

อิทธิพลของอาหารต่อการสร้างโปรตีนของราแอส เพอร์ จิลส์



นางสาวยุพา กอเกียรติ์นันท์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคณะหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
แผนกวิชาพฤกษศาสตร์  
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
พ.ศ. 2521

002457

i 17061301

EFFECTS OF MEDIA ON PROTEIN PRODUCTION IN ASPERGILLUS

Miss Yupa Kokiatinun

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

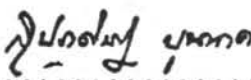
Graduate School

Chulalongkorn University


1978

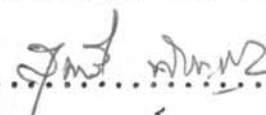
หัวข้อวิทยานิพนธ์    อิทธิพลของอาหารต่อการสร้างโปรตีนของราแอสเปอร์จิลลัส  
โดย                    นางสาวบุพผา กอเกียรติ์นันท  
แผนกวิชา            พฤกษศาสตร์  
อาจารย์ที่ปรึกษา    ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุมาลี พิษขางกูร


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย  
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท

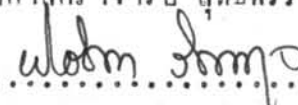
 ..... รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุประคิมฐ์ บุณนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

 ..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไววิทย์ พุทธารี)

 ..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุมาลี พิษขางกูร)

 ..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุธพวรรณ ศรีรัตน์)

 ..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.พิจิตต์ รัตกุล)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อิทธิพลของอาหารต่อการสร้างโปรตีนของราแอสเปอร์จิลลัส
ชื่อนิสิต	นางสาวยุพา กอเกียรติพันธ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุมาลี พิษณุางกูร
แผนกวิชา	พฤกษศาสตร์
ปีการศึกษา	2520



บทคัดย่อ

จากการศึกษาโปรตีนของรา *Aspergillus* 10 สายพันธุ์ที่แยกได้จาก  
 บางแหล่งของอาหารที่กินได้ในประเทศไทย สายพันธุ์ A14 และ B1 เป็นสายพันธุ์ที่  
 สามารถเปลี่ยนแป้งมันสำปะหลังไปเป็นโปรตีนได้ปริมาณสูง และมีการสร้างนอนโปรตีน  
 ค่า เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ A21 ซึ่งเป็นสายพันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบจากต่างประเทศ

ผลการศึกษาเบื้องต้นของราทั้ง 11 สายพันธุ์ โดยการสุ่ม 2 สายพันธุ์ ที่  
 เลี้ยงในอาหาร พบว่า ลอรีโปรตีนจะถูกสร้างขึ้นได้สูงสุดในวันที่ 2 ของการเลี้ยงใน  
 อาหารเหลวที่อยู่บนเครื่องเขย่า 120 รอบต่อนาที 25 ซ.

สภาพของ pH ที่มีต่อการสร้างลอรี่โปรตีน พบว่า ที่ pH ค่า ๆ ที่มีความ  
 เขมข้นของแป้ง 2.3% จะมีผลต่อการสร้างเพลเล็ต (pellet) ราจะไม่สร้าง  
 เพลเล็ต จะมีแค่สายใยสั้น ๆ แฉไปในอาหาร และที่ pH 3.5, 5.0 และ 3.5  
 เป็น pH ที่เหมาะแก่การสร้างลอรี่โปรตีนของราทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ A21, A14 และ  
 B1 ตามลำดับ ถ้า pH มากหรือน้อยกว่านี้จะโคลอรี่โปรตีนค่า ดังนั้นจะเห็นว่าที่  
 pH สูง ๆ จาก 5.4 - 6.0 มีการสร้างลอรี่โปรตีนได้น้อยกว่าที่ pH ค่า ๆ คือ  
 ตั้งแต่ pH 5.0 ลงไป ถึง pH 2.5

