

247517

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



247517



โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ  
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี(อพ.สธ.) สำนักพระราชวัง

Plant Genetic Conservation project as The Royal Initiation of  
Her Royal highness Princess Maha Chakri Sirindhorn(RSPG)

The Bureau of the Royal Household

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การพัฒนากระบวนการผลิตสีครามจากต้นครามโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์และ  
การเก็บรักษาเนื้อครามในสภาพที่เหมาะสมต่อการใช้งาน

Development of the production of indigo dye from indigo plant using  
microorganisms and convenient preservation method of indigo dye

โดย

นางงามนิจ นนทโส

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปี

งบประมาณ พ.ศ. 2552

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ISBN

600252192

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ  
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี(อพ.สธ.) สำนักพระราชวัง

Plant Genetic Conservation project as The Royal Initiation of  
Her Royal highness Princess Maha Chakri Sirindhorn(RSPG)

The Bureau of the Royal Household



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การพัฒนากระบวนการผลิตสีครามจากต้นครามโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์และ  
การเก็บรักษาเนื้อครามในสภาพที่เหมาะสมต่อการใช้งาน

Development of the production of indigo dye from indigo plant using  
microorganisms and convenient preservation method of indigo dye

โดย

นางงามนิจ นนทโส

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปี

งบประมาณ พ.ศ. 2552

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ISBN

## บทคัดย่อ

247517

ได้นำแบคทีเรียทั้ง 50 ไอโซเลทที่แยกเชื้อจากดินในบริเวณเขื่อนจุฬาภรณ์ มาคัดเลือกเชื้อที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสสูงสุด โดยใช้ปฏิกิริยาการไฮโดรไลต์สารเอสคูลิน เชื้อ ไอโซเลท B6 มีสีค่าเข้มเนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริกไอออนในอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเอสคูเลทินซึ่งเกิดจากเชื้อไฮโดรไลต์สารเอสคูลิน ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อ B6 มาใช้ในการผลิตเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสโดยใช้เซลล์โอบิโอสและกลูโคสเป็นซับสเตรท พบว่าเซลล์โอบิโอสเป็นซับสเตรทที่ดีในการผลิตเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสโดยเชื้อ B6 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์  $15761.57 \mu \text{ unit}$  ที่เวลาบ่ม 72 ชม. อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C}$  และเชื้อ B6 สามารถผลิตอินดิโกบัลดู จาก Minced indigo leave medium ได้สูงสุดที่เวลาหมัก 72 ชม. ในปริมาณ  $510.40 \mu\text{g/ml}$  ส่วนไอโซเลท D6 สามารถรีดิวสีน้ำเงินของอินดิโกคาร์มินให้อยู่ในสภาพไม่มีสีที่เวลา 24 ชม. ที่ pH 5.78 อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C}$  และสามารถรีดิวสีน้ำเงินของตะกอนครามให้อยู่ในสภาพไม่มีสีที่เวลา 24 ชม. ที่ pH 11.15 อุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C}$

พบว่า การเก็บอินดิโกบัลดูไว้ในรูปตะกอนครามเป็นวิธีการที่ดีที่สุด ในสภาพที่มีความชื้น 60-70% โดยเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  ส่วนการเก็บลิวโคอินดิโกในรูปของของเหลวที่บรรจุให้เต็มขวดไม่มีช่องว่างเหนือของเหลวแล้วนำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ  $30^{\circ}\text{C}$  เป็นวิธีการที่ดีที่สุด

## Abstract

247517

The fifty soil bacterial isolates from Chulaporn dam area were tested for the highest  $\beta$ -glucosidase activity using esculine hydrolysis reaction method. The isolated B6 shown the darkness spot causing by the reaction of ferric iron in the medium and esculetin which was the product from esculine hydrolysis, therefore it was selected fore the  $\beta$ -glucosidase production from the cellobiose or glucose. The cellobiose was the best substrate at the incubation condition as 30°C and 72 h. The  $\beta$ -glucosidase activity was 15761.57  $\mu$  unit. The isolated B6 also shown the highest indigo blue production from the minced Indigo leave medium as 510.04  $\mu$ g/ml at the temperature as 30°C and the incubation time as 72 h

The isolated D 6 was the indigo reducing bacteria which reduced the blue color of indigo carmine to colorless within 24 h as pH 5.78 and 30°C. The reduction of traditional natural indigo dye to the pale yellow color was appeared at 12 h of incubation time as pH 11.15 and 30°C.

The best preserved method of the natural indigo dye was in the form of the paste of traditional natural indigo dye which had moisture content as 60-70% and keep it at the temperature 10°C. The solution of leuco indigo was filled in the bottom with no head space and maintenance at 10°C was the best method for the leuco indigo preservation.

## สารบัญ

	หน้า
<b>บทนำ</b>	1
<b>การตรวจเอกสาร</b>	
คุณสมบัติทางเคมีของสีคราม	3
กระบวนการทำสีครามธรรมชาติ	4
การใช้ประโยชน์จากไบโอครามหมักด้วยจุลินทรีย์	6
<b>วัตถุประสงค์ของโครงการ</b>	7
<b>วิธีการทดลอง</b>	
การคัดเลือกแบคทีเรียที่แยกจากดินบริเวณเขื่อนจุฬาภรณ์ที่สร้างเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase สูงสุด	8
การศึกษาการสร้างเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase โดยใช้กลูโคสหรือ cellobiose เป็นซับสเตรท	9
การวัดกิจกรรมเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase	10
การศึกษาการผลิต indigo blue ใน minced indigo leave medium	11
วิธีเก็บรักษาเนื้อคราม (indigo blue)	12
วิธีเก็บรักษา leuco indigo	12
<b>ผลการทดลอง</b>	
การคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase สูงสุด	14
การผลิต indigo blue ใน minced indigo leave medium	15
การรีดิวส์ indigo blue ให้เป็น leuco indigo โดยใช้ indigo reducing bacteria	17
การเก็บรักษาเนื้อคราม (indigo blue)	18
การเก็บรักษา leuco indigo	18
<b>สรุปผลการทดลอง</b>	19
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	20