

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



247767

การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลล์ของแบคทีเรียจาก
Acetobacter xylinum Agt 66 ที่เพาะเลี้ยง ในน้ำอ้อยเคี้ยว

สุกฤษฎี ไชยสารภาพ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เมษายน 2554



การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลลูโลสของแบคทีเรียจาก
Acetobacter xylinum Agr 60 ที่เพาะเลี้ยง ในน้ำเวย์เต้าหู้

สุกรีย์ โพธิ์สาราช



วิทยานิพนธ์นี้เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยเพื่อเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เมษายน 2554

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลล์ของแบคทีเรียจาก
Acetobacter xylinum Agr 60 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้

สุกรีย์ โพธิสาราช

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร.สิทธิสิน บวรสมบัติ

.....

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกัญญา บวรสมบัติ

.....กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกัญญา บวรสมบัติ

.....กรรมการ

รองศาสตราจารย์ วันชัย สนธิไชย

8 เมษายน 2554

© ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้ จะประสบความสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดีไม่ได้ หากขาดการสนับสนุนที่ดีจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สกุณณี บวรสมบัติ ผู้ซึ่งให้คำปรึกษา กำลังใจ ความรู้ และโอกาสที่ข้าพเจ้าได้ไปยังต่างประเทศ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์มา ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณครอบครัว คุณพ่อสนอง คุณแม่ยุรา พี่สาว และน้องชายฝาแฝด ที่ให้กำลังใจ สนับสนุนการเรียน และการใช้ชีวิตตลอดชีวิตของข้าพเจ้า

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ห้องปฏิบัติการ 2806 ที่ให้คำปรึกษา ทั้งปัญหาในการทำแลบ การเรียน และเรื่องส่วนตัว ขอขอบคุณอาจารย์ และเจ้าหน้าที่ เพื่อน พี่ น้อง ชาวสาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ทุกท่านที่ช่วยสอนวิชาความรู้ทางวิชาการด้านจุลชีววิทยา หล่อหลอมให้ข้าพเจ้ามีวิชาความรู้ทางด้านนี้อย่างเต็มเปี่ยม สามารถทำวิทยานิพนธ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และประสบความสำเร็จ

ขอบคุณเพื่อนๆ ข้าพเจ้าทุกคน ที่เป็นกำลังให้กับข้าพเจ้าเสมอมา ทั้งในยามสุข และยามทุกข์ ขอขอบคุณเพื่อนๆ มา ณ ที่นี้

ท้ายสุดนี้ หากมีสิ่งบกพร่องประการใดในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ข้าพเจ้าขออภัยเป็นอย่างสูงในข้อบกพร่องดังกล่าว ข้าพเจ้าหวังว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้ จะเป็นประโยชน์กับผู้ศึกษาถึงเซลล์โลสแบคทีเรีย รวมไปถึงผู้ประกอบการอุตสาหกรรม ที่ต้องการผลิตเซลล์โลสในเชิงอุตสาหกรรม และการประยุกต์ใช้เซลล์โลสต่อไป

สุกรีย์ โพธิสาราช

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลลูโลสของ
แบคทีเรียจาก *Acetobacter xylinum* Agr 60 ที่เพาะเลี้ยง
ในน้ำเวย์เต้าหู้