ปริมาณ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  มีผลต่อการสร้างลอรี่โปรตีน พบว่า ปริมาณที่  
 เหมาะจะจะทำให้มีการสร้างลอรี่โปรตีนได้มากของสายพันธุ์ A21, A14 และ B1 คือ  
 0.5, 1.0 และ 0.5% ตามลำดับ ถ้าใช้  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ปริมาณที่มากหรือน้อยกว่า

ค่านี้จะได้ปริมาณลอร์โปรตีนเปลี่ยนไป ลอร์โปรตีนจะสร้างได้น้อย ถ้ามีปริมาณ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ต่ำกว่า 0.5%

จากการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโต พบว่า สายพันธุ์ A21 และ B1 ทนความร้อนถึง 40° ซ. ส่วนสายพันธุ์ A14 ทนต่ออุณหภูมิได้น้อยกว่า คือ เจริญได้ตั้งแต่ 25° - 37° ซ.

ผลการศึกษาเมื่อเลี้ยง *Aspergillus* ทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารเหลวที่เหมาะสม โดยมีแป้งมันสำปะหลังปริมาณต่าง ๆ กัน พบว่าปริมาณแป้งที่ 5.0, 1.0 และ 0.5% สภาพ pH 3.5, 5.0 และ 3.5 และปริมาณ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5, 1.0 และ 0.5% เป็นสภาพอาหารเหลวที่มีแป้งพอเหมาะที่จะใช้เลี้ยงรา สายพันธุ์ A21, A14 และ B1 ตามลำดับ จากการทดลองทำให้ทราบว่า การเจริญเติบโตและการสร้างโปรตีนจากคาร์โบไฮเดรตซึ่งได้จากเศษมันสำปะหลัง ในแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถไม่เท่ากัน ที่ปริมาณแป้งสูง ๆ ต้องเพิ่มเวลาหมักให้มากขึ้น ผลผลิตโปรตีนทั้งหมดมีค่ามากขึ้นตามไปด้วย แต่ลอร์โปรตีนจะน้อยน้ำหนักแห้งมีมาก ถ้าปริมาณแป้งมันสำปะหลังต่ำ ๆ จะได้ผลผลิตโปรตีนทั้งหมดน้อย น้ำหนักแห้งน้อย แต่ลอร์โปรตีนมาก ดังนั้นสายพันธุ์ A21 สร้างลอร์โปรตีนได้สูงสุด 32.55% ในวันที่ 6 ที่เลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 5.0%, pH 3.5,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5% และ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% ส่วนสายพันธุ์ A14 เจริญให้ลอร์โปรตีนมากที่สุด 33.24% และผลผลิตโปรตีนทั้งหมด 3.99 กรัมต่อ 100 มล. ในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 1.0%, pH 5.0,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% เก็บผลเป็นเวลา 2 วันของการเลี้ยงในอาหารเหลว และสายพันธุ์ B1 สร้างลอร์โปรตีนสูงสุด 34.25% และผลผลิตโปรตีนทั้งหมด 2.40 กรัมต่อ 100 มล. เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 0.5%, pH 3.5,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% เก็บผลในวันที่ 2 ของการหมัก

ขนาดเพลเล็ทในวันแรก ๆ และวันสุดท้ายของการเลี้ยงในอาหารเหลวมีขนาด เล็ก แต่ที่สภาพที่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้นจะได้เพลเล็ทขนาดเหมาะสมเฉลี่ยประมาณ

2.0 มม. เพราะไคลอร์ไพรตีนสูงสุด ปริมาณแป้งต่ำ ๆ มีผลต่อขนาดเพลเล็ตโดยเฉลี่ย 3.0 มม. ซึ่งโตกว่าที่เลี้ยงในปริมาณแป้งสูง ๆ

ผลการวิเคราะห์กรดอะมิโน 17 ชนิดในสายใยแห้งของรา A.niger พบว่ามีกรดอะมิโน 16 ชนิด โดยมีปริมาณกรดเมไทโอนีนต่ำ และไม่มีกรดซีสทีน



containing 2.3 % of cassava starch was used. Higher or lower pH were undoubtedly effective on Lowry protein production.

