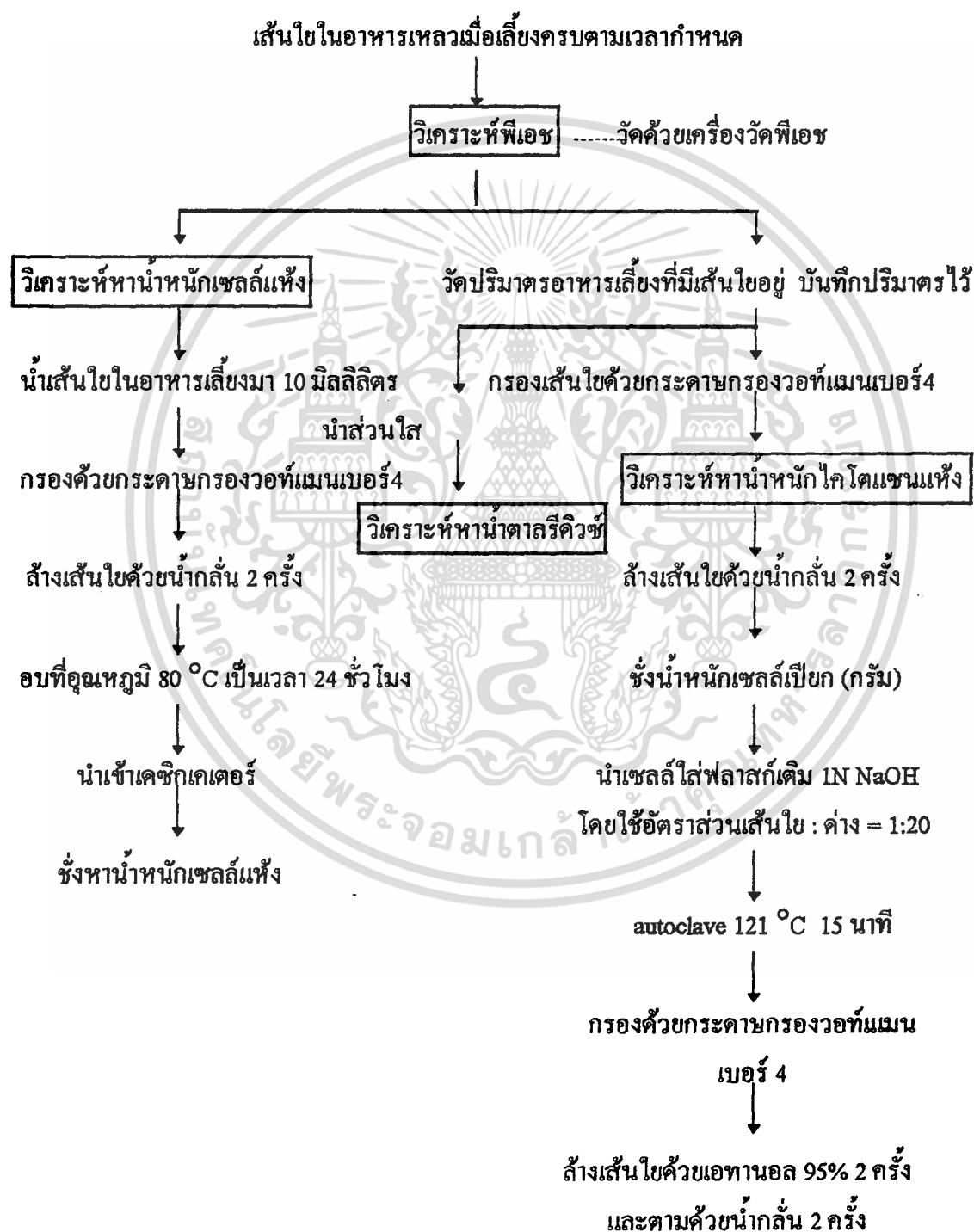
การคำนวณหาความเข้มข้นของกรดเข้มข้น

$N = \frac{1000 \text{ ml} \cdot \text{ความถ่วงจำเพาะ (m/V)} \cdot \% \text{ reagent}}$

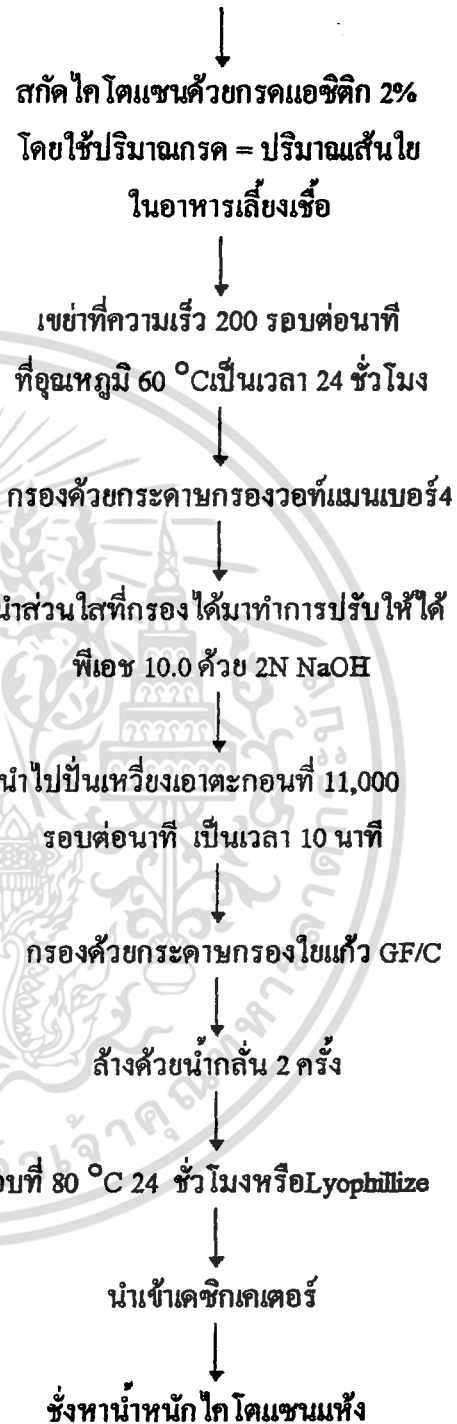
มวลโมเลกุล / เลขออกซิเดชันที่เปลี่ยนไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

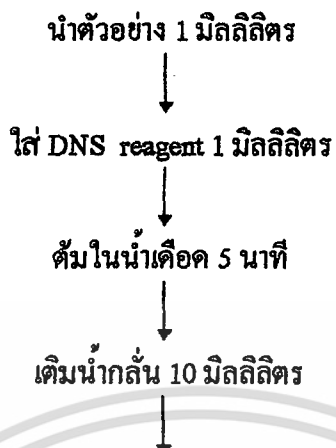
การวิเคราะห์หาฟิเออร์ น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำหนักโคโคแซนแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีของ Miller, 1959



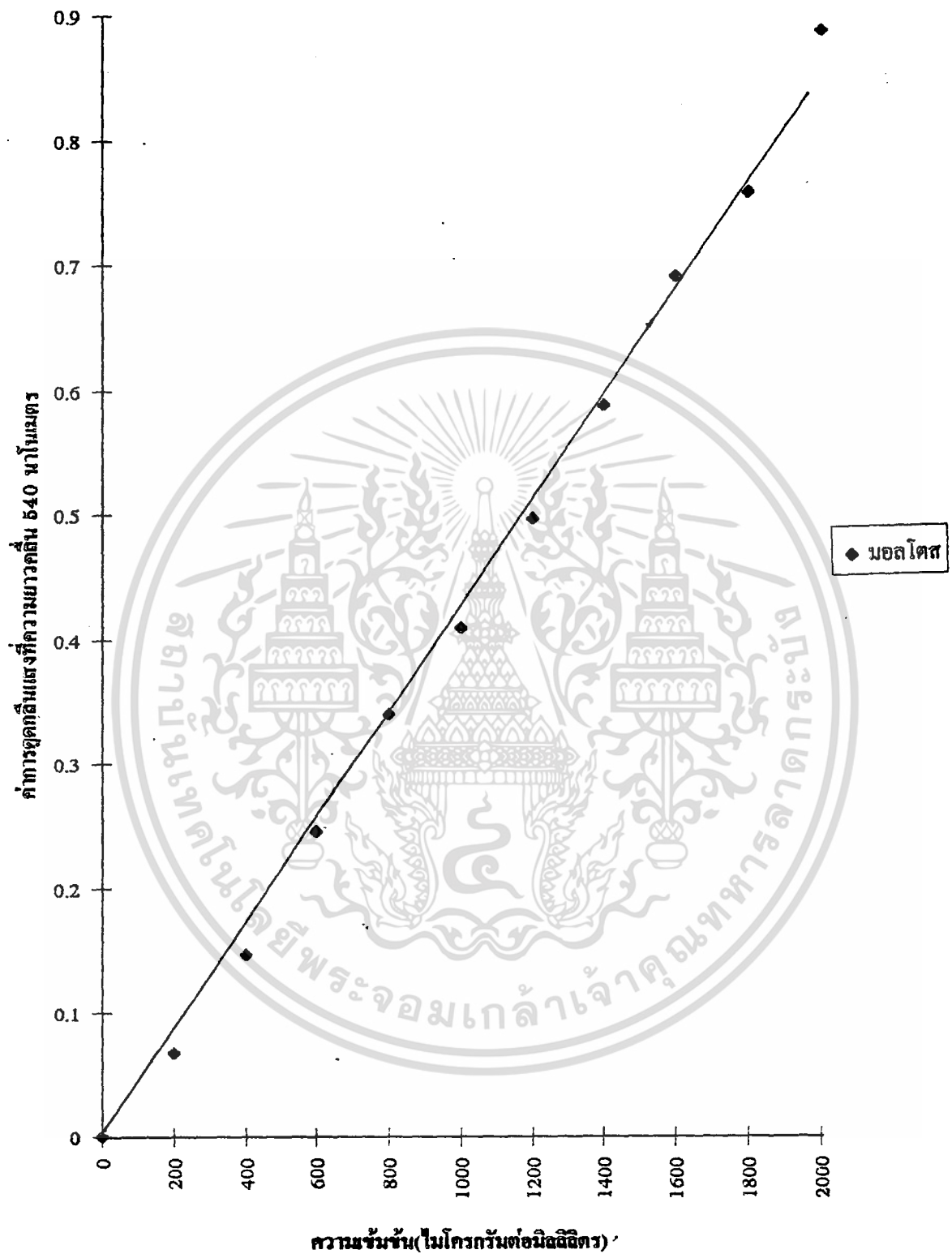
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

- หมายเหตุ** - แบลงก์ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง
- การทำกราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโตสที่ระดับความเข้มข้น 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ก-1 แสดงน้ำตาลมอลโตสมาตรฐาน

[maltose] ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร			
	หลอดที่ 1	หลอดที่ 2	หลอดที่ 3	ค่าเฉลี่ย
100	0.026	0.023	0.016	0.022
200	0.065	0.066	0.069	0.067
400	0.150	0.146	0.145	0.147
600	0.248	0.246	0.241	0.245
800	0.346	0.340	0.336	0.341
1000	0.409	0.416	0.406	0.410
1200	0.498	0.496	0.494	0.496
1400	0.591	0.586	0.587	0.588
1600	0.694	0.693	0.687	0.691
1800	0.759	0.761	0.755	0.758
2000	0.900	0.873	0.890	0.888

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้