ผู้เขียน นายสุกรีย์ โพธิสาราช

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สฤณณี บวรสมบัติ

บทคัดย่อ

247767

การวิจัยในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้น้ำเวย์เต้าหู้ ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตเต้าหู้ มาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Acetobacter xylinum* Agr60 เพื่อผลิตเซลลูโลสในระดับอุตสาหกรรม พบว่า เชื้อตั้งต้นอายุ 10 วัน ปริมาณ 5% ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับ *A. xylinum* Agr 60 เพื่อผลิตเซลลูโลสในน้ำเวย์เต้าหู้ ประกอบไปด้วย น้ำตาลซูโครส 5% และแอมโนเนียมซัลเฟต 0.05% ที่ pH 4 ภาชนะที่เหมาะสมกับการผลิตเซลลูโลส คือกล่องพลาสติกที่มีขนาด 18x24 เซนติเมตร ที่ความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อ 10 เซนติเมตร โดยให้น้ำหนักของเซลลูโลสสูงที่สุด 869.02 กรัม เมื่อนำเซลลูโลสที่ได้มาอบแห้ง ลักษณะเซลลูโลสอบแห้งที่ได้จากการอบลมร้อน และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งโดยใช้เซลลูโลสทั้งชิ้น และเซลลูโลสอบ พบว่าเซลลูโลสอบแห้งที่ได้ มีรูปร่าง เนื้อสัมผัส รวมไปถึงลักษณะการกินตัวของเซลลูโลสมีความแตกต่างกัน เมื่อนำเซลลูโลสมาใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพของข้าวหุงสุกพบว่าอัตราส่วนของข้าวสาร: เซลลูโลสที่ 1:0.1 ทำให้ข้าวสุกมีลักษณะปรากฏที่ดี และข้าวมีความนุ่มเพิ่มขึ้น และจากการทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภค 50 คนให้การยอมรับข้าวหุงสุกที่เติมเซลลูโลสสดละเอียดในอัตราส่วน ข้าวสาร: เซลลูโลสที่ 1:0.1 ที่มากที่สุด

Thesis Title Optimization of Bacterial Cellulose Production from
Acetobacter xylinum Agr 60 Cultured in Tofu Whey

Author Mr. Sukree Photisarach

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisor Asst. Prof. Dr.Sakunnee Bovonsombut

ABSTRACT

247767

The aim of this study is to optimize the culture condition of *Acetobacter xylinum* Agr 60 in Tofu Whey, waste from tofu manufacture. The result shows that using 5% of 10 days starter culture gives the highest cellulose yield from *A. xylinum* Agr 60 cultured in tofu whey. The optimized tofu whey medium contains 5% of sucrose, 0.05% ammonium sulfate (as a fixed factor) and pH 4. 18x24 cm plastic box with 10 cm medium height gives the highest cellulose yield. In experiment of dried cellulose, chunk and shredded cellulose, processed with hot air drying and freeze drying, gives different appearance and texture of dried cellulose. For cellulose application in improving texture of cooked rice, consumer acceptance test reveals that cooked rice which is added cellulose in 1:0.1 ratio of rice: cellulose gives the highest liking score. In this ratio, cooked rice has better appearance and softer texture than adding cellulose in lower amount and no adding cellulose cooked rice.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	2
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	17
บทที่ 4 ผลการวิจัย	23
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	43
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก	57
ภาคผนวก ก วิธีการหาปริมาณทางเคมี	58
ภาคผนวก ข สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	60
ภาคผนวก ค การเตรียมสารเคมี	61
ภาคผนวก ง ผลวิเคราะห์ทางสถิติ	62
ภาคผนวก จ แบบฟอร์มการให้คะแนนผลิตภัณฑ์ข้าวผสมเชลลูโลส	95
ภาคผนวก ฉ ปริมาณผลผลิต	96
ประวัติผู้เขียน	98