When A21, A14 and B1 strains were cultured in various concentrations of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , the results showed that the optimum concentration for protein production were 0.5, 1.0 and 0.5% respectively. The culturing of each strain at other various  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  concentrations gave a low Lowry protein production. The low Lowry protein yield was found when  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  concentration was lower than 0.5 %.

When the organisms were cultured at different temperature of  $25^\circ$ ,  $30^\circ$ ,  $37^\circ$ ,  $40^\circ$  and  $45^\circ$  C, it was found that the B1 and A21 strain could be grown on solid cassava medium up to  $40^\circ\text{C}$ . The A14 strain could be grown on solid cassava starch medium up to  $37^\circ\text{C}$ , which observed in 2 days.

Effects of various concentrations of starch were studied and shown that A21 strain grew easily in the liquid medium containing 5.0 % cassava starch, 0.5 %  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.2 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 3.5 at  $25^\circ\text{C}$  for 6 days. Lowry protein concentration was 32.55 % and 71.61 gm. of total protein yield per 100 ml. of liquid medium. A14 strain was grown in the liquid medium containing 1.0 % cassava starch, 1.0 %  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.2%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 5.0 at  $25^\circ\text{C}$  for two days. Lowry protein was 33.24 % and 3.99 gm. of total protein yield per 100 ml. of liquid medium. Again, B1 strain was grown in the liquid medium containing of 0.5 % cassava



starch, 0.5 %  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.2 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 3.5 for two days and Lowry protein was 34.25 %, 2.40 gm. of total protein yield per 100 ml. of liquid medium. It was noted that when the amount of starch was increased there was a decreased in Lowry protein but the amount of total protein was increased. The ability to produce protein from cassava starch seems to vary with individual fungus and with the optimum starch concentration in the medium.

It was also noted that pellet size was varied a great deal. It appeared that the variation in pellet sizes depended on the above physiological conditions as well as concentration of starch. On the first and last days of fermentation, pellet size was quite small, measuring 2.0 mm. in diameter at optimized condition.

Amino acid analysis of the organism showed that Aspergillus niger, A14 and B1 strains contained sixteen of the amino acids except cystine with a low concentration of methionine, which are the characteristics of the normal fungal protein.



## กิติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิษณุางกูร  
อาจารย์ที่ปรึกษา

ข้าพเจ้าขอกราบขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ไวยวิทย์ พุทธิสาร  
ประธานกรรมการและคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุเทพพรณ  
ตรีรัตน์และอาจารย์ ดร. พิจิต รัตกุล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อย่างสูง  
ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือ และตรวจแก้วิทยานิพนธ์จนสำเร็จเรียบร้อย  
ด้วยดี และขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาให้ได้รับเงินทุนสมเด็จพระมหิตลาธิเบศร  
อุดมเดชวิกรม พระบรมราชชนก ประเภทเงินทุนการศึกษา และคณะกรรมการ  
พิจารณาให้ทุนวิจัยของสถาบันสภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้พิจารณา  
ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยเรื่องนี้จนจบการศึกษา

ท้ายสุดนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณ นางสาวอินทิรา สุกออมสิน ซึ่งได้ดวง  
ลับไปแล้วที่ได้ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการถ่ายภาพจากกล้องจุล-  
ทัศน์ ขอขอบคุณอาจารย์วิทยา พงษ์มาลา ที่ได้กรุณาให้ยืมกล้องถ่ายภาพ และ  
ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สรร เสริฐ ทรัพย์โตษก และคุณชัชชัย  
สิมะสาธิตกุล แห่งแผนกวิชาชีวเคมี ที่ได้ให้คำแนะนำและช่วยเหลือให้ความสะดวก  
ในการใช้เครื่องมือต่าง ๆ และข้าพเจ้าขอขอบคุณอาจารย์สงศรี กุลปรีชา ที่ได้  
กรุณาให้เช่ารถ และลูกแบ่ง ในการวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างสูง.

