การผลิตแซนแทน กัม ด้วยเครื่องชีวปฏิกรณ์แบบฟองอากาศจากสายพันธุ์คัดเลือก *Xanthomonas campestris*

นางสาว ศศิธร โชติศศิธร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2536
ISBN 974-583-151-4
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

019115
1178862384

XANTHAN GUM PRODUCTION BY AIR BUBBLE BIOREACTOR FROM SELECTED STRAIN OF *Xanthomonas campestris*

Miss Sasitorn Chotisasitorn

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Sciences
Program Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
1993

ISBN 974-583-151-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตแซนแทน กัม ด้วยเครื่องชีวปฏิกรณ์แบบฟองอากาศจากสายพันธุ์คัดเลือก *Xanthomonas campestris*
โดย	นางสาว ศศิธร โชติศศิธร
สาขาวิชา	หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งนิพัฒน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ศาตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วินิจ ข่าววรรธน์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ค่คิธร โชติค่คิธร : การผลิตแซนแทน กัม ด้วยเครื่องชีวปฏิกรณ์แบบฟองอากาศจากสายพันธุ์คัดเลือก *Xanthomonas campestris* (XATHAN GUM PRODUCTION BY AIR BUBBLE FROM SELECTED STRAIN OF *Xanthomonas campestris*) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สัณห์ พณิชยกุล, ค่.ดร.ส่มศักดิ์ ด่ารงเลิศ, 133 ISBN 974-583-151-4

ท่าการคัดเลือกสายพันธุ์ *Xanthomonas campestris* จาก *Xanthomonas campestris* NRRL-1459 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตส่ารโพลีแซคคาไรด์สูงและส่ม่่าเส่มอ เมื่อท่าการถ่ายเชื้อบนอาหารแข็ง (20 ครั้งทุก 14 วัน) พบว่า มีการแปรผันของขนาดโคโลนีที่เล็กกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม โดยที่ขนาดของโคโลนีจะมีความสัมพันธ์กับการเจริญและการสังเคราะห์แซนแทน กัม การศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะส่มในการผลิตแซนแทน กัม โดยเพาะเลี้ยง *X. campestris* ในอาหารเหลวที่มีแอมโมเนียม-ไนเตรตเป็นแหล่งต้นตอไนโตรเจนในระดับขวดเขย่า พบว่ากลูโคส่เป็นแหล่งต้นตอคาร์บอนที่ได้ผลผลิตแซนแทน กัม สูงกว่าซูโครส่ อุณหภูมิที่เหมาะส่มในการในการสังเคราะห์แซนแทน กัม คือ 30 °ซ. โดยที่ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงเล็กน้อย เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีขนาดโคโลนีใหญ่ในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยกลูโคส่ 3% ไดโปแตส่เซียมไฮโดรเจน ฟอส่เฟต 0.4% และแมกนีเซียม 0.01% ที่ความเร็วรอบของการเขย่า 250 รอบต่อนาที พบว่าหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 96 ชม. ในส่วนน้่าของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนืด 150 เซนติพอยซ์ และมีปริมาณแซนแทน กัม 38 กรัม/ลิตร เมื่อขยายขนาดการเพาะเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ในถังหมักเชื้อปฏิกรณ์ขนาด 2.5 ลิตร โดยให้อากาศในอัตรา 1.6 v.v.m. พบว่าเชื้อส่ามารถผลิตแซนแทน กัม ได้ถึง 11 กรัม/ลิตร และค่าความหนืด 300 เซนติพอยซ์ และได้ปริมาณกรดไพรูวิก 10 มก./ล. การศึกษาส่ภาวะที่เหมาะส่มในการตกตะกอนแซนแทน กัม จากอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าการใช้โปแตส่เซียมคลอไรด์ 5% และเอทานอลในอัตราส่วนต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 2:1 จะได้ปริมาณแซนแทน กัม 6.5 กรัม/ลิตร