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียในจีนัส <i>Acetobacter</i>	3
2 ลักษณะเฉพาะของ <i>Acetobacter xylinum</i>	5
3 องค์ประกอบของน้ำเวย์เต้าหู้	23
4 อายุ และปริมาณเชื้อเริ่มต้น ที่ส่งผลต่อความหนา และน้ำหนักของเซลล์ูโลส จาก <i>Acetobacter xylinum</i> Agr 60 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้	26
5 อายุของเชื้อตั้งต้นที่มีผลต่อความหนาและน้ำหนักของเซลล์ูโลส ที่ผลิตขึ้นจาก <i>Acetobacter xylinum</i> Agr 60 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้	27
6 ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่มีผลต่อความหนาและน้ำหนักของเซลล์ูโลส ที่ผลิตขึ้นจาก <i>Acetobacter xylinum</i> Agr 60 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้	27
7 ความหนาและน้ำหนักของเซลล์ูโลส ปริมาณกรด และ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากการเลี้ยง <i>A. xylinum</i> Agr 60 ในน้ำเวย์เต้าหู้ ที่ผันแปรความเข้มข้นของซูโครส	29
8 แสดงความหนาและน้ำหนักของเซลล์ูโลส ปริมาณกรด และ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากการเลี้ยง <i>A. xylinum</i> Agr 60 ในน้ำเวย์เต้าหู้ที่ผันแปร pH ของน้ำเวย์ที่ใช้เลี้ยงเชื้อ	31
9 ความหนาและน้ำหนักของเซลล์ูโลส จากการเพาะเลี้ยง <i>Acetobacter xylinum</i> Agr 60 ในน้ำเวย์เต้าหู้ เมื่อใช้ภาชนะ และระดับความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกัน	32
10 ผลของมิติของภาชนะเลี้ยงเชื้อ ที่มีต่อ น้ำหนัก และความหนาของเซลล์ูโลสที่ผลิตจาก <i>A. xylinum</i> Agr 60 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้	33
11 ผลของความลึกของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีต่อ น้ำหนัก และความหนาของเซลล์ูโลสที่ผลิตจาก <i>A. xylinum</i> Agr 60 ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้	33
12 เปรียบเทียบการดูดน้ำกลับคืนของเซลล์ูโลสแต่ละชนิด	37
13 ลักษณะปรากฏของข้าวสุก เมื่อเติมเซลล์ูโลสลงในข้าวพิจิตรแข็ง	38
14 ลักษณะปรากฏของข้าวสุก เมื่อเติมเซลล์ูโลสลงในข้าวกล้องสีนิล	39
15 ลักษณะปรากฏของข้าวสุก เมื่อเติมเซลล์ูโลสลงในข้าวกล้องคั่ว	40
16 ความชอบของข้าวกล้องคั่วที่ผสมเซลล์ูโลสในอัตราส่วนต่างกัน	41

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตาราง	หน้า
17 เปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของเซลล์โลส ที่ผลิตขึ้นจากซูโครสที่ความเข้มข้นต่างๆ	96
18 ปริมาณเซลล์โลส และร้อยละผลผลิตเซลล์โลส ที่ได้จากระดับ pH ต่างๆ	97

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
1 วิธีเมตาบอลิซึมคาร์บอนของ <i>A. xylinum</i>	6
2 แบบจำลองการควบคุมการสังเคราะห์เซลลูโลสของ <i>A. xylinum</i>	8
3 กล้องพลาสติกขนาด 13x27 cm	20
4 กล้องพลาสติกขนาด 18x24 cm	20
5 ตัวอย่างน้ำเวย์เต้าหู้ที่ใช้ในการทดลอง	24
6 ความหนาของเซลลูโลสเมื่อหมักนาน 14 วัน	28
7 ความหนาของเซลลูโลส ที่ความแตกต่างของความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส	29
8 ผลของ pH ต่อการผลิตเซลลูโลสของแบคทีเรีย ในน้ำเวย์เต้าหู้	30
9 ความหนาของเซลลูโลส ที่ความแตกต่างของ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ	31
10 ลักษณะของเซลลูโลสอบแห้ง	35
11 ลักษณะเซลลูโลสหลังจากแช่น้ำ	36
12 ขั้วพิจิตรแข็ง ที่ผสมเซลลูโลสในอัตราส่วนต่างกัน	38
13 ขั้วกลิ้งสินิล ที่ผสมเซลลูโลสในอัตราส่วนต่างกัน	39
14 ขั้วกำดอย ที่ผสมเซลลูโลสในอัตราส่วนต่างกัน	40