สารบัญ



หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	.....	๕
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	.....	๘
กิตติกรรมประกาศ	.....	๗
รายการตารางประกอบ	.....	๘
รายการรูปประกอบ	.....	๑
รายการกราฟประกอบ	.....	๓
บทที่		
1. บทนำ	.....	1
2. การสำรวจเอกสาร	.....	3
3. วิธีการและอุปกรณ์	.....	16
4. ผลการทดลอง	.....	32
5. วิจารณ์ผล	.....	63
6. สรุป	.....	77
เอกสารอ้างอิง	.....	86
ภาคผนวก	.....	92
ประวัติผู้เขียน	.....	118

รายการตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า
1. แสดงผลการแยกเชื้อ Aspergillus สายพันธุ์ต่าง ๆ จากลูกแป้ง เชื้อหมักของโรงงานสุราแอลกอฮอล์ อยุทยา เชื้อหมักจากโรงงาน เตาเจียว และจากห้องปฏิบัติการของบริษัท Tate and Lyte Limited .....	34
2. แสดงปริมาณของแป้งมันสำปะหลังโดยใช้แป้งมันสำปะหลังของบริษัท แป้งมันสำปะหลัง เอส อาร์ จำกัด เป็นค่ามาตรฐานของแป้งและใช้ วิธีกรัมไอโอดีน หาปริมาณของแป้งแล้ววัดค่า OD ที่ความยาวช่วง คลื่น 620 นาโนมิเตอร์ .....	35
3. แสดงปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่ได้จากเศษมันสำปะหลังโดยใช้สภาพ ต่าง ๆ เพื่อให้ได้ปริมาณแป้งพอเหมาะ โดยใช้เศษมันสำปะหลัง 150 กรัมต่อลิตร .....	38
4. แสดงค่า Absorbance ของ Bovine Serum Albumin (BSA) ที่ใช้เป็นมาตรฐานวัดค่าปริมาณลอร์โปรตีน โดยใช้วิธีของ Lowry ที่ความยาวช่วงคลื่น 650 นาโนมิเตอร์ .....	40
5. แสดงค่า Absorbance ของ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ โดยใช้เป็นมาตรฐาน ของการวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีของ Kjeldahl ที่ความ ยาวช่วงคลื่น 420 นาโนมิเตอร์ .....	42
* ตารางที่ 1 - 5      อยู่ในผลการทดลอง	
* ตารางที่ 6 - 31    อยู่ใน ภาคผนวก	

## ตารางที่

## หน้า

6. แสดงการเจริญเติบโต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง pHสุดท้าย ปริมาณลอร์ไพรตีน เคทวานไพรตีน นอนไพรตีน และผลผลิตไพรตีนทั้งหมดของรา *Aspergillus* สายพันธุ์ A10 ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 5.6 ในช่วงเวลา 8 วัน ..... 92
7. แสดงการเจริญเติบโต น้ำหนัก pHสุดท้าย ปริมาณลอร์ไพรตีน เคทวานไพรตีน นอนไพรตีน และผลผลิตไพรตีนทั้งหมด ในสายใยแห้งของรา *Aspergillus* (A14) เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 5.6 ในช่วงเวลา 8 วัน ..... 93
8. แสดงปริมาณการเจริญเติบโต การสร้างไพรตีนและนอนไพรตีน ในสายใยของ *Aspergillus* สายพันธุ์ต่าง ๆ 11 สายพันธุ์ เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 5.4 ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 94
9. แสดงการเจริญเติบโต การสร้างไพรตีนและนอนไพรตีนของ *A. niger* (A21) เลี้ยงในแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้นต่าง ๆ กัน 2.5, 3.5, 4.5, 5.0, 5.4 และ 6.0 ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 95