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C326877 : MAJOR BIOTECNOLOGY
KEY WORD: *Xanthomonas campestris* /AIR BUBBLE BIOREACTOR / XANTHAN GUM
SASITORN CHOTISASITORN : XANTHAN GUM PRODUCTION BY AIR BUBBLE BIOREACTOR FROM SELECTED STRAIN OF *Xanthomonas campestris*. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SANHA PANICHAJAKUL, Ph.D., PROF. SOMSAK DUMRONGLED, Ph.D. 133 pp. ISBN 974-583-151-4

Stock cultures of *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 were selected and propagated to assure consistent production and good yield of extracellular heteropolysaccharides. Under continuous subculture conditions (20 times within 14-day intervals), propagative maintenance on agar plate, variant typical colonied develop are smaller than the original parent strains. The colonial size characteristics were found correlated to the growth and gum production. Cultivation of selected isolated of *X. campestris* were carried out in a shake flask for further optimization to develop Xanthan gum production medium. Glucose supplemented as carbon source was high advantage over sucrose in the defined medium which ammonium nitrate was supplied as nitrogen sourse. The attainment of optimal temperature for the polysaccharide synthesis was established at 30 ^{o}C with slightly drop in medium initial pH. On the basis of 3% D-glucose, 0.4% dipotassium hydrogen phosphate, 0.01% magnesium sulfate at the shaking frequency of 250 rpm in psychrotherm incubater, the normal large colony type gives crude culture medium after 96 hrs of 150 centipoise (Cps.) medium viscosity with 38 gram per litre of Xanthan gum. The process of Xanthan gum production by selected *X. campestris* was investigated in the 2.5 litres air-bubble bio-reacter maintained with 1.6 V.V.M. air rate. In this condition 11 gram per litre of Xanthan gum 300 centipoise medium viscosity which contained 10 milligram per liter of pyruvic acid were obtained. The process for clarifying and precipitating the polysaccharide culture medium was also achieved by 5% KCl and 2:1 ethanol-medium ratio which 6.5 gram per litre yields.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล และศาตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้โอกาสในการเรียนรู้ คำแนะนำ ความช่วยเหลือ ความรักและกำลังใจ ตลอดจนตรวจแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ วินิจ ชำวิวรรธน์ ที่ได้ให้ความกรุณารับเป็นอาจารย์สอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา ที่ได้ให้ความกรุณาติดต่อเชื้อ *xanthomonas campestris* สำหรับวิทยานิพนธ์นี้

กราบขอบพระคุณ อาจารย์ชัยรัตน์ ศิริพัธนะ สำหรับข้อมูลและความรู้ตลอดจนคำแนะนำอันมีค่า

กราบขอบพระคุณ ดร.เลอสรร ธนะสุกาญน์ สำหรับแนวความคิดในการสร้างเครื่องมือวัดความหนืดที่สร้างขึ้นเองสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณภาควิชาเคมีเทคนิค ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สำหรับเครื่องมือวัดความหนืด Brookfield viscosimeter

ขอขอบคุณ คุณ สังข์ ชมชื่น ช่างเทคนิคของภาควิชาเคมีเทคนิคที่ได้ให้ความช่วยเหลือสร้างถังชีวปฏิกรณ์สำหรับการทดลอง และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน

ขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี และเจ้าหน้าที่ที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านความช่วยเหลือสารเคมี เครื่องมือและสถานที่ในระหว่างทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณศลยา สุขสอาด คุณสุพิชชา มังคะลี คุณจิราพร โรจน์ทินกร คุณสรัญญา พันธุ์พฤกษ์ คุณปวีณา พงษ์ดนตรี คุณสุวรรณา โคะวะวินทวีวัฒน์ คุณปริญญา รัตนะพิมาน คุณนตพร ศุภณัฐเศรษฐกุล และพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ในภาควิชาชีวเคมีและหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพสำหรับความรัก กำลังใจ ตลอดจนความช่วยเหลือที่มีให้ผู้เขียนตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณศาสวัต วรรคาวิสันต์ สำหรับความอนุเคราะห์ในการทำสไลด์ และกราฟต่างๆในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ๆทุกคนในครอบครัวสำหรับความรัก กำลังใจ ความช่วยเหลือ ที่มีต่อผู้เขียนตลอดมา