10. แสดงการเจริญเติบโต ขนาดเพลเล็ท pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีนของรา A. niger (A14) เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่เป็นแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้นต่างกัน 2.5, 3.5, 4.5, 5.0, 5.4 และ 6.0 ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 96
11. แสดงน้ำหนัก ปริมาณโปรตีน นอนโปรตีน และ pH สุดท้ายของรา A. niger (B1) เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้นต่าง ๆ กัน คือ 2.5, 3.5, 4.5, 5.0, 5.4 และ 6.0 ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 97
12. แสดงการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน นอนโปรตีนในสายใยแห้งของ Aspergillus niger (A21) เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ต่าง ๆ กัน 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0% และ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 98
13. แสดงการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีน ในสายใยแห้งของ Aspergillus niger (A14) เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ต่าง ๆ กัน คือ 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0% และ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 5.0 ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 99

- 14 แสดงการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีน ในสายใย  
 แห่งของ Aspergillus niger (B1) เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว  
 ที่มีปริมาณแป้งมันสำปะหลัง 2.3%, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ต่าง ๆ กัน คือ  
 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0% และ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2%  
 pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 100
  
- 15 แสดงความสามารถของรา Aspergillus niger สายพันธุ์ A21,  
 A14 และ B1 ทนต่ออุณหภูมิต่าง ๆ กัน โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งที่  
 ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 2.3%, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5%,  
 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2% ในช่วงเวลา 2 วัน .... 101
  
- 16 แสดงน้ำหนัก ปริมาณโปรตีน นอนโปรตีน และ pHสุดท้ายของ  
Aspergillus niger สายพันธุ์ A21 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มี  
 แป้งมันสำปะหลัง 0.5%, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2%  
 pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 102
  
- 17 แสดงน้ำหนัก ปริมาณโปรตีน นอนโปรตีน และ pHสุดท้ายของ  
Aspergillus niger สายพันธุ์ A21 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว  
 ที่มีแป้งมันสำปะหลัง 1.0%, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
 0.2%, pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน .... 103
  
- 18 แสดงน้ำหนัก ปริมาณโปรตีน นอนโปรตีน และ pHสุดท้ายของ  
Aspergillus niger สายพันธุ์ A21 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่  
 มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
 0.2%, pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 104

- 19 แสดงน้ำหนัก ปริมาณโปรตีน นอนโปรตีน และ pH สุดท้าย ของ Aspergillus niger สายพันธุ์ A21 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีฟัฟงมันสำปะหลัง 3.0%,  $(NH_4)_2SO_4$  0.5%,  $KH_2PO_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 105
- 20 แสดงน้ำหนัก ปริมาณโปรตีน นอนโปรตีน และ pH สุดท้าย ของ Aspergillus niger สายพันธุ์ A21 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 5.0%,  $(NH_4)_2SO_4$  0.5%,  $KH_2PO_4$  0.2% pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 106
- 21 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีนของ Aspergillus niger สายพันธุ์ A14 เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 0.5%,  $(NH_4)_2SO_4$  1.0%,  $KH_2PO_4$  0.2% pH เริ่มต้น 5.0 ในช่วงเวลา 6 วัน .... 107
- 22 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีนของ Aspergillus niger สายพันธุ์ A14 เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 1.0%,  $(NH_4)_2SO_4$  1.0%,  $KH_2PO_4$  0.2% pH เริ่มต้น 5.0 ในช่วงเวลา 6 วัน 108
- 23 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีนของ Aspergillus niger สายพันธุ์ A14 เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(NH_4)_2SO_4$  1.0%,  $KH_2PO_4$  0.2% pH เริ่มต้น 5.0 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 109



ตารางที่

หน้า

- 24 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีนของ Aspergillus niger สายพันธุ์ A14 เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 3.0%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% pH เริ่มต้น 5.0 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 110
- 25 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีนของ Aspergillus niger สายพันธุ์ A14 เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 5.0%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% pH เริ่มต้น 5.0 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 111
- 26 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีนของ Aspergillus niger สายพันธุ์ B1 เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 0.5%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 112
- 27 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีนและ นอนโปรตีนของ Aspergillus niger สายพันธุ์ B1 เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 1.0%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน .... 113

## ตารางที่

## หน้า

- 28 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีน และนอนโปรตีน  
ของ Aspergillus niger สายพันธุ์ B1 เลี้ยงในอาหาร  
เหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน 114
- 29 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีนและนอนโปรตีน  
ของ Aspergillus niger สายพันธุ์ B1 เลี้ยงในอาหาร  
เหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 3.0%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน 115
- 30 แสดงน้ำหนัก pH สุดท้าย ปริมาณโปรตีนและนอนโปรตีนของ  
Aspergillus niger สายพันธุ์ B1 เลี้ยงในอาหารเหลว  
ที่มีแป้งมันสำปะหลัง 5.0%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   
0.2% pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 116
- 31 แสดงผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนในสายใยแห้งของรา  
Aspergillus niger สายพันธุ์ A14 และ B1 เลี้ยงใน  
อาหารที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 5.4 ในช่วงเวลา 2 วัน 117

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1	แสดงภาพเศษมันสำปะหลังที่เป็นของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม มันเส้นและแป้งมันสำปะหลัง จังหวัดเพชรบุรี .....	17
2	ลูกแป้งชนิดต่าง ๆ ลูกแป้ง เหล้า ลูกแป้งข้าวหมาก ที่ใช้หมักในอาหาร บางชนิด ที่รับประทานได้ของไทย ใช้เป็นแหล่งแยกเชื้อ <i>Aspergillus</i> .....	17
3	แสดงภาพของเชื้อหมักเต้าเจี้ยว สำหรับหมักทำซีอิ้ว และเต้าเจี้ยว ของไทย ที่แยกได้ <i>Aspergillus oryzae</i> .....	18
4	เพล็ดเล็กที่อยู่ในอาหารหลังจากหมักได้ 2 วัน อาหารเหลวประกอบ ด้วยแป้งมันสำปะหลัง $(NH_4)_2SO_4$ และ $KH_2PO_4$ .....	22
5	แสดงภาพของสายใยแห้งของรา <i>A. niger</i> ภายหลังจากอบที่ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง .....	22
6	แสดงลักษณะ สปอร์ของรา <i>A. niger</i> (B1) ที่แยกได้จากลูก- แป้งแอลกอฮอล์ จังหวัดอยุธยา .....	33
7	แสดงลักษณะ สปอร์ของรา <i>A. niger</i> (A14) ที่แยกได้จากลูกแป้ง แอลกอฮอล์ของไทย .....	33



รายการกราฟประกอบ

กราฟที่	หน้า
1	แสดงกราฟมาตรฐานของแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้วิธีกรัมไอโอดีน วัดที่ความยาวช่วงคลื่น 620 นาโนมิเตอร์ ..... .. 36
2	แสดงเส้นกราฟมาตรฐานของปริมาณลอร์โปรตีน โดยวิธี Lowry โดยใช้ B.S.A. (Bovine Serum Albumin) เป็นมาตรฐาน ลอร์โปรตีน วัดที่ความยาวช่วงคลื่น 650 นาโนมิเตอร์ .... .. 41
3	แสดงเส้นกราฟมาตรฐานแอมโมเนียมซัลเฟต เพื่อใช้เทียบค่า ปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Kjeldahl ที่ความยาว ช่วงคลื่น 420 นาโนมิเตอร์ ..... .. 43
4	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน นอน- โปรตีน และ pH สุดท้ายที่เลี้ยงรา <u>A. niger</u> (A10) ในอาหาร เหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0.2%, pH เริ่มต้น 5.6 ในช่วงเวลา 8 วัน ... 45
5	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีน นอน- โปรตีน และ pH สุดท้ายที่เลี้ยงรา <u>A. niger</u> (A14) ในสภาพ ที่มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5%, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 0.2% ในอาหารเหลว ในช่วงเวลา 8 วัน ..... .. 46