สารบัญ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญรูป.....ญ
สารบัญตาราง.....ต
คำย่อ.....ถ

บทที่

1. บทนำ.....1
2. วิธีทดลอง.....19
    2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....19
        2.1.1 เครื่องมือที่ใช้.....19
        2.1.2 เคมีภัณฑ์.....20
    2.2 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง.....21
    2.3 อาหารเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย.....21
        2.3.1 อาหารเก็บเชื้อแบคทีเรีย Wakimoto Agar.....21
        2.3.2 สูตรอาหารเลี้ยงสำหรับทำ Inoculum.....22
        2.3.3 สูตรอาหารสร้างแซนแทน กัม.....22
        2.3.4 สูตรอาหารสร้างแซนแทน กัม (สูตรปรับปรุงใหม่).....22
    2.4 การเก็บรักษาแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง.....22
    2.5 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรีย.....23
        2.5.1 การเตรียมเชื้อตั้งต้น.....23
        2.5.2 การถ่ายเชื้อและการติดตามการเจริญ.....23
    2.6 การเตรียมสารละลาย.....24
        2.6.1 สารละลายที่ใช้ในการวัดปริมาณกลูโคส.....24
        2.6.2 สารละลายที่ใช้ในการวัดปริมาณกรดไพรูวิก.....25
    2.7 การวัดปริมาณกลูโคส.....26

2.8 การวัดปริมาณกรดไพรูวิก.....26
2.9 การวัดค่าความหนืด.....26
2.9.1 วัดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....26
2.9.2 วัดด้วย Model Viscosimeter.....27
2.10 การขยายระดับการผลิตสู่ถังหมัก.....27
2.10.1 อุปกรณ์.....27
2.10.2 การเตรียมคอลัมน์หมัก.....35
2.10.3 การถ่ายเชื้อเพื่อเริ่มเดินระบบหมักแซนแทน.....35
3. ผลการทดลอง.....36
3.1 การคัดเลือกเชื้อ *Xanthomonas campestris* ที่ผลิตกัมได้สูง.....36
3.2 ความเสถียรของสายพันธุ์ในการเจริญและการผลิตแซนแทน กัม.....45
3.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตแซนแทน กัม.....52
3.4 การศึกษาความเร็วรอบของการเขย่าที่มีผลต่อการเจริญ และการผลิตแซนแทน กัม.....57
3.5 การศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแซนแทน กัม.....62
3.6 การศึกษาปริมาณสารอาหารไนโตรเจนในการผลิตแซนแทน กัม.....71
3.7 การศึกษาปริมาณฟอสเฟตที่มีผลต่อการผลิตแซนแทน กัม.....76
3.8 การศึกษาปริมาณแมกนีเซียมที่มีผลต่อการผลิตแซนแทน กัม.....81
3.9 เปรียบเทียบการผลิตแซนแทน กัมในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่ และอาหารสูตรดั้งเดิม.....86
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....88
บรรณานุกรม.....122
ภาคผนวก.....127
ภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความหนืดของแซนแทน กัม ที่ค่าความเข้มข้นตั้งแต่ 0-0.6% โดยเครื่องมือวัดความหนืดชนิด Brookfield Viscosimeter..128
ภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานแสดงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลาย NADH ที่ความเข้มข้น 0-0.5 ไมโครโมล ต่อ 3 มิลลิลิตร.....129
ภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานแสดงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส ที่ความเข้มข้น 0-7 กรัมต่อลิตร ..130

ภาคผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐานแสดงการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงต่อเวลา
กับความเข้มข้นของไพรูวิกตั้งแต่ 0-0.7 ไมโครโมลต่อ 3 มิลลิลิตร.....131
ภาคผนวกที่ 5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ของอากาศที่ผ่านเข้า Rotameter
ในอัตราต่างๆเปรียบเทียบเป็นหน่วย V.V.M.....132
ภาคผนวกที่ 6 กราฟมาตรฐานแสดงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร
กับความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 0-500 กรัมต่อลิตร..133
ภาคผนวกที่ 7 แสดงปริมาณกรดไพรูวิกที่ได้จากการย่อยสลายแซนแทน กัม ในอาหาร
เลี้ยงเชื้อที่ชั่วโมงที่ 96 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 โมลาร์
ที่ชั่วโมงต่างๆ.....134
ประวัติผู้เขียน.....135

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงสูตรโครงสร้างของแซนแทน กัม	3
2	แสดงเครื่องมือวัดความหนืด Brookfield Viscosimeter	28
3	แสดงเครื่องมือวัดความหนืดที่ดัดแปลงขึ้นเอง (Model Viscosimeter)	28
4.1	แสดงถังหมักชีวปฏิกรณ์	29
4.2	แสดงส่วนที่ให้อากาศ	30
4.3	แสดงส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องมือสำหรับถังชีวปฏิกรณ์	32
4.4	แสดงส่วนประกอบของแผ่นเหล็กส่วนบนก่อนการประกอบ	33
5	แสดงแผ่นเหล็กส่วนบนเมื่อทำการประกอบแล้ว	34
6.1	แสดงลักษณะโคโลนี *X. campestris* สีขาวเมื่อถ่ายจากด้านบน	37
6.2	แสดงลักษณะโคโลนี *X. campestris* สีขาวเมื่อถ่ายจากด้านข้าง	37
7.1	แสดงลักษณะโคโลนี *X. campestris* สีเหลืองเมื่อถ่ายจากด้านบน	38
7.2	แสดงลักษณะโคโลนี *X. campestris* สีเหลืองเมื่อถ่ายจากด้านข้าง	38
8	แสดงขนาดของโคโลนี *X. campestris* 3 ขนาด	39
9ก	เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร	41
9ข	เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน	41
9ค	เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์	42
9ง	เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน	42
9จ	เปรียบเทียบปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน	43
9ฉ	เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน โดยการวัดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter	43
9ช	เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน	44

9ช เปรียบเทียบปริมาณไพรูวิกที่วิเคราะห์ในแชนแทน กัม ที่ผลิตโดย *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน.....44

10ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และครั้งที่ 20 โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....46

10ข เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *X. campestris* ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และครั้งที่ 20 46

10ค เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และครั้งที่ 20 โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....47

10ง เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 20.....47

10จ เปรียบเทียบความลดลงในการใช้กลูโคส (กรัมต่อลิตร) ในอาหารเลี้ยง *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อ ครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 20.....48

10ฉ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 20 โดยการวัดหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....48

10ช เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 20.....50

10ซ ปริมาณไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 20.....50

11ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....52

11ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....52

11ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆ.....53

11ง เปรียบเทียบการลดลงของกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ในอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆ.....53

11จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยการวัดหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....54
11ฉ เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆ.....54
11ช ปริมาณกรดไพรูวิกที่วิเคราะห์จากกัมที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆ.....55
12ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ด้วยความเร็วรอบของการเขย่าที่อัตราต่างๆ โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....57
12ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ด้วยความเร็วรอบของการเขย่าที่อัตราต่างๆ โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....57
12ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ด้วยความเร็วรอบการเขย่าที่อัตราต่างๆ.....58
12ง เปรียบเทียบปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ในอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่ความเร็วรอบของการเขย่าที่อัตราต่างๆ.....58
12จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ด้วยความเร็วรอบการเขย่าที่อัตราต่างๆ โดยวิธีการหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....59
12ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยงของ *X. campestris* ด้วยความเร็วรอบการเขย่าที่อัตราต่างๆ.....59
12ช ปริมาณกรดไพรูวิกที่วิเคราะห์จากกัมที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยงของ *X. campestris* ที่ความเร็วรอบการเขย่าอัตราต่างๆ.....60
13ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นตอ คาร์บอน โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....63
13ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอน โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....63
13ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอน.....64