- 6 จาก 11 สายพันธุ์ รา *Aspergillus* ที่แยกได้จากแหล่งอาหาร  
ที่ไ้รับประทานได้ คัดไว้ 3 สายพันธุ์ โดยวิธีหาปริมาณโปรตีน  
ของ Lowry และวิธีของ Kjeldahl รานี้เลี้ยงในอาหารที่มีแป้ง  
มันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%, และ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%  
pH 5.4 ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 48
- 7 แสดงปริมาณของลอร์โปรตีน, เคคาวนโปรตีน นอนโปรตีน  
และผลผลิตโปรตีนทั้งหมดของ *A. niger* 3 สายพันธุ์ (A21, A14  
และ B1) ที่ได้โดยเลี้ยงในอาหารเหลว ใช้ pH เริ่มต้นต่าง ๆ  
กัน 2.5, 3.5, 4.5, 5.0, 5.4, 6.0 และมีแป้ง  
มันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%  
คงที่ ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 51
- 8 แสดงปริมาณลอร์โปรตีน เคคาวนโปรตีน นอนโปรตีน และ  
ผลผลิตโปรตีนทั้งหมดของ *A. niger* 3 สายพันธุ์ (A21, A14  
และ B1) ที่ได้โดยเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ความ  
เข้มข้นต่างกัน 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0 %,  
และมีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% คงที่ ในช่วง  
เวลา 2 วัน ..... 53
- 9 แสดงผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของ *A. niger* 3  
สายพันธุ์ (A21, A14 และ B1) บนอาหารแข็งที่มีแป้งมันสำปะ-  
หลัง 2.3% ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 55

กราฟที่

หน้า

- 10 แสดงผลผลิตโปรตีนทั้งหมด ลอรีโปรตีนของ A. niger (A21) ที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีปริมาณแอมโมเนียต่าง ๆ กัน 0.5, 1.0, 2.3, 3.0, 5.0 % และคงที่ ปริมาณ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% pH 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 57
- 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต ปริมาณลอรีโปรตีน ผลผลิตโปรตีนทั้งหมด เกล็ดโปรตีน นอนโปรตีน และ pH สุดท้ายที่เลี้ยงรา A. niger (A21) ในอาหารเหลวที่เหมาะสม โดยมีแอมโมเนีย 5.0%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน .... 58
- 12 แสดงลอรีโปรตีนและผลผลิตโปรตีนทั้งหมดของ A. niger (A14) ที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีปริมาณแอมโมเนียต่าง ๆ กัน 0.5, 1.0, 2.3, 3.0, 5.0% และคงที่ ปริมาณ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 5.0 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 60
- 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต ปริมาณลอรีโปรตีน เกล็ดโปรตีน นอนโปรตีน ผลผลิตโปรตีนทั้งหมดและ pH สุดท้ายที่เลี้ยงรา A. niger (A14) ในอาหารเหลวที่เหมาะสม โดยมีแอมโมเนีย 1.0%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 5.0 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 61



กราฟที่

หน้า

- 14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต ลอริโปรตีน  
เคตวานโปรตีน ผลผลิตโปรตีนทั้งหมด และ pH สุดท้ายที่  
เลี้ยงรา A. niger (B1) ในอาหารเหลวที่เหมาะสม โดย  
มีแป้งมันสำปะหลัง 0.5%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   
0.2% และ pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6 วัน ..... 64
- 15 แสดงผลผลิตโปรตีนทั้งหมดและลอริโปรตีนที่เลี้ยงรา A. niger (B1)  
ในอาหารเหลว 100 มล. ของแป้งมันสำปะหลังต่าง ๆ กัน  
0.5, 1.0, 2.3, 3.0, 5.0% และกึ่งที่  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%, pH เริ่มต้น 3.5 ในช่วงเวลา 6  
วัน ..... 65
- 16 แสดงชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน ในสายใยแห้งของรา  
A. niger สายพันธุ์ A14 และ B1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่  
มีแป้งมันสำปะหลัง 2.3%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5% และ  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2% ในช่วงเวลา 2 วัน ..... 67