13ง เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอน โดยวิธีการหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....64

13จ เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอน.....65

13ฉ ปริมาณกรดไพรูวิกที่วิเคราะห์จากกัมที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอน.....65

14ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....66

14ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....66

14ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....67

14ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส(กรัมต่อลิตร)ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่ใช้กลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....67

14จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีการหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....68

14ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....68

14ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่วิเคราะห์ได้จากกัมที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....69

15ก การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....71

15ข การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....71

15ค การเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....72
15ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....72
15จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีการหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....73
15ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....73
15ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....74
16ก การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....76
16ข การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....76
16ค การเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....77
16ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่ใช้โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....77
16จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีการหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....78
16ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....78
16ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....79
17ก การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....81

17ข การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....81
17ค การเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....82
17ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่ใช้แมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....82
17จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของกัมที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยงของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีการหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....83
17ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....83
17ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์).....84
18ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรดั้งเดิมโดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....86
18ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรดั้งเดิมโดยการวัดน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....86
18ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรดั้งเดิม.....87
18ง เปรียบเทียบการลดลงของกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรดั้งเดิม.....87
18จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรดั้งเดิม โดยการวัดหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....88
18ฉ เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรดั้งเดิม.....88
18ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่วิเคราะห์จากกัมที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรดั้งเดิม.....89

19 แสดงการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของอาหารที่เลี้ยง *X. campestris* ใน Psycrotherm ที่ชั่วโมงต่างๆ.....90

20 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้น (เปอร์เซนต์) ของเกลือ KCl และ NaCl ที่มีผลต่อการตกตะกอนของกัม.....93

21 แสดงผลของความเข้มข้น (เปอร์เซนต์) ของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ต่อการตกตะกอนของกัม.....93

22 แสดงผลของความเข้มข้น (เปอร์เซนต์) ของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อความหนืด.....94

23 แสดงปริมาณของเอทานอลที่มีผลต่อการตกตะกอนของแซนแทน กัม เมื่อใช้ 1 เปอร์เซนต์โปแตสเซียมคลอไรด์.....94

24ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....97

24ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยการวัดน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....97

24ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม.....98

24ง เปรียบเทียบการลดลงของกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเดิม.....98

24จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยการวัดหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....99

24ฉ เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม.....99

24ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่วิเคราะห์จากกัมที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม.....100

25 แสดงเครื่องชีวปฏิกรณ์ในการผลิตแซนแทน กัมโดย *X. campestris* ที่วิเคราะห์ในช่วงเวลาต่างๆกัน.....102

26 เปรียบเทียบลักษณะอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่เลี้ยงชุดควบคุมกับที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์.....103

27ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร.....104

27ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยการวัดน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร).....104

27ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม.....104

27ง เปรียบเทียบการลดลงของกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเดิม.....104

27จ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยการวัดหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter.....105

27ฉ เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม.....105

27ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่วิเคราะห์จากกัมที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม.....106

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

°ซ	=	องศาเซลเซียส
ชม.	=	ชั่วโมง
นน.	=	น้ำหนัก
%	=	เปอร์เซนต์
มล.	=	มิลลิลิตร
มม.	=	มิลลิเมตร
ซม.	=	เซนติเมตร
nm.	=	นาโนเมตร
v.v.m.	=	ปริมาตรต่อปริมาตรอาหารต่อนาที
rpm.	=	จำนวนรอบต่อนาที
Cps.	=	เซนตินอยซ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย